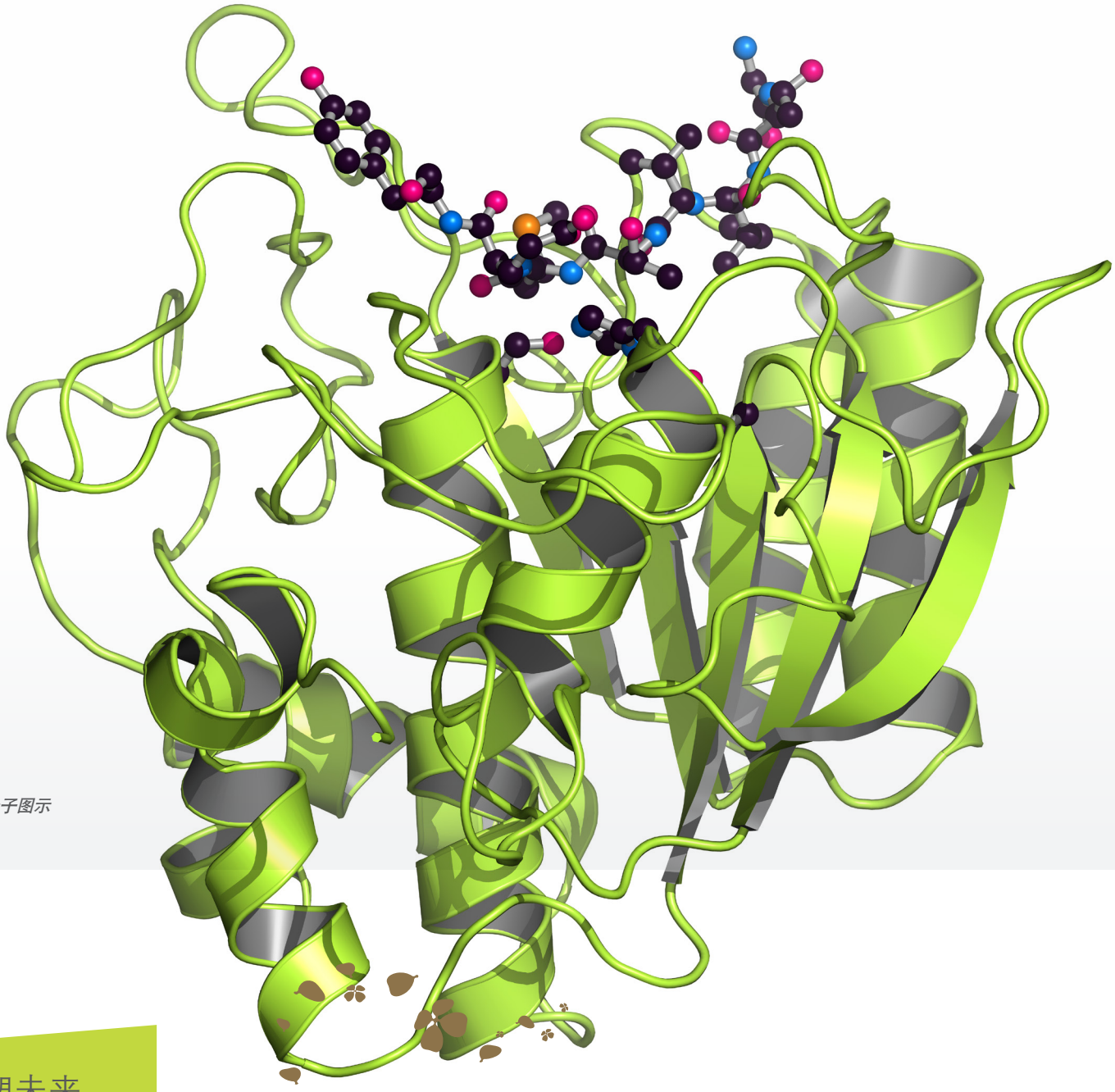
生物催化酶

用于更智能的化学合成

novozymes®
Rethink Tomorrow



alcalase分子图示

重塑未来

蛋白酶

生物催化

生物催化是合成过程中以自然催化剂，如酶，替代化学催化剂进行转化的过程。与化学催化剂相比，酶制剂：

- 拥有更高的反应速率
- 反应条件更温和
- 具有高反应特异性，无副产品

这种变化可以启用新的，更具可持续性的途径来生产原料药和中间体。

生物催化已逐渐成为医药、生产和高分子合成领域发展的一个重要工具，并且能够进行高效的极具吸引力的工业化生产。生物催化中使用酶制剂是化工行业一项相当娴熟的技术。酶在有机合成中的一个优势就是它具有显著的选择特性，这带来了一些商业利益，包括：

- 生产单一立体异构体的高选择性
- 更少副作用
- 更少再加工或纯化步骤
- 产品分离更简单
- 减少污染

所有这些优势意味着更低的成本。

催化酶通过降低活化能 (Ea‡) 起作用，从而显着地提高反应速率。其结果是，产品的形成速度更快，反应更迅速地达到其平衡状态。大多数酶催化反应速率是非酶催化反应速率的数百倍。像所有催化剂一样，酶不会被它的催化反应消耗掉，也不会改变这些反应的平衡。然而，酶与其他大多数催化剂不同，它们对自身底物具有高度特异性。

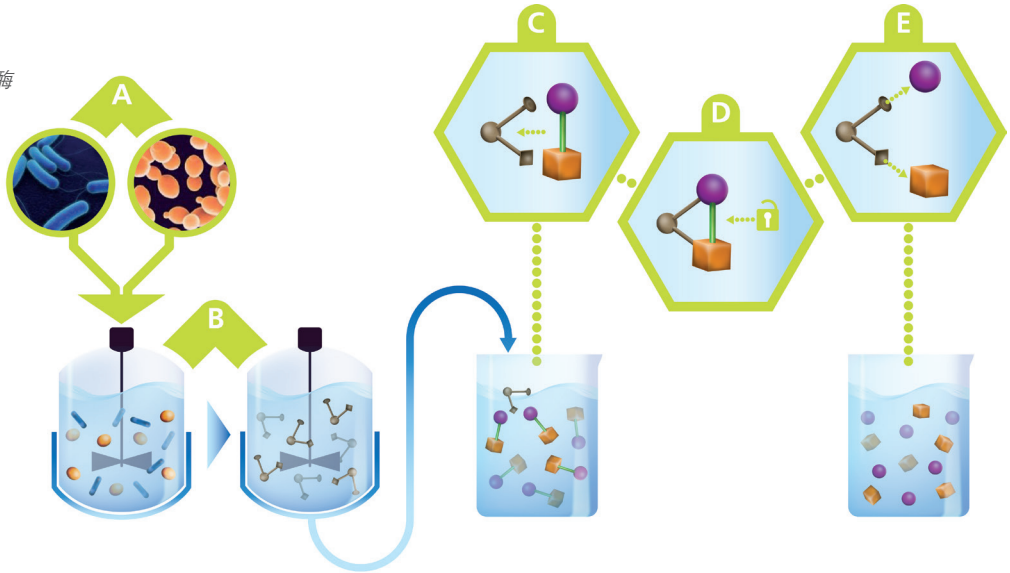
A. *各种微生物可用于生产天然催化剂，如酶*

B. *酶是工业微生物纯化的产物*

C. *酶能吸引特定的底物到它的活性位点*

D. *催化生成产品的化学反应*

E. *允许产品从酶表面分离*



蛋白酶

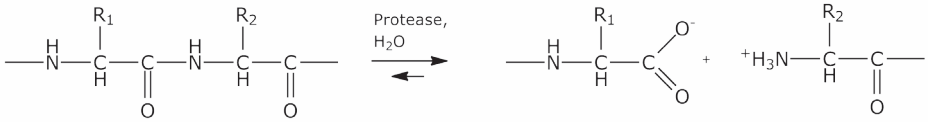
蛋白酶(EC 3.4.21.62)是水解蛋白质肽键的一类酶的总称，肽键在形成蛋白质的多肽链中连接氨基酸。蛋白酶属于水解酶，需要一个水分子参与催化各种肽键水解。

蛋白酶可用于有机合成，通过动力学拆分外消旋混合物的一对对映体。外消旋混合物的一种对映异构体比另一种反应更快时即为动力学拆分现象。

蛋白酶催化剂能通过各种反应拆分对映体，如：

- 水解羧酸酯
- 酯化反应或酯交换反应
- 酰胺/肽键的生成

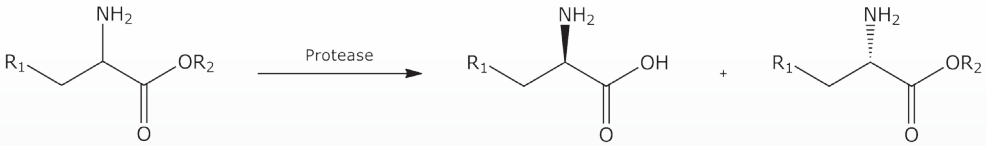
蛋白质水解肽键：



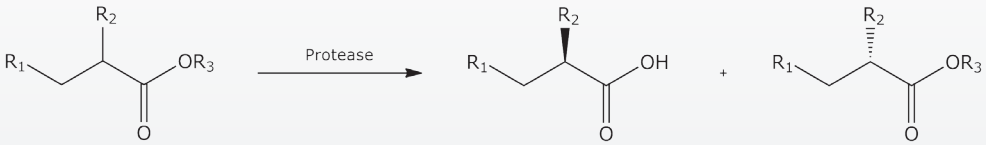
蛋白酶的核心应用

通过水解外消旋的氨基酸酯来动力学拆分氨基酸，还可以通过添加催化醛转化为动态动力学拆分[1]：

通过水解外消旋的氨基酸酯来动力学拆分氨基酸：



通过水解羧酸酯来动力学拆分羧酸：



蛋白酶的其他潜在应用包括：

- 水解选择性酰胺类[2]
- 低分子量多肽的生成[3]
- 酯交换反应

丝氨酸蛋白酶

丝氨酸蛋白酶在底物结合和分离必不可少的活性位点上包含一个丝氨酸基。丝氨酸蛋白酶的特点是具有广泛的底物特异性和活性，活性范围从单纯的肽酶扩展到了酯酶和酰胺酶。通常的反应机制是催化中心包含丝氨酸为亲核试剂，天冬氨酸盐为亲电子试剂和组氨酸为底物。反应机制包括通过酰化作用产生共价酶底物中间体使相应的氨基酸和肽段丧失。以水亲核攻击中间体发生脱酰反应从而完成肽的转化。

枯草杆菌蛋白酶 A

枯草杆菌蛋白酶A(E.C. 3.4.21.62)是一种来源于枯草芽孢杆菌的碱性非特异性丝氨酸蛋白酶，通过活性部位的一个丝氨酸残基对肽键发起亲核攻击来催化蛋白质和肽酰胺的水解。

• Alcalase®

Alcalase® 是一种酯酶，能催化一些酯类的立体选择性水解。酯酶能够有效地水解包括杂环氨基酸酯在内的氨基酸酯类。

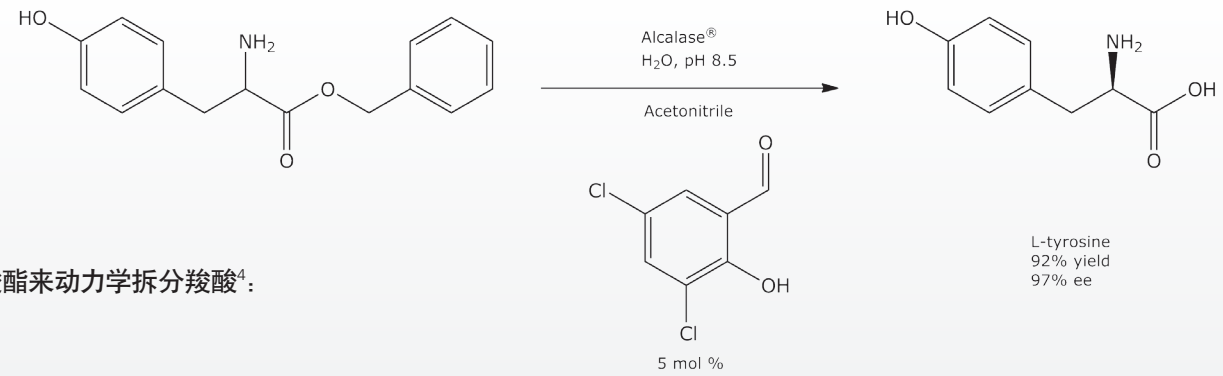
• Savinase®

Savinase® 不仅能催化一些酯类的立体选择性水解还能在碱性条件下抑制酰胺。

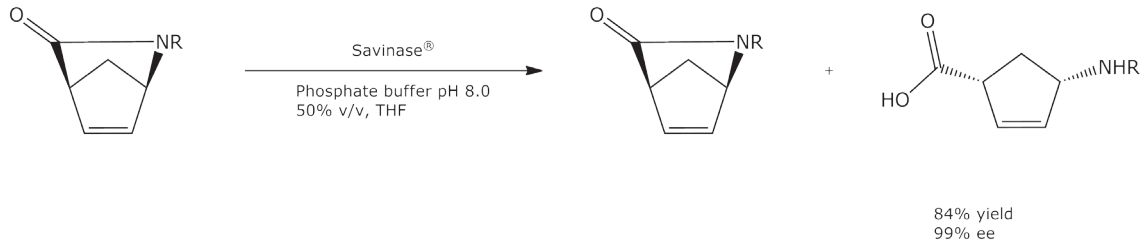
• Esperase®

Esperase® 是一种具有广泛特异性的内肽酶，与其他微生物的丝氨酸蛋白酶相比在碱性和高温条件下表现更佳。

通过水解羧酸酯来动力学拆分羧酸[4]：



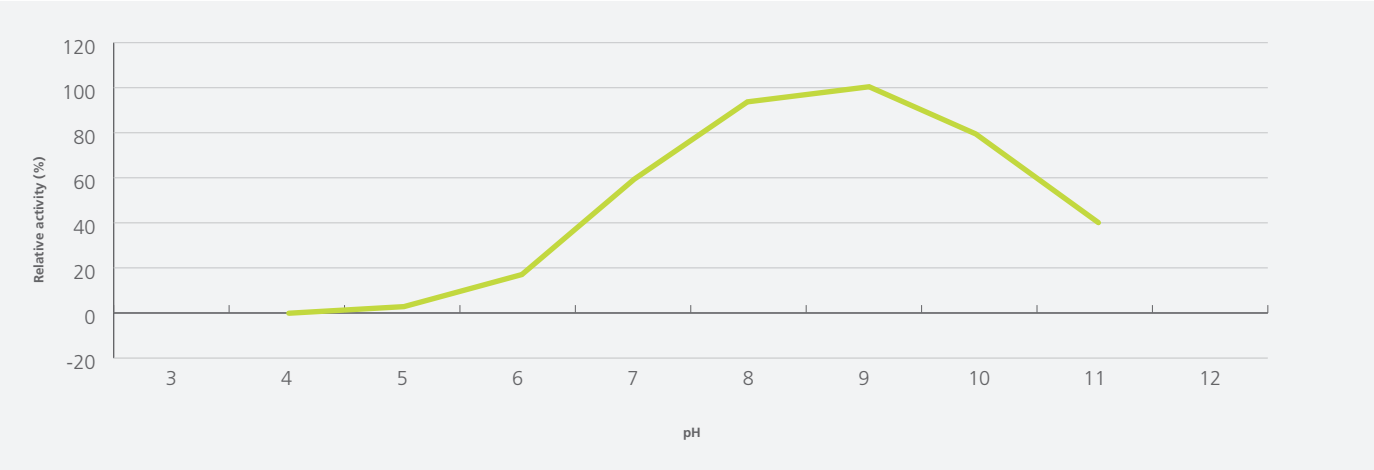
动力学拆分抑制酰胺[2]：



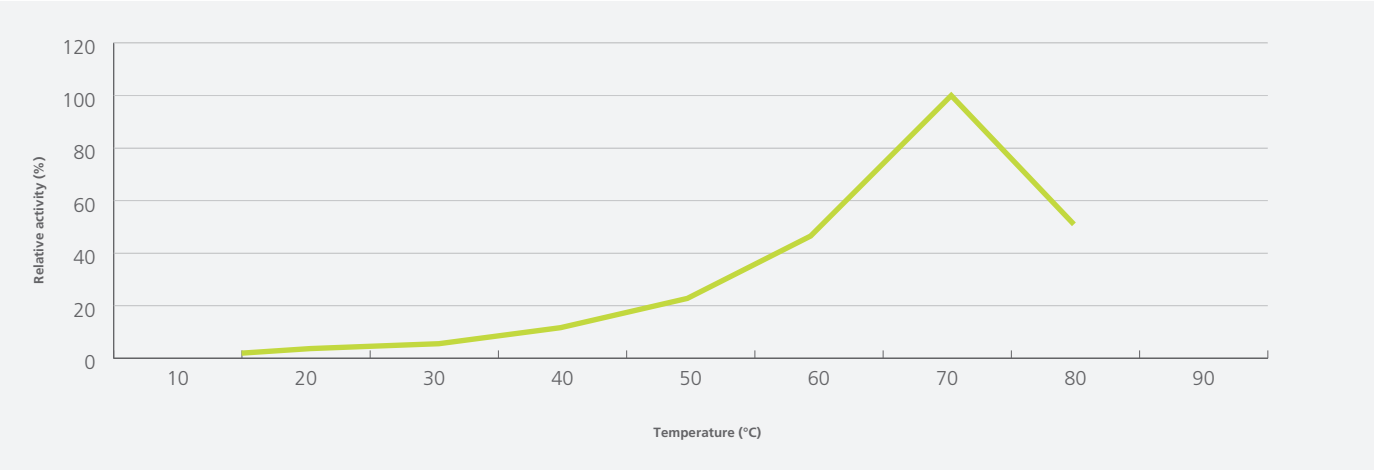
蛋白酶的稳定性

下列曲线图展示Alcalase pH值和温度稳定性。其他产品请参考背面的产品组合表。

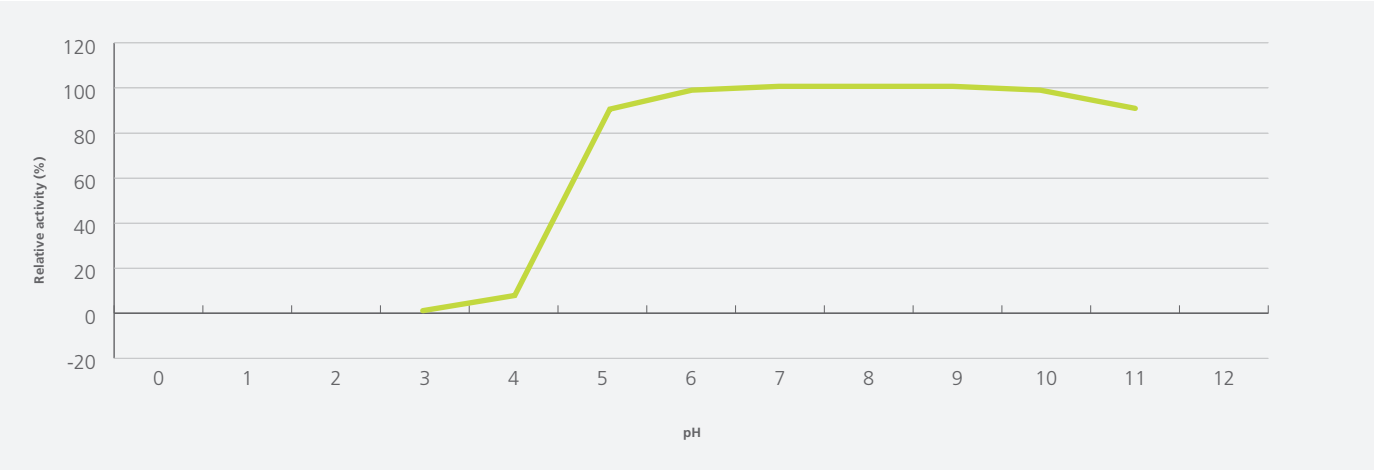
pH对Alcalase活性的影响



温度对Alcalase活性的影响



pH值对Alcalase稳定性的影响



Neutrase®

Neutrase® (E.C.3.4.24)是一种来源于解淀粉芽孢杆菌的中性锌金属内切蛋白酶，它能够任意水解内部的肽键，能够通过以锌金属为助催化剂的逆向蛋白质水解反应来促使酶催化合成寡肽。Neutrase®与嗜热菌蛋白酶，锌依赖性金属内切蛋白酶一样，属于同一蛋白酶家族。

固定化嗜热菌蛋白酶已被成功地应用于合成阿斯巴甜中间体的工业化生产。该反应在有机溶液中进行，并且包含了一个针对氨甲酯中氨化学键构象的动力学拆分，该拆分倾向于天冬氨酸中α羰基构象而非β羰基，具有高手性选择性与高区域选择性。

胰蛋白酶

rTrypsin (EC 3.4.21.4) 是一种优先水解由赖氨酸(Lys)或精氨酸(Arg)的羧基（两者中一个带脯氨酸的除外）组成酯键的内肽酶。这种酶的催化作用机制类似于其他丝氨酸蛋白酶。位于胰蛋白酶催化口袋的天冬氨酸残基吸引和稳定带正电荷的赖氨酸或精氨酸，因此，具有酶的特异性。

蛋白酶在有机转化中的优点

节约成本	提高生产力	提高API和中间体的质量	环境友好
• 原材料投入减少 • 避免使用昂贵的手性拆分剂和碱金属 • 更底的设备、劳动力和能源成本	• 缩短合成路径 • 多批次增强生产能力 • 避免单调的保护和去保护 • 更高的产量	• 减少最终产品的杂质，更少或无副产品 • 高立体、区域或化学性选择 • 减少溶剂的使用降低溶剂残留量	• 废弃物和溶剂使用减少 • 更加节能

诺维信公司提供：

产品名称	编号	特性	性状	最优条件	单位活力	应用
Alcalase® 2.4 L FG	3.4.21.62	主要成分为枯草杆菌蛋白酶A的丝氨酸内切肽酶	液体	30-65°C, pH 7-9	2.4 AU-A/g	立体选择性水解氨基酸酯和选择性的酯类；适合水解蛋白质；可用于酯交换反应和转肽反应
Alcalase® 2.5 L, DX	3.4.21.62	主要成分为枯草杆菌蛋白酶A的丝氨酸内切肽酶	液体	30-65°C, pH 7-10	2.5 AU-A/g	立体选择性水解氨基酸酯和选择性的酯类；适合水解蛋白质；可用于酯交换反应和转肽反应
Savinase® 12 T, W	3.4.21.62	主要成分为枯草杆菌蛋白酶A的丝氨酸内切肽酶	颗粒	30-70°C, pH 8-10	12 KNPU-S/g	立体选择性水解氨基酸酯和选择性的酯类；适合水解蛋白质；可用于酯交换反应和转肽反应
Savinase® 16 L, EX	3.4.21.62	主要成分为枯草杆菌蛋白酶A的丝氨酸内切肽酶	颗粒	30-70°C, pH 8-10	16 KNPU-S/g	立体选择性水解氨基酸酯和选择性的酯类；适合水解蛋白质；可用于酯交换反应和转肽反应
Esperase® 8.0 L	3.4.21.62	主要成分为枯草杆菌蛋白酶A的丝氨酸内切肽酶	液体	pH 8-12.5	8 KNPU-E/g	水解内部的肽键；在严格的温度和pH值条件下表现优良
rTrypsin	3.4.21.4	丝氨酸蛋白酶	颗粒	pH 7.8-8.0	800 USP/mg	在羧基末端水解赖氨酸和精氨酸的酰胺和酯键
Neutrase® 0.8	3.4.22	金属蛋白酶	液体	40-50°C, pH 7	0.8 AU/g	氨基酸酯的动力学拆分

**K=千克，AU=安森单位，NPU= 诺维信蛋白酶单位，1 AU = 1NPU ，ASNU = 天门冬氨酸单位，USP=USP结晶胰蛋白酶参考标准的酶量。活性参考蛋白酶A标准，所得结果与标准单位相同。1ASNU是在标准条件下，1分钟生成1 μmol氨的酶量。*

novozymes®
Rethink Tomorrow

诺维信是生物创新领域的全球领导者。我们与来自众多工业领域的客户携手合作，共同创建未来工业生物科技解决方案、改进客户业务并改进我们对地球资源的使用方式。有关更多信息，请访问www.novozymes.com。

参考文献

1. D. A. Schichl, S. Enthaler, W. Holla, T. Riermeier, U. Kragl and M. Beller Eur. J. Org. Chem. 2008, 3506–3512 2. Mahmoud Mahmoudian, Andrew Lowdon, Martin Jones, Micheal Dawson, Christopher Wallis Tetrahedron Asymmetry 10 (1999) 1201-1206 3. Hou, R.-Z, Yang, Y. Li, G., Huang, Y.B., Wang, H., Zhang, N., Liu, Y. J., Li, X. and Zhang, X.Z., Biotechnol.Appl.Biochem., 2006, 44, 73 4. Riermeier, T., Dingerdissen, U., Gross, P., Holla, W., Beller, M., and Schichl, D. (2001) DE19955283 5. T. Nagayasu, M. Miyanaga, T. Tanaka, T. Sakiyama and K. Nakanishi, Biotechnology and Bioengineering, 1994, 43, 1118-1123

诺维信（中国）投资有限公司
海淀区上地信息路14号
100085
北京
电话：+86 10 6298 7888
传真：+86 10 6298 1283

Novozymes Biopharma DK A/S
Krogshoejvej 36
2880 Bagsvaerd,
丹麦
电话：+45 4446 2896
传真：+45 4446 1080

本文件中所述的产品和服务由 Novozymes Biopharma DK A/S, Krogshoejvej 36, 2880 Bagsvaerd, Denmark（公司注册号 29603537）–诺维信旗下的独资子公司负责提供。本文件中所包含的信息以我们认为可靠的数据作为依据。此类信息秉着诚信的原则提供，但不做任何保障，因为在使用产品时涉及的条件和方法不属于我们可控制的范围。此外，根据法律、法规和/或第三方权利的规定，可能会阻止客户按某些指定方式使用本文中的信息。因此，除非另有书面约定，本文中包含的信息以“现状”提供，且诺维信不对与前述信息有关的任何内容，即准确性、针对特定用途的适用性、不侵犯知识产权或监管/法律遵从性，作出任何陈述或保证。

© Novozymes A/S · No.2014-14455-01