

[新案例] 連續流生物酶催化反應 Baeyer-Villiger氧化:從間歇到流動的高效升級 多壁碳納米管固定的生物酶催化

隨著生物製藥和綠色食品產業的發展，酶催化合成已經成為一股強勁的技術潮流，吸引很多的技術人員和資金的投入。能否將高效的微反應技術和酶催化技術集成，應用於高效綠色合成過程呢？

1 研究背景

目前，有關工業過程安全和廢物處理的環境法規日漸嚴格的情況下，連續流反應設計與研究都加速發展。連續流反應器是讓有機合成更綠色的現代工具之一，與傳統的間歇式工藝相比，使用微反應器的流程系統有幾個優點，

- 廢物產生量較低，實驗條件更安全；
- 更高效傳質與傳熱，精確的溫度控制，可以避免有害的放熱副反應；
- 快速的早期反應條件優化和後期工業直接放大等。

2019年6月20日，波蘭西里西亞理工大學（Silesian University of Technology）的Anna Szelwickaa等研究人員在OPRD期刊上（Org. Process Res. Dev., · DOI: 10.1021 / acs.oprd.9b00132 · Publication Date (Web): 20 Jun 2019）上發表了最新連續流生物酶催化反應的研究成果。作者研究了在多壁碳納米管(MWCNT)上，通過簡單的物理吸附固定化的南極假絲酵母脂肪酶B(CALB)，連續酶催化Baeyer-Villiger氧化反應。

納米生物催化劑用於從乙酸乙酯和30重量%水溶液中生成過酸,過氧化氫作為主要氧化劑。高穩定性和活性納米生物催化劑發生Baeyer-Villiger反應，將2-甲基環己酮氧化成6-甲基- ϵ -己內酯，得到高收率（87%）和選擇性（> 99%）。

反應中使用了環境友好的乙酸乙酯作為溶劑和過酸前體。為了確定最有利的反應條件，作者進行了各種參數的一系列實驗，同時比較了間歇釜與連續流中固定化酶的回收率。

這項工作的主要貢獻在於它描述了納米生物催化劑在流動系統中 - 酶促Baeyer-Villiger氧化中的首次應用。該工藝最終產物為內脂的一種，內酯屬於精細化學領域的關鍵物質，適用於製藥，食品，化妝品，香水和聚合物工業。精細化學品市場預計將以5.76%的複合年增長率增長，到2023年將達到201.57億美元。在這裡，通過開發流動化學 - 酶促連續工藝，證明了使用連續流動反應器是該類化合物綠色化生產的方便可擴展的有效方法。

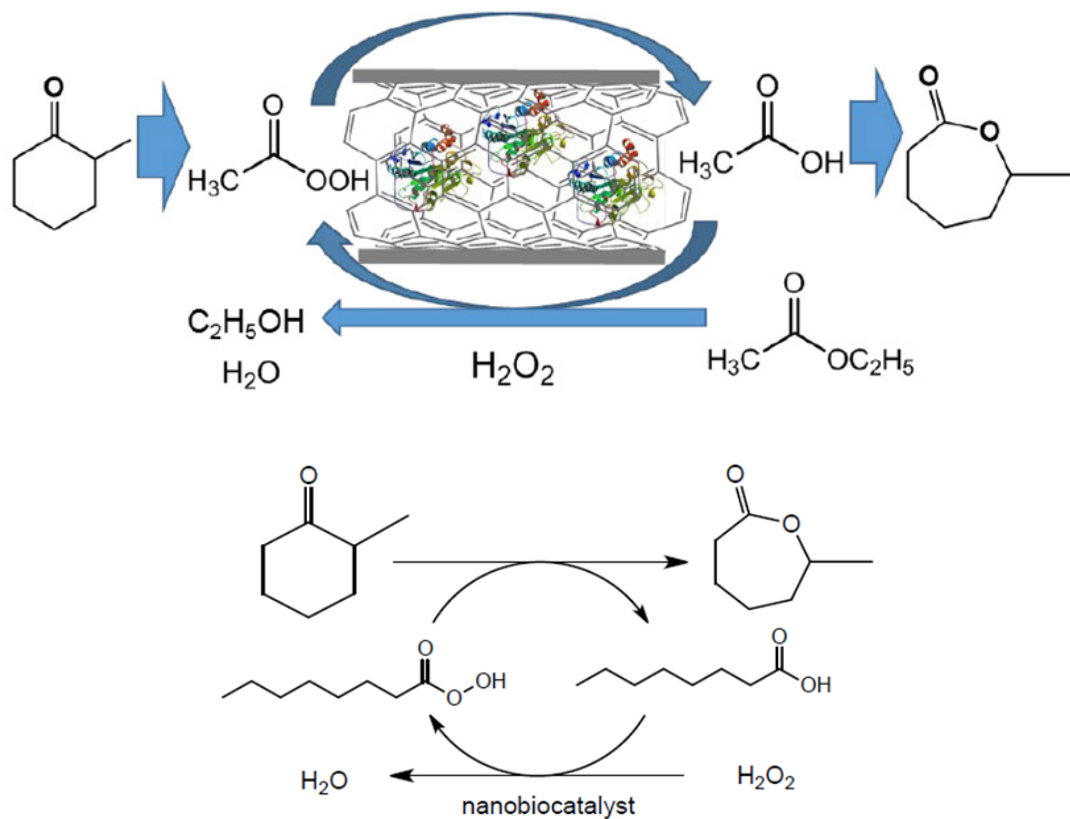


圖1. 研究中使用的流動系統圖

2 實驗部分

由於篇幅限制，這裡著重介紹連續流工藝。作者進行了大量的間歇釜反應，測定標準為不同反應體系（包含間歇式與連續流）下回收的固定化酶活性。

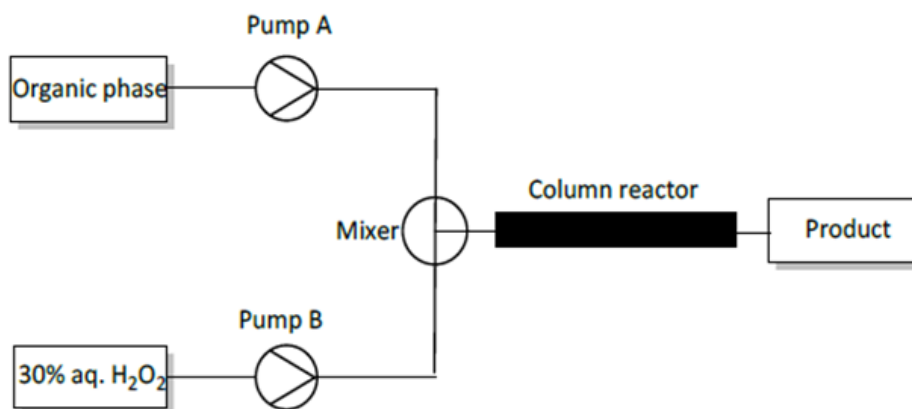


圖2. 化學酶促Baeyer-Villiger氧化2-甲基環己酮

有機相：辛酸與底物和溶劑的混合物







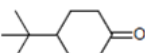
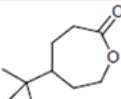
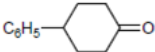
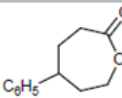

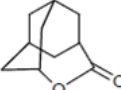
流動Baeyer-Villiger工藝：如圖2，8bar壓力下，泵A泵送有機相（酮濃度：4.50mmol (0.504g) / 10mL乙酸乙酯），泵B泵送30%重量的過氧化氫水溶液（20-80摩爾過量），總流量設定為0.040-0.133mL / min。

使用各種停留時間（12-38分鐘）和恆定量的（納米）生物催化劑（0.5g），在25-55℃下進行該過程2-24小時。在此過程中，取樣進行GC-FID分析（在0.5mL二氯甲烷中稀釋100μL樣品）。

為了合成6-甲基- ϵ -己內酯，作者開發了專用的分離方法。在2-甲基環己酮氧化後，收集反應混合物（25mL），向其中加入水（25mL），先使用飽和的水溶液洗滌有機相，然後碳酸氫鈉溶液（3×25mL）洗滌。接下來，使用二氯甲烷（3×25mL）萃取收集的水相，將有機相經無水MgSO₄乾燥並在減壓下（8mbar，25°C，1h）濃縮。通過柱色譜法純化殘餘物，使用二氧化矽作為固定相，用己烷：乙酸乙酯8：2v / v作為洗脫液，得到90%的內酯。

內酯類化合物進一步擴展得到如下表：

表3 在流動反應器中進行的化學酶Baeyer-Villiger氧化中底物類型對酮轉化的影響

| Ketone | Lactone | α , % |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
|  |  | 85 |
|  |  | 90 |
|  |  | 83 |
|  |  | 97 |
|  |  | 95 |
|  |  | 99 |

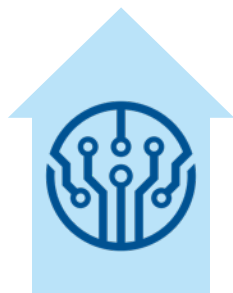
通過GC測定酮的轉化率如上表，對內酯的選擇性為100%。

3 實驗總結

- 通過與間歇過程的比較，證明了高效流動系統在固定化酶催化的Baeyer-Villiger氧化中的應用。
- 這種方法保證了產物收率高，並且消除了處理不穩定和極其危險的過酸的需要。
- 通過物理吸附固定在商業上可獲得的未改性MWCNT（Nanocyl NC7000）上的由南極假絲酵母脂肪酶B組成的高活性和穩定的納米生物催化劑已首次使用流動化學進行了證明。
- 實驗證明：30%過氧化氫可成功用作2-甲基環己酮氧化成6-甲基- ϵ -己內酯的綠色主要氧化劑。使用溫和的反應條件（40°C）在短的反應時間（5分鐘）內獲得高轉化率的底物（87%），而納米生物催化劑甚至在乙酸乙酯中進行該過程8小時後也是穩定的。
- 總之，這項工作無可否認地代表了對內酯的化學酶促氧化的極其有效的方法。在流動系統中使用穩定的納米生物催化劑已被證明是用於從精細化學品領域合成化合物的通用且可擴展的方法。

Advanced-Flow® Reactors : Disrupting the Industry, Changing Lives

康寧反應器在具有天然的安全優勢，質傳與熱傳效率相較傳統反應器有百倍到千倍的提升，在許多製程上也有很好的應用案例，歡迎感興趣的客戶電話或郵件諮詢。



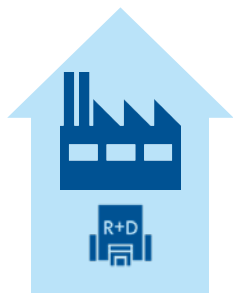
製程強化

- ✓ 質傳效率 ↑ 100X
- ✓ 熱傳效率 ↑ 1000X
- ✓ 達到反應極限而非設備限制



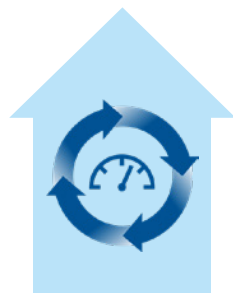
減少佔地

- ✓ 減少反應器佔地 1/1000
- ✓ 實現未來工廠的可能



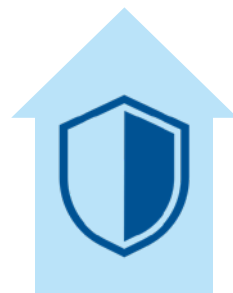
無縫放大

- ✓ 減少50%時間於工業化放大製程的開發



連續生產

- ✓ 在中國與其他區域已經有整合完成年產萬噸之工廠連續生產中(>500天)



本質安全

- ✓ 各國制定的安全規範引領產業朝向使用更安全有效率的生產技術



進階生物科技股份有限公司
Level Biotechnology Inc. www.level.com.tw

台北總公司 (02) 2695-9935
免付費專線 0800-251-302