



【奥】 库尔特·法贝尔 著
(Kurt Faber)

吉爱国 等译

5th Edition

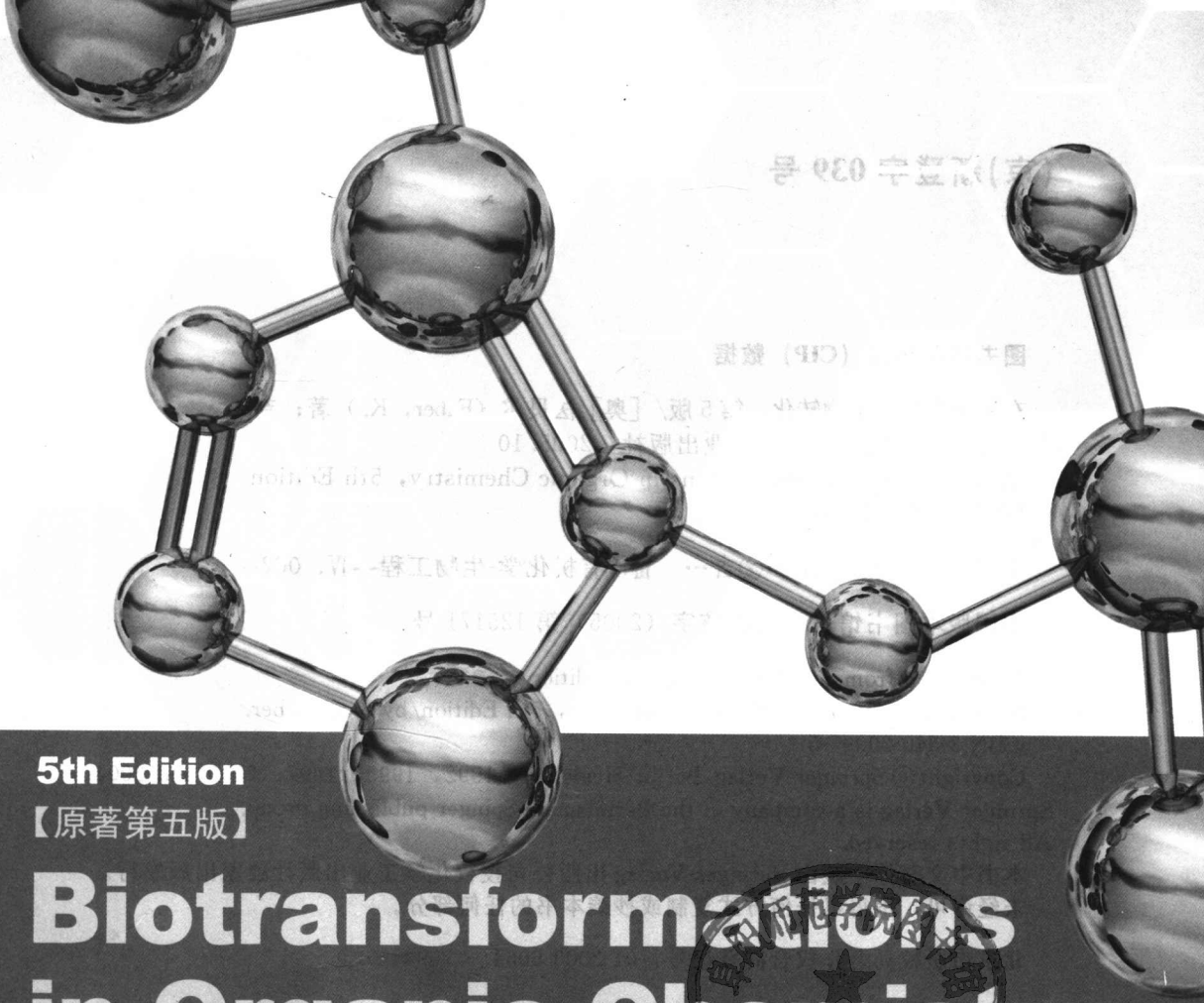
【原著第五版】

Biotransformations in Organic Chemistry

有机化学中的 生物转化



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心



5th Edition

【原著第五版】

Biotransformations in Organic Chemistry

有机化学中的 生物转化

【奥】库尔特·法贝尔 著
(Kurt Faber)

吉爱国 等译



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

有机化学中的生物转化: 第 5 版/ [奥] 法贝尔 (Faber, K.) 著; 吉爱国等译. —北京: 化学工业出版社, 2005. 10

书名原文: Biotransformations in Organic Chemistry, 5th Edition
ISBN 7-5025-7776-9

I. 有… II. ①法…②吉… III. 有机化学-生物工程 IV. 062

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 125171 号

Translation from the English language edition:

Biotransformations in Organic Chemistry, 5th Edition/by Kurt Faber.
ISBN 3-540-20097-5

Copyright © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1992, 1995, 1997, 2000 and 2004
Springer-Verlag is a company in the BertelsmannSpinger publishing group.
All rights reserved.

本书中文简体字版由 Springer-Verlag 出版公司授权化学工业出版社独家出版发行。
未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2003-6064

有机化学中的生物转化

(原著第五版)

[奥] 库尔特·法贝尔 著

吉爱国 等译

责任编辑: 周旭孟 嘉

责任校对: 陈静

封面设计: 胡艳玮

*

化学工业出版社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 18 $\frac{3}{4}$ 字数 416 千字

2006 年 1 月第 1 版 2006 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-7776-9

定 价: 39.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

译者的话

奥地利格拉茨大学有机化学研究所库尔特·法贝尔 (Kurt Faber) 教授编著的《有机化学中的生物转化》堪称是这个领域的经典著作之一, 在有机合成、生物有机化学、生物合成和生物转化、手性化合物 (药物) 制备、立体选择性生物催化以及应用微生物技术等领域产生了广泛的影响。本书自 1992 年由德国 Springer 出版公司出版以来, 在短短的 12 年中已经连续出版到了第五版。

近几十年来, 生物催化剂在有机化学领域中的应用发展非常迅速, 生物合成和生物转化已经成为医药、化学、生物等领域中备受关注的理念和越来越广泛应用的技术手段。诚如作者所说: “将卷帙浩繁的研究成果综合整理成权威性的综述显然是不可能的”, “这本教科书的编纂要旨是为这一领域提供一本简明、精练的导论。”作为一本简明的教材, 本书充分地做到了这一点。这也是本书得以在世界范围内产生重要影响的原因之一。

本书的内容分为引言和背景知识、生物催化剂的应用、专用技术、技术现状与展望以及附录 5 个部分。引言和背景知识部分对生物催化剂进行了深入浅出的精练概括和评述; 生物催化剂的应用部分在本书中所占的篇幅最大, 从 7 个方面对近几十年来生物催化剂在有机合成领域中的应用进行了系统全面的总结; 专用技术部分重点概括了生物催化剂在有机溶剂中的应用、生物催化剂的固定化及酶的修饰和人工模拟, 这些内容是应用酶工程技术领域近几十年来研究的重要成果; 技术现状与展望部分对生物催化剂的现状和未来的发展做了介绍; 附录部分则从实用的角度为读者提供了非常有价值的信息资料。正像本书在国外许多大学和研究机构所发挥的作用一样, 我们希望本书能够成为相关专业研究生和高年级本科生的教学用书及相关实验室里常用的参考书。

本书根据 2004 年最新出版的原著第五版译出。由于译者专业背景的差异和水平的限制, 书中可能会存在翻译不当甚至错误的地方, 我们诚恳地希望读者与我们交流, 指出我们的缺点和错误, 以便使这部著名的教材以一流的质量在我国生物合成和生物转化领域发挥应有的重要作用。

吉爱国
2005 年 11 月
于山东大学

前言

天然催化剂——酶——用于人工合成的非天然有机化合物的生物转化已不是全新的技术。这类催化剂已经以完整细胞、细胞器或游离酶的形式使用了 100 多年^[1,2]。当然，大多数早期研究的目标与今天全然不同。几十年前的研究目标主要是阐明生化途径和酶的作用机理。20 世纪 80 年代，人们才深刻认识到天然催化剂用于转化非天然有机化合物的巨大潜力。在 20 世纪 70 年代末作为一种趋势开始的探讨，到了 90 年代已经成为合成有机化学的时尚。虽然这一领域“淘金热”期间的陶醉感看来已经有些减弱，但是这一方法的前景仍是不可限量的。据估计，近期已发表了 13000 篇关于这一主题的研究论文。将如此卷帙浩繁的研究成果综合整理成权威性的综述显然是不可能的。而且，即便是能够编写成这样的著作，也不合非专业人员的口味^[3~7]。

这本教科书的编纂要旨是为这一领域提供一本简明、精练的导论。本书是从有机化学家的角度编写的，以便鼓励任何水平的“纯”有机化学家鼓足勇气越过生物化学和经典有机化学之间的鸿沟，使他们在计划合成重要目标分子时将生物化学方法作为附加的工具。在若干学术研究机构，这本书已经被用做必须将生物化学方法与有机化学方法相结合的向导，以更新陈旧的有机化学课程。经典合成方法的庞大贮备尚没有发生根本性的变化，但是由于生物化学方法的出现，它已经被显著地拓宽和丰富了。应用生物催化方法进行对映纯化合物不对称合成的论文比例已从 1970 年的 0% 稳定地增加到 1989 年的 8%^[8]，这一事实充分说明了这一变化。可以估计，这一比例现在已经增加到 15%。当然，一般说来生物化学方法并非更加优越，它们不是万能的灵药，但是它们肯定为现代合成的有机化学方法补充了强有力的合成工具。

在本书中，在许多情况下已经对有机化学产生显著影响的生物转化新发展的主流被放在前面。拥有巨大潜力但仍需证明其可靠性的其他内容叙述得更加简要。本书第五版引用的参考文献扩展到 2002 年底。然而，在接受新出现的概念的同时也特别引用了某些非常老的论文。参考文献是基于“更多不一定更好”这一哲学理念选用的。总之，我尽力从卷帙浩繁的资料中选出最有用的参考文献，以避免写成一本电话号码簿式的书！因此特别重视综述和书籍，这在每一章的前几段中经常提

及，以帮助读者迅速进入想要了解的专门领域。

本书的第一版于1992年9月面世，主要是作为专著编写的。由于此书不仅被这一领域的研究人员接受，而且也在若干所大学用做生物转化课程的基本教材，所以1995年全新改版的第二版把重点放在了教育方面，以便为这一领域提供第一本教科书。它的巨大成功使得本书在两年之内就被要求更新再版。第四版不仅重新整合了引用的文献资料，而且重点突出了本领域的新趋势和新进展。在这种延续过程中，新技术——动力学拆分 (dynamic resolution)、立体转置 (stereo-inversion) 和对映体收敛过程 (enantioconvergent processes) 都被收录到本教材中。此外，还增加了关于酶催化过氧化反应章节和某些有关处理生物催化剂的规则。

此外，我在世界各地几所大学和研究机构教授生物转化技术应用时不断增加的教学经验使我能够在第五版中修订本教材，以有助于对相关原理更深刻的理解，更不用说纠正先前的版本中从我的注意中逃脱的谬误了。感谢许多我叫不出名字的学生指出了这些谬误和提出的问题。

我对 Stanley M. Rorberts (英国) 在校对本书以前版本书稿时所承担的辛勤工作及所提出的许多意见和评论表示深深的感激之情。特别感谢 W.-D. Fessner、M. Pietzsch (德国)、J. G. T. Kierkels (荷兰)、J.-E. Bäckvall (瑞典)、D. V. Johnson 和 W. Kroutil (格拉茨) 的有益提示和讨论。

我将诚恳地欢迎读者的评论、建议和批评，并在今后的版本中加以采纳。

库尔特·法贝尔 (Kurt Faber)

格拉茨，2003年12月

<KURT.FABER@UNI-GRAZ.AT>

<HTTP://BORG185.KFUNIGRAZ.AC.AT>

(吉爱国 翻译)

目 录

1 引言和背景知识	1
1.1 引言	1
1.2 常见的对酶的偏见	2
1.3 生物催化剂的优势和劣势	3
1.3.1 生物催化剂的优势	3
1.3.2 生物催化剂的劣势	5
1.3.3 游离酶与完整细胞系统的对比	6
1.4 酶的性质和命名	8
1.4.1 机理方面	8
1.4.2 分类和命名	13
1.4.3 辅酶	15
1.4.4 酶的来源	16
参考文献	16
2 生物催化的应用	19
2.1 水解反应	19
2.1.1 机理和动力学	19
2.1.2 酰胺键的水解	33
2.1.3 酯的水解	40
2.1.4 磷酸酯的水解和形成	76
2.1.5 环氧化物的水解	83
2.1.6 腓的水解	91
参考文献	97
2.2 还原反应	111
2.2.1 辅因子的再循环	111
2.2.2 用游离酶进行的醛和酮的还原反应	115
2.2.3 利用完整细胞进行的醛和酮的还原反应	120

2.2.4	利用完整细胞进行的 C=C 双键的还原反应	128
	参考文献	132
2.3	氧化反应	138
2.3.1	醇和醛的氧化反应	138
2.3.2	氧合反应	141
2.3.3	过氧化反应	159
	参考文献	164
2.4	碳碳键的形成	171
2.4.1	醇醛缩合反应	171
2.4.2	偶姻及苯偶姻反应	180
2.4.3	Michael 型加成反应	182
	参考文献	183
2.5	加成反应和消除反应	186
2.5.1	氰醇的合成	186
2.5.2	水和氨的加成反应	189
	参考文献	190
2.6	糖基转移反应	192
2.6.1	糖基转移酶	192
2.6.2	糖苷酶	194
	参考文献	199
2.7	卤化反应和脱卤反应	201
2.7.1	卤化反应	201
2.7.2	脱卤反应	204
	参考文献	207
3	专用技术	209
3.1	有机溶剂中的酶	209
3.1.1	酯的合成	215
3.1.2	内酯的合成	228
3.1.3	酰胺的合成	229
3.1.4	多肽的合成	231
3.1.5	过酸的合成	235
3.1.6	氧化还原反应	236
3.1.7	介质工程	237
3.2	固定化	240
3.2.1	吸附	240
3.2.2	离子结合法	240
3.2.3	共价附着	241
3.2.4	交联	243
3.2.5	凝胶包埋法	243

3.2.6 膜间隔包埋法	244
3.3 修饰酶和人工酶	249
3.3.1 修饰酶	249
3.3.2 半合成酶	252
3.3.3 催化性抗体	253
参考文献	256
4 技术现状与展望	265
参考文献	269
5 附录	270
5.1 使用生物催化剂的基本规则	270
5.1.1 安全性	270
5.1.2 酶稳定性的保持	271
5.2 缩略语	273
5.3 酶的供应商	275
5.4 常用的酶制剂	276
5.5 主要的培养物保藏机构	279
5.6 致病细菌和真菌	280
索引	282

1

引言和背景知识

1.1 引言

任何使用和传授经典有机化学的人们在考虑用生物化学方法解决他们的合成问题时或许都会迟疑不决。这在很多情况下可能是由于不得不处理生物系统。当涉及微生物生长和保持的整个过程时，这样的犹豫是合乎情理的。为了避免无端的挫折，人们极力主张与生物化学家密切合作去建立和使用发酵系统^[1,2]。另一方面，可以像使用任何其他化学催化剂一样处理游离酶^[3]，这些酶可以日益方便地以粗提取物或部分纯化的形式从市场上买到。与经典有机反应的全部技能相比生化反应十分复杂，因此所有的方法都会具有强烈的经验色彩。这种暗箱方式不会使科学的纯粹主义者完全满意，但是由于有机化学家更注重实用，他们会认为理解生物化学反应的机理并不是生物转化的成功所必不可少的^[4]。换句话说，如果生物化学反应的有用性已经肯定，对其缺乏理解绝不会阻止我们去使用它们。当然，拥有生物化学的基本知识尤其是酶学知识无疑是很有帮助的。

1.2 常见的对酶的偏见

如果将酶用于非天然有机化合物的生物转化，人们通常会遇到下列偏见。

(1) “酶是不稳定的”

如果在水中煮沸，多数的酶肯定会失活。但是多数有机试剂也会如此，如丁基锂。如果采取一定的保护措施，酶是相当稳定的。有些酶甚至能够耐受极端环境，如 100℃ 以上的高温和几百巴^①以上的大气压^[5~7]。

(2) “酶价格昂贵”

有些酶价格昂贵，而有些酶如果以适当的规模生产则很便宜。考虑到与化学催化剂相比酶具有更高的催化能力，即便是需要使用相当贵的酶，酶催化过程的总效率也会更好。此外，如果经过固定化，酶还可以重复使用。应当强调的是，对于多数化学反应，以较低成本制备的粗酶就能够满足需要。

(3) “酶只对其天然底物有活性”

这种说法对某些酶来说是对的，但是对大多数酶来说则完全错了。多数关于生物转化的早期研究被一种默然接受的传统生物化学教条所阻碍，这种教条认为“酶是自然界在进化过程中为代谢途径的调节发展形成的自己的催化剂”。这种狭隘的定义暗示人造的有机化合物不能用做酶的底物。一旦克服了这种学究式的问题^[8]，人们就会转而认识到事实上大自然自身经过 3 亿年发展形成的奇特催化剂并非只是为它们的天然目标分子设计的。过去 20 多年的研究已经表明许多酶的底物耐受性比先前认为的要宽得多。许多酶能够接受并转化与其天然底物结构无关的非天然底物，并经常表现出与天然底物同样高的专一性。酶的作用机制越复杂，对“外来”底物接受能力的限制就越窄，这似乎是一个普遍的趋势。一个显著的奇怪现象是许多酶对特殊类型的反应表现出高的专一性，所能够接受的底物结构的范围却相当宽泛。毕竟，有许多酶的天然底物——如果有的话——是未知的。

(4) “酶只在其天然环境中才起作用”

一般来说酶在水中表现其最高的催化能力，如果这就是需要选择的溶剂，则对有机化学家来说是一件可怕的事。然而，只要遵循一定的规则，生物催化剂能够在有机溶剂中发挥作用。只是在十几年以前才提出了一些在有机介质中进行生物转化的关键规则。虽然在这样的环境中生物催化剂的活性通常较低，但是产生了许多其他的有利因素，因而使得许多过程更加有效（见 3.1 节）^[9~13]。

^① 1 bar = 10⁵ Pa，几百巴约为几千万帕斯卡。——编者注

1.3 生物催化剂的优势和劣势

1.3.1 生物催化剂的优势

(1) 酶是非常有效的催化剂

典型的情况下，与相应的非酶促反应相比，酶介导过程的速率提高 $10^8 \sim 10^{10}$ 倍，有时甚至超过 10^{12} 倍。这大大超过了化学催化剂所能达到的催化能力^[14]。所以，化学催化剂使用的摩尔分数在 $0.1\% \sim 1\%$ ，而多数的酶催化反应能够在 $10^{-3}\% \sim 10^{-4}\%$ 的催化剂摩尔分数下以相当高的速率进行，生物催化剂的催化效率显然要高出几个数量级。

(2) 酶是环境可接受的

例如，与重金属不同，生物催化剂是环境友好的试剂，因为其可以被完全降解。

(3) 酶在温和条件下作用

酶在大约 pH 5~8 的范围内发挥作用，典型的是在 pH 7 左右；酶促反应温度在 $20 \sim 40^\circ\text{C}$ 的范围，最适温度一般在 30°C 左右。这大大减轻了传统方法中棘手的副反应难题，诸如分解、异构化、外消旋化和重排等。

(4) 酶是彼此相容的^[15]

因为酶一般在相同或相似的条件作用下作用，所以几个生物催化反应可以在一个烧瓶中进行。因而，几个顺序进行的反应能够使用多酶系统实施，以简化反应过程。尤其是可以省去不稳定中间体分离操作。此外，通过连接两个连续酶催化步骤可以使不利的反应平衡向理想产物的方向移动。

(5) 酶的催化作用不局限于其天然底物和环境

酶表现出高度的底物耐受性，可以接受大量各种各样的人造非天然物质，而且经常并不要求在水环境中作用。如果对工艺过程有利，水介质经常可以用有机溶剂代替（见 3.1 节）。

(6) 酶可以催化多种类型的反应

同所有催化剂一样，酶只能够加速一个反应，但是不影响反应的热力学平衡的位置。因而，从原理上讲，某些酶催化的反应在两个方向上都能够进行。

对于每一种有机反应类型，几乎都有相应的酶催化过程^[16]。例如：

① 酯^[17]、酰胺^[18]、内酯^[19]、内酰胺^[20]、醚^[21]、酸酐^[22]、环氧化物^[23]和腈^[24]的水解-合成。

② 烷^[25]、烯^[26]、芳香化合物^[27]、醇^[28]、醛和酮^[29,30]、硫化物和亚砷^[31]的氧化还原反应。

③ 水^[32]、氨^[33]、氰化氢^[34]的加成-消除反应。

④ 卤化和脱卤反应^[35]，烷基化和脱烷基化反应^[36]，羧基化^[37]和脱羧基化作用^[38]，异构化反应^[39]、偶姻^[40]和羟醛反应^[41]。甚至米氏加成反应^[42]和狄尔斯-阿尔德 (Diels-Alder) 反应^[43~45]也有报道。

自然界中没有发现的平衡反应类型主要有 Cope 重排 (rearrangement) 反应, 虽然^[3,3]- σ 移位重排 (sigmatropic rearrangement) 反应如 Claisen 重排反应是已知的^[46,47]。另一方面, 某些生物催化剂能够完成有机化学难以实现的反应, 例如有机分子表现非活化位置的选择性功能化, 如脂肪族化合物的羟基化。

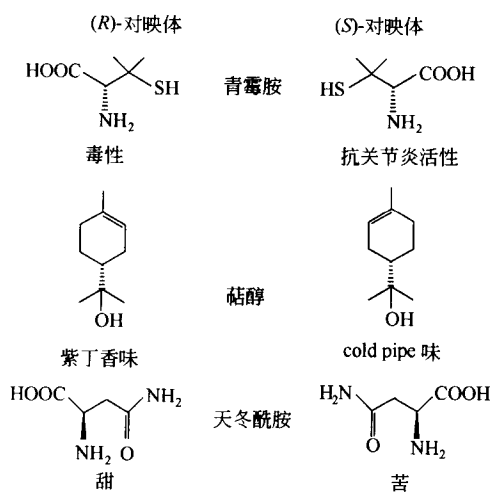
酶的高度选择性主要有 3 种类型:

① 化学选择性。由于酶的目的是作用于单一类型的功能基团上, 正常情况下在化学催化中将在一定程度上发生反应的其他敏感的官能团被保留下来, 不发生变化。结果, 反应一般说来“更加清洁”, 从副反应产生的杂质中纯化产品的繁重工作可以大大减轻。

② 区域选择性和非对映体选择性。由于其复杂的三维结构, 酶可以辨别位于同一底物分子中在化学上处于不同位置的功能基团^[48,49]。

③ 对映体选择性。最后但并不是最不重要的, 所有的酶都是由 L-氨基酸组成的, 因而是手性催化剂^[50]。因此, 底物分子中存在的任何手性都可以通过形成酶-底物复合物而被“识别”。因而, 前手性底物可以通过去对称性反应过程转化成光学活性产物, 而外消旋底物的两种对映异构体通常可以以不同的速率反应, 实现动力学拆分。

后面这些性质合起来构成了酶的“专一性”, 这是酶在选择性和不对称开发反面最重要的特性^[51]。早在 1898 年 E. Fisher 就认识到了这一关键特性^[52]!



图解 1.1 对映体的生物学效应

在有机体内发生的所有主要的生物化学事件都是由酶控制的。由于它们大多数对底物的手性具有高度选择性, 显然给定的生物活性化合物的对映异构体 (如药物和农业化学品) 会产生不同的生物学效应^[53]。所以, 对映异构体必须看做两种不同的物质。具有最高活性的异构体称为“优构体” (eutomer), 而具有较低活性甚至不需要的活性的对映异构体定义为“劣构体” (distomer)。劣构体产生的作用范围包括较低活性 (虽然是需要的)、没有活性或者毒性。两种对映体的活性比定义为“优劣比” (eudismic ratio)。

图解 1.1 列举了一些不同生物学效应的代表性例子。

“沙利度胺” (Thalidomide, 反应停) 或许是药物劣构体造成严重副作用的最著名的悲剧性例证。这种化合物在 20 世纪 60 年代以外消旋体的形式给药。当时不知道该化合物的 (R)-对映体具有镇静作用, 而 (S)-对映体则是高度致畸的^[54,55]。

因此, 对药物和农用化学品的外消旋体应持怀疑态度。令人惊讶的是, 1990 年市场上销售的 537 种手性合成药物中有 89% 是以外消旋体的形式销售, 而杀虫剂领域的状况则更糟 (外消旋体占 480 种手性剂的 92%)^[56,57]。虽然由于经济上的原因目前多数生物活性剂仍以外消旋体的形式使用, 但是迫于法律压力的增大, 这种

状况正在改变^[58]。在 1992 年，美国食品药品监督管理局（FDA）正式通过了一项关于制药公司是能够以外消旋体混合物的形式销售手性化合物还是必须将其开发成单一的对映体的搁置已久的政策^[59,60]。按照这些规则，虽然不禁止开发外消旋体药物，但是这类药物将必须经过在用单一对映异构体分别进行的试验的基础上进行的严格的评价才能获得批准。因此，大多数制药公司已经决定在可行的情况下优先开发单一的对映体，而不是外消旋体。对于农用化学品，情况明摆着：环境主义的目前社会趋势是促成使用对映体纯化合物。总的来说，这已经导致了对对映体纯化合物需求的增加^[61,62]。

遗憾的是，不足 10% 的有机化合物能够以单一的聚集形式结晶（剩余物形成外消旋晶体），所以大多数不能够通过简单的结晶技术进行对映异构体的分离，例如向外消旋体过饱和溶液中加入一种纯对映体晶种诱导这种对映异构体结晶析出。

不对称合成的原理^[63]是以催化量或有时以化学计量使用对映体纯的辅助试剂。这通常是昂贵的，而且在许多情况下难以回收。

相似地，使用对映体纯化合物作为原料进行合成也有其局限性，这些被称作“手性池”（chiral pool）的原料是从大量对映体纯天然化合物中^[64]选择出来的，如糖类、氨基酸、萜类或甾体等。根据 1984 年的调查^[65]，只有 10%~20% 的化合物能够以可以接受的价格（每千克 100~250 美元）通过手性池获得。考虑到上述各种获得对映体纯化合物的方法存在的问题，酶法在精细化学品不对称合成中显然是现行方法之外有价值的新途径^[66]。

1.3.2 生物催化剂的劣势

对于准备使用生物催化剂的化学家来说，生物催化剂的某些缺点肯定也需要说明。

(1) 天然的酶只能形成一种对映异构体

因为没有从 D-氨基酸创造与天然的酶相对应的酶的通用途径，通过选择生物催化剂的“其他对映体”反转给定酶促反应的手性诱导作用是不可能的。这对手性化学催化剂是一种可能的策略。为了获得另外的对映体产物，人们不得不过长期的努力去寻找具有相反立体化学选择性的酶。不过这有时是可能的。

(2) 酶要求的操作参数较窄

在温和反应条件下工作的显著优势有时会走向反面。如果一个反应在给定的温度或 pH 参数下只能缓慢进行，则只有狭窄的改变空间。升高温度以及极端的 pH 会像高盐浓度那样导致蛋白质失活。通过降低反应温度以使选择性提高的常用技术对酶促转化没有多少用处。酶的狭窄的操作温度范围阻止随意的改变，虽然有报道说某些小的变化会产生正效应^[67]。令人相当惊讶的是，某些酶甚至在冰里仍保持催化活力^[68,69]。

(3) 酶在水中才能表现出最高的催化活性

由于其高沸点和高蒸发热，对多数有机反应水是最不理想的溶剂。而且，多数有机化合物在水介质中的溶解度很差。因而将酶催化反应从水介质移至有机介质是

非常理想的。但是，人们通常不得不付出的代价是损失部分酶活力，经常是一个数量级^[70]。

(4) 酶受制于其天然辅因子

这仍然是一个没有答案的悖论，虽然酶对于接受非天然底物来说是极为可行的，但是它们几乎都受制于其天然辅因子，这些辅因子用做氧化还原等价物的载体，如 NAD(P)H 或化学能 (ATP)。这些“生物试剂”的大多数是相当不稳定的分子，并且价格昂贵，以至于不能够以化学计量的量使用。遗憾的是，它们不能够用更经济的人工制造的替代物取代。尽管已经取得了给人印象深刻的进步，但是辅因子的循环再生仍然是一项具有重要意义任务 (见 2.1.4 和 2.2.1)。

(5) 酶的活性常会受到抑制

许多酶催化反应有底物或产物抑制的倾向，即在较高的底物和/或产物浓度下造成酶停止工作。这是一个限制工艺效率的因素^[71]。底物抑制作用能够通过连续加料将底物浓度保持在较低的水平相对容易地解决，而产物抑制则是一个更复杂的问题。同在反应过程中应用其他连续步骤以便将产物在原位进行化学移除一样，用物理方法将产物逐渐移出一般也是困难的。

(6) 酶会引起过敏反应

酶会引起过敏反应。然而，如果将酶视做化学品并同样小心地对待，这种影响会降低到最小。

1.3.3 游离酶与完整细胞系统的对比

用于生物转化的生物催化剂的物理状态可以是多种多样的。使用或多或少经过纯化的分离的酶还是完整的微生物细胞，是以游离的形式还是以固定化的形式使用，取决于许多因素：反应的类型、是否需要循环利用辅因子以及生物转化必须实施的规模。这些系统的一般优缺点概括于表 1.1。

表 1.1 使用分离酶与完整细胞系统的优缺点

生物催化剂	形式	优点	缺点
分离酶	任何	装置简单,后处理简单,因耐受高浓度而产率更好	需要辅因子循环
	溶于水	高酶活	可能有副反应,亲脂性底物难溶,后处理需萃取
	悬浮于有机溶剂	易于操作,易于后处理,亲脂性底物可溶,酶易于回收	活性低
	固定化	酶易于回收	固定化时有酶活力损失
完整细胞	任何	不需辅因子循环	设备昂贵,因量大后处理冗繁,因耐受浓度较低使产率低,有机溶剂耐受性差,因代谢难控制可能多副反应
	生长培养物	活力更高	生物量大,副产物多,过程难控制
	休止细胞	后处理容易,副产物少	活力较低
	固定化细胞	细胞可重复利用	活力较低

综合生物化学、微生物学和生化工程形成的生物技术已经用生活细胞从廉价的碳源 (如糖)、复合盐开发出了大量特殊化学品生产技术 (从氨基酸到青霉

素)。这种需要多个生物化学步骤的合成通常称为“发酵”工艺，这是由于重新构成了生物学意义上的合成。相反，多数微生物介导的生物转化经常以相当复杂的有机化合物为原料，只通过一步（或几步）生化合成步骤利用（或有点是“滥用”）微生物酶潜力将非天然有机化合物转变为需要的产物。经常用“酶作用”将这些涉及多种酶的工艺过程与典型的发酵区分开来。“发酵”和“酶作用”的特性概括于表 1.2。

表 1.2 “发酵”和“酶作用”的特性

项 目	酶作用	发 酵	项 目	酶作用	发 酵
微生物	休止细胞	生长细胞	产物	天然或非天然的	只有天然的
反应类型	短,催化	长,生命过程	浓度耐受	高	低
反应步骤	少	多	产物分离	容易	冗长
酶活数量	少	多	副产物	少	多
原料	底物	C 源+N 源			

1.4 酶的性质和命名

酶的聚酰胺链保持在自由能 (ΔG) 最低^[72]的三维结构。这主要是由其初级结构的序列决定的^[73]。对有机化学家来说,这可以比做一个线团。由于自然界的水环境,诸如 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 等亲水的极性基团主要位于酶的外表面以便水化,芳香基团和烷基等亲脂性取代基则被埋在里面,所以酶的表面覆盖着一层水,结合紧密,不能通过冷冻干燥除去。这种约占冻干酶总质量5%~10%的残留水称做“结构水”^[74]。结构水通过氢键紧密地结合在蛋白质的表面,是酶分子的重要组成部分,对于保持酶的三维结构和活性是必需的。这样,结构水的物理状态与周围溶液中的“大量水”显著不同。“结合水”的旋转非常受限,不能因冰冻而自由地重新取向^[75]。酶的彻底干燥(如用化学法)将迫使酶分子改变其构象而导致活性丧失。大量相对弱的结合力,如范德华脂肪链相互作用^[76]、芳香单元的 π - π 共轭或分子的带电部分间的盐桥^[77],可以使整个结构稳定。除了主要的聚酰胺骨架以外,唯一的共价键是 $-\text{S}-\text{S}-$ (二硫键)二硫桥。这样一来,酶可以描绘成具有精致的和柔软的像水母一样的结构。酶在溶液中本质上是不稳定的,能够因升高温度、极端pH或不适宜的电介质环境(如高盐浓度)引起的变性失活。

导致酶失活的反应类型如下^[78]:

① 在40~50℃(由于部分折叠展开)引发的肽链重排。这些重排多数是可逆的,因此相对无害。

② 在温度升高时发生的骨架肽键的水解,尤其是在天冬酰胺单元附近。氨基酸的官能团能够水解性地裂开,也是在毗邻天冬酰胺和谷酰胺残基的位置特别容易发生,分别形成天冬氨酸和谷氨酸。如甘氨酸那样的有利于环状中间体形成的邻近基团的存在对这两种反应机制都是有利的。因而,从酶分子的中性基团(如 $-\text{CONH}_2$)产生了负电荷(即 $-\text{COO}^-$)。为了形成水合物,这种新产生的羧基部分被推向蛋白质的表面,从而引起了酶结构的重排。所有这些反应都伴随着不可逆的失活。

③ 巯基与 $-\text{S}-\text{S}-$ 二硫桥互换,导致酶分子内的共价修饰。

④ 消除和氧化反应(经常涉及胱氨酸残基)最终引起蛋白质的结构破坏。

来自嗜热微生物的热稳定性酶表现出惊人的耐受60~70℃高温的操作极限,其初级结构与来自嗜常温微生物的酶相比只有不大的变化^[79]。这些酶的三维结构与来自嗜常温微生物的酶经常是一样的^[80],但是它们一般含有较少的天冬酰胺残基和较多的盐桥或二硫桥。最近,已经通过基因工程得到了大量的(热)稳定的突变的酶。增加蛋白质热稳定性与增强对有机溶剂的耐受性一起来处理已成为常见的现象。

1.4.1 机理方面

为了理解酶催化作用,已提出了许多理论和基本原理。这里讨论对有机化学家来说最能说明问题的模型^[81~83]。