

生物催化去消旋化在不对称合成中的应用

刘珍珍¹ 吉爱国^{1,2*} 崔宏杰³

(¹山东大学药学院 济南 250012 ²山东大学威海分校海洋生物工程系 威海 264209 ³滨州师专 滨州 256603)

摘 要 生物催化去消旋化是利用微生物或酶对底物进行高度立体选择性序列生物转化, 得到所需的单一光学异构体的方法, 并可达到 100% 的产率和对映体过量率。而传统的拆分法仅能获得最高 50% 的产率, 还需要繁琐的步骤来分离反应原料和产物。因此, 去消旋化作为一个简便而有效的方法越来越得到人们的重视。本文中, 笔者就去消旋化在不对称合成中的应用进行了综述。

关键词 去消旋化 手性 生物催化

Application of Deracemization in Asymmetric Synthesis by Biocatalyst

Liu Zhenzhen¹, Ji Aiguo^{1,2*}, Cui Hongjie³

(¹College of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012; ²Department of Marine Bioengineering, Weihai Campus, Shandong University, Weihai 264209; ³Bingzhou Teachers College, Bingzhou 256603)

Abstract The deracemization reaction with microbes or enzymes inverts the chirality of one enantiomer of a racemate to the other antipode, resulting in an optically active compound starting from a racemic mixture. Thus this process may obtain 100% yield and enantiomeric excess. However, the most maximum theoretical yield of classical kinetic resolution is limited to 50% and the tedious procedures for the separation of the starting material and the product are inevitable. Accordingly, deracemization as a simple and efficient method has gained more and more attention. In this paper, the application of deracemization in asymmetric synthesis is reviewed.

Key words Deracemization, Chirality, Biocatalysis

手性化合物在医药、食品、农药和特种材料中的应用有着广阔的前景。目前, 获取单一光学异构化合物的方法有两大类: 拆分法和不对称合成法。拆分法又分为化学拆分法^[1]和生物拆分法^[2], 分别得到两种不同的立体异构体, 每种立体异构体的最高产率仅为 50%。不对称合成法包括手性源方法^[3]、手性试剂方法^[4]和手性催化剂方法^[5]。手性源方法耗用手性源较多, 手性试剂方法必须使用化学剂量的试剂, 应用受限、操作繁琐。而手性催化剂也存在种类和数目有限、立体选择性不高、辅助试剂价格昂贵、不易回收等缺点。生物催化剂则没有上述限制, 具有高度的立体选择性, 因而有巨大的发展潜力和应用价值^[6]。生物催化去消旋化就是利用微生物或酶对底物进行连续的立体选择性反应获取单一光学异构体的反应过程, 最高产率可达

刘珍珍 女, 24 岁, 硕士生, 现从事药物生物合成与生物转化的研究。 *联系人
国家自然科学基金(30270047)和教育回国人员科研启动基金(05200105)资助项目
2003-09-10 收稿, 2004-02-07 接受

100%^[7], 反应条件温和, 不污染环境。近年来, 人们正致力于寻找和筛选更高效、普适的微生物或酶, 来扩大底物的适用范围, 使去消旋化得到更广泛的应用。本文重点举例介绍了生物催化去消旋化在获得单一光学异构体方面的应用。

1 消旋体手性醇的去消旋化

光学纯仲醇是药物、农用化学品、外激素、调料、香料、液晶及手性辅料合成的重要中间体。Takemoto 等^[8]使用固定化 *Catharanthus roseus* 细胞(ICRC)去消旋化吡啶醇 1, 获得(R)-1。为了推测消旋体 1 的去消旋化机制, 分别以消旋体 1、(S)-1 和(R)-1 作为 *C.roseus* 的反应底物, 均获得(R)-1。根据上述实验结果, Takemoto 等假设消旋体 1 的去消旋化机制为: *C.roseus* 选择性快速氧化(S)-1 生成相应酮体 2, 接着被快速还原为(R)-1; 而 *C.roseus* 氧化(R)-1 的反应过程则非常缓慢(图 1)。

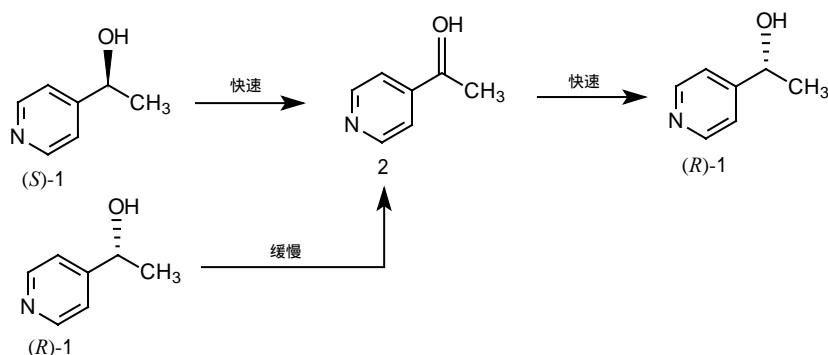


图 1 去消旋化的假设机制^[8]

Fig.1 Proposed mechanism of deracemization^[8]

Demir 等^[9]报道了利用真菌属 *Rhizopus oryzae*(NRRL 395)作用于安息香 3 催化去消旋化, 获得两种对映立体异构体(图 2)。其作用机制不明确, 但反应如果在不同 pH 条件下, 会产生不同的结果。反应 pH7.5 ~ 8.5 时, 以消旋体 3 为底物得到(R)-3, 产率为 73% ~ 76% e.e.值为 95% ~ 97%; 相同条件下以(S)-3 为底物也能得到(R)-3, 产率为 74%, e.e.值为 97%。在 pH4 ~ 5 反应时, 再以消旋体 3 为底物得到的是(S)-3, 最高产率为 71%, e.e.值为 85%。

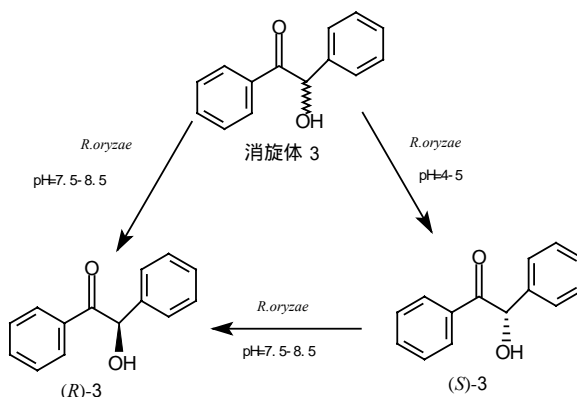


图 2 安息香的去消旋化^[9]

Fig.2 Deracemization of rac-benzoin^[9]

他们推断这种 pH 依赖性有可能是催化此反应的酶自身发生改变, 更可能是 *R.oryzae* 胞内有不同的 pH 依赖性酶, 在相应 pH 环境下显示活性。

Nakamura 等^[10]1995 年就报道了真菌属 *Geotrichum candidum* IFO 5767 可使多种芳基乙醇去消旋获得 *R* 型手性仲醇, 并初步证实此系统中至少有两种酶联合起作用, 它们可能具有不同的辅因子或虽有相同辅因子但辅因子有不同的对映异构氢(*pro-R* 或 *pro-S*)。2002 年 Nakamura 等^[11]根据多年的研究经验总结了提高微生物 *Geotrichum candidum* 在仲醇生物合成中对映选择性的新方法。Allan 等^[12]发现 *Sphingomonas paucimobilis* NCIMB 8195 也可使系列芳基仲醇和杂芳基仲醇去消旋化, 得到(*R*)-醇。

2 环氧化物开环去消旋化

环氧化物及邻位二醇是合成手性目标产物的高价值中间体, 它能广泛地与亲核试剂反应。Kroutil 等^[13]在使用冻干 *Nocardia* EH1 完整细胞水解(±)-顺式-2,3-环氧庚烷 4 时, 观察到一种未预料到的现象: 当转化超过 50% 时, 二醇的光学纯度未下降, 而是继续转化得到 e.e. 值 > 90% 的二醇 5 (图 3)。从研究结果分析可知: (*S,R*)-4 为快反应对映体, 酶对它的区域选择性高(*C*-2/*C*-3 < 1/300); (*R,S*)-4 为慢反应对映体, 酶对它的区域选择性很低(*C*-3/*C*-2 = 3.4/1)。而这两种对映立体异构体都易于转化成(*2R,3R*)-二醇 5。

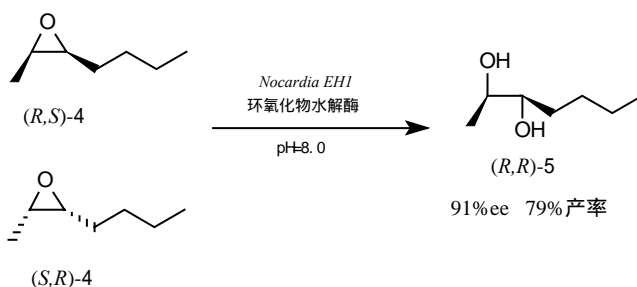


图 3 (±)-顺式-2,3-环氧庚烷的水解^[13]

Fig.3 Hydrolysis of (±)-*cis*-2,3-epoxyheptene^[13]

1997 年, Orru 等^[14]采用生物、化学联合催化反应, 使消旋体 2,2-双取代环氧化物 6a~6c 去消旋化得到单一的邻位二醇 7 (图 4), 其 e.e. 值 > 90%。

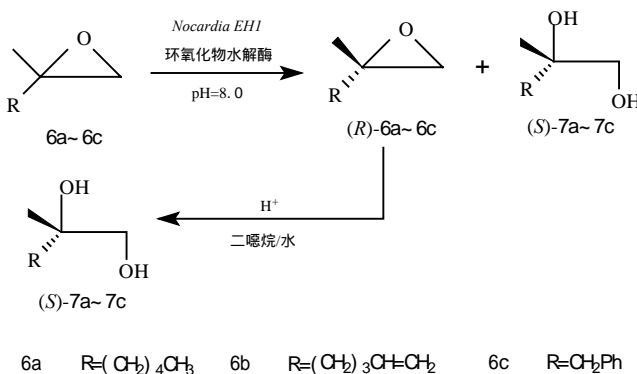


图 4 环氧化物两步水解去消旋化^[14]

Fig.4 Deracemization of epoxide via chemoenzymatic hydrolysis^[14]

第一步反应中, *Nocardia* EH1 完整细胞选择性水解(*S*)-6, 分离出未反应的(*R*)-6, 在二噁烷/水(97/3)混合溶剂中, 用硫酸水解(*R*)-6 数分钟即可得到(*S*)-二醇 7。这种方法可使消旋体环氧化物 6a~6c 直接转化成相应的(*S*)-二醇 7a~7c。有关实验的具体步骤及其注意事项, 他们在次年发表的文章中作了详尽的阐述^[15]。

3 含硅 α -氨基酸、扁桃酸的去消旋化

含硅氨基酸具有较大的疏水基团, 在多肽合成中加入含硅氨基酸能呈现多种优点, 如可以增强多肽对蛋白水解酶的耐受能力、具有较高的亲脂性等。1997 年, Smith 等^[16]合成了消旋体含硅 α -丙氨酸, 并设想可用乙内酰脲酶获得光学纯氨基酸。他们的工作组在三年后成功地利用二酶系统的去消旋化反应获得 *D*-和 *L*-三甲基硅丙氨酸 10c。从 *DL*-10c 转化生成 *D*-10c 的产率为 88%, e.e. 值为 96%。同年又利用相似的反应过程获得另外两种更大含硅基团的光学纯丙氨酸 10a、10b^[17](图 5)。

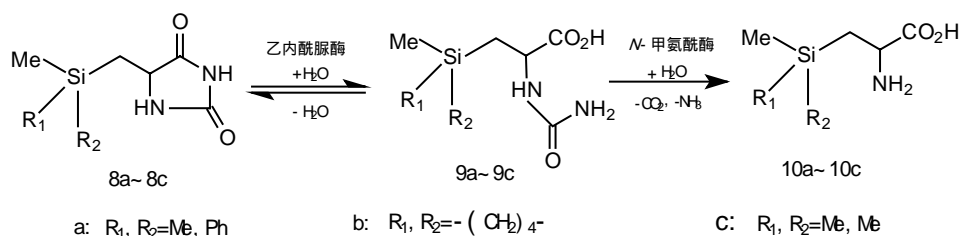


图 5 *DL*-5-硅甲基乙内酰脲的水解^[17]

Fig.5 Hydrolysis of *DL*-5-silylmethylated hydantoins^[17]

(*R*)-扁桃酸 11 是许多药物合成中重要的手性辅助原料, 如半合成青霉素、头孢菌素族抗生素、抗肥胖制剂等。Strauss 等^[18]利用联合的双酶生物转化使扁桃酸 11 去消旋化, 得到 *S*-*O*-乙酰扁桃酸 12(图 6)。经过四次重复过程, 分离产率为 80%, e.e. 值>98%。

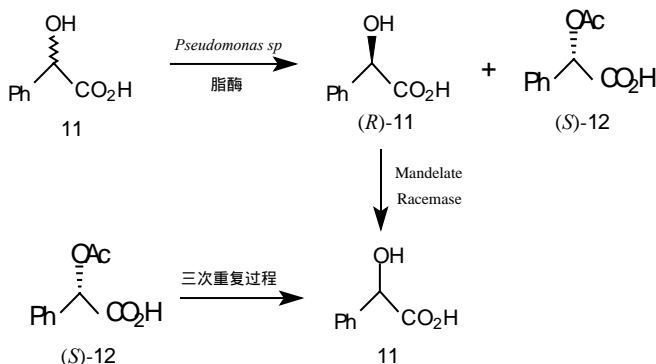


图 6 脂酶-消旋酶双酶系统对扁桃酸去消旋^[18]

Fig.6 Deracemization of mandelic acid via a lipase-racemase two-enzyme system^[18]

此过程的优点在于未反应的(*R*)-11 在温和的酶催化反应条件下就地消旋化, 省略了分离步骤, 且对富集产物 12 无影响, 从而可使反应重复进行, 显著地简化转化过程。Huerta 等^[19]对有关底物消旋化和不对称转化两步联合反应获得光学纯手性化合物的方法进行了具体的说明和总结。Tsuchiya 等^[20]在 1992 年利用联合的两步生物转化获得光学纯(*R*)-11。首先 *Alcaligenes*

bronchisepticus KU 1201 选择性氧化(*S*)-11, 生成苯甲酰甲酸, 接着又被 *Streptococcus faecalis* IFO 12964 还原成(*R*)-11, 产率为 80%, e.e.值>99%。

4 外消旋 α -取代羧酸的去消旋化

α -取代羧酸是多种生物活性物质的母体结构, 但其生物活性依赖于分子手性中心的构型, 如(*S*)-2-芳基丙酸是非甾体类抗炎药, 而(*R*)-2-芳基丙酸在体内几乎没有此药理作用。Kato 等^[21]利用 *Nocardia diaphanozonaria* 完整细胞系统去消旋 2-苯丙酸 13 和 2-苯氧基丙酸 14, 分别得到(*R*)-13 和(*R*)-14(图 7)。

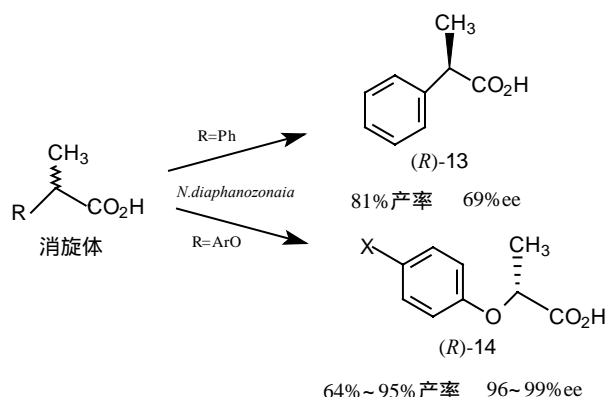


图 7 α -取代苯丙氨酸的去消旋化^[21]

Fig.7 Deracemization of α -substituted phenylacetic acids^[21]

研究者通过此酶系统得到有药理活性的(*R*)-13 和(*R*)-14, 而该系统的应用范围和相关的反应机制都需继续探讨。随后 Kato 等^[22]发现 *N.diaphanozonaria* 所作用底物即使发生微小的变化(取代基等)也能造成很大的对映体选择性的差别。

从这 10 年来的发展来看, 去消旋化在生物不对称合成中的应用越来越普遍。主要工作集中在醇、氨基酸、环氧化物等重要的中间体化合物上, 重点是寻找和筛选对底物去消旋化作用显著的微生物或酶, 并进一步探索合理的反应机制。使用生物催化不对称合成具有反应产率高、对环境污染少等优点, 但仍存在一些不足, 如微生物的筛选工作量大、效率低、有些反应机制尚不清楚、可获得的商品化酶少(据不完全统计目前仅有 800 多种), 且价格昂贵、易失活、作用底物范围有限等, 这些都有待于进一步深入研究。

参考文献

- [1] 邓金根, 迟永祥, 朱 槿 等. 合成化学, 1999, 7(4): 340~345.
- [2] R Azerad, D Buisson. Curr. Opin. Biotechnol., 2000, 11(6): 565~571.
- [3] T S Hu, Q Yu, Y L Wu et al. J. Org. Chem., 2001, 66(3): 853~861.
- [4] 马缚鹏, 周正洪, 唐除痴 等. 厦门大学学报(自然科学版), 1999, 38: 122.
- [5] R L Lou, A Q Mi, Y Z Jiang et al. Tetrahedron, 2000, 56: 5857~5863.
- [6] S M Roberts. J. Chem. Soc., Perkin 1, 2000: 611~633.
- [7] U T Starauss, U Felfer, K Faber. Tetrahed. Asymm., 1999, 10(1): 107~117.
- [8] M Takemoto, K Achiwa. Phytochemistry, 1998, 49(16): 1627~1629.
- [9] A S Demir, H Hamamci, O Sesenoglu et al. Tetrahed. Lett., 2002, 43(36): 6447~6449.
- [10] K Nakamura, Y Inoue, T Matsuda et al. Tetrahed. Lett., 1995, 36(35): 6263~6266.

- [11] K Nakamura, T Matsuda, T Harada. *Chirality*, 2002, 14(9): 703~708.
- [12] G R Allan, A J Carnell. *J. Org. Chem.*, 2001, 66(19): 6495~6497.
- [13] W Kroutil, M Mischitz, P Plachota. *Tetrahed. Lett.*, 1996, 37(46): 8379~8382.
- [14] R V A Orru, W Kroutil, K Faber. *Tetrahed. Lett.*, 1997, 38(10): 1753~1754.
- [15] R V A Orru, S F Mayer, W Kroutil. *Tetrahedron*, 1998, 54(5-6): 859~874.
- [16] R J Smith, S Bratovanov, S Bienz. *Tetrahedron*, 1997, 53(40): 13695~13702.
- [17] R J Smith, M Pietzsch, T Wanek et al. *Tetrahed. Asymm.*, 2001, 12(1): 157~165.
- [18] U T Strauss, K Faber. *Tetrahed. Asymm.*, 1999, 10(21): 4079~4081.
- [19] F F Huerta, A B E Minidis, J-E Backvall. *Chem. Soc. Rev.*, 2001, 30(6): 321~331.
- [20] S Tsuchiya, K Miyamoto, H Ohta. *Biotechnol. Lett.*, 1992, 14(11): 1137~1145.
- [21] D Kato, S Mitsuda, H Ohta. *Org. Lett.*, 2002, 4(3): 371~373.
- [22] D Kato, S Mitsuda, H Ohta. *J. Org. Chem.*, 2003, 68: 7234~7242.