

A Brief Discussion on the Application of Biotechnology in Chiral Drug Synthesis

Guangming Sang

Chia Tai Tianqing Pharmaceutical Group Co., Ltd., Lianyungang, Jiangsu, 222062, China

Abstract

As a fundamental property of nature, chirality plays a pivotal role in molecular recognition during biological processes and the generation of life-sustaining substances, while also constituting a critical consideration in pharmaceutical design. The distinct enantiomers of chiral drugs often exhibit markedly different pharmacological activities and toxic effects in vivo, underscoring the importance of obtaining optically pure chiral compounds for medication safety. Understanding chirality concepts and characteristics is essential in drug synthesis to ensure therapeutic efficacy and safety. This study analyzes advancements in biotechnology applications for chiral drug synthesis, focusing on the characteristics of biocatalysts such as oxidoreductases, hydrolases, and transferases. Through case studies, it demonstrates the utility of biocatalysis in synthesizing chiral alcohols, chiral amines, axial chiral compounds, and spirocyclic structures.

Keywords

Chiral drugs; Biocatalysis; Protein engineering; Drug synthesis

浅谈生物技术在手性药物合成中的运用

桑光明

正大天晴药业集团股份有限公司, 中国·江苏 连云港 222062

摘要

手性作为自然界的基本属性, 分子手性识别在研究生命活动和生命物质产生中都起着极为重要的作用, 也是药物分子设计需考虑的重要因素。手性药物的不同对映体在生物体内常表现出迥异的药理活性与毒性效应, 因此获得光学纯的手性化合物对保障用药安全有重要意义, 药物合成中需要关注手性的概念和特性, 以确保药物的安全性和有效性。本文研究针对生物技术在手性药物合成领域中的研究进展进行分析, 重点讨论氧化还原酶、水解酶、转移酶等生物催化剂的特点, 结合典型案例阐述了生物催化在手性醇、手性胺、轴手性化合物合成中的应用。

关键词

手性药物; 生物催化; 蛋白质工程; 药物合成

1 引言

手性 (Chirality) 以此源于希腊语, 直译为“手的”, 这一命名本身就形象的揭示了其内涵, 如同人的左右手, 两者互为镜像但无法重合。宏观世界中, 手性随处可见, 螺壳的旋转方向、藤蔓的缠绕方式等, 分子尺度上, 手性表现为一种特殊的立体结构特点: 当一个分子与其镜像不能通过任何旋转或平移操作相互重叠时, 该分子即具有手性, 它们就像一对孪生子, 化学式完全相同, 原子连接顺序毫无二致, 但三维空间中的排布方式截然相反。

2 手性药物合成中常用的生物催化剂

2.1 氧化还原酶

氧化还原酶能够以前手性化合物为底物, 通过不对称还原或氧化反应, 构成一个或多个手性中心, 生成光学纯的药物中间体。

2.1.1 羰基还原酶 (KREDs)

KREDs 属于短链醇脱氢酶家族, 能够催化前手性酮的不对称还原, 生成相应的手性醇。这一反应看似简单, 但是全球手性化学品市场中应用最广泛的生物催化方式。KREDs 催化作用依赖于辅酶 NAD, 反应过程中, 辅酶扮演着氢负离子搬运工的角色, 辅酶将烟酰胺环上的氢负离子立体选择性的转移到酮基底物的羰基碳中, 同时一个质子从酶的活性位点残基转移到羰基氧上, 完成一整个还原过程。KREDs 催化反应需要等摩尔量的辅酶作为还原剂, 辅酶的高昂成本是制约其应用的主要障碍, 要解决这一问题, 研究

【作者简介】桑光明 (1985—), 男, 中国江苏连云港人, 硕士, 高级工程师, 从事药物研发研究。

人员开发了多种辅酶再生系统,其中最有价值的设计是利用乙醇作为最终还原剂:乙醇可在葡萄糖脱氢酶或醇脱氢酶的作用下氧化为乙醛,同时将 NAD(P)⁺ 还原为 NAD(P)H,实现辅酶的循环利用。

2.1.2 亚胺还原酶 (IREDs)

手性胺结构广泛存在于天然产物与药物分子中,据统计:大约有 40% 的小分子药物含有手性胺片段。近年来,研究人员还发现了一类特殊的还原胺化酶 (RedAms),能够高效催化酮与胺的直接偶联还原,一步构建手性 C-N 键,避免了亚胺中间体的分离步骤。通过 IRED 催化还原胺化,可直接从前手性酮与环丙胺进一步合成目标产物,通过定点突变获得 M203A/S241L 双突变体,将立体选择性从 87%ee 提升到 > 99%ee,催化效率提高 38%。

2.2 水解酶

水解酶在手性药物合成中最主要的应用是外消旋体的动力学拆分。其原理是根据酶对映体选择性的水解反应:在外消旋的酯或酰胺底物中,酶优先水解其中一个对映体,生成相应的手性酸或醇,而另一个对映体以原料形式保留,从而实现拆分。以 (S)-萘普生的工业合成为例,外消旋的萘普生甲酯在脂肪酶催化下,只有 (S)-酯被选择性水解生成 (S)-萘普生,而 (R)-酯不发生反应。反应停止后,通过简单的酸碱萃取即可分离产物和反应底物,未反应的 (R)-酯可通过消旋化后重新进入拆分循环,理论收率可达 100%^[1]。

2.3 转移酶

转移酶催化官能团从供体分子向受体分子的转移,其中在手性药物合成中最具代表性的是转氨酶 (TAs)。

2.3.1 手性胺绿色合成利器

ω -转氨酶能够催化酮的不对称胺化反应,将前手性酮直接转化为手性伯胺,同时以氨基酸或胺作为氨基供体。这一反应无须还原剂,副产物仅为相应的酮酸或酮,原子经济性高,环境友好^[2]。

2.3.2 催化机制的双底物识别

转氨酶以磷酸吡哆醛 (PLP) 为辅酶,通过“乒乓机制”催化反应。首先,氨基供体与酶结合的 PLP 形成醛亚胺中间体,释放出相应的酮产物,同时 PLP 转化为吡哆胺磷酸 (PMP)。其次, PMP 与酮底物反应形成新的醛亚胺,释放出手性胺产物,PLP 得以再生。这一过程中,酶活性位点的结构决定了酮底物结合时的立体取向,从而控制产物的绝对构型^[3]。

3 生物技术在手性药物合成中的典型应用

3.1 手性醇类药物的合成

手性醇是手性药物中最常见的结构单元之一,不管是他汀类降脂药侧链的三个连续手性中心,还是抗抑郁药物度洛西汀的 (S)-醇结构,手性醇的精准构建都是药物合成

的关键步骤。KREDs 凭借其卓越的立体选择性和催化效率,成为手性醇工业化生产的主力工具。

随着辅酶再生技术的突破,这一生物催化工艺真正具备了经济可行性。核心设计在于将昂贵的 NAD(P)H 辅酶与第二个酶比如葡萄糖脱氢酶偶联,以链家的葡萄糖作为最终还原剂,实现辅酶的循环利用。工艺层面, KREDs 催化具有多重优势:反应常在常温常压的水相中进行,无需危险试剂;立体选择性通常 > 99%ee;产物浓度可达 100g/L 以上。这些特性使其在制药工业中迅速普及,已有数十种手性醇药物中间体采用 KREDs 工艺生产^[4]。

例如,他汀类药物手性侧链合成。他汀类药物作为全球销量最大的处方药,其中阿托伐他汀应用广泛,共同结构特点为含有三个连续手性中心的 β , δ -二羟基庚酸侧链,这一侧链的立体化学纯度直接决定了药物的降脂活性^[5]。传统化学合成这一侧链的步骤较多,生物催化提供了最佳的解决方案:双酮还原酶能够催化 β , δ -二酮酯底物的立体选择性双还原,一步构建两个手性中心,生成光学纯的他汀侧链前体。这一过程是生物催化精准性的典范,双酮还原酶能够区分底物中两个看似相似的酮基,优先还原其中一个,生成的羟基中间体自动环化形成内酯,随后第二个酮基被还原,最终以 > 99%ee 值和 > 99%de 值获得目标产物^[6]。

3.2 手性胺类药物的合成

3.2.1 亚胺还原酶催化环己胺合成

环己胺结构是众多天然产物和药物分子的重要骨架,但其立体选择性合成一直是手性化学的难题。中国科学院天津工业生物技术研究所高书山研究员与崔成森研究员团队的最新研究,为这一挑战提供了解决方案,见表 1。

表 1 工程化改造亚胺还原酶合成环己胺药物分子砌块示意图

工程化 IRED 催化体系	底物范围	关键性能指标
野生型 IRED	80 多种环己胺底物	转化率 99%
↓酶口袋精准改造	↓	立体选择性: 99%ee
四个高活性突变体	cis/trans 异构体	底物载量: 30 g/L
	轴向手性环己胺	应用验证: 10 g 级制备

根据表中可知,通过亚胺还原酶的工程化改造,研发团队获得了四个高性能突变体,实现了 80 余种不同构型环己胺的高效立体选择性合成

3.2.2 转氨酶在西他列汀合成中的应用

转氨酶最重要的应用案例是 2 型糖尿病药物西他列汀的合成,被公认为工业生物催化的里程碑。西他列汀含有一个手性胺中心,传统合成路线采用手性辅基诱导的不对称氢化,需要在高压和高温的条件下采用铑基贵金属催化剂,立体选择性仅为 97%ee,且需要额外的纯化步骤。默克公司与 Coedxis 公司合作,提出了以前手性酮为原料,通过 ω -转氨酶的直接胺化构建手性胺^[7]。这一选择挑战巨大:天然转

氨酶对该类含有大位阻基团的酮底物几乎没有活性。研究团队对节杆菌来源的转氨酶进行了多轮定向进化,通过筛选数万个突变体,最终获得了包含 27 个突变的工程酶^[8]。进化后的酶活性提升了大约 25000 倍,能够在高底物浓度下以 >99.95% 的 ee 值合成西他列汀。

3.3 轴手性化合物的合成

轴手性分子最典型的代表是联芳烃类化合物,其中两个芳香环通过单键连接,由于邻位取代基的空间位阻,两个芳香环不能自由旋转,形成稳定的手性构象。轴手性广泛存在于天然产物和药物分子中,比如抗真菌药物米卡芬净、抗肿瘤药物葡萄孢霉素等含有轴手性结构。

近年来,生物催化位轴手性合成开辟了新路径,尹红宁等人发表在《Nature Synthesis》上的研究^[9],通过分子动力学模拟指导的定向计划,将黄素酶 PtOYE 改造为能够催化轴手性联芳基化合物合成的催化剂。见表 2。

表 2 分子动力学模拟指导的黄素酶定向进化

野生型 PtOYE	分子动力学模拟识别关键残基 (F124/V254)
初始活性较低	揭示 loop 区域构象动态调控机制
对非天然底物无活性	预测有益突变位点
无轴手性选择性	锁定改造靶点

根据表中显示可知:分子动力学模拟揭示了 PtOYE 活性口袋中 F124/V254 等关键残基对底物结合构象的调控作用,基于这一认识进行定向进化,最终获得了催化效率提高 70 倍的突变体 ADes-5。

4 结语

进入 21 世纪后,手性药物已经从“特殊品种”发展为制药工业的主流,根据统计:全球大约 52% 的化学药物具有手性特点,在新药研发中,这一比例还在持续攀升。最令人瞩目的是:2019 年全球畅销药前 20 名中,手性药物占比高达 70%,这一数据反映了手性药物在临床治疗中的核心

地位。

随着蛋白质工程、定向进化和计算模拟等技术的发展,酶的催化活性、底物谱与立体选择性得以持续优化,以手性药物的绿色、高效合成开辟了新路径。

参考文献

- [1] 徐斌. 生物转化及其在药物合成中的应用[J]. 化工管理, 2021, (26):45-46.
- [2] 徐礼生,王治元,刘均忠,等. 生物技术在手性药物合成中的应用进展[J]. 精细化工, 2013, 30(04):370-373+397. DOI:10.13550/j.jxhg.2013.04.011.
- [3] Slagman S, Fessner W D. Biocatalytic routes to anti-viral agents and their synthetic intermediates[J]. Chemical Society Reviews, 2021, 50(3): 1968-2009.
- [4] Cosgrove S C, Miller G J. Advances in biocatalytic and chemoenzymatic synthesis of nucleoside analogues[J]. Expert Opinion on Drug Discovery, 2022, 17(4): 355-364.
- [5] Simic S, Zukic E, Schermund L, et al. Shortening synthetic routes to small molecule active pharmaceutical ingredients employing biocatalytic methods[J]. Chemical Reviews, 2021, 122(1): 1052-1126.
- [6] Wu S, Snajdrova R, Moore J C, et al. Biocatalysis: enzymatic synthesis for industrial applications[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2021, 60(1): 88-119.
- [7] Hughes D L. Biocatalysis in drug development—highlights of the recent patent literature[J]. Organic Process Research & Development, 2018, 22(9): 1063-1080.
- [8] Fernández-Lucas J. Multienzymatic synthesis of nucleic acid derivatives: a general perspective[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2015, 99(11): 4615-4627.
- [9] Yin H N, Chen Z, Zhao X, et al. Molecular-dynamics-simulation-guided directed evolution of flavoenzymes for atroposelective desaturation[J]. Nature Synthesis, 2025, 4(12): 1621-1629.