

在不同溶剂体系中 PC 脂肪酶对 PBS 基共聚物的催化降解和分子模拟

张 敏^{1*}, 李成涛¹, 许小玲¹, 覃家祥¹, 王旭愿¹, 邱建辉²

(1. 陕西科技大学 教育部轻化工助剂化学与技术重点实验室, 西安 710021;

2. 秋田县立大学, 日本秋田 015-0055)

摘要:采用酶促降解实验、分子对接模拟和分子动力学模拟相结合的方法, 分别研究了在氯仿和水溶剂体系中洋葱假单胞菌脂肪酶(*Pseudomonas cepacia* lipase PC)对含六元环结构的 1,4-环己烷二甲醇(CHDM)、1,4-环己烷二甲酸(CHDA)、含醚键结构的一缩二乙二醇(DEG)和二乙醇酸(DGA)单体的聚丁二酸丁二醇酯(PBS)改性共聚物的降解规律, 并对它们进行了比较, 阐明了 PC 脂肪酶与不同底物的结合机制及其降解差异性。结果表明: PC 脂肪酶可有效地催化降解不同结构的 PBS 基共聚物, 氯仿中酶与底物结合自由能的大小顺序为 CMSCM> DGSDG> BDAB> BCAB> BSB, 水中二者的结合自由能大小顺序为 CMSCM> DGSDG> BCAB> BDAB> BSB, 其中 CM 单元的六元环状亚甲基的富集作用使得底物与酶活性位点的对接最为稳定, 具有较大的结合能, 且 PBS-co-CHDMs 降解率最大。受溶剂效应影响, 酶与底物在氯仿中的结合更稳定, 降解率远大于在水中的降解率。

关键词:洋葱假单胞菌脂肪酶; PBS 基共聚物; 酶促降解; 溶剂效应; 分子模拟

引言

脂肪族聚酯是由二酸和二醇缩聚得到的高分子聚合物, 由于具有良好的可生物降解性和生物相容性在生物材料、药物释放和工程支架以及包装材料等各个方面得到了日益广泛的应用^[1~4]。近年来, 生物酶催化降解脂肪族聚酯, 其反应条件温和、稳定性好、活性高, 并期待实现单体或低聚物的回收与循环利用, 备受各个行业的关注^[5,6]。对于各种脂肪酶的性质和催化机理等方面的研究也逐渐增多^[7~9]。

脂肪酶虽然在一定条件下其活性位点能够识别脂肪族聚酯分子主链中的酯键, 促使其发生水解, 进而进一步降解成低聚物或者单体。但是, 不同用途的共聚物分子主链结构的变化, 可导致其熔点、结晶度、分子链柔韧性、亲疏水性等的变化, 从而影响脂肪酶对聚酯的识别与降解^[10~13]。因此, 底物分子主链的异构效应和溶剂效应等均能影响酶对底物的识别和降解速度。

为了从原子水平上直观地给出可生物降解材料 PBS 基共聚物在脂肪酶的作用下, 其大分子和小分子的相互作用模式及动力学模拟过程中酶的构象变化, 采用酶促降解实验、分子对接和分子动力学模拟相结合, 可对酶与底物的结合作用大小及其催化降解机制等相关信息给出准确的预测^[14~17]。本文采用稳定性好, 催化活性高、转化率高和立体选择性好的洋葱假单胞菌脂肪酶(*Pseudomonas cepacia* lipase, PC 脂肪酶), 通过分子模拟技术研究 PC 脂肪酶对含有不同主链结构和异构化的 PBS 基共聚物的降解差异性, 同时对比了其在有机相溶剂和水相溶剂中的酶催化降解差异性, 阐明其降解机理和降解规律, 为实现降解速度可控和资源回收再利用提供理论指导和基础数据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

按照文献^[18]的方法制备聚(丁二酸丁二醇酯)(PBS); 在 PBS 主链中引入六元环结构的 1,4-环己烷

10.14028/j.cnki.1003-3726.2014.12.016

收稿: 2014-10-07; 修回: 2014-10-28;

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金(20126125110001); “十二五”国家 863 计划项目(2011AA100503);

作者简介: 张敏(1958—), 女, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事环境友好材料的合成、降解及机理研究;

* 通讯联系人: 张敏, E-mail: zhangmin@sust.edu.cn.

二甲醇(CHDM)、1,4-环己烷二甲酸(CHDA)单元与醚键结构的一缩二乙二醇(DEG)、一缩二乙二酸(DGA)得到 PBS 基共聚物分别为 PBS-*co*-CHDMS、PBS-*co*-BCHDA、PBS-*co*-DEGS 和 PBS-*co*-BDGA, 各组分的摩尔添加比例为 0%、5%、10%、15%、20%。

固定化洋葱假单胞菌脂肪酶(*Pseudomonas cepacia* lipase PC);SIGAMA(900U/g);三氯甲烷(氯仿 CHCl₃);色谱纯(HLPC),天津科密欧化学试剂有限公司;磷酸氢二钾(K₂HPO₄)和磷酸二氢钾(KH₂PO₄)分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;凝胶渗透色谱仪(GPC):P230,大连依利特分析仪器有限公司;恒温摇床:OS-1002,上海比郎仪器有限公司。

1.2 实验过程

1.2.1 分子对接模拟 采用分子动力学模拟,提取平衡阶段的平均结构作为 PC 脂肪酶的结构。以二醇封端(合成比例中醇酸比为 1.1:1)设计五个底物模型,如图 1 所示,采用 YASARA 软件进行动力学优化;通过 MGLTools 进行预处理,除去酶结构中原配体和水分子,并对受体蛋白进行加氢、加电荷等;然后采用 Autodock^[19]对获取的蛋白结构与设计的底物分子进行分子对接,对接完成后结果在 LigPlot^[20]和 Chimera 进行可视化分析;最后在 linux 系统上通过 Autodock 对 PC 脂肪酶与不同底物分子对接进行模拟计算,得到了酶与底物的各项结合能。

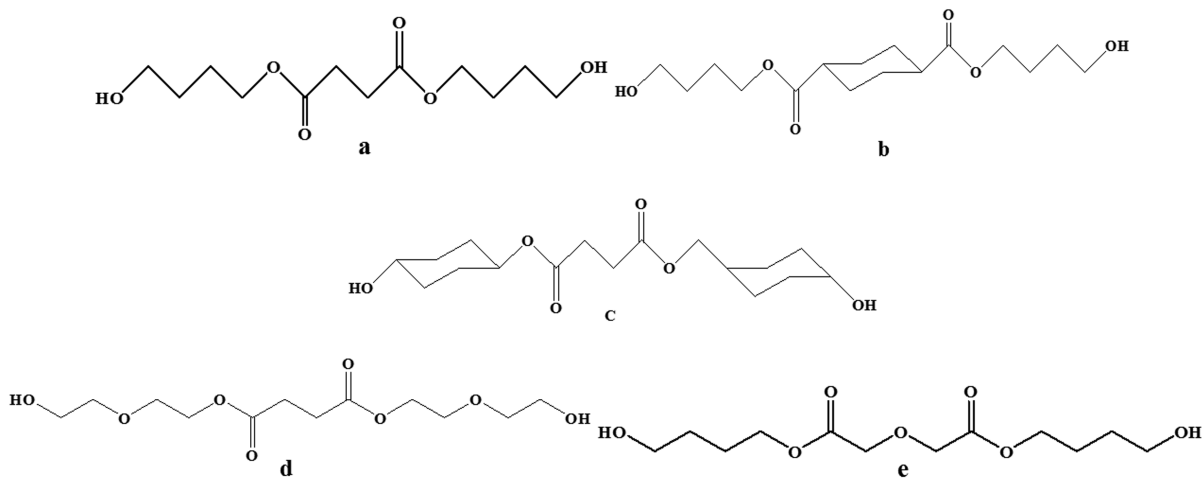


图 1 配体结构简图

(a) BSB, (b) BCAB, (c) CMSCM, (d) DGSDG, (e) BDAB

Figure 1 Schematic representation of: (a) BSB, (b) BCAB, (c) CMSCM, (d) DGSDG and (e) BDAB respectively

1.2.2 分子动力学模拟 以 YASARA V13.12 软件在氯仿和水体系中对 PC 脂肪酶分别进行了 10ns 的分子动力学模拟。使用 amber03^[21]力场,模拟温度为 55℃,pH=7.0。初始结构文件来自 RCSB 数据库(PDB ID:2NW6^[22])。确定模拟体系的温度耦合采用“Berendsen thermostat”法^[23],压力耦合采用“manometer”方法,参照压力为 1.0×10⁵ Pa。设置标准立方盒包裹模型及其它分子,晶体置于盒子中心。体系在 amber 力场下以最陡下降法优化 5000 步的能量。模拟体系中远程范德华力作用距离取 1.4nm,“cut-off”方法计算球形截断半径。设置周期性边界条件,模拟步长为 1fs,每 2.5ps 输出一个构象,以 YASARA 分析模拟结果。

1.2.3 PBS 基共聚物酶促降解 取适量的 PBS 基共聚物分别置于含有 PC 脂肪酶的氯仿体系(含微量水的氯仿溶剂)和水相体系(KH₂PO₄-K₂HPO₄(pH=7.2±0.01,浓度为 0.1mol/L)缓冲液)中,在一定温度于恒温水浴摇床中进行催化降解,以不加脂肪酶实验为对照组,有机相体系每隔 12h 取一次样,降解 60h;水相体系每隔 24h 取一次样,降解 96h。降解率(P)的计算公式如下: $P = (M_{n0} - M_n) / M_{n0} \times 100\%$ 计算,其中 M_{n0} 为共聚物降解前相对分子质量, M_n 为降解后的共聚物相对分子质量。

1.2.4 分析测试 采用 GPC 对 PBS 基共聚物酶促降解前后的相对分子质量进行测试,计算降解率。

2 结果与讨论

2.1 PC 酶与 PBS 基共聚物降解的分子对接

酶与底物分子之间的结合能主要包括范德华作用、氢键作用、去溶剂化作用以及静电作用。如表 1 所示为底物 BSB、BCAB、CMSCM、DGSDG 和 BDAB 与 PC 脂肪酶在氯仿和水中的分子对接结果,可以看出底物与酶在氯仿和水相中均能形成复合物,并产生结合自由能,且氯仿中的结合能较水中的结合能小,一方面说明底物均与活性口袋中的催化残基发生了氢键结合等相互作用,增加底物与 PC 脂肪酶结合的稳定性;另一方面,配体在氯仿体系中存在较强的疏水作用,利于酶与底物的结合,产生较小的结合自由能和范德华作用力,促进酶催化降解。

表 1 不同底物在有氯仿和水中的分子对接结果
Table 1 Docking results of substrate molecules in CHCl₃ and H₂O

溶剂 \ PC 酶	配体	结合能	分子间能	范德华能	静电作用能	总能量	扭转自由能
		$E_{\text{binding}}^{\text{a}}$	$E_{\text{inter-mol}}^{\text{b}}$	$E_{\text{vdw}}^{\text{c}}$	$E_{\text{elec}}^{\text{d}}$	$E_{\text{total}}^{\text{e}}$	$E_{\text{torsional}}^{\text{f}}$
		(kcal·mol ⁻¹)	(kcal·mol ⁻¹)	(kcal·mol ⁻¹)	(kcal·mol ⁻¹)	(kcal·mol ⁻¹)	(kcal·mol ⁻¹)
In CHCl ₃	BSB	-5.75	-10.23	-9.86	-0.36	-1.19	4.47
	BCAB	-6.14	-10.31	-9.93	-0.38	-0.84	4.18
	CMSCM	-9.20	-13.08	-12.81	-0.27	-0.95	3.88
	DGSDG	-6.66	-11.73	-11.49	-0.24	-2.15	5.07
	BDAB	-6.34	-11.12	-10.92	-0.20	-0.7	4.77
In H ₂ O	BSB	-5.13	-9.60	-9.42	-0.18	-0.66	4.47
	BCAB	-6.19	-10.36	-10.06	-0.30	-0.92	4.18
	CMSCM	-8.95	-12.83	-12.63	-0.20	-1.00	3.88
	DGSDG	-6.46	-11.53	-11.35	-0.17	-0.80	5.07
	BDAB	-6.00	-10.78	-10.58	-0.20	-0.87	4.77

a. Binding energy; b. Intermolecular energy; c. Van der Waals energy; d. Electrostatic interactions; e. Total energy of the complex; f. Torsional free energy.

其中,CM 单元在氯仿和水中均能产生较大的结合能,分别为-9.20kcal·mol⁻¹和-8.95kcal·mol⁻¹,而 CA、DE、DA 单元与酶的结合能相对较低,但均比 BS 单元的结合能大,且在氯仿中的结合能较水中的结合能强,表明溶剂效应对酶与底物的对接产生一定的影响,氯仿中底物处于溶解状态,在氯仿-水混和溶剂中存在相界面,酶的界面激活效应与底物的疏水效应共同作用使其进入活性口袋,经固定稳定后与酶发生相互作用,产生较大的结合能。此外,CM 的饱和六元环结构,使得亚甲基在主链上的富集,导致酯键与活性位点残基对接时发生的疏水作用更强,从而提高催化效果。

通过不同底物模型与酶进行对接,获取各底物与 PC 脂肪酶的结合能,如图 2 所示。以含六元环结构的 PCL-BCAB 和 PCL-CMSCM 为例与 P 脂肪 C 酶进行对接,图中浅棕色配体为 BCAB 结构,蓝色配体为 CMSCM 结构,在对接过程中,界面激活效应促使 PC 脂肪酶的活性盖子打开,暴露酶的催化活性中心,底物进入活性口袋,酶与底物的酯键之间发生相互作用,同时对接过程中配体分子扭转产生结合作用促进酶的催化降解。

PBS-co-CHDA 与 PBS-co-CHDMS 为六元环结构,DGSDG 和 BDAB 为含醚直链结构,两两之间的空间结构相似,但环状结构和直链结构的主链异构效应的差异和酶的溶剂效应使其与酶的结合位点不同,降解性存在一定的差异性。

如图 3 所示,分别展示了 PBS-co-CHDA 与 PBS-co-CHDMS 在氯仿和水相中的与 PC 酶的疏水相互作用示意图,由图可以看出在氯仿和水相体系中,底物分子与酶分子之间均能产生相互作用,羰基以氧负 10.14028/j.cnki.1003-3726.2014.12.016

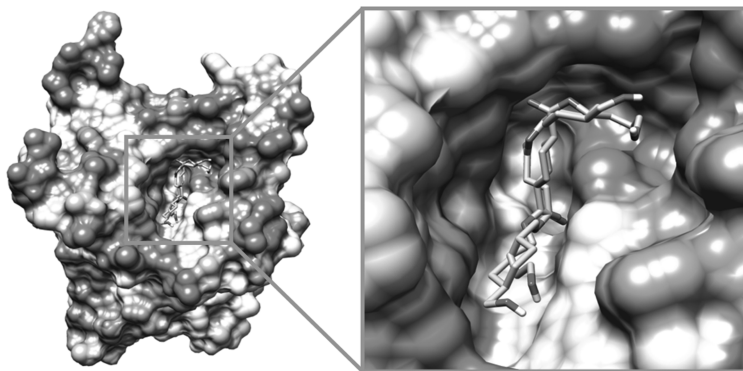


图 2 底物优势构象在 PC 脂肪酶活性位点的表面结合图(浅棕色配体为 BCAB;蓝色配体为 CMSCM)

Figure 2 The surface of the top-ranking docked conformation of compounds BCAB (light brown) and CMSCM (carbon atoms in light blue) combined with active site of PC lipase

离子洞残基 Leu17 和 Gln88 进行固定,底物中的酯键与酶的催化残基发生相互作用,促进催化作用的进行。但 CHDA 和 CHDM 为六元环结构,BCAB 与 CMSCM 分子链环状部分呈现刚性,但酸段环状结构的 BCAB 空间位阻使得底物难以到达活性口袋底部,催化效率较低,醇段环状结构的 CMSCM 亚甲基存在富集作用,对接时疏水作用促使酶与底物的结合作用增强,而提高了酶的催化效率。DGSDG 和 BDAB 为直链结构,改性 PBS 分子主链具有良好的柔顺性,分子的扭转程度较大,易进入活性口袋而发生相互作用,但对接过程的不稳定性因素又使其与酶的结合作用力减弱。同时 PC 脂肪酶具有较强的溶剂效应,氯仿为非极性有机溶剂,在油水界面 PC 脂肪酶因受到界面激活暴露活性位点,利于配体与酶的结合,提高降解效率;在水相体系中,酶在极性水溶剂中具有较好的稳定性,降低了催化效果。因此,比较研究不同溶剂体系条件下,酶与不同构象异构体底物之间的结合机制,对解释酶催化脂肪族聚酯降解机制和识别规律具有重要的理论意义。

2.2 PBS 基共聚物的酶催化降解率

酶与底物的结合作用对酶催化 PBS 基共聚物的降解具有决定性的影响,研究中对不同比例的 PBS 基共聚物在氯仿和水体系中的酶催化降解性进行了测试,发现随着降解时间的延长,PBS 基共聚物的降解率增大,图 4、5 分别表示了 PBS-co-BCHDA、PBS-co-CHDMS、PBS-co-DEG 和 PBS-co-DGA 在氯仿体系中降解 60h 和水体系中降解 96h 后的降解率及其变化。

由图可知,氯仿溶剂中 PBS 基共聚物的降解率较高,六元环结构的 PBS 基共聚物的降解率随着比例的增加,呈先增大后减小的趋势,其中 CM 单元改性的 PBS-co-CHDMS 共聚物具有最大的降解率,10% 的添加量降解率高达 85%;这是因为共聚物主链中含六元环单体的引入打破了 PBS 规则的刚性螺旋链结构,使得酶与底物的结合更容易进行,更有利于降解。随着六元环单体含量增大,共聚物主链刚性增大,空间位阻效应随之增大,导致酶与酯键结合的难度变大,降低了酶与酯键对接的准确度,故降解率呈现减小趋势。直链共聚物的降解率随时间的变化降解率变化不大,但也持有较高的降解率,达到 60% 以上,表明醚键结构的引入有效提高了 PBS 分子链的柔顺性,提高了酶与底物的结合几率,易于到达酶的活性中心发生相互作用而降解。水相溶剂中共聚物的降解率较低,处于 20% 左右,随着改性组分添加量的增加降解率有所增大,主要是由于极性水分子与底物之间存在竞争,影响酶的催化效率。由此可以说明 PC 脂肪酶催化降解聚酯,受底物分子主链异构效应和溶剂效应共同作用的影响,验证了分子对接的结果。

2.3 PC 脂肪酶的分子动力学模拟

为了进一步解释 PC 脂肪酶催化降解 PBS 基共聚物受溶剂效应的影响,解释酶催化活性在不同溶剂中的降解差异性,采用分子动力学对不同溶剂体系酶蛋白催化活性进行了 10ns 的模拟研究。图 6 为蛋白质的二级结构图和酶残基在两种体系中 RMSF 曲线,蛋白质二级结构中紫色代表蛋白质的初始结构,10.14028/j.cnki.1003-3726.2014.12.016

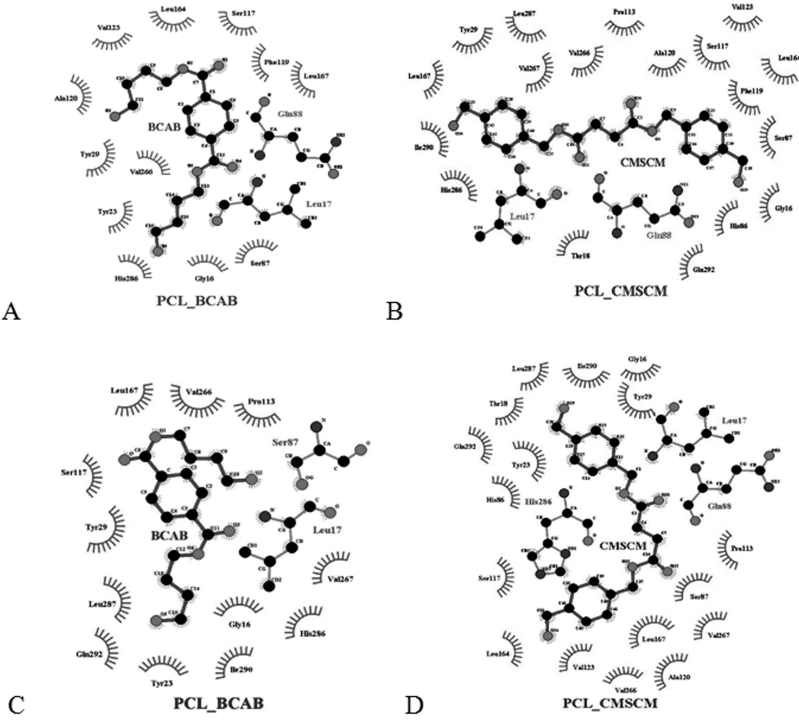


图 3 酶和底物的疏水相互作用图

(A) PCL-BCAB in CHCl₃; (B) PCL-CMSCM in CHCl₃; (C) PCL-BCAB in H₂O; (D) PCL-CMSCM in H₂O

Figure 3 Hydrophobic interactions between substrate and PC lipase by docking studies

(A) PCL-BCAB in CHCl₃; (B) PCL-CMSCM in CHCl₃; (C) PCL-BCAB in H₂O; (D) PCL-CMSCM in H₂O

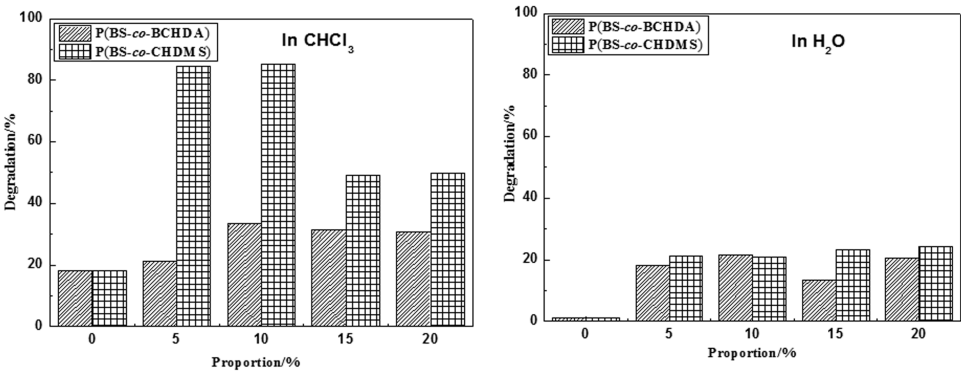


图 4 PBS-co-BCHDA 和 PBS-co-CHDMS 在氯仿和水中的降解率

Figure 4 The degradation rate of PBS-co-BCHDA and PBS-co-CHDMS in CHCl₃ and H₂O

绿色表示蛋白质在水溶剂中的结构,蓝色表示蛋白质在氯仿中的结构,RMSF 是蛋白体系最终原子位置同平均位置的比值,通过计算酶蛋白中各个氨基酸残基相对于平均结构的位置偏差来表征蛋白质二级结构的变化程度^[22]。PC 脂肪酶在氯仿和水两种体系中 MD 过程的 RMSF 如图 6 所示,氯仿中酶分子的整体氨基酸残基变化幅度较水中的大;PC 脂肪酶活性位点催化三分子 Ser87、Asp264、His286 与负离子洞残基 Leu17 和 Gln88 的变化幅度较大,表明氯仿体系中蛋白质的活性盖子移动幅度较大,蛋白质的二级结构构象变化较大,活性口袋向外伸展(如箭头指向所示),利于酶的催化反应;水相中酶的活性盖子由于不存在两相界面,不能通过界面激活发生移动,在与底物对接的时候难度较大,酶催化效率较小。

催化三分子 Ser87、Asp264、His286 作为 PC 脂肪酶活性位点对整个体系的分子结合、催化、释放起到至关重要的作用,参与整个 PBS 基共聚物的降解过程。因此,对于其活性位点的催化三分子在 MD 模 10.14028/j.cnki.1003-3726.2014.12.016

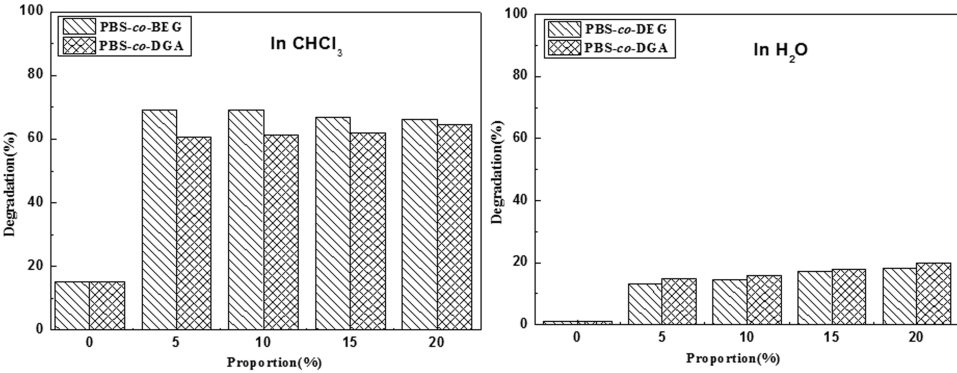


图 5 PBS-co-DEG 与 PBS-co-DGA 在氯仿和水中降解率

Figure 5 The degradation rate of PBS-co-DEG and PBS-co-DGA in CHCl_3 and H_2O

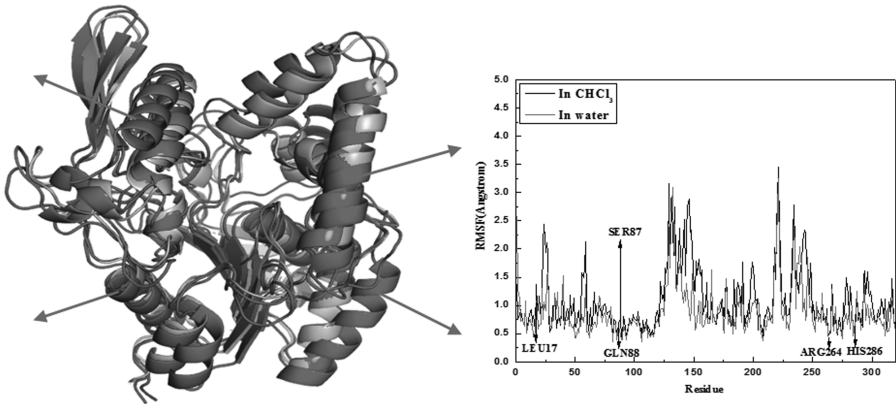


图 6 蛋白质的二级结构及酶残基在两种体系中的 RMSF 曲线

Figure 6 The secondary structure of proteins and RMSF of residues of lipase in two systems

拟过程中其平均距离变化如图 7 所示;在氯仿中,Ser87 中羟基 H 与 His286 中咪唑环上 N 的平均距离为 $2.0\text{\AA}$ 比在水 $2.9\text{\AA}$ 小,表明酶催化酯键断裂形成四面体过渡态时更为稳定,催化活性更高,有利于酶催化共聚物的降解。

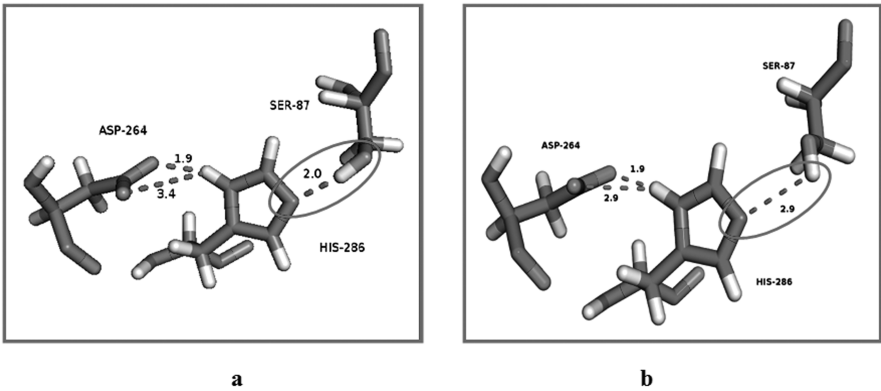


图 7 酶的催化残基在两种溶剂体系中的距离

(a) CHCl_3 ; (b) H_2O

Figure 7 The distance between the catalytic residues(Ser87-Asp264-His286) of PC lipase in two different solvents

(a) CHCl_3 ; (b) H_2O

大的影响,MD 模拟发现,极性水分子在模拟过程中会进入活性口袋内部,与催化残基 Ser87 发生氢键作用如图 8 所示,一方面水的存在打破了催化三分子 Ser87 和 His286 之间的氢键,降低酶的活性,另一方面水与底物之间形成竞争关系,导致底物与活性位点的对接准确性和稳定性下降。因此,在水相体系中 PC 脂肪酶表现出来的活性可能受水的影响较氯仿中的低,导致其中聚酯的降解效果较差。

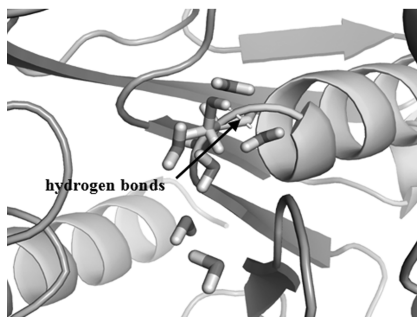


图 8 PC 脂肪酶的活性位点上 Ser87 与水的氢键相互作用

Figure 8 The hydrogen interaction between Ser87 and water at the active site of PC lipase

3 结论

(1)通过分子对接模拟、酶催化降解实验和分子动力学模拟相结合的方式解释了 PC 脂肪酶对 PBS 基共聚物的降解机理,表明 PC 脂肪酶催化降解 PBS 基共聚物受分子主链构象异构效应和溶剂效应共同作用的影响。PC 脂肪酶在氯仿和水体系中对不同结构的 PBS 基共聚物均能降解,但降解效果存在一定的差异性;

(2)通过分子对接说明含六元环单体可以提高共聚物主链的疏水作用,从而提高 PBS 基共聚物的降解性;含醚键单体可以提高共聚物的柔顺性,增大酶结合几率而提高催化降解性能,但直链结构扭转活性影响其与酶的对接稳定性,因此降低了酶的催化降解效果;

(3)由于酶的界面激活效应,氯仿中酶催化效率大于水中的活性,因此 PBS 基共聚酯在氯仿中的降解率远远大于其在水中的降解率。

参考文献:

- [1] Dorez G, Taguet A, Ferry L, Lopez-Cuesta J M. Polym Degrad Stab, 2013, 98 (1): 87.
- [2] Tian H Y, Tang Z H, Zhuang X L, Chen X S, Jing X B. Prog Polym Sci, 2012, 37 (2): 237.
- [3] Wu C S. Carbohydr Polym, 2012, 87 (2): 1249.
- [4] Sung Y H, Eui S Y, Seung S I. Polym J, 2012, 44: 1179.
- [5] Ding M L, Zhang M, Yang J M, Qiu J H. Biodegrad, 2012, 23:127.
- [6] Matsumura S, Ebata H, Toshima K. Macromol Rapid Commun, 2000, 21 (12): 860.
- [7] Trishul A, Mohanalakshmi N, Paragi-Vedanthi P P, Mukesh D. Enzyme Microb Technol, 2011, 48 (1): 71.
- [8] Zhang M, Ding M L, Zhang T, Yang J M. Chem J Chin Univ, 2010, 31 (3): 612.
- [9] Sivalingam G, Chattopadhyay S, Madras G. Polym Degrad Stab, 2003, 79 (3): 413.
- [10] Ding M L, Zhang M, Yang J M, Qiu J H. J App Polym Sci, 2012, 124 (4): 2902.
- [11] Zhao Q, Tao J, Richard C M Y, Albert C K M, Robert K Y L, Song C J. Polym Degrad Stab, 2008, 93 (8): 1571.
- [12] Wiggins J S, Hassan M K, Mauritz K A, Storey R F. Polym, 2006, 47(6): 1960.
- [13] Villeneuve P, Muderhwa J M, Graille J, Haas M J. J Mol Catal B: Enzym, 2000, 9 (4): 113.
- [14] Yuriev E, Ramsland P A. J Mol Recognit, 2013, 26 (5): 215.
- [15] Juhl P B, Doderer K, Hollmann F, Thum O, Pleiss J. J Biotechnol, 2010, 150 (4): 474.
- [16] Wedberg R, Abildskov J, Peters G H. J Phys Chem B, 2012, 116 (8): 2575.
- [17] Wang H, Wang X, Li X, Zhang Y, Dai Y, Guo C, Zheng H. Lipids Health Dis, 2012, 11 (9): 124.
- [18] Zhang M, Hui Y Y, Zhang R L, Qiu J H. Plastic, 2012, 41 (1): 5.

- [19] Morris G M, Goodsell D S, Halliday R S, Huey R, Hart W E, Belew R K, Olson A J. Autodock, version 4.2, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA, 2007.
- [20] Laskowski R A, Swindells M B. J Chem Inf Model, 2011, 51 (10): 2778.
- [21] Duan Y, Wu C, Chowdhury S, Lee M C, Xiong G, Zhang W, Yang R, Cieplak P, Luo R, Lee T, Caldwell J, Wang J, Kollman P. J Comput Chem, 2003, 24 (16): 1999.
- [22] Luic M, Sytefanic Z, Ceilinger I, Hodoscek M, Janezic D, Lenac T, Asler L I, Syepac D, Tomic S. J Phys Chem: B, 2008, 112: 4876.
- [23] Berendsen H J C, Postma J P M, van Gunsteren W F, DiNola A, Haak J R. J Chem Phys, 1984, 81 (8): 3684.

The Catalytic Degradation of PC Lipases and Molecular Simulation on PBS Based Copolymer in Different Solvent System

ZHANG Min^{1*}, LI Cheng-tao¹, XU Xiao-ling¹, QIN Jia-xiang¹, WANG Xu-yuan¹, QIU Jian-hui²

(1. Key Laboratory of Auxiliary Chemistry & Technology for Chemical Industry, Ministry of Education, Shanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China;

2. Akita Prefectural University, Akita 015-0055, Japan)

Abstract: In this paper, molecular docking, the experiment and molecular simulation were connected to compare the degradation of immobilized onion *Pseudomonas* lipase (*Pseudomonas cepacia* lipase (PC)) for poly(butylene succinate) (PBS) based copolymers in chloroform organic phase and water phase. The copolymers were modified by adding 1,4-cyclohexanedimethanol (CHDM) and 1,4-Cyclohexanedicarboxylic acid (CHDA) with six-member ring structure and diethylene glycol (DEG) and ethanol acid (DGA) with ether bond structure. The binding mechanism and degradation diversity for PC lipase and the substrate were illustrated. The results showed that the PBS based copolymers were catalyzed degradation by PC lipase. The free binding energy order for PC and substrate in chloroform was CMSCM > DGSDG > BDAB > BCAB > BSB, and the order in water was CMSCM > DGSDG > BCAB > BDAB > BSB. The binding energy of CM unit was highest. The enrichment of methylene in CM unit made the most stable docking for substrate and active site of PC. Then PBS-co-CHDMS displayed the largest degradation rate. Due to the influence of the solvent effect, the combination for enzyme and substrate kept more stable in chloroform than in water. As a result, the catalytic degradation rate in chloroform was greater than it in water.

Key words: *Pseudomonas cepacia* lipase; PBS based copolymers; Enzymatic degradation; Solvent effect; Molecular simulation