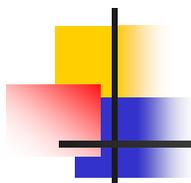


Биокаталитические процессы в органическом синтезе

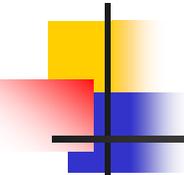


Яненко А.С.

*Государственный научный
центр*

ГосНИИгенетика, Москва





Зеленая химия и биокатализ

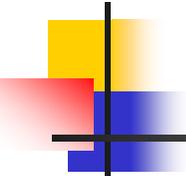
12 принципов зеленой химии

- *Лучше предотвратить загрязнение, чем бороться с ним*
- *Минимизация энергетических затрат*
- *Использование возобновляемых источников сырья*
- *Каталитические процессы лучше стехиометрических*
- *Использование безопасных растворителей*
- *Конечные продукты должны быть деградируемыми*
- *Исключить защитные группы*

E-фактор Шелдона

Преимущества биокатализа

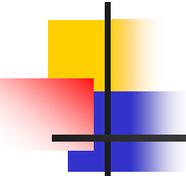
- *Мягкие условия реакции*
- *Высокая специфичность*
- *Стерео- и региоселективность*
- *Биокатализаторы из возобновляемого сырья, деградируемые в окружающей среде*
- *Экологически безопаснее традиционных процессов*



Е-фактор Шелдона

Е-фактор равен отношению массы всех отходов к массе продукта, получаемого в процессе. Отражает сложность процесса и его экологическую привлекательность

Отрасль	Объем, тонн\год	Е-фактор
Нефтепереработка первичная	$10^6 - 10^8$	0.1
Крупнотоннажные продукты	$10^4 - 10^6$	< 1-5
Продукты тонкого оргсинтеза	$10^2 - 10^4$	5 - 50
Лекарственные вещества	$10 - 10^3$	> 100



Классификация процессов органического синтеза

Основной органический синтез

- Мнготоннажные производства
- Малостадийность
- Низкая цена (до 5\$/кг)

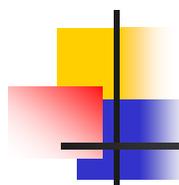
(нефтепереработка, топлива, полимерная химия и др.)

Тонкий органический синтез

- Малотоннажные производства
- Многостадийность, высокие энергозатраты
- Высокая цена

(агрехимия, фарминдустрия, реагенты и др.)

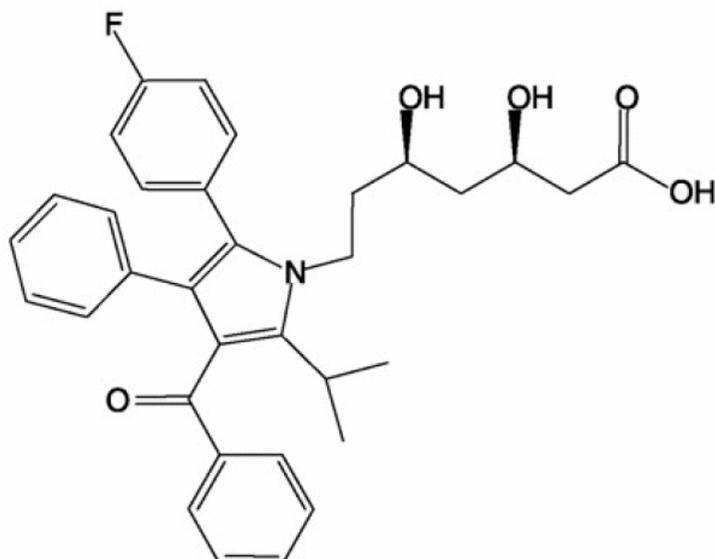
Биокатализ в тонком органическом синтезе



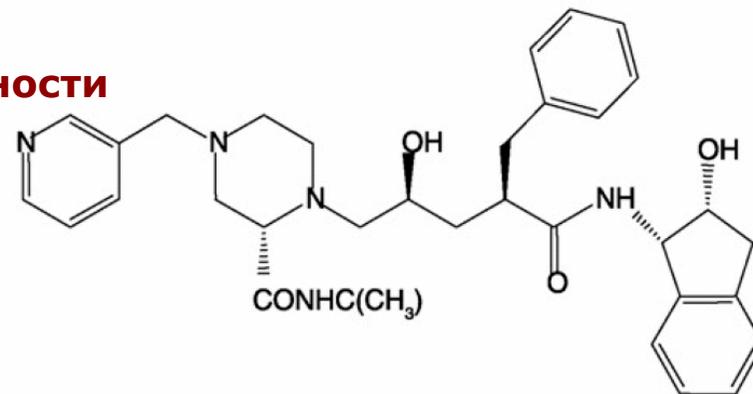
Продукт	Биокатализатор	Объем выпуска, тонн/год	Фирма/год
6-Аминопеницилиновая кислота (6-АРА)	Пенициллин ацилаза	60 000	DSM/1992, 1998
D-фенилглицин D-р-оксифенилглицин	D-гидантоиназа/ D-карбамоилаза	>2000	Kaneka Corp./ 1981 DSM\1995
L-аспарагиновая кислота	Аспартаза	>10000	DSM/1984 Ajinomoto Co./1984
Аспартам	Термолизин	15 000	Holland Sweetener Comp./1987
L-DOPA	Тирозинфенол лиаза	500	Ajinomoto/1994
Никотинамид	Нитрилгидратаза	3000	Lonza/ 1998
D- Пантотеновая кислота	Лактоназа	3 000	Daichi Fine Chem./1999
S-метоксиизопропиламин	Трансаминаза	2000 т/г	BASF/ 2001
(S)-2-хлорпропионовая кислота	S-специфичная дегалогеназа	> 1000	Avecia (ICI)/2001
D-аминокислоты	D-гидантоиназа/ D-карбамоилаза	Десятки тонн	Degussa/2003
Циангидрины	Оксинитрилаза/ Оксинитрил лиаза	Сотни тонн	DSM/2002

Лекарственные вещества с несколькими хиральными центрами

Скорость важнее эффективности



Atorvastatin (Lipitor®): inhibitor of HMG-CoA reductase

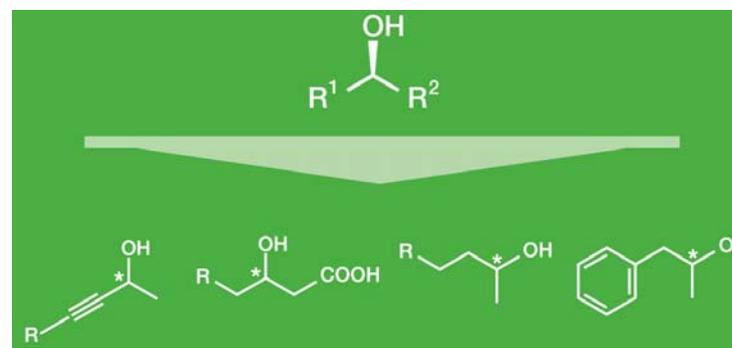
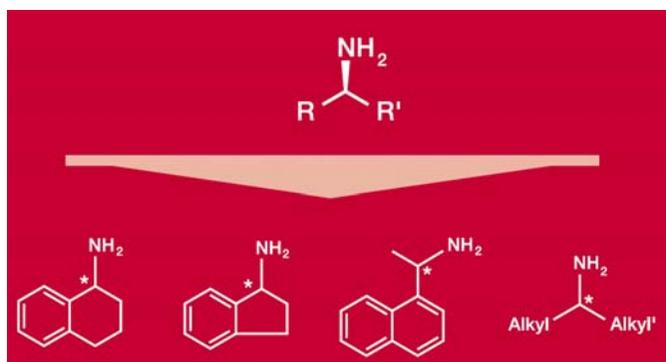


Indinavir sulphate (Crixivan®): HIV protease inhibitor

Типы реакций широко используемые в биокатализе

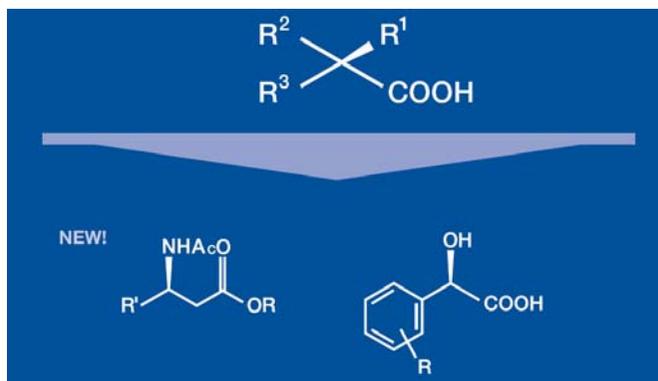
Тип реакций	Реакция	Фермент
Гидролиз	$\text{R-CH(R')-CH}_2\text{-COOR}' \longrightarrow \text{R-CH(R')-CH}_2\text{-COOH} + \text{R-CH(R')-CH}_2\text{-OH}$	Липаза, протеаза
Гидролиз	$\text{R-CH(R')-CN} \longrightarrow \text{R-CH(R')-COOH}$	Нитрилаза
Ацилирование	$\text{R-CH(R')-OH} + \text{R}''\text{-ester} \longrightarrow \text{R-CH(R')-OH} + \text{R-CH(R')-OR}''$	Липаза, протеаза, амидаза
Восстановление кетонов	$\text{R-CO-CH(R')-R}'' \longrightarrow \text{R-CH(OH)-CH(R')-R}''$	Кеторедуктаза

ChiPros™-платформа для получения хиральных молекул



Биокатализаторы:

- Липаза
- Дегидрогеназа
- Нитрилаза



Свыше 600 продуктов

От граммов до тысяч тонн

<http://www2.basf.de>

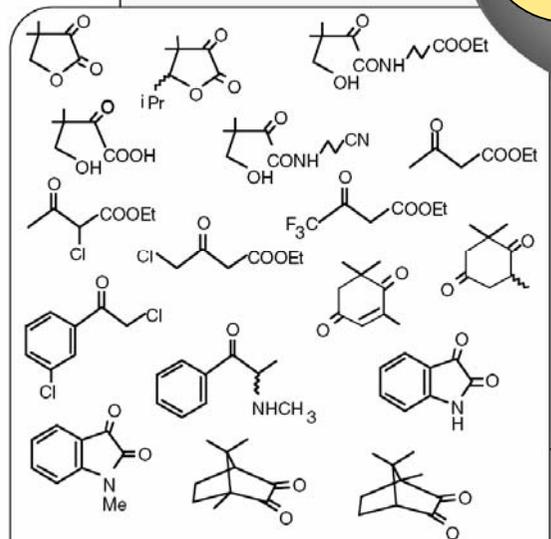
BASF, Германия

Биоредуктазная система для получения хиральных спиртов (свыше 80 ферментов)

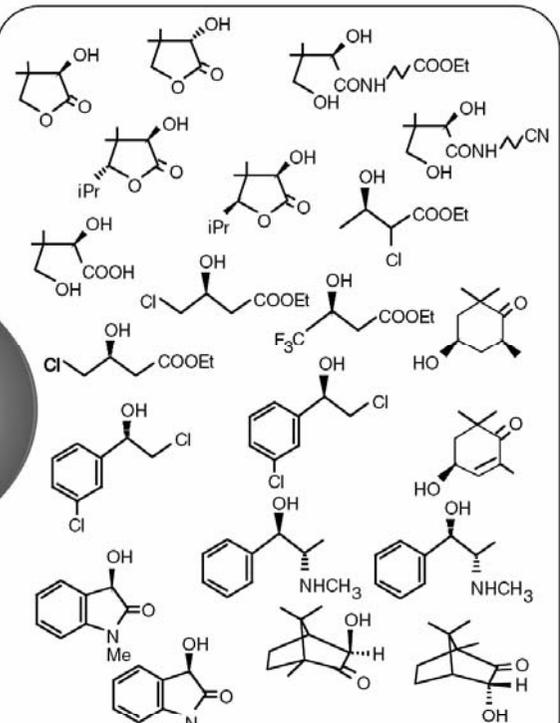


Регенерация кофактора

редуктаза



Прохиральные молекулы

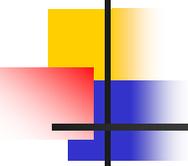


Хиральные спирты

Ogawa & Shimizu, 2002

Типы реакций наиболее перспективные для биокатализа

Тип реакций	Реакция	Фермент
Синтез циангидринов		Оксинитрилаза
Трансаминирование		Трансаминаза
Гидроксилирование		Цитохром P450
Восстановление енолов		Еноилредуктаза
Гидролиз эпоксидов		Эпоксидгидролаза



Биокатализ в крупнотоннажной химии

- Химия органоцианидов (нитрилов)



Биокаталитическое получение акриловых мономеров

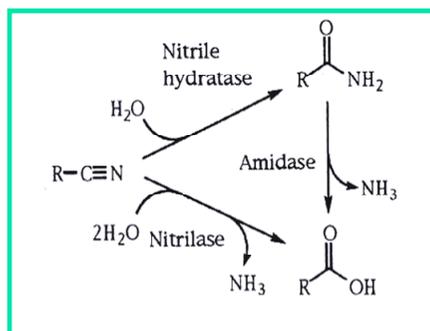
Энзиматическая конверсия нитрилов и амидов

Акриловые мономеры

- *Акриламид*
- *Акриловая кислота*
- *N-замещенные акриламиды*

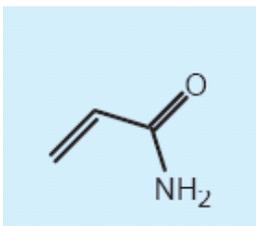
Полиакриламид

Флокулянты

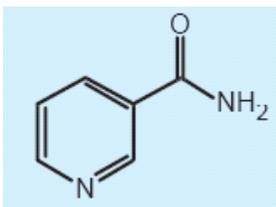


Биокатализ в химии орга̀ноцианидов

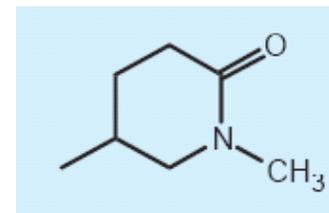
Акриламид



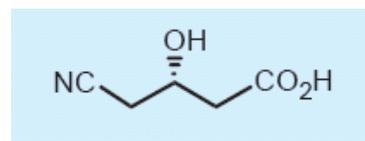
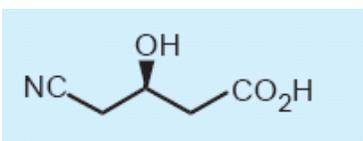
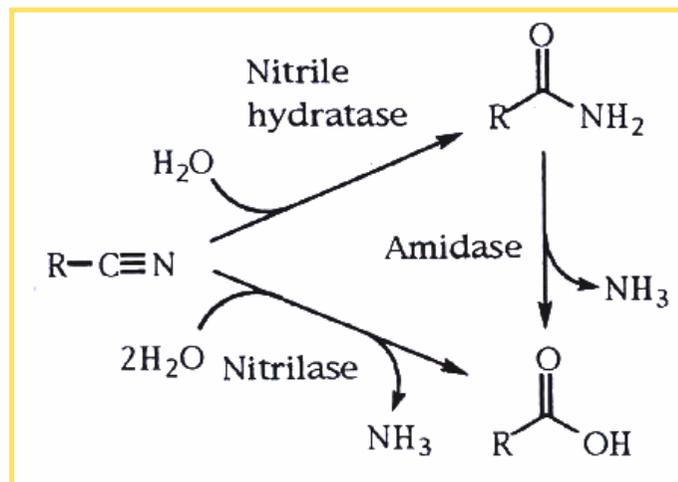
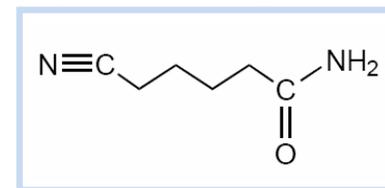
Никотинамид



1,5dimethyl-2-piperidone

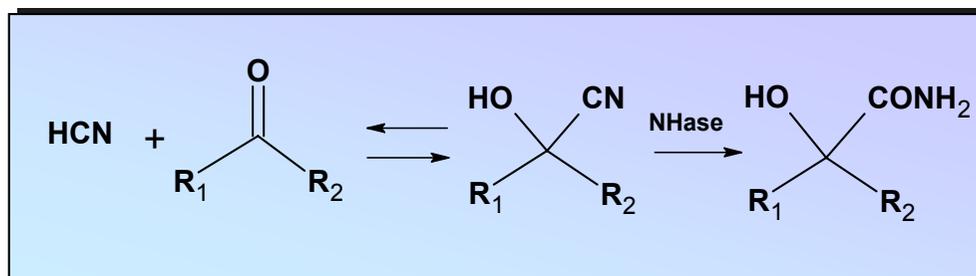


5-Циановалерамид

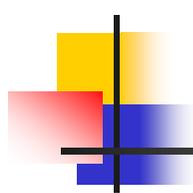


(S) или (R)-4-Циано-3-гидроксибутират

Циангидрины – новые субстраты для нитрилаз

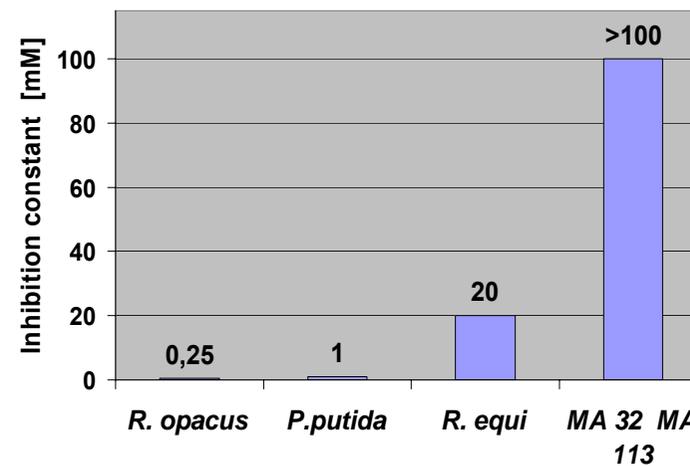


- ❖ Циангидрины – стартовый материал для тонкого органического синтеза
- ❖ Главная особенность водных растворов - наличие свободных цианидов
- ❖ Все известные NHase высоко чувствительны к цианидам и не работают с циангидринами!



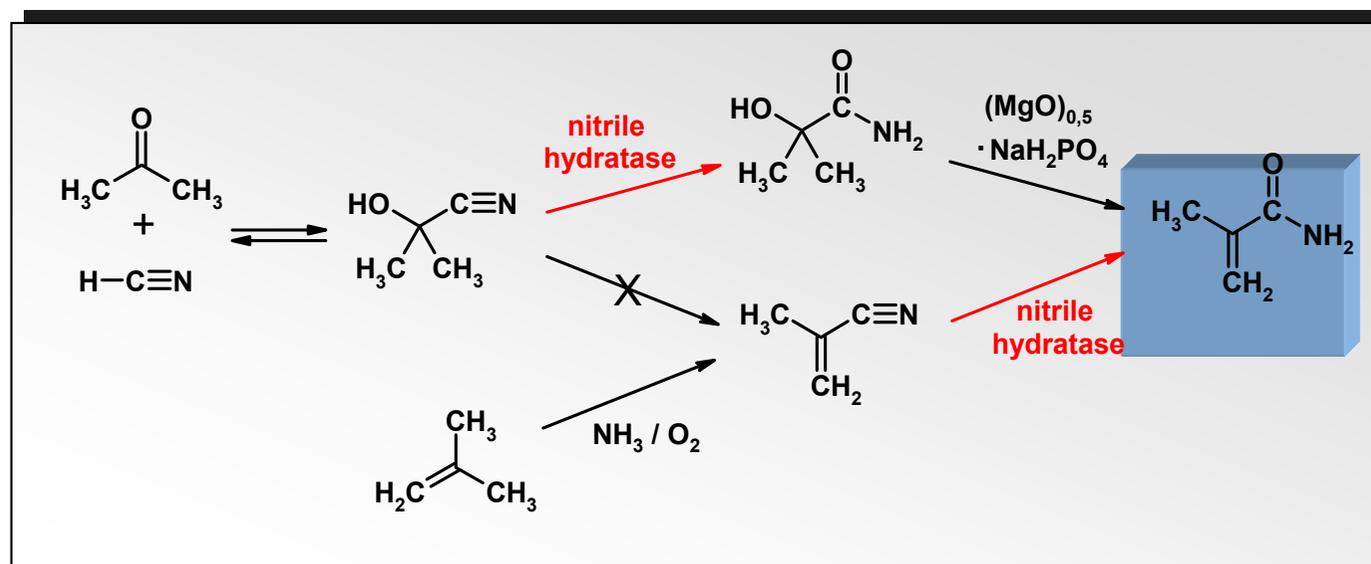
Цианид-устойчивые НГ из штаммов *Pseudomonas* sp. MA 32 и MA113

- Для всех известных НГ константа ингибирования не превышает 20 mM
- НГ из MA 32 и MA113 не ингибируется даже при концентрации цианида 100 mM !
- Синтез амидов в присутствии 25 mM цианида возможен



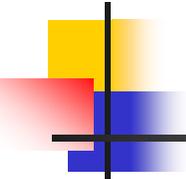
Patent Appl. PCT/EP2005/002689

Биокаталитический путь к метакриламиду



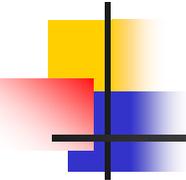
Мономеры, получаемые с помощью биокатализа и ферментации





Минимальные требования к промышленным биокаталитическим процессам

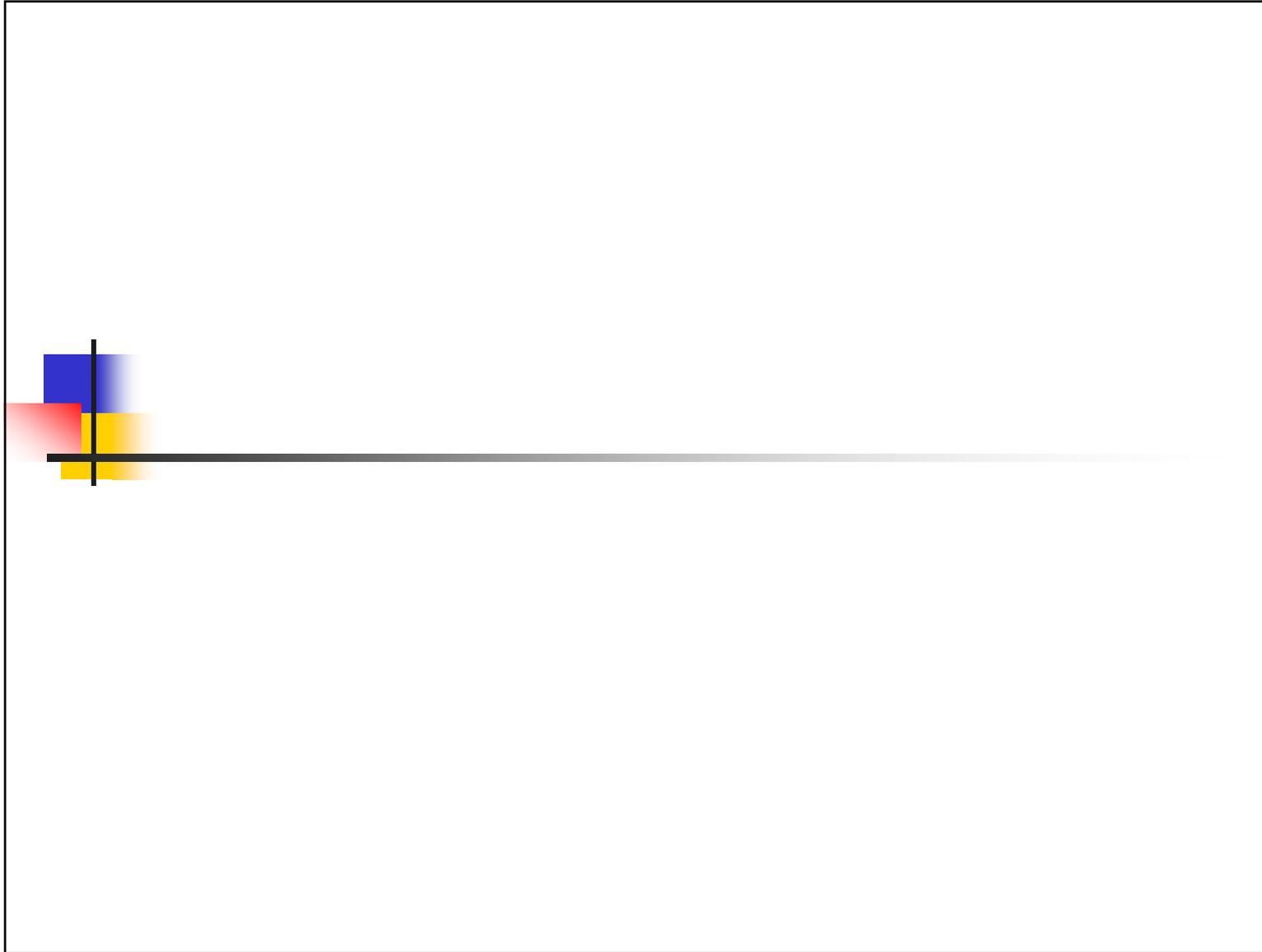
- **Конверсия** > 78%
- **Концентрация продукта** > 100 г\л
- **Объемная продуктивность** - 15 г\л час
- **Продуктивность БК** > 1000 г\г
- **Себестоимость БК** 1-10% от
цены продукта



Предпосылки развития промышленного биокатализа в России

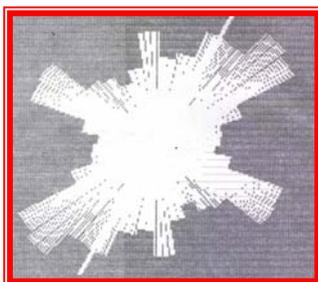
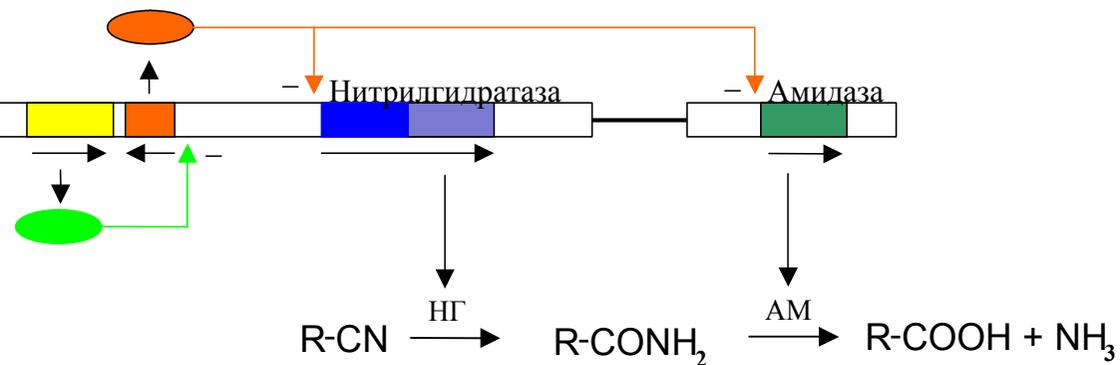
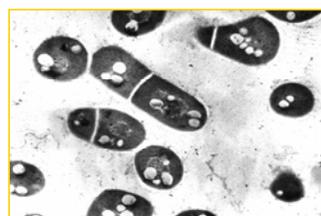
- **Огромные сырьевые ресурсы (нефть, газ, вода)**
- **Развитая химическая промышленность**
- **Квалифицированный кадровый потенциал**

**Биокаталитические процессы - будущее
химической индустрии России**



М33 -уникальный катализатор для получения акриламида

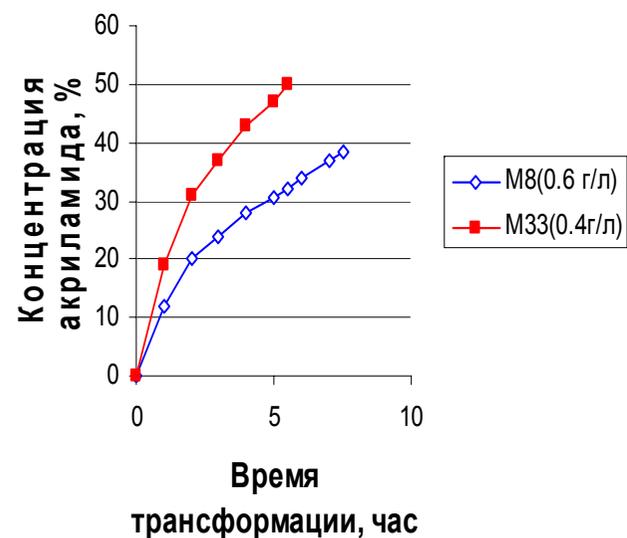
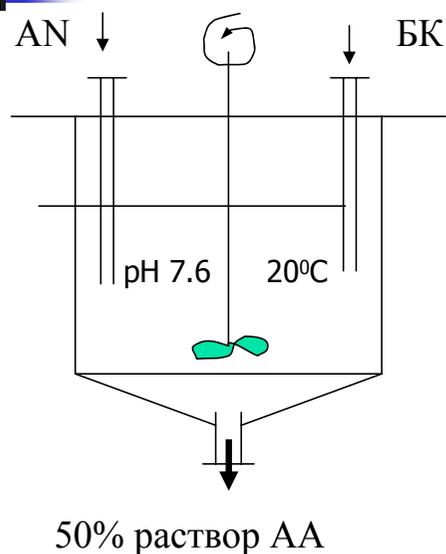
Генетическая структура НГ кластера в *Rhodococcus rhodochrous* М33



Свойства БК-М33

- ❖ Частицы полимеров акриламида с иммобилизованными клетками
- ❖ Средний размер частиц БК- 30μm
- ❖ Частица БК содержит несколько клеток М33
- ❖ БК может храниться при -20 0С в течении года без потери активности

Биотрансформация акрилонитрила в акриламид с помощью БК-М33



Продуктивность БК >1000 г АА/г БК
Стоимость БК –около 5% от стоимости АА

US 5827699 "Strain of *Rhodococcus rhodochrous* as a producer of nitrile hydratase"