Chinese Journal of Catalysis

Vol. 31 No. 2

文章编号: 0253-9837(2010)02-0195-05

DOI: 10.3724/SP.J.1088.2010.90801

研究论文: 195~199

# 类球红杆菌羰基还原酶不对称催化还原性能与底物结构的关系

# 王梦亮, 闫甫昆

山西大学应用化学研究所,山西太原 030006

**摘要:** 将类球红杆菌(*Rhodobacter sphaeroides*)全细胞及其分离得到的羰基还原酶用于不对称催化还原多种潜手性酮类化合物, 通过比较产物的收率、ee 值、酶活力以及酶学动力学常数*K*<sub>m</sub>,探讨了类球红杆菌的催化还原性质与底物结构的关系.结果表明, 对于类球红杆菌全细胞不对称催化还原苯乙酮衍生物,产物 ee 值的变化遵循 Prelg 规则,产物收率与底物苯环及侧链上取代基 团的性质有关;对于脂肪酮催化还原,产物收率随底物链长的增加和分子量的增大而降低,随支链数目的增加而升高,产物 ee 值 的变化也遵循 Prelg 规则.利用羰基还原酶不对称催化还原潜手性酮类化合物发现,对于芳香酮类化合物,酶对α位为强电负性 基团的底物专一性较强;对于脂肪酮类化合物,酶对五碳脂肪酮的专一性较高.利用酶直接催化还原反应产物的 ee 值均为 99% 左右,表明酶较全细胞有更高的立体选择性.

# Relationship between Catalytic Asymmetric Reduction Ability of Carbonyl Reductase of *Rhodobacter sphaeroides* and Substrate Structure

## WANG Mengliang<sup>\*</sup>, YAN Fukun

Institute of Applied Chemistry, Shanxi University, Taiyuan 030006, Shanxi, China

Abstract: The asymmetric reduction of ketones catalyzed by whole cells or carbonyl reductase of *Rhodobacter sphaeroides* was studied. The relationship between catalytic ability of *Rhodobacter sphaeroides* and the structure of substrates was determined by evaluating the yields, ee value, enzyme activity, and kinetic constant ( $K_m$  value) of enzyme. The ee value followed the Prelg rule. The yield was related to the substitution on the benzene ring and side-chain of acetophenone derivatives. The yield decreased with increasing length of the chain and molecular mass of the substrates but was enhanced with the increase of the number of branched-chains for aliphatic ketones. The results of asymmetric reduction of latent chiral ketones by carbonyl reductase showed that the enzyme had a high specificity for pentanone in aliphatic ketones and for the acetophenone derivates that contained a withdrawing group at  $\alpha$ -position. In the enzyme-catalyzed asymmetric hydrogenation, all the product ee values were around 99%, indicating that the carbonyl reductase had higher stereoselectivity than the whole cells.

Key words: *Rhodobacter sphaeroides*; biocatalysis; carbonyl reductase; acetophenone; derivative; aliphatic ketone; structure-activity relationship

利用生物转化技术进行不对称合成越来越受到 人们的关注,尤其在药物中间体合成领域<sup>[1]</sup>.目前,人 们主要利用酵母菌、蓝藻<sup>[2]</sup>、植物细胞和一些真菌 类微生物对较为单一模式的底物进行研究.杨忠华 等<sup>[3]</sup>研究了酵母细胞催化四氯乙酰乙酸乙酯(COBE) 和苯乙酮的反应.通过对单一模式底物的研究,已经 在一定程度上阐明了生物催化的最适条件<sup>[4,5]</sup>,包括 pH值、温度、底物浓度和反应时间等.但有关生物 催化剂性能与底物结构之间关系的研究较少.尽管 生物催化剂在合成手性化合物方面具有较大的优势 和广泛的底物适用性,但在催化结构不同的底物时 反应结果差别较大.因此,阐明生物催化剂性能与底 物结构之间的关系,可以避免尝试盲目的催化反应, 为实验研究和工业化生产选择理想的生物催化剂奠

收稿日期: 2009-08-10.

联系人: 王梦亮. Tel: (0351)7016101; Fax: (0351)7016048; E-mail: mlwang@sxu.edu.cn 基金来源: 山西省科委攻关项目 (051039-4).

定基础.

本文采用一株能进行不放氧光合作用的类球红 杆菌(*Rhodobacter sphaeroides*)直接利用光能催化潜 手性酮生成手性醇.该菌株对底物的还原为亲核反 应,它借助于自身的羰基还原酶,在还原过程中有烟 酰胺腺嘌呤二核苷酸(还原型辅酶 II,NADPH)的参 与(图式1).NADPH在光能的作用下可以在类球红 杆菌内部再生,在再生过程中 NADPH 被氧化为 NADP<sup>+</sup>时释放出负氢离子,后者在羰基还原酶的作 用下进攻酮羰基的碳正离子,从而还原底物.本文在 此机理的基础上,研究了类球红杆菌的催化能力与 潜手性酮底物结构之间的关系.

## 1 实验部分

#### 1.1 羰基还原酶的分离纯化与活力的测定

类球红杆菌羰基还原酶的分离纯化见文献 [6]. 在磷酸缓冲液 (50 mmol/L, pH = 8) 中加入 10 g湿 菌体,再加入 10 mmol/L 苯甲基磺酰氟 (PMSF,北 京欣经科生物技术公司) 抑制蛋白酶的活性. 超声 波破碎 15 min (工作 3 s,间歇 5 s),12 000 r/min 离 心 20 min 除去细胞碎片,收集上层清液.向上层清 液中加入硫酸铵溶液至终浓度为 30%,缓慢搅拌至 沉淀,以 15 000 r/min 于 4 ℃ 离心 30 min,收集上层 清液,继续加硫酸铵至 40%,50%,60% 和 80% 分级 沉淀.取 60% 饱和度的盐析沉淀,溶于磷酸盐缓冲 液中,再用同样的磷酸缓冲液透析 12 h,脱去酶液中 大量的硫酸铵. 获得的粗酶液用 DEAE-Sephadex A-25 柱 (瑞典, Pharmacia Fine Chemical AB 公司) 进行阴离子交换层析,首先以磷酸缓冲液平衡层析 柱,再用 0.05~0.5 mol/L 的 NaCl 洗脱(流速4 ml/min),收集活性蛋白,透析过夜得到纯酶.

以 4'-氯苯乙酮为底物, 通过测定酶反应过程中 紫外光谱 340 nm 处吸光度的变化来确定羰基还原 酶的活力.测定酶活力的标准条件为:总反应液体 积为 1 ml,含有 1 mmol/L 的 NADPH (Roche 公司)、 2.5 mmol/L 的 4'-氯苯乙酮、50 μl 酶液和 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 值为 8), 30 °C 水浴恒温 2 min. 酶 活力 U 的计算公式为 U = EW × V × 10<sup>3</sup>/(6220 × 1), 式中, EW 为 1 min 内 340 nm 处吸光度的变化, V 为 反 应 液 的 体 积 (ml), 6220 为 摩 尔 消 光 系 数 (L/(mol·cm)), 1 为光程距离 (cm). 在上述条件下 1 min 内催化氧化 1 μmol NADPH 所需的酶量定义为 1 个酶活力单位.

### 1.2 全细胞催化不对称还原反应

在 250 ml 三角瓶中加入 pH = 7.0 的磷酸缓冲 液 (0.1 mol/L) 100 ml 和 17 mmol/L 的底物,在 30 °C 下于 150 r/min 振荡培养 24 h. 反应结束后,将反 应液以 4 000 r/min 离心,留取上清液,然后加入 NH<sub>4</sub>Cl 至饱和,再用 8 ml 乙醚萃取两次,合并萃取 液,用无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥后,减压蒸馏得到产物.

利用硼氢化钠还原得到标准品.利用核磁共振 仪(Bruker DKX300型)与红外分光光度计(日本岛 津公司 FTIR8400S型)对产物结构进行鉴定.用 GC-7900型气相色谱仪(上海天美科学仪器有限公 司)及WZZ-1型自动指示旋光仪(上海物理光学仪 器厂)测定产物的光学收率,确定出峰时间.使用



Scheme 1. Reaction mechanism of ketone reduction catalyzed by *Rhodobacter sphaeroides*.

FID 检测器, 安捷伦 CP Chirasil-DEX 手性柱 (25 m× 0.25 mm), 柱前压为 0.2 MPa, 进样器温度为 250 °C, 检测器温度为250℃,载气为N<sub>2</sub>,进样量为0.3 μl.苯 丙酮:程序升温,柱温 150 ℃ 维持 1 min,再以 30 °C/min的速率升至180°C,维持2min; 4-硝基苯乙酮: 恒温165°C,维持10min;对氯苯乙酮、对氟苯乙酮、 对溴苯乙酮、α-溴代苯乙酮、α-氯代苯乙酮和对甲 基苯乙酮: 柱温 160 °C 维持 1 min, 再以 15 °C/min 的 速率升至180℃,维持2min;对甲氧基苯乙酮:160 °C维持2min,再以2°C/min的速率升温到180°C,维 持2min; 对羟基苯乙酮和对氨基苯乙酮: 140℃维 持1min,再以1℃/min的速率升温到165℃,维持2 min; 2-戊酮、2-己酮、4-甲基-3-戊酮、4-甲基-2-戊 酮、3-甲基-2-戊酮、甲基叔丁基(甲)酮和3-己酮:恒 温150°C,维持7min; 2-庚酮、2-辛酮和2-壬酮: 恒温 160°C,维持10min(以上试剂均为国产分析纯试剂).

## 1.3 反应液中类胡萝卜素光密度值的测定

将全细胞反应完毕的反应液离心收集上层清液, 用 10 ml 石油醚对上清液进行萃取. 萃取得到的上层 清液取 1 ml 稀释 10 倍,在 UV-757CRT 型紫外分光光 度计(上海精密仪器厂)上测定类胡萝卜素在λ=485 nm 处的光密度(OD)值.

## 1.4 细菌叶绿素 BCHla 的分离纯化

离心收集菌体,向菌体中加入抗坏血酸钠和适量甲醇,在暗处放置10min,离心收集上层清液.在上层清液中加入二氧六环,再滴加水至沉淀出现,于-20°C放置20min,使沉淀完全.将沉淀用硅胶层析柱(2.5 cm×20 cm)纯化.洗脱液为氯仿-甲醇(体积比为25),流速为1.0ml/min,收集洗脱液,将溶剂挥发后再次溶解过滤.将沉淀过Sephadex LH-20层析柱(1.0 cm×10 cm),展开剂为氯仿,流速为1.0ml/min,收集流出液,在二氯甲烷/正己烷中重结晶得到BCHla.

## **1.5** 辅酶再生体系构建与羰基还原酶催化不对称 还原反应

从类球红杆菌中分离纯化得到细菌叶绿素 BCHla,在后者中加入电子供体 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (上海硫酸 厂)和氧化态辅酶 NADP<sup>+</sup>(Roche 公司),以水作为氢 供体,光照下反应 6 h. 采用 HPLC P230 型液相色谱 仪 (大连依利特)在 254 nm 处检测还原态辅酶 NADPH 的生成. 取等量纯化的酶液,加入不同底物 (2.5 mmol/L), 于标准条件下测定其酶活力 (以 4'-氯苯乙酮为底物 时的酶活力为 100%).

### 1.6 动力学米氏常数的测定

在羰基还原酶催化潜手性酮体系(5 ml)中加入 3~40 mmol/L浓度的底物, 30 ℃振荡培养 24 h, 测定 底物转化率, 绘制 Lieweaver-Burk 曲线, 计算动力学 常数 Km值.

## 2 结果与讨论

#### 2.1 全细胞催化的不对称还原

## 2.1.1 芳香酮类的还原

以苯乙酮为母体,研究了其侧链α位以及苯环 对位的取代基团(见图式1)对反应产物收率和光学 纯度的影响,反应结果见表1(构型全部为S型).可 以看出,当苯乙酮对位或α位为硝基、氟、氯和溴等 吸电子基团时,随着取代基团电负性的增加,对苯环 的电子吸引力增强,导致侧链上羰基碳的电子云密 度减小,使其更加趋于碳正离子的性质,从而有利于 负氢离子的进攻,使得光合细菌催化还原羰基的反 应更加容易进行,因此产率有所增加.

表 1	类球红杆菌全细胞催化苯乙酮衍生物不对称还原
Table 1	Asymmetric reduction of acetophenone derivatives catalyzed
by whole	cells of Rhodobacter sphaeroides

2		1		
Sub	strate	Viold (0/)	(0/)	
R	R'	rield (%)	ee (%)	
NO <sub>2</sub>	_	73.6	95.4	
F	—	69.1	94.1	
Cl	—	67.2	94.7	
Br	_	66.7	95.1	
CH <sub>3</sub> O	_	57.6	96.8	
$NH_2$	_	59.4	94.4	
OH	—	60.2	94.5	
CH <sub>3</sub>	—	63.4	95.6	
_	Cl	71.3	89.9	
_	Br	70.4	87.3	
_	CH <sub>3</sub>	65.6	88.1	

Reaction conditions: substrate 17 mmol/L, buffer 100 ml Tris-HCl (50 mmol/L, pH 7.0), 30 °C, 24 h. ee: enantiomeric excess.

当苯乙酮对位或α位为甲氧基、氨基、羟基和 甲基时,随着取代基团给电子能力的增强,苯环上的 电子云密度增加,导致侧链羰基碳上的电子云密度 逐渐增加,使其更加趋于碳负离子的性质,从而抑制 了负氢离子的进攻,增加了细菌对羰基还原的难度, 因此产物收率降低.

由表1还可以看出,氯、溴和甲基取代基在α位时的产物收率均高于在苯环对位时的产物收率。因此,取代基处于苯乙酮α位时对羰基碳电子云密度的影响较大.

全细胞催化苯乙酮衍生物反应的产物收率低于 催化苯乙酮反应的产物收率<sup>[5]</sup>.在底物苯环对位和 *a* 位引入基团都会增大空间位阻,同时增大了底物分 子量,在一定程度上影响了底物透过细胞膜,因而产 物收率降低.

在光学纯度方面,随着苯乙酮苯环对位或α位 上取代基团的增大, ee 值呈逐渐增加的趋势,符合 Prelg规则.

### 2.1.2 脂肪酮类的还原

本文利用类球红杆菌催化还原多种脂肪酮类化 合物,研究了链长、支链数目和分子大小对产物收率 的影响,以及酮羰基的位置、支链的数目和位置对产 物光学纯度的影响,结果见表 2 (构型全部为 S 型). 由表可见,随着碳链中碳数的增加,产物收率呈逐渐 下降的趋势.这一方面是由于底物碳链增长时,加大 了对细胞膜完整性的破坏,部分细胞被底物溶解(底 物为2-庚酮、2-辛酮和2-壬酮时,反应液中有大量的 红色沉淀);另一方面是由于底物分子量增大时,阻 碍了底物进入细胞.产物光学纯度随着碳链的增加 而增加,这是由于在羰基位置不变的情况下,侧链增 长时增强了底物的不对称性,因而产物 ee 值随之增 加.随着底物支链的增多,降低了底物对细胞膜的溶 解,减小了对细胞的毒害作用.在光学纯度方面,羰

表 2 类球红杆菌全细胞催化脂肪酮不对称还原 Table 2 Asymmetric reduction of aliphatic ketones catalyzed by whole calls of *Bhodobacter unbagraida* 

Substrate	Yield (%)	ee (%)	OD <sub>485</sub>
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COCH <sub>3</sub>	88.8	78.9	0.012
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COCH <sub>3</sub>	85.6	80.1	0.031
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	84.2	86.6	0.043
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	80.2	87.9	0.187
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COCH <sub>3</sub>	78.5	89.2	0.265
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COCH <sub>3</sub>	72.2	89.5	0.301
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	84.5	81.1	—
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	85.4	82.3	—
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> COCH <sub>3</sub>	85.4	87.6	—
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> CH(CH <sub>3</sub> )COCH <sub>3</sub>	85.4	87.6	—
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> CCOCH <sub>3</sub>	87.9	89.3	—

The reaction conditions were the same as in Table 1.

OD<sub>485</sub>: Optical density of carotenoid at  $\lambda = 485$  nm.

基在底物的3位时较在2位时增大了底物的对称性, 因此 ee 值有所降低.

#### 2.1.3 底物链长对细胞完整性的影响

类胡萝卜素为胞内色素,当细胞溶解后会释放 到反应液中,因此类胡萝卜素的 OD<sub>485</sub> 值可以反映 细胞在反应过程中的溶解量.由表 2 结果可知,反 应液中类胡萝卜素的 OD<sub>485</sub> 值随底物链长的增加而 增加.这说明在细胞催化还原脂肪酮类底物时,底物 链长的增加会加快对细胞溶解,从而破坏细胞的完 整性.

#### 2.2 羰基还原酶催化的不对称还原

#### 2.2.1 羰基还原酶的酶活力

经测定,从类球红杆菌中分离纯化的胞内羰基还原酶催化 4'-氯苯乙酮不对称还原的酶活为 43.6 U/(mg·min),与文献 [7] 报道的乙醇脱氢酶的活性类 似.可初步认为,类球红杆菌胞内酶可以用于催化潜 手性酮类化合物不对称还原,通过 NADPH 进行氢 质子传递完成对底物的不对称还原.将分离得到的 羰基还原酶通过 SDS-PAGE 电泳分析,结果呈现为 单一条带,说明酶液纯度已经达到电泳纯.对照标 准蛋白分子量进行分析计算,得到目标蛋白的相对 分子量大小约为 37 kD,与文献 [8] 结果类似.

**2.2.2** 辅酶再生体系与羰基还原酶偶合催化不对称 还原反应

类球红杆菌催化过程中需要辅酶 NADPH 的存 在.因此,研究酶催化底物的构效关系必须构建辅酶 NADPH 的再生体系.本文从类球红杆菌中分离得到 BCH1a,加入 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>和 NADP<sup>+</sup> 后构建了辅酶再生 体系,该体系反应 6h 后有还原态辅酶 NADPH 生成, 转化率为 89%.

在上述辅酶再生体系的基础上,选用类球红杆 菌中分离纯化的羰基还原酶与辅酶再生体系偶合作 为生物催化剂构建了不对称还原体系,以进一步阐 明在类球红杆菌催化还原不同底物时,胞内酶与不 同底物间的构效关系以及酶的专一性.于标准条件 下测定酶活力(以4'-氯苯乙酮为底物时的酶活力为 100%),计算动力学常数 K<sub>m</sub>,结果列于表 3 (构型全 部为 S型).由表可知,对于苯乙酮衍生物,酶的活 性与亲和性随着底物分子上取代基吸电子能力的增 强而升高.对于电负性相近的取代基的底物,取代在 底物 α 位上时与酶的亲和性比苯环对位上时的高,

#### 表 3 辅酶再生体系与羰基还原酶偶合催化还原不同底物 的专一性

 Table 3 Specificity of carbonyl reductase coupled with coenzyme regeneration system for catalytic reduction of different substrates

Substrate	Relative activity (%)	$K_{\rm m}/({\rm mmol/L})$	ee (%)
p-O <sub>2</sub> NC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	109.8	0.1521	99.1
<i>p</i> -FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	100.0	0.1582	99.0
p-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	93.4	0.1631	99.0
p-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	92.9	0.1723	99.1
<i>p</i> -CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	79.2	0.1883	99.1
p-NH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	86.2	0.1762	99.1
<i>p</i> -HOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	85.0	0.1781	99.0
p-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	89.1	0.1742	99.0
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COCH <sub>2</sub> Cl	107.8	0.1533	99.0
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COCH <sub>2</sub> Br	100.4	0.1583	99.1
$C_6H_5COC_2H_5$	91.9	0.1721	99.2
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COCH <sub>3</sub>	119.2	0.1462	99.2
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COCH <sub>3</sub>	122.5	0.1432	99.2
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	118.5	0.1462	99.1
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>	115.9	0.1482	99.1
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COCH <sub>3</sub>	112.3	0.1503	99.1
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COCH <sub>3</sub>	109.5	0.1522	99.1
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	121.8	0.1433	99.2
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	122.8	0.1428	99.1
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> COCH <sub>3</sub>	122.7	0.1429	99.2
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> CH(CH <sub>3</sub> )COCH <sub>3</sub>	122.5	0.1432	99.0
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> CCOCH <sub>3</sub>	122.4	0.1431	99.1

Reaction conditions: 25 ml  $H_3PO_4$  buffer (50 mmol/L, pH 8.0), substrate 17 mmol/L, 30 °C, 12 h.  $K_m$ : kinetic constant.

小基团取代基的底物与酶的亲和性高于大基团取代 基.这说明在苯乙酮衍生物中,酶对苯乙酮 α 位为 电负性强的基团的衍生物专一性较强.

在脂肪酮中,随着碳链的增长,酶的活性与亲和 性逐渐升高,至戊酮时,酶对底物的活性与亲和性最 高,此后随着碳链的增长,活性与亲和性又有所下降. 这与文献 [9,10] 报道的氧化还原酶一致,说明该酶 对五碳脂肪酮的专一性较高.还可以看出,酶对脂 肪酮类化合物的专一性高于对芳香酮类化合物的专 一性.另外,酶催化产物的 ee 值均在 99% 左右,较 全细胞催化有更高的立体选择性.

## 3 结论

对于芳香酮类化合物的还原, 当苯环对位或侧 链α位的取代基为吸电子基团时比供电子基团更有 利于类球红杆菌对底物的催化反应. 同一基团处于 苯乙酮α位上时比处于苯环上时对羰基碳上电子云 密度的影响更大. 在催化还原直链脂肪酮时, 酮羰 基位置不变的情况下, 产物收率随着底物侧链碳数 和分子量的增加而降低. 对于己酮的同分异构体, 侧链的增加会减少对细胞的溶解, 有利于产物收率 的提高. 在光学纯度方面, 无论是芳香酮还是脂肪 酮的 ee 值变化都遵循 Prelg 规则. 通过比较 K<sub>m</sub>值 发现, 酶对α位为强电负性基团的苯乙酮衍生物以 及五碳脂肪酮的专一性较高, 而且酶催化的立体选 择性高于全细胞催化的立体选择性.

## 参考文献

- 1 Panke S, Wubbolts M. Curr Opin Chem Biol, 2005, 2: 188
- 2 Nakamura K, Yamanaka R, Tohi K, Hamada H. Tetrahedron Lett, 2000, **41**: 6799
- 3 杨忠华,姚善泾. 催化学报 (Yang Zh H, Yao Sh J. Chin J Catal), 2004, 25: 434
- 4 王梦亮, 杜刚, 刘滇生. 高等学校化学学报 (Wang M L, Du G, Liu D Sh. *Chem J Chin Univ*), 2006, **27**: 1686
- 5 王梦亮, 胡锐, 郭学林, 闫甫昆, 刘滇生. 催化学报 (Wang M L, Hu R, Guo X L, Yan F K, Liu D Sh. *Chin J Catal*), 2008, **29**: 233
- 6 Yamamoto H, Matsuyama A, Kobayashi Y. Biosci Biotechnol Biochem, 2002, 66: 481
- 7 Hildebrandt P, Riermeier T, Altenbuchner J, Bornscheuer U T. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, **12**: 1207
- 8 解晴, 吴坚平, 林立, 徐刚, 杨立荣. 高校化学工程学报 (Xie Q, Wu J P, Lin L, Xu G, Yang L R. *J Chem Eng Chin Univ*), 2009, **23**: 92
- 9 聂尧,徐岩. 生物加工过程 (Nie Y, Xu Y. Chin J Bioprocess Eng), 2003, 1:66
- 10 oni P, Kansal H, Banerjee U C. Process Biochem, 2007, 42: 1632