

# 利用微藻催化生产手性醇的研究进展

常煦<sup>1</sup>, 曾嵘<sup>2</sup>, 罗莉<sup>1</sup>, 颜家保<sup>1</sup>, 杨忠华<sup>1</sup>

(1. 武汉科技大学化学工程与技术学院, 湖北 武汉 430081;  
2. 湖北大学化学化工学院, 湖北 武汉 430062)

**摘要:**介绍了近年来国内外在利用微藻催化不对称反应合成手性醇的研究进展。综述了微藻催化不对称合成的反应类型, 同时对影响微藻不对称催化手性醇的因素进行了讨论, 最后探讨了该技术的应用前景以及该项技术在工业生产中需要克服的一些问题。

**关键词:** 不对称合成; 微藻; 生物催化; 生物转化; 手性醇

**中图分类号:** TQ460.38; O621.34

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-4320(2010)12-0021-05

## Advances in producing chiral alcohols with microalgae

CHANG Xu<sup>1</sup>, ZENG Rong<sup>2</sup>, LUO Li<sup>1</sup>, YAN Jia-bao<sup>1</sup>, YANG Zhong-hua<sup>1</sup>

(1. College of Chemical Engineering and Technology, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430081, China; 2. Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Hubei University, Wuhan 430062, China)

**Abstract:** The recent development in chiral alcohols synthesis with microalgae as biocatalyst is introduced in this paper. Different types of asymmetric synthetic reaction with microalgae catalysis are reviewed. Besides, the factors that control these asymmetric synthesis are discussed. And, the application prospect of microalgae asymmetric synthesis and the problems in industrial production that need to be resolved are also presented.

**Key words:** asymmetric synthesis; microalgae; biocatalysis; biotransformation; chiral alcohols

手性物质因其特殊的生物活性,在医药、食品、农药以及精细化工等诸多领域具有重要的意义。手性醇等手性中间体是合成以上手性产品的关键砌块。对前手性化羰基化合物进行不对称还原是合成手性醇最有前景的方法之一。由于生物特殊的立体选择性,利用生物技术进行手性物质合成已经成为手性物质生产研究的热点,包括利用酵母细胞等微生物及植物细胞作为手性合成催化剂,已有大量文献报道<sup>[1-2]</sup>。但寻找高效、绿色、节能的手性物质的生产方式一直是合成界追寻的目标。微藻既具有可以微生物高浓度快速大规模培养的特性,又具有许多植物细胞与组织所类似的光合代谢特性,而且微藻可弥补其他生物催化剂在工业化生产中诸如培养条件相对复杂、辅酶依赖等的不足<sup>[3]</sup>,是潜在具有重要应用前景的新型生物催化剂。

当前,能源与环境问题已经成为阻碍人类可持续发展的两大关键问题,而微藻生产生物柴油技术和微藻二氧化碳减排技术被认为是解决这2个问题最有潜力的技术之一<sup>[4-5]</sup>,若在此基础上,通过耦合微藻不对称还原技术,在解决能源与环境危机的同时生产手性物质,对我国加快转变经济发展方式以及新型技术变更有重要的意义。近年来,利用微藻

催化技术合成手性物质已有一些研究报道,但国内外还未见对这些工作进行归纳整理。为了加深对这一新型技术的认识,促进该技术的发展,本文中结合近期笔者的研究工作,对近年来国内外在利用藻类细胞进行手性物质合成方面的研究情况进行归纳分析。综述微藻催化不对称合成的反应类型,并对影响反应结果的因素进行了讨论,同时简单探讨此研究领域需要解决的问题。

## 1 藻类细胞催化的不对称还原研究进展

从分类学角度讲,藻类处于整个植物分类系统的底端,从遗传学角度讲,大多数学者认为现在所有的植物都起源于藻类,虽然对利用植物细胞的不对称反应已经做了相当大量的工作,但在藻类细胞不对称反应上,研究相对较少。所发表的文献主要集中在日本、美国等国家。

### 1.1 藻类细胞催化酮类化合物的不对称还原

手性醇是合成手性化合物的重要砌块,而催化前手性酮不对称还原是手性醇生产的重要方法之一。

#### 1.1.1 藻类催化芳香酮还原

微藻不对称催化能力主要是伴随光合作用进行

收稿日期:2010-08-27

作者简介:常煦(1985-),男,硕士生;杨忠华(1976-),男,博士,教授,主要从事生物催化、微藻技术等方面的研究,通讯联系人,027-86563448, yangzhonghua76@wust.edu.cn。

的,图1给出了微藻进行不对称催化还原反应原理。

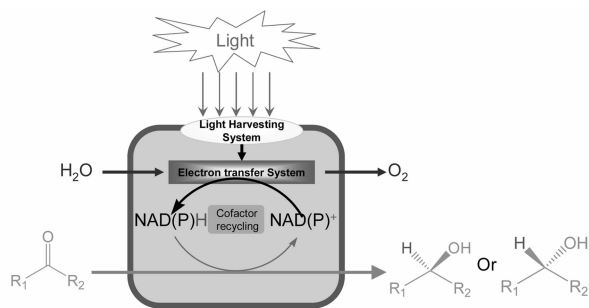


图1 微藻催化羰基不对称还原合成手性醇原理

20世纪90年代合成化学研究者开始注意到运用藻类可以进行一系列生物转化,从那个时候起,人们开始注意到藻类的不对称催化能力。芳香酮是生物手性还原的典型底物,通过不对称还原得到的手性醇可作为手性药物合成的手性砌块,是非常重要的医药合成原材料。Nakamura等利用蓝藻还原全氟苯乙酮**1a**得到相应的*S*-型醇**1b**,产率达到95%以上,*e. e.*值达到了99%以上,说明蓝藻对全氟苯乙酮有非常好的立体选择性,反应式如图2<sup>[6]</sup>。

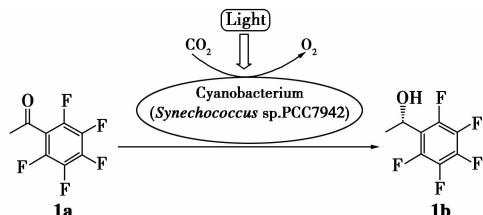


图2 利用微藻还原全氟苯乙酮

Utsukihara等利用2种红藻(*Cyanidioschyzon merolae* 10D和*Cyanidium caldarium*)还原了一系列苯乙酮衍生物,研究显示2种藻对多种苯乙酮衍生物都有不对称催化活性,但是对不同苯乙酮衍生物,藻体对底物的反应能力差别较大,产率在7%~92%<sup>[7]</sup>。

笔者所在实验室在最近的研究中,发现螺旋藻、水华藻、小球藻、斜生栅藻4种淡水藻类均对苯乙酮

有一定的不对称还原能力,其中螺旋藻与水华藻的*S*-型醇产率达到45%,*e. e.*达到99%以上。

### 1.1.2 藻类催化环式酮还原

樟脑醌是一种非常重要的手性中间体,目前国内樟脑醌主要依赖进口来满足国内需求。Utsukihara等在研究中利用蓝藻还原樟脑醌**2a**,如图3所示,蓝藻在催化过程中显示了非常好的立体选择性,在预想产物**2b**~**2e**中,只有**2b**、**2d**、**2e**生成,而且产物**2d**的质量分数占总产物的93%以上<sup>[8]</sup>。

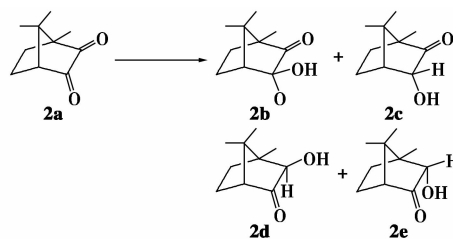


图3 蓝藻还原樟脑醌

Shimoda等通过研究聚球藻(*Synechococcus* sp. PCC 7942)发现,该藻对五元与六元环式烯酮**3a**~**5a**(如图4所示)都有不对称催化活性。实验表明,对于五元环式烯酮**3a**,反应24h,*S*-型醇的产率可达99%以上,*e. e.*值高达98%,反应结果要优于酵母等微生物。而当以**4a**、**5a**为底物的时候,手性醇产率也可以达到99%以上,但*e. e.*值相对较低,只有80%左右<sup>[9]</sup>。

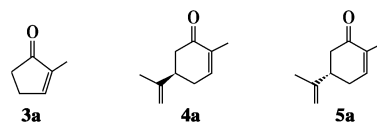


图4 聚球藻还原的环式烯酮

### 1.1.3 藻类催化杂环酮类衍生物

异噁唑杂环手性羟基化合物是合成除草剂以及有机农药等的重要手性砌块。Itoh等利用蓝藻(*Synechococcus elongates* PPC 7942和*Synechosystis* sp. PPC 6803)还原3-乙酰基异噁唑衍生物**6a**~**7a**

(上接第20页)

- [41] Balaraju M, Rekha V, Sai Prasad P, *et al.* Selective hydrogenolysis of glycerol to 1,2-propanediol over Cu-ZnO catalysts [J]. *Catalysis Letters*, 2008, 126(1/2): 119-124.
- [42] Guo Liyuan, Zhou Jinxia, Mao Jingbo. Supported Cu catalysts for the selective hydrogenolysis of glycerol to propanediols [J]. *Applied Catalysis A: General*, 2009, 367: 93-98.
- [43] Kurosaka T, Maruyama H, Naribayashi I, *et al.* Production of 1,3-propanediol by hydrogenolysis of glycerol catalyzed by Pt/WO<sub>3</sub>/ZrO<sub>2</sub> [J]. *Catalysis Communications*, 2008, 9: 1360-1363.

- [44] Gong Leifeng, Lv Yuan, Ding Yunjie, *et al.* Solvent effect on selective dehydroxylation of glycerol to 1,3-propanediol over a Pt/WO<sub>3</sub>/ZrO<sub>2</sub> catalyst [J]. *Chinese Journal of Catalysis*, 2009, 30(12): 1189-1191.
- [45] Nakagawa Y, Shinmi Y, Koso S, *et al.* Direct hydrogenolysis of glycerol into 1,3-propanediol over rhenium-modified iridium catalyst [J]. *Journal of Catalysis*, 2010, 272(2): 191-194.
- [46] Werpy T A, Frye J G J, Zacher A H, *et al.* Hydrogenolysis of 6-carbon sugars and other organic compound: WO, 03035582 [P]. 2003-12-15. ■

(3-acetylisoaxazoles), 如图5所示, 反应获得50%左右的中等程度产率, 对映体产物**6b**~**7b**的*e. e.*值可以达到90%以上<sup>[10]</sup>。与酵母等微生物催化结果相比, 尽管酵母等微生物对此类化合物显示出更好的立体选择性, 但是酵母等微生物的催化剂/底物比(*b/s*)至少在20以上, 而微藻催化该底物的*b/s*在1.0左右。这就说明, 微藻催化相比于酵母等微生物催化更加经济高效。除此之外, 由于异噁唑杂环手性羟基化合物本身具有极强的抗菌抑菌特性。因此, 高底物浓度会对微生物催化产生负面影响, 而微藻催化可以较好地解决这个问题。

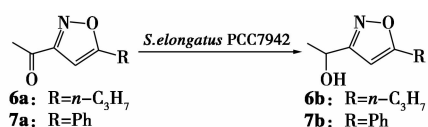


图5 微藻还原3-乙酰基异噁唑衍生物

## 1.2 藻类细胞催化酮酯类化合物

手性羟基酯及其衍生物是许多重要的手性药物关键手性砌块, 是合成内酰胺类抗生素、肿瘤抑制剂以及HIV病毒抑制剂的关键。另外, 手性羟基酯在农业化学品, 尤其在除草剂合成方面也是重要的构建砌块。而利用酮酯还原合成手性羟基酯也是手性醇生产的重要方法之一。Kuramoto等利用小球藻还原乙酰乙酸乙酯, 发现3株藻都可以催化乙酰乙酸乙酯还原分别生成2种手性醇, 但是转化率并不太高<sup>[11]</sup>。Ishihara等利用小球藻属中的7株藻还原酮酯类衍生物, 发现7株藻对底物都有一定的不对称还原能力, 其中以小球藻(*Chlorella sorokiniana*)的还原能力最强, 其对底物的转化率可达到98%以上, 而且产物*e. e.*值都达到90%以上<sup>[12]</sup>。同时, Ishihara等<sup>[13]</sup>研究了4种海洋微藻还原酮酯类衍生物生成手性醇, 如图6。结果表明, 微绿球藻的不对称还原性是最强的, 除**8a**、**12a**外, 该藻对其他底物转化率都在99%以上, 但是所有藻类底物产物的*e. e.*值都不高。

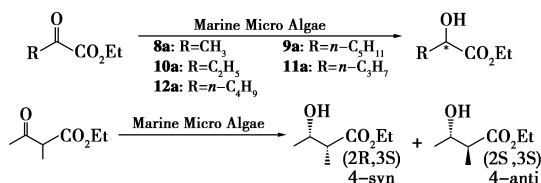


图6 微藻不对称催化酮酯类化合物

虽然藻类对许多底物都拥有不对称催化活性, 但对于许多底物来说, 藻类对底物的空间立体选择

性并不高, 但Takemura等在最新的研究中给利用微藻技术不对称还原指明了1个新的方向, 由于微藻基因组要比植物简单的多, 所以利用基因工程技术改造微藻成为优化微藻不对称还原能力的1个有效方法, 他利用基因敲除技术去掉了1个酒精脱氢酶基因, 结果显示改造后的藻株的底物不对称催化能力要明显优于野生藻株<sup>[14]</sup>。

## 1.3 利用微藻催化氧化合成手性羟基化合物物质

早在1952年, 美国的Peterson和Murray就发现了微生物对甾体类物质的羟化反应, 省去了化学合成中的10个工序, 从而开辟了甾体微生物合成的新途径。与此同时, 通过羟化反应引入手性羟基成为手性醇合成的一条新途径, 随着现代生物技术的发展, 新的羟化反应生物催化剂不断被发现, 微藻就是近来新发现的微生物催化剂之一。

Hamada等<sup>[15]</sup>通过利用聚球藻(*Synechococcus sp.* PCC 7942)对柠檬烯**14a**及其氧化物进行生物转化, 合成手性醇**14b**、**14c**, 如图7。结果表明, 当底物为*S*型的时候, 藻体可以成功将底物转化为手性醇, 而当底物为*R*型的时候, 藻体对底物是不具有转化活性的, 这个也恰好符合Prelog原则。从反应结果看, 微藻氧化反应是具有立体选择性的。

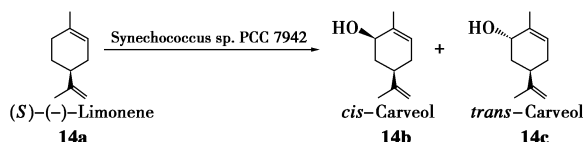


图7 微藻不对称氧化合成柠檬烯

Horiuchi等<sup>[16]</sup>通过螺旋藻生物氧化2,6-二溴环己酮**15a**得到较好的效果, 得到的手性醇**15b**, *e. e.*值达到了92%, 如图8。

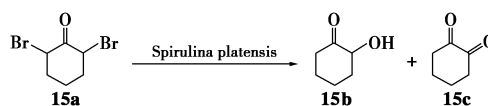


图8 微藻转化2,6-二溴环己酮

## 1.4 利用微藻进行手性拆分

对外消旋羟基化合物进行拆分是合成手性醇的方法之一, 现在用于工业的手性拆分方法主要以化学拆分为主。由于化学拆分路线复杂, 催化剂昂贵而且大多不可以重复利用, 而利用生物手性拆分法可以很好地弥补化学拆分的不足。最近一些手性合成工作者以微藻作为手性拆分催化剂对一些外消旋物质进行了生物手性拆分取得了不错的效果。

Utsukihara等<sup>[17]</sup>正是利用微藻进行手性拆分,

通过红藻 (*Cyanidioschyzon merolae* NEIS-1332) 对外消旋苯乙醇进行手性拆分, 如图 9。取得了很好的效果, 拆分后得到 *S*-型醇 **16c**, 产率达到 89%, *e. e.* 值达到 91%。微藻手性拆分给手性物质生产提供了 1 个新的思路, 对于某些利用化学方法和生物方法都不容易合成的手性物质, 可以将化学手性合成和生物手性拆分相结合, 这样不但可以提高生产效率, 还可以大大降低生产成本。

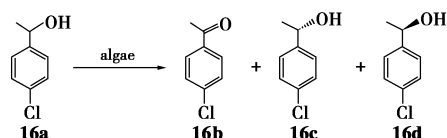


图 9 微藻手性拆分 4-氯苯乙醇

## 2 影响藻类细胞催化不对称还原反应的因素

### 2.1 藻种的影响

在现有藻类进行不对称反应的研究中, 绝大多数学者采用的都是蓝藻, 说明蓝藻较其他藻类的不对称还原能力强。部分学者利用裸藻和绿藻全细胞作为不对称还原剂。在最近的研究中, 有学者开始研究其他藻类诸如金藻、硅藻和红藻对底物的不对称还原情况。值得注意的是, 在现有的研究中, 以海洋藻为研究对象的居多, 而对淡水藻研究的情况相对较少。

归纳起来, 导致藻株间不对称催化能力不同的因素主要有 2 点。一是, 由于不同藻种中进行不对称催化反应参与的酶不同。例如绝大多数藻种进行催化反应时参与的酶为羰基不对称还原酶, 最常见的就是还原酮和醛生成手性醇, 另外部分藻可以利用羟化酶进行不对称羟化反应合成手性醇。二是, 藻种间电子传递的效率不同导致藻种的催化能力不同。对于电子传递效率高的藻种, 意味着其辅酶再生效率也高, 从而有较高的不对称还原能力。

### 2.2 基团电负性及其位阻的影响

Utsukihara 等<sup>[18]</sup> 在研究几种海洋红藻对苯乙酮衍生物的还原情况时, 发现苯乙酮取代基对反应结果具有显著影响。其原因主要有: ①反应受到取代基电负性的影响, 当取代基团 R 为吸电子基团, 藻类对底物的反应情况要明显优于当取代基团 R 为供电子基团时的情况, 当 R 基为卤素原子吸电子基团时, 随着卤代原子质量的增大, 微藻对底物的反应情况越好; ②除取代基电负性外, 取代基团空间位阻

也是影响微藻不对称反应进程的重要影响因素, 取代基越长, 反应结果越差。

Utsukihara 等的研究结果与 Orden 等<sup>[19]</sup> 用萝卜毛状根 (*D. carota* hairy root) 组织细胞还原烷基芳基酮的研究结果一致, 说明基团电负性及其空间位阻的影响是生物不对称反应中的 1 个重要公共影响因素。

### 2.3 培养基成分的影响

Yoshizako 等<sup>[20]</sup> 报道了利用淀粉和小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 还原 3-氧代戊酸甲酯, 发现培养基中金属盐的种类和浓度对小球藻的不对称还原能力都有影响。实验结果显示, 小球藻对 3-氧代戊酸甲酯具有不对称选择还原能力。并发现培养基中不同的金属盐对藻不对称还原能力有影响。在没有任何金属盐的培养基中, 藻对底物的转化率较高。而藻在有金属盐的培养基中, 对底物的立体选择性要高于没有金属盐培养基中的藻。同时发现, 高浓度的金属盐对藻的不对称还原能力有阻碍作用。这可能是金属离子对藻体内氧化还原酶具有一定的影响。

Ishihara 等<sup>[21]</sup> 利用绿藻 (*Chlorella* strains) 和海洋藻类还原  $\alpha$ -酮酯与  $\beta$ -酮酯, 研究发现在培养基中加入甘油、葡萄糖、甘氨酸后, 藻株对底物的不对称还原能力显著加强, 甚至优于酵母等微生物。这表明, 这些加入物很可能通过促进辅酶再生效率进而促进反应的进行。

### 2.4 光照的影响

光对藻类的催化能力的影响是显而易见的, Nakamura 等<sup>[22]</sup> 通过改变光照条件探讨了光对细长聚球藻 (*Synechococcus elongatus*) 不对称还原能力的影响。发现光照影响反应速率, 但对最终产率影响并不大。同时发现光照对反应的立体选择性也有很大影响。在有光照条件下, 藻催化的反应立体选择性要明显强于无光照条件下。笔者所在课题组在最近的利用水华藻催化苯乙酮不对称还原的实验中发现, 在无光条件下水华藻会丧失还原能力。而在正常光照条件下, *S*-型手性醇的产率可达到 40% 以上。这说明微藻的不对称还原能力是与其光合作用直接相关。

关于光照对植物细胞的立体选择性的影响, Nakamura 等做了深入的探讨。藻类细胞的不对称催化能力与高等植物细胞类似, 都是与光合作用相关的, 在光照条件下, 藻类细胞通过吸收转化光能使辅酶  $\text{NADP}^+$  与  $\text{NADPH}$  之间快速转化, 从而加快

Calvin 循环,促进细胞内酶对底物的反应速率,从而促使不对称反应的进行<sup>[23-24]</sup>。

然而,并不是所有关于藻催化不对称反应时候都需要阳光的,如腐生型眼虫(*Astasia longa*)和纤细裸藻(*Euglena gracilis*)。Noma 和 Hirata 等分别研究了在无光条件下利用这 2 种藻催化香芹酮不对称还原,实验取得了很好的效果<sup>[25-27]</sup>。

### 3 结语

利用藻类细胞作为不对称催化剂具有来源丰富、安全易得、成本低廉、选择多样、环境友好等诸多优点。此外更重要的是催化剂易再生,后续处理也简单方便,而且拥有重要的工业应用前景。此外,尽管利用藻类细胞进行不对称催化合成具有诸多的优点,但同样也存在许多不足,需要进行深入的研究去解决。首先,藻类细胞不能耐受较高浓度的底物量,这点上与利用细菌作为生物催化剂相类似。其次,由于藻类细胞中的酶种类要高于细菌,导致一部分底物被转化成产品以外的形式,造成原料浪费。但随着研究的不断深入,其应用前景必将越来越明显。

### 参考文献

- [1] Cordell G A, Lemos T L G, Monte F J Q, *et al.* Vegetables as chemical reagents[J]. *Journal of Nature Products*, 2007, 70(3): 478 - 492.
- [2] 杨忠华, 曾嵘, 伍林, 等. 促进活性细胞催化前手性羰基不对称还原研究进展[J]. *现代化工*, 2006, 26(11): 16 - 22.
- [3] 孙志浩. 手性技术与生物催化[J]. *生物加工过程*, 2004, 2(4): 6 - 10.
- [4] 杨忠华, 陈明明, 曾荣, 等. 利用微藻技术减排二氧化碳的研究进展[J]. *现代化工*, 2008, 28(8): 15 - 19.
- [5] 胡洪营, 李鑫. 利用污水资源生产微藻生物柴油的关键技术及潜力分析[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(3): 739 - 744.
- [6] Nakamura K, Yamanaka R. Light mediated cofactor recycling system in biocatalytic asymmetric reduction of ketone[J]. *Chemical Communications*, 2002, 21: 1782 - 1783.
- [7] Utsukihara T, Misumi O, Kato N, *et al.* Reduction of various ketones by red algae[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, 17(8): 1179 - 1185.
- [8] Utsukihara T, Chai W, Kato N, *et al.* Reduction of (+)- and (-)-camphorquinones by cyanobacteria[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2004, 31(1/2/3): 19 - 24.
- [9] Shimoda K, Kubota N, Hamada H, *et al.* Asymmetric reduction of enones with *Synechococcus* sp. PCC 7942[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, 15(11): 1677 - 1679.
- [10] Itoh K, Sakamaki H, Nakamura K, *et al.* Biocatalytic asymmetric reduction of 3-acetylisoaxazoles[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, 16(7): 1403 - 1408.
- [11] Kuramoto T, Iwamoto K, Izumi M, *et al.* Asymmetric reduction of ethyl 2-methyl 3-oxobutanoate by *Chlorella*[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1999, 63(3): 598 - 601.
- [12] Ishihara K, Nakajima N, Yamaguchi H, *et al.* Stereoselective reduction of keto esters with marine micro algae[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2001, 15(1/2/3): 101 - 104.
- [13] Ishihara K, Yamaguchi H, Adachi N. Stereocontrolled reduction of  $\alpha$ - and  $\beta$ -keto esters with micro green algae, *Chlorella* strain[J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 2000, 64(10): 2099 - 2103.
- [14] Takemura T, Akiyama K, Umeno N, *et al.* Asymmetric reduction of acetone by knockout mutants of a cyanobacterium[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2009, 60(1/2): 93 - 95.
- [15] Hamada H, Kondo Y, Ishihara K, *et al.* Stereoselective biotransformation of limonene and limonene oxide by cyanobacterium, *Synechococcus* sp. PCC 7942[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2003, 96(6): 581 - 584.
- [16] Utsukihara T, Okada S, Kato N, *et al.* Biotransformation of  $\alpha$ -bromo and  $\alpha, \alpha'$ -dibromo alkanone to  $\alpha$ -hydroxyketone and  $\alpha$ -diketone by *Spirulina platensis*[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2007, 45(1/2): 68 - 72.
- [17] Utsukihara T, Misumi O, Nakajima K, *et al.* Stereoinversion of 1-arylethanol by *Cyanidioschyzon merolae* NEIS-1332[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2008, 51(1/2): 19 - 23.
- [18] Nakamura K, Yamanaka R, Tohi K, *et al.* Cyanobacterium-catalyzed asymmetric reduction of ketones[J]. *Tetrahedron Lett*, 2000, 14: 6799 - 6802.
- [19] Orden A A, Magallanes-Noguera C, Agostini E. Anti-prelog reduction of ketones by hairy root cultures[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2009, 61(3/4): 216 - 220.
- [20] Yoshizako F, Kuramoto T, Nishimura A, *et al.* Asymmetric reduction of methyl 3-oxopentanoate by *Chlorella*[J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1998, 85(4): 439 - 442.
- [21] Ishihara K, Yamaguchi H, Nakajima N. Stereoselective reduction of keto esters: Thermophilic bacteria and microalgae as new biocatalysts[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2003, 23(2/3/4/5/6): 171 - 189.
- [22] Nakamura K, Yamanaka R. Light-mediated regulation of asymmetric reduction of ketones by a cyanobacterium[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2002, 13(26): 2529 - 2533.
- [23] Nakamura K, Yamanaka R, Matsuda T, *et al.* Recent developments in asymmetric reduction of ketones with biocatalysts[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, 14(18): 2659 - 2681.
- [24] Kojima H, Okada A, Takeda S, *et al.* Effect of carbon dioxide concentrations on asymmetric reduction of ketones with plant-cultured cell[J]. *Tetrahedron Letters*, 2009, 50(50): 7079 - 7081.
- [25] Noma Y, Asakawa Y. Enantio- and diastereoselectivity in the biotransformation of carveols by *Euglena gracilis* Z[J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(6): 2009 - 2011.
- [26] Noma Y, Takahashi H, Asakawa Y. Biotransformation of terpene aldehydes by *Euglena gracilis* Z[J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(4): 1147 - 1151.
- [27] Shimoda K, Hirata T. Biotransformation of enones with biocatalysts—two enone reductases from *Astasia longa*[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2000, 8(4/5/6): 255 - 264. ■