

Ph. D. ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Kovári Júlia

Okleveles vegyészmérnök

A prokarióta *Escherichia coli*- és az eukarióta *acetabularia* dUTPáz szerkezetének és működésének összehasonlító vizsgálata

Témavezetők:

Dr. Vértessy G. Beáta

A biológiai tudományok doktora, Tudományos tanácsadó

Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Központ, Enzimológiai Intézet

Dr. Nagy József

A kémiai tudományok kandidátusa, Egyetemi docens

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,

Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Szerves Kémia és Technológia Tanszék

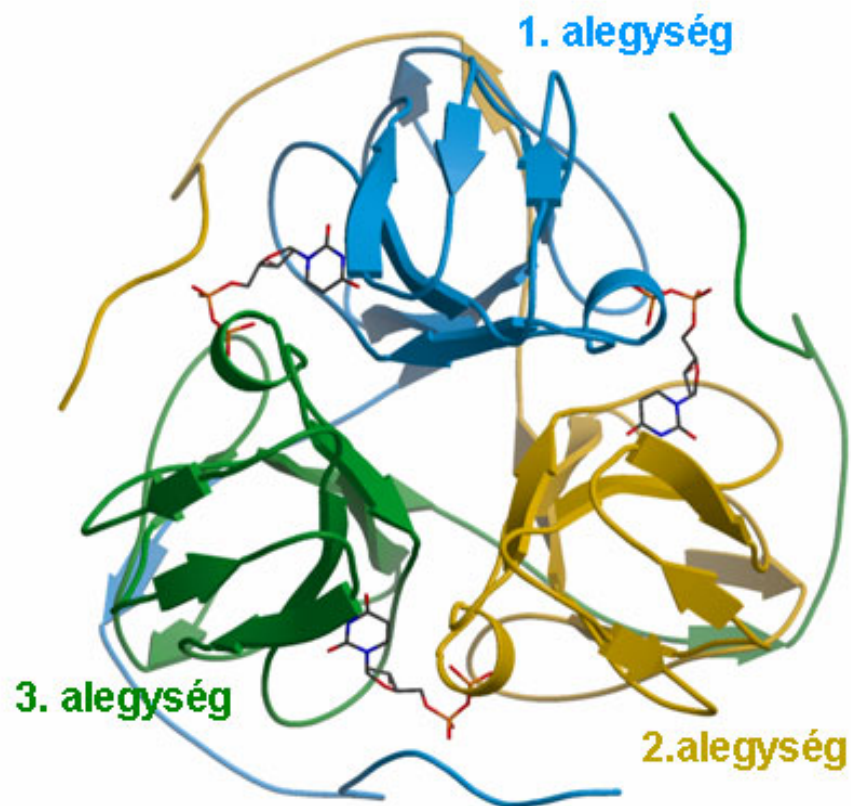
Készült a Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Központjának Enzimológiai Intézetében és a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Vegyészmérnöki és

Biomérnöki Karának Szerves Kémia és Technológia Tanszékén

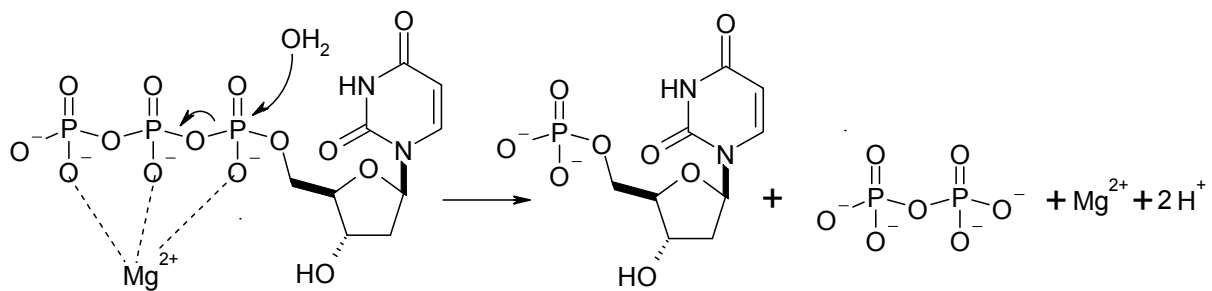
2007.

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A deoxiuridin-trifoszfát-nukleotido-hidroláz (dUTPáz) enzim katalizálja a dUTP hidrolízisét (1. 1. és 1. 2. ábra). A dUTPáz a sejtbeli dUTP/dTTP arány csökkentésével gátolja az uracil DNS-be épülését. Így többek között - mint megelőző védelem - szerepet játszik a DNS információtartalmának megőrzésében. Enzimműködés hiányában az uracil feldúsul a DNS-ben, aminek hatására a sejtbeli uracil-DNS vágó-javító mechanizmusok működésbe lépnek. Mindez ahhoz vezet, hogy a kromoszóma idővel fragmentálódik, és a sejt a programozott sejthalál útjára lép. A dUTPáz elengedhetetlen a baktériumok életben maradásához, így antibakteriális ágensek kifejlesztéséhez ideális célpontnak tekinthető. A dUTPáznak a DNS metabolizmusban betöltött fontos szerepét tekintve az enzim célpontnak tekinthető rák- illetve vírusellenes gyógyszerek tervezésénél is.



1. 1. ábra – A homotrimer FIV (macska-félék immunhiányt kiváltó vírusa) dUTPáz:dUDP komplex kristályszerkezete (PDB ID: 1F7R)



1. 2. ábra – A dUTP dUTPáz által katalizált hidrolízise protonfelszabadulás mellett (pH 7,5-8) dUMP-t és pirofoszfátot eredményez.

A genetikai fejlődés különböző fokán álló dUTPázok között fennálló szerkezeti és működésbeli különbségek felderítése hozzásegíthet például a bakteriális enzim célzott gátlásához, ami a humán vagy állatgyógyászatban alkalmazható antibakteriális ágensek kifejlesztését teszi lehetővé. Céлом volt, hogy kinetikai, ligandumkötési és röntgenkristallogáfiai vizsgálatokkal jellemezzem a dUTPázok funkcionális evolúcióját az eukarióta *Drosophila melanogaster*- és a prokarióta *Escherichia coli* dUTPázokat alapul véve.

A dUTPáz szubsztrátkötő- és egyben katalitikusan aktív helyének részletes vizsgálata mind szerkezeti, mind funkcionális vonatkozásban jelentős előrelépést jelent a dUTPáz működési mechanizmusának felderítésében és dUTPáz inhibitorok tervezésében. Két inhibitorjelölt szubsztrátanalógot választottunk Dr. Barabás Orsolya röntgenkristallográfussal az *Escherichia coli* dUTPáz aktív helyének vizsgálatához: az α,β-imido-dUTP és az α,β-metilén-dUTP molekulákat, melyek a szubsztrát dUTP-hez hasonló szerkezetűek. Mindkét inhibitorjelölt esetén az egyetlen különbség az α és β foszforatomot összekötő csoportban van. Az α,β-imido-dUTP-ben a természetes szubsztrát oxigénje helyett szereplő imidocsoport feltehetően jelentősen csökkenti e szubsztrátanalóg hidrolizálhatósági fokát. Az α,β-metilén-dUTP-ben az oxigén metilén csoporttal való helyettesítésével - a szénatom oxigénhez és nitrogénhez képest alacsonynak tekinthető elektronegativitása miatt ($EN_C=2,5 < EN_N=3,0 < EN_O=3,4$) - valószínűleg tovább csökkenthető a dUTPáz által katalizált

hidrolízis sebessége. E két szubsztrátanalógot kettős céllal alkalmaztuk: 1) hogy megállapítsuk róluk, vajon megfelelnek-e mint dUTPáz inhibitorok, 2) hogy az aktív hely szubsztrátkötési és működési sajátosságaira fényt derítsünk.

2. MÓDSZEREK

A fehérjéket rekombináns módon BL21 *E. coli* baktériumokkal termeltem, így a különböző eredetű dUTPázokat nagy tisztaságban (>95%), jó kitermeléssel (10-20 mg/l) állítottam elő.

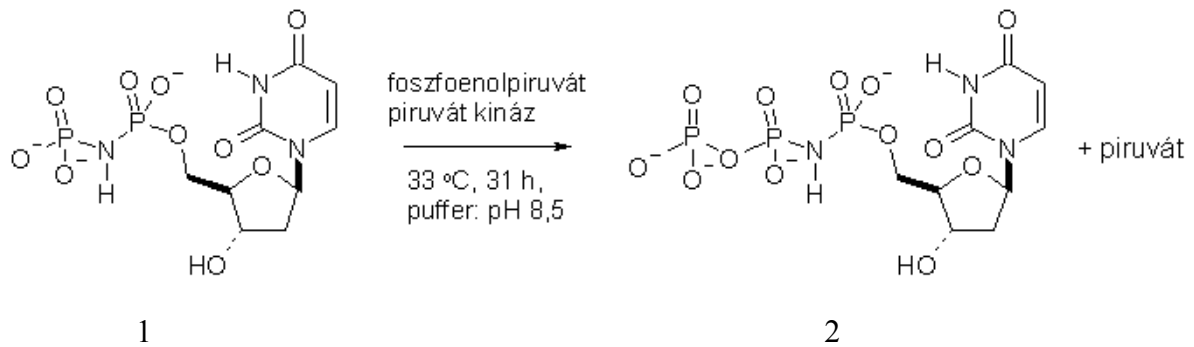
A dUTPáz katalitikus aktivitásának vizsgálatára a teljes kinetika követésére szolgáló folyamatos aktivitásmérő módszert alkalmaztam, ami az enzim kinetikai jellemzésére és sebességi együtthatók számítására alkalmas. A mérés során a dUTP 1. 2. ábrán szereplő reakcióegyenlet szerinti hidrolízisekor bekövetkező protonfelszabadulást követtem fenolvörös sav/bázis indikátor színváltozásának spektrofotometriás mérésével.

Limitált tripszinolízis segítségével információt nyerhetünk a fehérjék szerkezetének felépítéséről, és ezen belül feltérképezhetjük a tripszinnek kitett mozgékony fehérjeszakaszokat oldatfázisban. A kristályszerkezetek nyújtotta adatkészletből a mozgékony fehérjeszakaszok csak korlátozottan azonosíthatóak. Limitált tripszinolízis segítségével megállapítható, hogy melyek azok a mozgékony fehérjeszakaszok, amelyek ligandumkötődés hatására elvesztik flexibilitásukat. Az *acetmuslica* dUTPáz ligandumok jelen- és távollétében végrehajtott tripszinolízisének reakcióelegyből különböző időpontokban mintát vettem aktivitásmérésre és Na-dodecil-szulfát-poliakrilamid gélelektroforézisre.

Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópiával információt nyerhetünk a fehérjék szerkezetéről, illetve szerkezetváltozásáról például szubsztrátkötődés hatására. A távoli ultraibolya (UV) tartományban felvett CD spektrumból következtethetünk a másodlagos szerkezeti elemek (α -hélix, β -szerkezet, rendezetlen láncok) meglétére, illetve ezek arányára a fehérje térszerkezetében, míg a közeli UV tartományban mért CD spektrumok az aromás oldalláncokról, azok egymáshoz viszonyított térbeli orientációjáról adnak információt. Ez utóbbi enzim:ligandum disszociációs állandó meghatározását is lehetővé tette.

3. EREDMÉNYEK

3. 1. α,β -imido-dUTP enzimatiskus előállítása



3. 1. 1. ábra - α,β -imido-dUTP (2) enzimatiskus előállítása

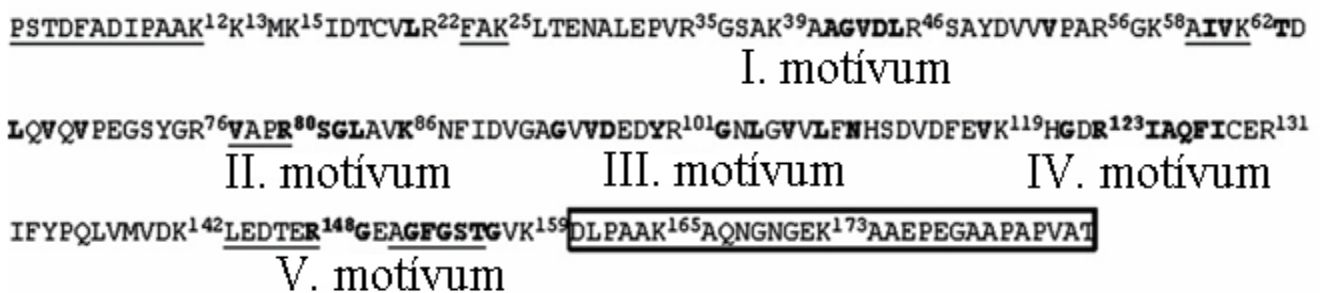
Előállítottam az α,β -imido-dUTP-t α,β -imido-dUDP-ből (1) és foszfoenolpiruvátból a piruvát kináz által katalizált foszforilálási reakcióval (3. 1. 1. ábra).

3. 2. Az ecetmuslica specifikus C-terminális dUTPáz szegmens szerepének *in vitro* vizsgálata

Különböző eredetű dUTPázok fehérje-szekvenciáinak összehasonlításakor megfigyelhető, hogy az ecetmuslica enzim szekvenciája a C-terminálison tartalmaz egy 28 aminosav hosszú szakaszt, amely nem szerepel más dUTPázok elsődleges szerkezetében (3. 2. 1. ábra). Megvizsgáltam ezen szegmens esetleges *in vitro* szerepét az enzim szerkezetének kialakulásában és működésében.

Limitált tripszinolízis alapján valószínűsítettem, hogy a C-terminális 28 aminosavból álló fehérjeszegmens nem rendezett, és nem vesz részt a fehérje feltekeredésében nukleotid ligandum távol- és jelenlétében sem.

In vitro aktivitásméréssel vizsgáltam a C-terminális 28 aminosavnak az enzim aktivitására esetlegesen gyakorolt szabályozó funkcióját. A katalitikus és a Michaelis állandók közel azonosak voltak a teljes hosszúságú és a C-terminális 28 aminosavat nem tartalmazó rekombináns dUTPázokra nézve, tehát a konzervált szekvenciamotívumot nem tartalmazó C-terminális 28 aminosav nem befolyásolja a katalitikus aktivitást és az enzim szubsztrátkötési affinitását. Ez utóbbit közeli UV tartományban kivitelezett CD spektroszkópiával is alátámasztottam.



3. 2. 1. ábra - A *Drosophila melanogaster* dUTPáz aminosav-szekvenciája

A vastag betűkkel jelölt aminosavak konzerváltak a homotrimer dUTPázokban. A konzervált motívumokat római számozással jelöltem. A *Drosophila melanogaster* dUTPázra jellemző C-terminális 28 aminosavat bekereteztem. A tömegspektrometriával azonosított fehérjeszegmenseket aláhúzással jelöltem.

3. 3. Nukleotid ligandum hiányában fellépő Mg(II) kötődés hozzájárul az ecetmuslica dUTPáz szerkezetének stabilizálásához

CD spektroszkópia segítségével megállapítottam, hogy az ecetmuslica dUTPáz szerkezetében található egy olyan hely, amely nukleotid ligandum hiányában konformációs változás kíséretében Mg(II)-ot köt. Feltehetően a Mg(II)-nak a katalitikus aktivitásban betöltött ko-faktor szerepe mellett van egy az ecetmuslica dUTPáz szerkezetének kialakulásában illetve stabilizálásában betöltött szerepe is. Pásztázó kalorimetriás mérési adatok alátámasztották ezt a feltételezést. Az *Escherichia coli* dUTPáz esetében nem találtak ehhez hasonló Mg(II) kötőhelyet.

3. 4. Az *ecetmuslica* dUTPáz V. konzervált szekvenciamotívumot tartalmazó C-terminális karja rendeződik a dUMP, a dUDP és az α,β -imido-dUTP aktív helyre történő kötődésekor

Az V. konzervált szekvenciamotívum elején található Arg¹⁴⁸-Gly¹⁴⁹ közötti triptikus hasítás hatására az enzim elveszítette aktivitását, miközben megőrizte trimer feltekeredését. A 3. 4. 1. ábrán kék színű pálcikamoddellel ábrázoltam az Arg¹⁴⁸-at. Az enzim által katalizált hidrolízis terméke, a dUMP, a nem hidrolizálható dUDP és a szubsztrátanalóg α,β -imido-dUTP kötődése az eukarióta dUTPázhoz jelentős védelmet nyújtott az Arg¹⁴⁸-Gly¹⁴⁹ közötti triptikus hasítással szemben. Ez a védelem azzal magyarázható, hogy a nukleotid hiányában rendezetlen és hajlékony V. motívumot tartalmazó C-terminális kar mono-, di- vagy trifoszfát-tartalmú nukleotid kötődésekor az aktív zsebre zárul, rendeződik, így a tripszin számára ez a hasítási hely nehezen hozzáférhetővé válik. Az *Escherichia coli* dUTPáz esetében az V. motívumot tartalmazó C-terminális kar kizárólag trifoszfát-nukleotid kötődésekor záródik az aktív zseb bejáratára.



3. 4. 1. ábra - A humán dUTPáz:Mg(II):dUPNPP kristályszerkezetében (2HQU) jelöltem a *Drosophila melanogaster* dUTPázra jellemző két triptikus hasítási helyet. A dUTPáz alegységeit szalagmodellel ábrázoltam. A központi csatornát felépítő Arg¹³¹ és az aktív helyen levő Arg¹⁴⁸ aminosavakat pálcikamodellel is jelöltem. Az α,β -imido-dUTP-t pálcikamodellel, a Mg(II)-okat gömbökkel ábrázoltam. A központi csatornát felépítő Arg¹³¹ és az aktív hely közötti hozzávetőlegesen 17 Å távolságot nyíl szemlélteti. (Az Arg¹³¹ α C és az Arg¹⁴⁸ NH1 között 16,3 Å a távolság a humán dUTPáz kristályszerkezete alapján.) Megjegyzés: A kristályszerkezetben ligandumkötődés hatására a három aktív hely közül csupán két aktív hely bejártára záródott az Arg¹⁴⁸-at tartalmazó C-terminális kar.

3. 5. A szubsztrátanalóg dUDP és α,β -imido-dUTP kötődésekor allostériára utaló változás figyelhető meg az *ecetmuslica* dUTPáz szerkezetében

Limitált tripszinolízisből származó fehérjefragmensek tömegspektrometriás elemzése kimutatott egy - a központi csatorna egyik végén elhelyezkedő - tripszinre érzékeny hasítóhelyet (Arg¹³¹-Ile¹³²), amely az aktív helytől megközelítőleg 17 Å távolságra van, és az aktív zsebben történő dUDP illetve dUPNPP kötődés hatására védetté válik a triptikus hasítással szemben (3. 4. 1. ábra). Tehát dUDP illetve dUPNPP kötődés hatására az aktív helytől kiindulva feltehetően allostérikus konformációváltozás megy végbe, amely során

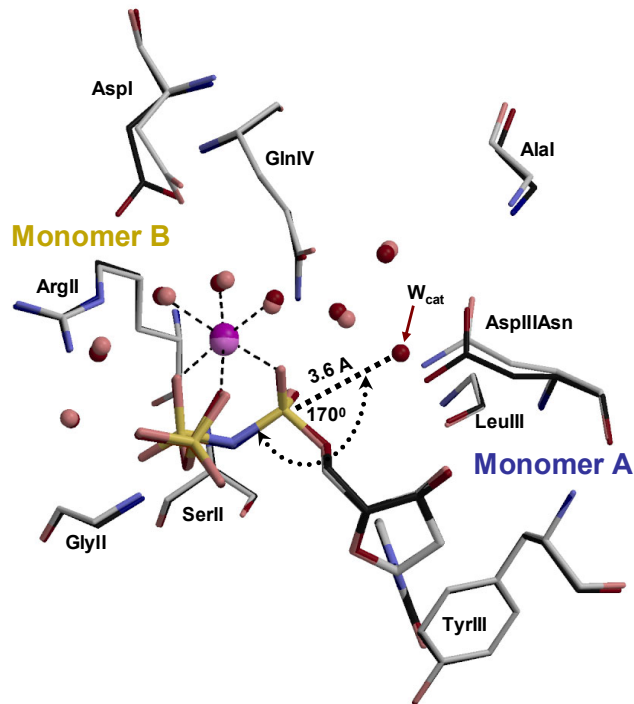
megváltozik a központi csatornabeli Arg¹³¹-Ile¹³² hasítóhely helyzete. Így valószínűsíthető, hogy az aktív helyek a poláros központi csatornán keresztül kommunikálnak egymással. Ennek a kommunikációnak a közvetítésében a szerkezeti Mg(II)-nak is lehet szerepe.

A prokarióta *Escherichia coli* dUTPázban az aktív centrumtól, vagyis az V. motívumbeli Arg¹⁴¹-Gly¹⁴² triptikus hasítási helytől, eltérő helyen nem találni egyéb tripszinolízisre érzékeny peptidkötést. Kinetikai adatok alapján valószínűsíthető, hogy az *Escherichia coli* dUTPáz aktív helyei nem kooperálnak egymással, vagyis egymástól függetlenül működnek.

3. 6. A nukleofil támadó vízmolekula azonosítása

Röntgenkristallográfias szerkezetelemzés segítségével oldatfázisú vizsgálatokkal kiegészítve terveztük az *Escherichia coli*- és az *acetabularia* dUTPázok szubsztrátkötő és egyben aktív helyeinek összehasonlító vizsgálatát is. A prokarióta enzim esetében az oldatfázisú vizsgálatok eredményeivel összhangban homotrimer elrendeződésű enzim-kristályszerkezeteket kaptunk. Az *acetabularia* dUTPáz is homotrimer feltekeredést mutatott oldatfázisban, azonban az adott kristályosítási körülmények között felnövekedett mérhető kristályokban homodimer szerkezetet alakítottak ki a dUTPáz alegységek. Ennek következtében csupán az *Escherichia coli* dUTPáz szubsztrátkötő aktív zsebét elemeztük.

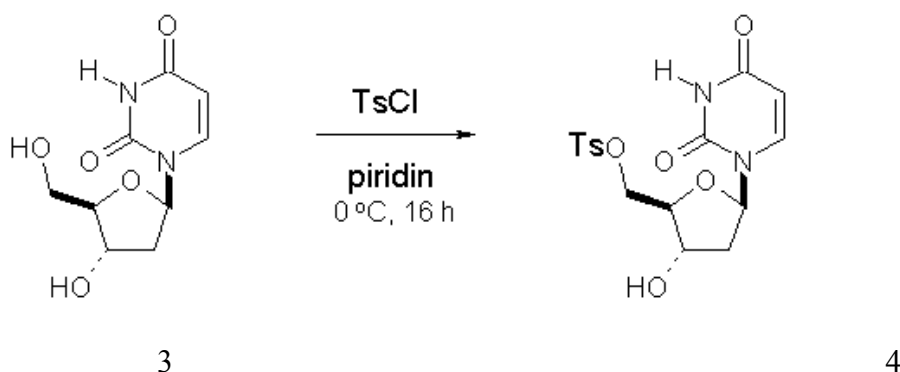
Az általam előállított α,β -imido-dUTP és AspIIIAsn mutáns *Escherichia coli* dUTPáz komplexének kristályszerkezete és a vad típusú *Escherichia coli* dUTPáz és α,β -imido-dUTP komplexének kristályszerkezete alapján Barabás és munkatársai azonosították a dUTP hidrolízisében elengedhetetlen szerepet játszó nukleofil támadó vízmolekulát.



3. 6. 1. ábra - A vad típusú (fekete, PDB ID: 1RN8) és az AspIIIAsn mutáns (világosszürke, PDB ID: 1RNJ) *E. coli* dUTPáz: α,β -imido-dUTP:Mg(II) komplexek szerkezete egymásra illesztve. Az egyedüli különbség a két szerkezet között a katalitikus vízmolekula (W_{cat}) hiánya a mutáns szerkezetből. A Mg(II)-okat nagy gömbökkel, a vizeket kis gömbökkel ábrázoltam.

3. 7. α,β -metilén-dUDP előállítása

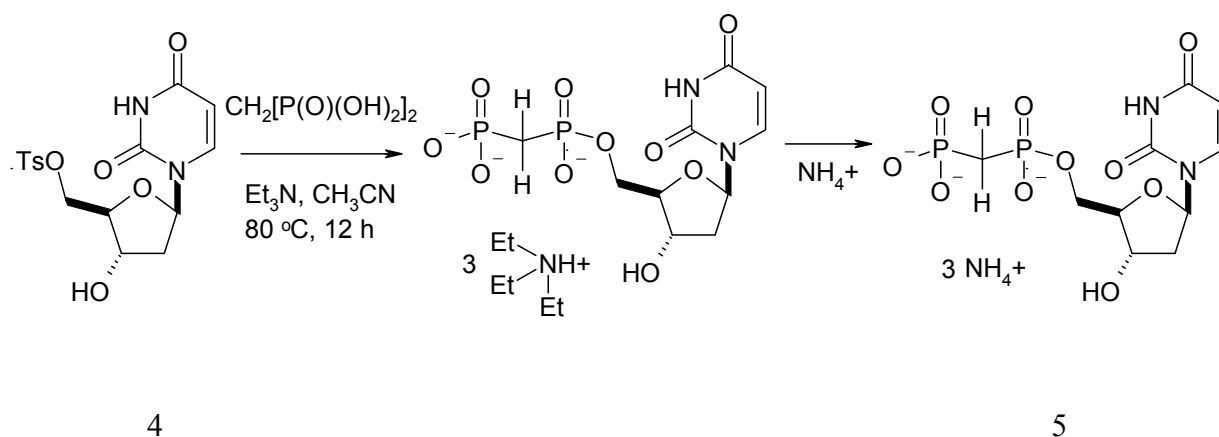
3. 7. 1. 5'-*O*-tozildezoxiuridin előállítása



3. 7. 1. 1. ábra – 5'-*O*-tozildezoxiuridin előállítása (4)

Előállítottam az 5'-*O*-tozildezoxiuridint a 3. 7. 1. 1. ábrán látható reakció szerint.

3. 7. 2. α,β -metilén-dUDP előállítása 5'-*O*-tozildezoxiuridinből



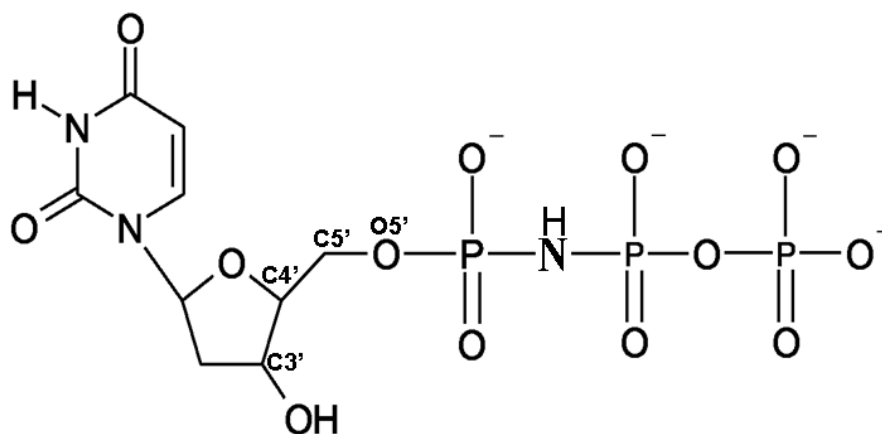
3. 7. 2. 1. ábra – α,β -metilén-dUDP előállítása (5)

Előállítottam az α,β -metilén-dUDP-t a 3. 7. 2. 1. ábrán látható reakció szerint.

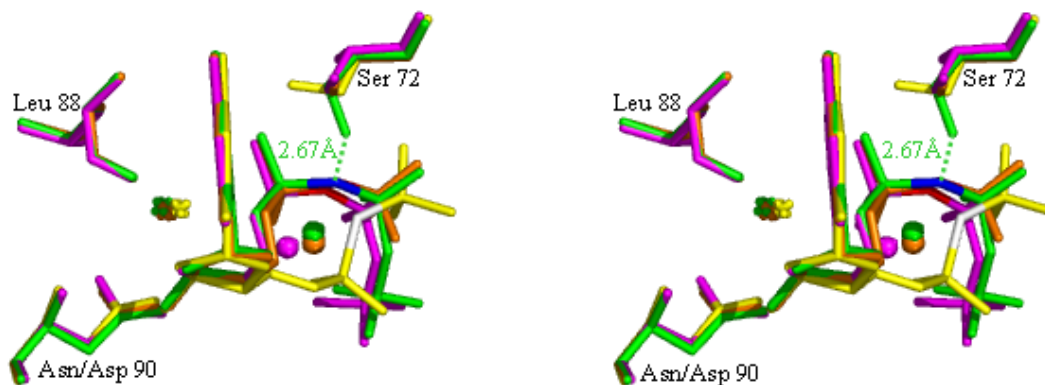
3. 8. Az α,β -metilén-dUDP kötődése az *Escherichia coli* dUTPáz aktív zsebében

Az α,β -imido-dUTP és a dUDP a szubsztrátéval azonos konformációt vesz fel az *Escherichia coli* dUTPáz aktív zsebében. E két szubsztrátanalóg a dUTP-hez hasonlóan koordinálja a kofaktor $\text{Mg}(\text{II})$ -ot, ami a $\text{C}3'-\text{C}4'-\text{C}5'-\text{O}5'$ dihedrális szöget tekintve a hidrolízis lejátszódásához elengedhetetlen *gauche* konformációban stabilizálja a nukleotidokat. A nem hidrolizálható szubsztrátanalóg α,β -metilén-dUDP ellenben *trans* konformációt mutat ezzel kizárva a $\text{Mg}(\text{II})$ aktív helyen való kötődését (3. 8. 1. ábra). Ebből következhet, hogy a vizsgált metilénanalóg kötődési affinitása a dUTPázhoz egy nagyságrenddel kisebb, mint a dUDP: $\text{Mg}(\text{II})$ kötődési affinitása.

A



B



3. 8. 1. ábra – (A) Az α,β -imido-dUTP molekulán jelöltem a C3'-C4'-C5'-O5' atomokat. (B) Az *E. coli* dUTPáz:dUDP:Mn(II) (*gauche*, PDB ID: 2HR6), az *E. coli* dUTPáz: α,β -metilén-dUDP (*trans*, PDB ID: 2HRM), az inaktív mutáns *E. coli* dUTPáz:dUTP:Mg(II) (*gauche*, PDB ID: 1RNJ) és az *E. coli* dUTPáz: α,β -imido-dUTP:Mg(II) (*gauche*, PDB ID: 1RN8) komplexek egymásra illesztett szerkezeteinek térbeli ábrázolása. A katalitikus vízmolekulákat csillagokkal, a kétértékű fémeket gömbökkel jelöltem.

4. ALKALMAZÁSOK

A prokarióta (*Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*) és az eukarióta (*Drosophila melanogaster*, *Homo sapiens*) dUTPázok szubsztrátkötő aktív zsebei közel azonosak, ellenben a három azonos alegységből felépülő központi csatornáik eltéréseket mutatnak. A bakteriális enzim központi csatornáját, illetve a dUTPáz monomer központi csatorna felépítésében szerepet játszó hidrofób felszínét specifikusan célzó gyógyszermolekulák tervezése például a humán gyógyászatban alkalmazható antibakteriális ágensek kifejlesztését teszik lehetővé.

Az α,β -imido-dUTP a hidrolizálhatósága, az α,β -metilén-dUDP a kis kötődési affinitása miatt nem vált be a dUTPáz hatékony inhibitoraként. Ez utóbbit nagy mennyiségben kellene alkalmazni a megfelelő hatás eléréséhez. Inhibitor tervezése nukleotidanalóg alapon kockázatos, mivel jelöltünk nem biztos, hogy *in vivo* körülmények között kizárólag a dUTPáz működését befolyásolja, hanem kötődhet más nukleotidkötő fehérjékhez, és ezáltal mellékhatásokat válthat ki. Emiatt minimális mennyiségű inhibitor-molekulát lenne célszerű alkalmazni.

A fenti szubsztrátanalógok inhibitornak nem váltak be, ellenben a dUTPáz szerkezetének és működésének vizsgálatát előrelendítették. Az imidoanalóg alkalmas a dUTPáz:dUTP kapcsolat tükrözésére. A metilénanalóg:dUTPáz komplex nem ad hiteles képet az enzim:szubsztrát kapcsolatáról. Ez az eredmény rávilágít arra, hogy általában is fontos fenntartásokkal kezelni a metilénanalógokat nukleotidkötő enzimek jellemzésekor.

5. KÖZLEMÉNYEK

5. 1. A doktori értekezés témájához kapcsolódó közlemények

1.

Kovári J, Barabás O, Takács E, Békési A, Dubrovay Zs, Pongrácz V, Zagyva I, Imre T , Szabó P and Vértessy BG

Altered Active Site Flexibility and a Structural Metal-binding Site in Eukaryotic dUTPase: KINETIC CHARACTERIZATION, FOLDING, AND CRYSTALLOGRAPHIC STUDIES OF THE HOMOTRIMERIC DROSOPHILA ENZYME.

J Biol Chem **279**, 17932-44. (2004)

2.

Kovári J, Imre T , Szabó P and Vértessy BG

Mechanistic studies of dUTPases

Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids **23**, 1475-9. (2004)

3.

Kovári J, Barabás O, Varga B, Békési A, Tölgyesi F, Fidy J, Nagy J, Vértessy BG

Methylene substitution at the α - β bridging position within the phosphate chain of dUDP profoundly perturbs ligand accommodation into the dUTPase active site

Proteins, Közlés alatt (2007)

4.

Kovári J

THE POTENTIAL ROLE OF dUTPase INHIBITION IN CHEMOTHERAPY

PERIODICA POLYTECHNICA SER. CHEM. ENG. VOL. 49, NO. 1, PP. 60-61 (2005)

5.

Barabás O, Pongrácz V, **Kovári J**, Wilmanns M and Vértessy BG

Structural Insights into the Catalytic Mechanism of Phosphate Ester Hydrolysis by dUTPase.

J Biol Chem **279**, 42907-15. (2004)

6.

Barabás O, Dubrovay Zs, Harmat V, **Kovári J**, Takács E, Zagyva I, Náray-Szabó G, Vértessy BG

Structural studies of *Drosophila Melanogaster* dUTPase

Acta Cryst. A58, C96 (2002)

5. 2. A doktori értekezés témájához kapcsolódó előadások

1.

Kovári J., Barabas, O., Merenyi, G., Zagyva, I., Vértessy, B. G.

dUTPase mRNA silencing triggers apoptosis in cancer cells

31st FEBS Congress, Molecules in Health & Disease, Isztambul, Törökország, 2006. június

24-29., poszterelőadás

2.

Kovari J., Barabas, O., Merenyi, G., Zagyva, I., Vértessy, B. G.

dUTPase mRNA silencing triggers apoptosis in cancer cells

Magyar Biokémia Egyesület Vándorgyűlése, Pécs, 2006. augusztus 30 – szeptember 2.,
poszterelőadás

3.

Kovári J., Barabás O, Nagy J, Vértessy BG

A dUTPáz gátlásának potenciális szerepe a rákterápiában

2004. november 24., A PhD hallgatók 2. konferenciája, Budapesti Műszaki és
Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki kar, szóbeli előadás

4.

Kovári J., Takacs E, Imre T , Szabo P and Vértessy BG

Mechanistic studies of dUTPases

Joint 11th International and 9th European Symposium on Purines and Pyrimidines in Man,
2003. június 9-13., Hollandia, Egmond aan Zee, Hotel Zuiderduin, poszter- és szóbeli előadás

5.

Kovári J., Békési A, Takács E, Szavicskó I, Pongrácz V, Barabás O, Szabó P, Vértessy BG

Ecetmuslica dUTPáz: Eukarióta modell az enzimműködés evolúciójának tanulmányozására

A Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológiai Szakosztályának hetedik
munkaértekezlete, Keszthely, 2002. május 14-17., poszterelőadás

6.

Kovári J, Békési A, Barabás O, Takács E, Szavicskó I, Szabó P, Vértessy BG *Drosophila melanogaster* dUTPase: a preventive DNA repair factor

EACR 17, 17th Meeting of the EUROPEAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH,
8-11 June 2002, GRANADA, poszterelőadás

5. 3. A doktori értekezés témájához nem kapcsolódó közlemények

1.

Békési A, Zagyva I, Hunyadi-Gulyas E, Pongrácz V, **Kovári J**, Nagy ÁO, Erdei A,
Medzihradzky KF and Vértessy BG

Developmental Regulation of dUTPase in *Drosophila melanogaster*.

J Biol Chem **279**, 22362-70. (2004)

2.

Faigl F, Thurner A, Tárkányi G, **Kovári J**, Mordini A, Tóke L

Optical Resolution and Enantioselective Rearrangements of Amino Group Containing
Oxiranyl Ethers

Tetrahedron: Asymmetry, **13**, 59-68 (2002)