

WILEY

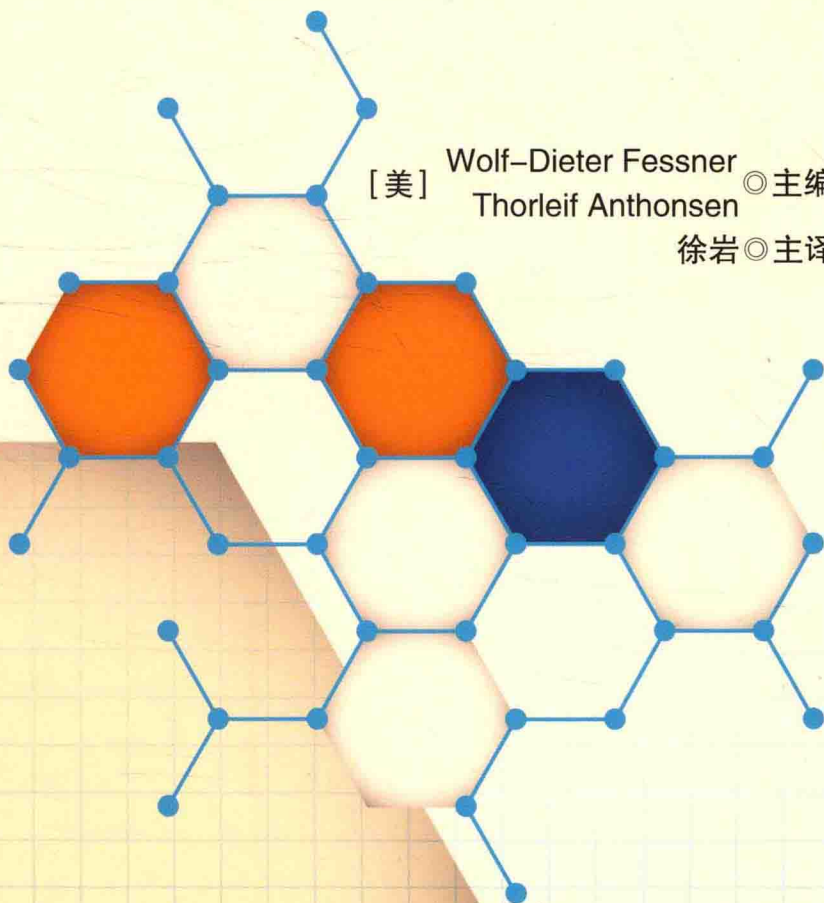
现代生物催化

——高立体选择及环境友好的反应

Modern Biocatalysis

Stereoselective and Environmentally Friendly Reactions

[美] Wolf-Dieter Fessner 主编
Thorleif Anthonsen 主译
徐岩 主译



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

现代生物催化

——高立体选择及环境友好的反应

Modern Biocatalysis

Stereoselective and Environmentally Friendly Reactions

[美] Wolf – Dieter Fessner

Thorleif Anthonsen

徐 岩 主译



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

现代生物催化: 高立体选择及环境友好的反应/ (美) 梅斯纳, 安东森主编; 徐岩主译. —北京: 中国轻工业出版社, 2016. 6

ISBN 978 - 7 - 5184 - 0249 - 6

I. ①现… II. ①梅… ②安… ③徐… III. ①生物—催化—研究
IV. ①Q814

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 254319 号

Modern Biocatalysis—Stereoselective and Environmentally Friendly Reactions by Wolf-Dieter Fessner and Thorleif Anthonsen, ISBN978-3-527-32071-4

© 2009 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

All rights reserved (including those of translation into other languages). No part of this book may be reproduced in any form-by photoprinting, microfilm, or any other means-nor transmitted or translated into a machine language without written permission from the publishers.

Registered names, trademarks, etc. used in this book, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

责任编辑: 江 娟	策划编辑: 江 娟	封面设计: 锋尚设计
文字编辑: 方朋飞	责任终审: 唐是雯	责任监印: 张 可
版式设计: 锋尚设计	责任校对: 吴大鹏	

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市万龙印装有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2016 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 22.25

字 数: 440 千字

书 号: ISBN 978 - 7 - 5184 - 0249 - 6 定价: 80.00 元

著作权合同登记 图字: 01-2010-0754

邮购电话: 010 - 65241695 传真: 65128352

发行电话: 010 - 85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

091049K1X101ZBW

前 言

近年来,不对称化合物在精细化学品、手性中间体、原料药等市场份额不断增加,全球手性药物中的单一对映异构体商业销售额已经达到 2000 亿美元。利用生物催化技术进行手性化合物的合成以及药物生产已经有很长的历史。相对于混旋化合物而言,单一对映体能够更加有效地提高很多生理特性,因此制备单一对映体的拆分方法具有很好的市场需求和应用前景。

面对不对称合成高光学纯度和产率以及复杂手性化合物的挑战,蛋白质催化剂所具有的无可比拟的立体选择性和反应活性、自然条件下高效催化特性以及可再生性生物质原料,使生物催化法与化学法相比具有天生的巨大优势。现代分子生物技术等研究的突破性成果和技术发展,不仅为新酶的快速筛选和工程化应用奠定了基础,同时为改造生物催化剂,使其适应生产过程最优化的需求提供了保障。

我们把利用微生物和酶实现工业化工产品的生产称为白色生物技术,由于其所具备的低能耗、可持续性发展以及减少化石原料依赖性等特点,受到世界各个国家政府政策上的大力支持。石油价格的持续飙升以及产油国家政策上的不稳定性、温室效应引起的全球变暖、人口增长、环境污染等也大大促进了白色生物技术的发展。

生物催化在手性合成和医药工业的应用上经历了漫长的发展过程,在一个世纪前已经开始了小规模的应用,经历了抗生素、丙烯酰胺等数百个中小型精细化工企业中工业化生产工艺的发展。目前,利用生物催化新工艺替代传统化工工艺不仅成本较高,而且其发展周期较长,因此这种向生物技术的转化依然处于发展的初期。但经过漫长的发展周期,生物催化剂所具有的更高的反应选择性、温和的反应条件以及经济的可再生性原料等优势已经证明生物催化工艺比现代化学工艺更具有经济性、生态优势以及可持续性等优势。在过去的十年里,蛋白质设计工程等现代先进技术为促进生物催化的直接和有效应用提供了动力。

BASF 公司最新建立的一步发酵法制备维生素 B₂ 的工艺令人印象深刻,与传统的八步化学工艺相比,能够有效降低 30% 的 CO₂ 排量,同时产品生产成本降低 40%,原料的消耗减少 60%,减少 95% 以上的废弃物的排放。

即使是进行合成制备的生物催化领域依然需要很多前沿研究来拓展可以应用的反应类型、目标底物结构和方法集成技术等。无论是普通科研工作者还是工业界研究人员,有机化学家、生物化学家以及分子生物学家和生化工程专家

的合作对于拓展生物催化剂在不对称合成中的应用至关重要。

生物催化方法学的研究表明其发展毫无疑问地需要跨学科以及交叉学科之间的合作，为了满足环境友好，过程设计需要考虑工业规模经济下的原料供应和高效利用、最小化利用酶及其回收利用，以及副产物和废物等参考标尺。

本书总结了过去 5 年中，欧盟研究者在重要的生物催化剂研究领域，承担“应用生物催化：酶促催化高立体选择与环境友好的反应”研究时取得的最新成果和进展。其主题是酶筛选即现在检测技术中研究影响酶选择性的不同因子，包括从酶构型和不同溶剂的影响到多种制备上的应用等结论。本书一半以上的章节阐述一些概念性的策略以及适宜的人工理性合成或目的性地修饰不同类化合物的方法，包括酚类化合物、核酸类似物、单糖与低聚糖、亚胺糖、非蛋白氨基酸、蛋白氨基酸、腈类化合物、羧基酸以及利用拜耳 - 维立格 (Baeyer-Villiger) 反应氧化获得的内酯。

最后，我们衷心地感谢那些帮助我们和参与 D25 计划的合作者以及包括本书作者在内的对 D25 计划做出贡献的人，感谢大家分享研究经历和成果。衷心希望本书能够鼓励应用生物催化的科学探讨并激励其在未来新的应用中取得进展。

沃尔夫 - 迪特尔 · 梅斯纳

托雷福 · 安东森

于达姆施塔特和特隆赫姆

译 序

步入 21 世纪, 由于日益严重的资源、能源和环境压力, 人类社会的可持续发展面临前所未有的挑战, 促使传统的化工、制药、食品、材料等工业制造领域的生产技术必须发生根本性变革。生物制造提供了更好的技术选择和解决方案, 并已逐渐渗透到传统制造业中, 能够减少能耗、物耗和污染物排放, 大幅度降低生产成本, 加速传统产业升级, 推进绿色制造。

手性化学品广泛应用于医药、农业、食品、材料等领域, 在国计民生中占据极其重要的地位, 但制造过程存在资源消耗大、能耗高、污染重等问题, 其生产水平已成为衡量一个国家或地区化工发展水平的重要标志, 研究、制造和使用光学纯化学品, 对于保障我国国民健康, 保护生态环境具有重要意义。生物催化技术因其高度的选择性和独特的环境优势能够为手性化学品生产提供更好的技术选择和解决方案, 在工业可持续发展中显示巨大的潜力。蛋白结构分析、生物信息学和分子模拟等现代分子生物技术等研究的突破性成果和技术发展, 不仅为新酶的快速筛选和工程化应用奠定了基础, 同时为改造生物催化剂使其适应生产过程最优化的需求提供了保障。

欧盟在工业生物技术领域中重点支持发展生物催化手性化学品的基础和应用研究, 生物催化技术已逐渐进入包括手性药物、手性精细化学品、手性材料在内的很多领域, 并应用于手性化学品的规模化生产。由德国达姆施塔特工业大学 Wolf - Dieter Fessner 教授和挪威科技大学 Thorleif Anthonsen 教授联合编著的《现代生物催化: 高立体选择及环境友好的反应》总结了近几年欧盟研究者以酶促催化高立体选择性反应为主题的应用生物催化研究领域中取得的最新成果和进展。内容涵盖新酶筛选、酶选择性构型调控、酶的蛋白质工程设计、反应方式与途径设计、溶剂工程及反应器等从生物催化剂到反应过程调控的一系列主题。本书由江南大学徐岩、穆晓清、范文来、聂尧、喻晓蔚、张荣珍、王栋、王海燕等翻译。在此, 向各位译者的辛苦付出, 表示衷心的感谢。

本书还获得国家自然科学基金重点项目 (21336009) 和国家高技术研究发展计划 (2015AA021004) 的支持, 在此一并表示感谢!

当前, 我国制造业正面临许多重大挑战及关键发展机遇。在发展生物催化不对称合成手性化学品方面, 具有多学科交叉的研究积累和实现创新跨越的潜

力。本译著的出版将有利于现代生物催化的先进思路和技术在国内的推广，对于我国现代生物催化技术及其在手性化学品合成应用中的发展，加快我国传统化工行业产业升级和可持续发展，具有积极的促进作用。

徐 岩
于江南大学

对本书做出贡献的人的名录

Miguel Alcalde

Departamento de Biocatálisis
Instituto de Catálisis y
Petroleoquímica
CSIC
Cantoblanco
28049 Madrid
Spain

Veronique Alphand

Université Paul Cézanne
Biosciences-FRE CNRS 3005
Case 432
Av. Escadrille Normandie-Niemen
13397 Marseille cedex 20
France

Thorleif Anthonsen

Norwegian University of Science
and Technology
Department of Chemistry
7491 Trondheim
Norway

Antonio Ballesteros

Departamento de Biocatálisis
Instituto de Catálisis y
Petroleoquímica
CSIC
Cantoblanco
28049 Madrid
Spain

Karel Bezouška

Charles University Prague
Faculty of Science
Department of Biochemistry
128 40 Prague
Czech Republic

Laura Cantarella

Department of Industrial Engineering
University of Cassino
Via di Biasio 43
03043 Cassino (FR)
Italy

Maria Cantarella

University of L' Aquila
Department of Chemistry
Chemical Engineering and Materials
67040 Monteluco di Roio-L' Aquila
Italy

Franck Charmantray

Université Blaise Pascal
CNRS
UMR 6504-SEESIB
63177 Aubière Cedex
France

Andrzej Chmura

Delft University of Technology
Department of Biotechnology
Laboratory of Biocatalysis and
Organic Chemistry
Julianalaan 136
2628 BL Delft
The Netherlands

Pere Clapés

Catalonia Institute for Advanced
Chemistry (IQAC) -CSIC. Group
of Biotransformation and
Bioactive Molecules
Jordi Girona 18 – 26
08034 Barcelona
Spain

Josefa María Clemente-Jiménez

Departamento de Química-Física
Bioquímica y Química Inorgánica
Edificio CITE I
Carretera de Sacramento S/N
La Cañada de San Urbano
04120 Almería
Spain

Attilio Converti

University of Genoa
Department of Chemical and
Process Engineering 'G. B.
Bonino'
Via Opera Pia 15
16145 Genoa
Italy

Bruno C. M. Fernandes

Delft University of Technology
Department of Biotechnology
Laboratory of Biocatalysis and
Organic Chemistry
Julianalaan 136
2628 BL Delft
The Netherlands

Lucía Fernández-Arrojo

Departamento de Biocatálisis
Instituto de Catálisis y Petroquímica
CSIC
Cantoblanco
28049 Madrid
Spain

Marco W. Fraaije

University of Groningen
Groningen Biomolecular Sciences and
Biotechnology Institute
Biochemical Laboratory
Nijenborgh 4
9747 AG Groningen
The Netherlands

Alberto Gallifuoco

University of L' Aquila
Department of Chemistry
Chemical Engineering and Materials
67040 L' Aquila
Italy

Raffaella Gandolfi

University of Milan
Institute of Organic Chemistry
'Alessandro Marchesini'
Via Venezian 21
20133 Milan
Italy

Lucia Gardossi

Università degli Studi di Trieste
Dipartimento di Scienze Farmaceutiche
Laboratory of Applied and
Computational Biocatalysis
Piazzale Europa 1
34127 Trieste
Italia

Iraj Ghazi

Departamento de Biotatálisis
Instituto de Catálisis y
Petroleoquímica
CSIC
Cantoblanco
28049 Madrid
Spain

Vicente Gotor

Universidad de Oviedo
Departamento de Química
Orgánica e Inorgánica
Instituto de Biotecnología de
Asturias
33006 Oviedo
Spain

Maja Habulin

University of Maribor
Faculty of Chemistry and
Chemical Engineering
Laboratory for Separation
Processes and Product Design
Smetanova 17
2000 Maribor
Slovenia

Ulf Hanefeld

Delft University of Technology
Department of Biotechnology
Biocatalysis and Organic
Chemistry
Julianalaan 136
2628 BL Delft
The Netherlands

Laurence Hecquet

Université Blaise Pascal
Synthèse et Etudes de Systèmes à
Intérêt Biologique
UMR 6504
24 avenue des Landais
63177 Aubiere Cedex
France

Virgil Hélaine

Université Blaise Pascal
CNRS
UMR 6504-SEESIB
63177 Aubière Cedex
France

Francisco Javier Las Heras-Vázquez

Departamento de Química-Física
Bioquímica y Química Inorgánica
Edificio CITE I
Carretera de Sacramento S/N
La Cañada de San Urbano
04120 Almería
Spain

Elisabeth Egholm Jacobsen

Norwegian University of Science and
Technology
Department of Chemistry
7491 Trondheim
Norway

Jesús Joglar

Catalonia Institute for Advanced
Chemistry (IQAC) -CSIC.
Group of Biotransformation
and Bioactive Molecules
Jordi Girona 18 – 26
08034 Barcelona
Spain

Ondrej Kaplan

Academy of Sciences of the Czech
Republic
Institute of Microbiology
Center of Biocatalysis and
Biotransformation
142 20 Prague
Czech Republic

Maria H. Katsoura

University of Ioannina
Department of Biological
Applications and Technologies
Laboratory of Biotechnology
45110 Ioannina
Greece

Norbert Klempier

Technische Universität Graz
Institut für Organische Chemie
Stremayrgasse 16
8010 Graz
Austria

Željko Knez

University of Maribor
Faculty of Chemistry and
Chemical Engineering
Laboratory for Separation
Processes and Product Design
Smetanova 17
2000 Maribor
Slovenia

Fragiskos N. Kolisis

National Technical University
of Athens
Chemical Engineering
Department
Biotechnology Laboratory
5 Iroon Polytechniou Str.
Zografou Campus
15700 Athens
Greece

Vladimír Kren

Academy of Sciences of the Czech
Republic
Institute of Microbiology
Center of Biocatalysis and
Biotransformation
142 20 Prague
Czech Republic

Morten Kristensen

Arinco Arla Foods Amba
Mælkevejen 4
6920 Videbæk
Denmark

Marielle Lemaire

Université Blaise Pascal
CNRS
UMR 6504-SEESIB
63177 Aubière Cedex
France

Sergio Martínez-Rodríguez

Departamento de Química-Física
Bioquímica y Química Inorgánica
Edificio CITE I
Carretera de Sacramento S/N
La Cañada de San Urbano
04120 Almería
Spain

Ludmila Martínková

Academy of Sciences of the Czech
Republic
Institute of Microbiology
Center of Biocatalysis and
Biotransformation
142 20 Prague
Czech Republic

Cesar Mateo

Delft University of Technology
Department of Biotechnology
Laboratory of Biocatalysis and Organic
Chemistry
Julianalaan 136
2628 BL Delft
The Netherlands

Marko D. Mihovilovic

Vienna University of Technology
Institute for Applied Synthetic
Chemistry
Getreidemarkt 9
1060 Vienna
Austria

Francesco Molinari

University of Milan
Department of Food Science and
Microbiology
Via Celoria 2
20133 Milan
Italy

Gianluca Molla

Università degli Studi
dell' Insubria
Dipartimento di Biotecnologie e
Scienze Molecolari
Via J. H. Dunant 3
21100 Varese
Italy

Bernd Nidetzky

Graz University of Technology
Institute of Biotechnology and
Biochemical Engineering
Petersgasse 12
8010 Graz
Austria

Gianluca Ottolina

Istituto di Chimica del
Riconoscimento Molecolare CNR
Via Mario Bianco 9
20131 Milano
Italy

Lars Haastrup Pedersen

Aalborg University
Department of Biotechnology
Chemistry and Environmental
Engineering
Sohngårdsholmvej 49
9000 Aalborg
Denmark

Francisco J. Plou

Departamento de Biocatálisis
Instituto de Catálisis y Petroleoquímica
CSIC
Cantoblanco
28049 Madrid
Spain

Loredano Pollegioni

Università degli Studi dell' Insubria
Dipartimento di Biotecnologie e
Scienze Molecolari
Via J. H. Dunant 3
21100 Varese
Italy

Mateja Primožič

University of Maribor
Faculty of Chemistry and Chemical
Engineering
Laboratory for Separation Processes
and Product Design
Smetanova 17
2000 Maribor
Slovenia

Fred van Rantwijk

Delft University of Technology
Department of Biotechnology
Laboratory of Biocatalysis and
Organic Chemistry
Julianalaan 136
2628 BL Delft
The Netherlands

Jean-Louis Reymond

University of Berne
Department of Chemistry and
Biochemistry
Freiestraße 3
3012 Berne
Switzerland

Sinthuwat Ritthitham

Aalborg University
Department of Biotechnology
Chemistry and Environmental
Engineering
Sohngårdsholmvej 49
9000 Aalborg
Denmark

Felipe Rodríguez-Vico

Departamento de Química-Física
Bioquímica y Química Inorgánica
Edificio CITE I
Carretera de Sacramento S/N
La Cañada de San Urbano
04120 Almería
Spain

Diego Romano

University of Milan
Department of Food Science and
Microbiology
Via Celoria 2
20133 Milan
Italy

Francesco Secundo

Istituto di Chimica del
Riconoscimento Molecolare
CNR
Via Mario Bianco 9
20131 Milano
Italy

Stefano Servi

Politecnico di Milano
Dipartimento CMIC 'G. Natta'
Via Mancinelli 7
20131 Milano
Italy

Roger A. Sheldon

Delft University of Technology
Department of Biotechnology
Laboratory of Biocatalysis and Organic
Chemistry
Julianalaan 136
2628 BL Delft
The Netherlands

Agata Spera

Department of Chemistry
Chemical Engineering and Materials
University of L' Aquila
67040 L' Aquila
Italy

Patrizia Spizzo

Università degli Studi di Trieste
Dipartimento di Scienze Farmaceutiche
Laboratory of Applied and
Computational Biocatalysis
Piazzale Europa 1
34127 Trieste
Italia

Georg A. Sprenger

Universität Stuttgart
Institute of Microbiology
Allmandring 31
70569 Stuttgart
Germany

Haralambos Stamatis

University of Ioannina
Department of Biological Applications
and Technologies
Laboratory of Biotechnology
45110 Ioannina
Greece

Davide Tessaro

Politecnico di Milano
Dipartimento CMIC 'G. Natta'
Via Mancinelli 7
20131 Milano
Italy

Eleni Theodosiou

National Technical University of
Athens
Chemical Engineering
Department
Biotechnology Laboratory
5 Iroon Polytechniou Str.
Zografou Campus
15700 Athens
Greece

Malene S. Thomsen

Research Centre Applied
Biocatalysis
Petersgasse 14
8010 Graz
Austria.

Vojtech Vejvoda

Academy of Sciences of the Czech
Republic
Institute of Microbiology
Center of Biocatalysis and
Biotransformation
142 20 Prague
Czech Republic

Margit Winkler

Technische Universität Graz
Institut für Organische Chemie
Stremayrgasse 16
8010 Graz
Austria

Roland Wohlgemuth

Sigma-Aldrich
Research Specialities
Industriestrasse 25
9470 Buchs
Switzerland

目 录

1 生物转化中的荧光检测技术	1
1.1 引言	1
1.2 乙醇脱氢酶 (ADHs) 和醛缩酶	1
1.2.1 手性荧光醇脱氢酶 (ADH) 底物	1
1.2.2 荧光醛缩酶探针	2
1.2.3 转醛醇酶和转酮醇酶	3
1.2.4 烯醇化酶探针	4
1.3 脂肪酶和酯酶	4
1.3.1 固体支持物的检测	5
1.3.2 高碘酸盐的夹子 -O 底物	6
1.3.3 荧光氰醇酯和羟基酮酯	7
1.3.4 荧光乙酰氧基甲基醚类	8
1.3.5 FRET - 脂肪酶探针	9
1.4 其他水解酶类	9
1.4.1 环氧化物水解酶	10
1.4.2 酰胺酶和蛋白酶	11
1.4.3 磷酸酶	12
1.5 拜耳 - 维立格酶 (Baeyer - Villiger 酶)	13
1.6 结论	13
参考文献	14
2 利用固定化技术提高酶的应用	19
2.1 引言	19
2.2 吸附和静电相互作用力	20
2.2.1 范德华相互作用力	20
2.2.2 氢键	23
2.2.3 离子相互作用力	25
2.3 包埋	27
2.4 共价结合/交联	30
2.5 结论	33
参考文献	34

3 表面固定化生物催化剂与连续流微通道反应器	38
3.1 引言	38
3.2 微反应技术中利用游离酶和固定化酶进行生物催化合成反应	39
3.3 新的微流体固定化酶反应器	40
3.3.1 微反应器设计	40
3.3.2 酶的固定化	41
3.4 乳糖的酶法水解	42
3.4.1 固定化细胞的催化效率	42
3.4.2 乳糖的连续转化	43
3.5 利用微反应技术强化生物催化过程	44
3.6 结论和展望	45
参考文献	46
4 非水相溶剂中的蛋白酶活性与稳定性	49
4.1 引言	49
4.2 蛋白酶催化碳水化合物脂肪酸酯合成反应的活性和选择性	50
4.3 酶的稳定性和构象	53
4.4 溶剂工程	57
4.5 结论	57
参考文献	58
5 有机溶剂中酶构型对脂肪酶立体选择性和活性的重要性	61
5.1 引言	61
5.2 纯有机溶剂中脂肪酶形式及其活性和对映选择性	61
5.3 为何在有机溶剂中加入添加剂会影响脂肪酶的活性和对映选择性	66
5.4 结论	69
参考文献	69
6 利用霉菌干菌丝体直接催化酯化反应：一种具有（位置）选择性、条件温和且高效制备结构多样酯的方法	71
6.1 菌丝体及有机介质中的生物转化	71
6.2 微生物及其筛选	71
6.3 醋酸酯的生产	73
6.4 外消旋醇的立体选择性酯化	75
6.5 外消旋羧酸的立体选择性酯化反应	77
6.6 分离现象及酯化的反应平衡	79
6.7 结论	81
参考文献	82