高等院校药学与制药工程专业规划教材

生物药物合成学

BIOSYNTHETIC PHARMACEUTICS

主　编　杨根生
副主编　欧志敏　郭钫元
主　审　姚善泾

ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

需要全本请访问 www.ertongbook.com

高等院校药学与制药工程专业规划教材

Biosynthetic Pharmaceutics

生物药物合成学

主　编　杨根生
副主编　欧志敏　郭钫元
主　审　姚善泾

ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

生物药物合成学/杨根生主编. —杭州：浙江大学出版社，2012.8
ISBN 978-7-308-09512-9

Ⅰ.①生… Ⅱ.①杨… Ⅲ.①生物制品—生物合成—高等学校—教材 Ⅳ.①TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2011）第 279374 号

生物药物合成学
杨根生　主编

丛书策划　阮海潮　樊晓燕
责任编辑　阮海潮(ruanhc@zju.edu.cn)
封面设计　俞亚彤
出版发行　浙江大学出版社
(杭州市天目山路 148 号　邮政编码 310007)
(网址：http://www.zjupress.com)
排　　版　杭州大漠照排印刷有限公司
印　　刷　浙江省邮电印刷股份有限公司
开　　本　787mm×1092mm　1/16
印　　张　15.75
字　　数　403 千
版 印 次　2012 年 8 月第 1 版　2012 年 8 月第 1 次印刷
书　　号　ISBN 978-7-308-09512-9
定　　价　36.00 元

版权所有　翻印必究　印装差错　负责调换
浙江大学出版社发行部邮购电话（0571）88925591

高等院校药学与制药工程专业规划教材

审稿专家委员会名单

（以姓氏拼音为序）

蔡宝昌（南京中医药大学）　　程　怡（广州中医药大学）
樊　君（西北大学）　　傅　强（西安交通大学）
胡永洲（浙江大学）　　梁文权（浙江大学）
楼宜嘉（浙江大学）　　裴月湖（沈阳药科大学）
沈永嘉（华东理工大学）　　宋　航（四川大学）
孙铁民（沈阳药科大学）　　温鸿亮（北京理工大学）
吴立军（沈阳药科大学）　　徐文方（山东大学）
徐　溢（重庆大学）　　杨　悦（沈阳药科大学）
姚日生（合肥工业大学）　　姚善泾（浙江大学）
尤启冬（中国药科大学）　　于奕峰（河北科技大学）
虞心红（华东理工大学）　　张　珩（武汉工程大学）
章亚东（郑州大学）　　赵桂森（山东大学）
郑旭煦（重庆工商大学）　　周　慧（吉林大学）
朱世斌（中国医药教育协会）　　宗敏华（华南理工大学）

序

我国制药产业的不断发展、新药的不断发现和临床治疗方法的巨大进步，促使医药工业发生了非常大的变化，对既具有制药知识，又具有其他相关知识的复合型人才的需求也日益旺盛，其中，较为突出的是对新型制药工程师的需求。

考虑到行业对新型制药工程师的强烈需求，教育部于1998年在本科专业目录上新增了“制药工程专业”。为规范国内制药工程专业教学，教育部委托教育部高等学校制药工程专业教学指导分委员会正在制订具有专业指导意义的制药工程专业规范，已经召开过多次研讨会，征求各方面的意见，以求客观把握制药工程专业的知识要点。

制药工程专业是一个化学、药学（中药学）和工程学交叉的工科专业，涵盖了化学制药、生物制药和现代中药制药等多个应用领域，以培养从事药品制造，新工艺、新设备、新品种的开发、放大和设计的人才为目标。这类人才必须掌握最新技术和交叉学科知识、具备制药过程和产品双向定位的知识及能力，同时了解密集的工业信息并熟悉全球和本国政策法规。

高等院校药学与制药工程专业发展很快，目前已经超过200所高等学校设置了制药工程专业，包括综合性大学、医药类院校、理工类院校、师范院校、农科院校等。专业建设是一个长期而艰巨的任务，尤其在强调培养复合型人才的情况下，既要符合专业规范要求，还必须体现各自的特色，其中教材建设是一项主要任务。由于制药工程专业还比较年轻，教材建设显得尤为重要，虽然经过近10年的努力已经出版了一些比较好的教材，但是与一些办学历史比较长的专业相比，无论在数量、质量，还是在系统性上都有比较大的差距。因此，编写一套既能紧扣专业知识要点、又能充分显示特色的教材，将会极大地丰富制药工程专业的教材库。

很欣慰，浙江大学出版社已经在做这方面的尝试。通过多次研讨，浙江大学出版社与国内多所理工类院校制药工程专业负责人及一线教师达成共识，编写了一套适合于理工类院校药学与制药工程专业学生的就业目标和培养模式的系列

需要全本请访问 www.ertongbook.com

教材，以知识性、应用性、实践性为切入点，重在培养学生的创新能力和实践能力。目前，这套由全国二十几所高校的一线教师共同研究和编写的、名为“高等院校药学与制药工程专业规划教材”正式出版，非常令人鼓舞。这套教材体现了以下几个特点：

1．依照高等学校制药工程专业教学指导分委员会制订的《高等学校制药工程专业指导性专业规范》（征求意见稿）的要求，系列教材品种主要以该规范下的专业培养体系的核心课程为基本构成。

2．突出基础理论、基本知识、基本技能的介绍，融科学性、先进性、启发性和应用性于一体，深入浅出、循序渐进，与相关实例有机结合，便于学生理解、掌握和应用，有助于学生打下坚实的制药工程基础知识。

3．注重学科新理论、新技术、新产品、新动态、新知识的介绍，注意反映学科发展和教学改革成果，有利于培养学生的创新思维和实践能力、有利于培养学生的工程开发能力和综合能力。

相信这套精心策划、认真组织编写和出版的系列教材会得到从事制药工程专业教学的广大教师的认可，对于推动制药工程专业的教学发展和教材建设起到积极的作用。同时这套教材也有助于学生对新药开发、药物制造、药品管理、药物营销等知识的了解，对培养具有不断创新、勇于探索的精神，具有适应市场激励竞争的能力，能够接轨国际市场、适应社会发展需要的复合型制药工程人才做出应有的贡献。

姚善泾

浙江大学教授

教育部高等学校制药工程专业教学指导分委员会副主任

前　言

当今世界，生物技术的突飞猛进为人类医药产业的发展提供了前所未有的动力，特别是人类基因组计划的实施，基因技术、蛋白质工程、化学生物学等学科的发展，使药物筛选和制备技术发生了巨大的改变。利用生物细胞的初级代谢和次级代谢产生有价值的产物；通过在活的生物细胞内进行基因操作，局部设计、改造和更新固有的代谢途径，能达到认识生命，改造生命和优化生命；生物细胞和生物酶对天然产物的修饰及其专一性的转化等等，这一切使得药物的研究和制备进入到新的阶段。

生物药物合成学是一门以生物学理论及生物技术为主导，集生物学、生物技术、合成化学和药学等多学科知识来认识和研制药物的科学。这些生物学科涉及细胞生物学、生物化学、动物学、植物学、微生物学、分子生物学、化学生物学等，也包括生物代谢和代谢调控技术、生物催化技术和 DNA 重组，细胞培养技术、单克隆抗体、基因治疗等新生物技术等，是一门涉及生物化学、微生物学、动物学、植物学、药理学、有机化学和分子生物学等多门学科的相互渗透的综合性学科。药物的生物合成途径、代谢调控原理、作用机制、生物特异性的转化（催化）、特性物种的选育及其寻找新药的基本方法和途径等是生物合成药物学研究的基本内容。

本书试图从生物细胞内代谢途径的分析及基本的生物代谢反应入手，揭示初级代谢与次级代谢之间的关系；从分子学的角度，研讨生物酶对底物的相对专一性和立体选择性，从基因水平上认识酶和酶设计，建立细胞的代谢体系。应当指出的是，生物药物合成学是一个研究领域、知识范畴广泛的学科，多学科交叉催生出新的增长点。越来越多的新的研究进展和不断涌现的新的成果挑战着本书的编写工作。纠结时常困扰着编者，纠结的是内容多，内容新，许多地方总觉得无法穷尽；另一个令编者纠结的是作为教材内容的广度和深度怎样适合当下专业培养的需要。历经 4 年的教学和汲取各方专家和学者的意见，编者几经修改后成就此

稿奉献给读者。面对生物技术这一博大精深的领域,限于笔者的学识水平,难免会有错误和遗漏之处,在此,恳请广大读者指正。

本书的出版得到了浙江工业大学重点教材建设项目的资助。在本书编写时得到了许多国内外专家的指点,在此表示衷心的感谢。汤力、袁小芬等在本书的图文制作上给予了大力协助,在此深表谢意。

真诚欢迎专家和读者对本书提出宝贵意见。

杨根生

目　录

第 1 章　绪　论 …… 1

1.1　生物药物合成学的概念 …… 1
1.2　生物药物合成学的发展 …… 1
1.2.1　传统生物技术与生物合成药物 …… 2
1.2.2　近代生物技术与生物合成药物 …… 2
1.2.3　现代生物技术与生物合成药物 …… 4
1.3　生物合成药物现状和发展趋势 …… 9
1.3.1　微生物代谢产物的药物 …… 9
1.3.2　半合成药物 …… 11
1.3.3　酶类药物 …… 12
1.3.4　酶抑制剂药物 …… 12
1.3.5　基因工程技术应用于生物合成药物 …… 13
1.3.6　应用现代生物技术开发和研究中药 …… 27
参考文献 …… 28

第 2 章　生物途径中的主要反应类型 …… 30

2.1　生物分子中的官能团 …… 30
2.2　生物途径中产物的基本构造单元 …… 32
2.3　生物途径中的基本反应及机理 …… 35
2.3.1　亲核取代的烃化反应 …… 35
2.3.2　亲电加成烃化反应 …… 36
2.3.3　羟醛反应和克莱森反应 …… 38
2.3.4　Wagner-Meerwein 重排反应 …… 40
2.3.5　席夫碱和曼尼西反应(Mannich reaction) …… 41
2.3.6　转氨基反应 …… 42
2.3.7　脱羧反应 …… 43
2.3.8　氧化还原反应 …… 46
2.3.9　酚的氧化偶联 …… 51
2.3.10　糖基化反应 …… 52
参考文献 …… 53

第 3 章　细胞代谢途径 …… 55

3.1　细胞代谢概述 …… 56
3.2　初级代谢与次级代谢 …… 58
3.3　初级代谢途径 …… 60
3.3.1　分解代谢 …… 60
3.3.2　无定向代谢途径 …… 67
3.3.3　合成代谢 …… 70
3.4　次级代谢途径 …… 83
3.4.1　乙酸途径 …… 83
3.4.2　莽草酸途径 …… 88
3.4.3　甲羟戊酸途径和脱氧木酮糖磷酸酯途径 …… 93
3.4.4　氨基酸途径 …… 95
3.5　肽、蛋白质和其他氨基酸类衍生物的生物合成途径 …… 97
3.5.1　核糖体途径 …… 97
3.5.2　非核糖体途径 …… 100
3.5.3　β-内酰胺类化合物途径 …… 102
参考文献 …… 105

第 4 章　微生物合成药物基础 …… 107

4.1　常见的药用微生物 …… 107
4.1.1　细菌 …… 107
4.1.2　放线菌 …… 113

4.1.3 真菌 …… 117
4.2 菌种的选育、保藏和复壮 …… 123
4.2.1 菌种的选育 …… 123
4.2.2 菌种的衰退和复壮 …… 136
4.2.3 菌种的保藏 …… 137
4.3 微生物的初级代谢和次级代谢 …… 140
4.3.1 微生物的能量代谢 …… 141
4.3.2 微生物的物质代谢 …… 146
4.3.3 几种抗生素微生物合成实例 …… 159
4.3.5 微生物的代谢调节 …… 168
参考文献 …… 171

第5章 生物转化合成药物 …… 173

5.1 生物转化合成药物的基本概念 …… 173
5.1.1 生物转化合成药物的概念 …… 173
5.1.2 生物转化合成药物的优势 …… 173
5.1.3 生物催化剂的来源 …… 174
5.2 生物转化在药物合成中反应类型 …… 175
5.2.1 氧化反应 …… 175
5.2.2 还原反应 …… 177
5.2.3 水解反应 …… 181
5.2.4 裂合反应 …… 185
5.2.5 转移酶催化基团转移反应 …… 186
5.2.6 连接酶催化分子间的联合 …… 186
5.2.7 异构酶催化生成异构体的反应 …… 186
5.3 生物转化药物合成的原理和应用 …… 187
5.3.1 甾体药物的生物转化 …… 187
5.3.2 生物转化在D-氨基酸合成中的应用 …… 203
5.4 生物转化与手性药物及药物中间体 …… 210
5.4.1 生物催化的不对称还原反应 …… 210
5.4.2 生物催化的不对称水解 …… 211
5.4.3 生物催化的不对称环氧化 …… 213
参考文献 …… 214

第6章 组合生物合成与药物开发 …… 218

6.1 组合生物合成的概念 …… 218
6.2 组合生物合成技术的原理和策略 …… 219
6.2.1 组合生物合成技术原理 …… 219
6.2.2 合成酶基因簇与组合生物合成的分子机制 …… 220
6.2.3 合成酶基因簇与组合生物合成的操作战略 …… 227
6.3 组合生物合成药物的策略 …… 234
参考文献 …… 236

附录 缩写表 …… 238

第 1 章

绪　　论

生物医药产业被誉为“朝阳工业”,是现代医药产业的热门领域之一,代表着现代药物研究和制备技术发展和产业发展的方向。所谓的现代生物技术是指对生物有机体在分子、细胞或个体水平上通过一定的技术手段进行设计操作,以改良物种和生命大分子特性或生产特殊用途的生命大分子物质等。现代生物技术包括基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程,其中基因工程为核心技术。由于生物技术将会为解决人类面临的重大问题如粮食、健康、环境、能源等开辟广阔的前景,它与计算机微电子技术、新材料、新能源、航天技术等被列为高科技,被认为是 21 世纪科学技术的核心。目前生物技术最活跃的应用领域是生物医药行业,生物制药被投资者认为是成长性最高的产业之一。

1.1　生物药物合成学的概念

生物药物合成学(Biosynthetic Pharmaceutics)是药物化学的一个新的分支,它的研究内容包括药物的生物合成途径、代谢调控原理、作用机制、产生生物的物种选育及寻找新药的基本方法和途径等。生物药物合成学是一门以生物学理论及生物技术为主导,集生物学、生物技术、合成化学和药学等多学科知识来认识研制药物的科学。这些生物学科包括细胞生物学、生物化学、动物学、植物学、微生物学、分子生物学、化学生物学等,同样也包括生物代谢和代谢调控技术、生物催化技术和 DNA 重组,细胞培养技术、单克隆抗体、基因治疗等新生物技术等。生物药物合成学是一门涉及生物化学、微生物学、动物学、植物学、药理学、有机化学和分子生物学等多门学科的相互渗透的综合性学科。

1.2　生物药物合成学的发展

生物药物合成学是随着抗生素、维生素、氨基酸、核酸药物、酶和酶抑制剂等由微生物发酵代谢所产生的生物合成药物的发现和由微生物转化反应所共同来完成的甾体激素类药物,新青霉素和新头孢菌素等半合成药物的诞生而成长的,也伴随着生物技术的不断发展其内涵也

需要全本请访问 www.ertongbook.com

在不断扩大和充实。

1.2.1 传统生物技术与生物合成药物

生物技术是人类实践的最古老的技术之一。众所周知,在4000多年前的我国夏禹时期,人们就掌握了运用生物技术开始酿酒和制醋。传统生物技术主要是酿造技术,但是这时的生物技术完全凭借经验,处于不知所以然的状态。直到1857年,才有巴斯德证实了酒精发酵是活酵母引起的,其他不同的发酵产物也是由不同微生物的作用而形成。1897年,人们研究发现磨碎的"死"酵母仍能使糖发酵而形成乙醇,并将其中所含的活性物质称为"酶"。而且其产物酒和醋在古代也常作为药物用于治疗,或者用作炮制传统药物的手段来提高药效。

从19世纪末到20世纪30年代这段时间开创了工业微生物的新纪元,不少工业发酵过程陆续出现,出现了许多与医药有关的产品,如乳酸、核黄素、甘油、葡萄糖酸、柠檬酸等。至此,以工业微生物过程生产产品为代表的真正意义上的生物工程才正式诞生。但是,上述生产过程的原料和产物的化学结构都较简单,代谢形成的过程比较简单,代谢类型大多数是分解代谢嫌气发酵过程,属于初级代谢产物,发酵条件调控简单,大多为表面培养,生产过程比较简单,对设备的要求不高,规模一般不大。

1.2.2 近代生物技术与生物合成药物

1928年,英国科学家Fleming在研究中发现含有金黄色葡萄球菌的培养基平板上污染了青霉菌,同时也惊奇地发现在青霉菌菌落的周围细菌不能生长的现象。在把青霉菌分离后加以培养发现其培养液能抑制各种细菌生长,并经动物实验证实其没有毒性,他依照产生菌的名字将其中的活性成分命名为青霉素(penicillin)。虽然,当时Fleming没有分离出这种物质,但提示了将其运用到临床作为治疗药物的可能性。1929年Fleming在《不列颠实验病理学杂志》上发表了《关于霉菌培养的杀菌作用》的研究论文,但未引起人们的注意。Fleming指出,青霉素将会有重要的用途,但他自己无法发明一种提纯青霉素的技术,致使此药一直未能制备。10年后的1939年,德国出生的Chain和在英国的澳大利亚人Florey重复了Fleming的工作,证实了他的结果,经过进一步研究制备得到了青霉素结晶的干制品而运用于临床,1941年给病人使用成功,证明了它是一种有效的抗菌物质,为使用抗生素治疗传染病开辟了道路。1945年Fleming与Chain和Florey共同荣获诺贝尔生理学或医学奖。


Alexander Fleming


Ernst Boris Chain


Howard Walter Florey

图1-1 因青霉素而获诺贝尔奖的三位杰出科学家

20世纪40年代初,由于第二次世界大战的爆发,战争需要一种有效而副作用小的抗细菌感染的药物来治疗因创伤引起的感染及继发性疾病。虽然1928年就由英国人Fleming发现了青霉素,后由Chain和Florey实现人工提取并经过临床证实具有卓越疗效和低毒的特点,但是大规模制备非常困难。1941年,美国和英国开始合作对青霉素的大规模生产技术进行研究和开发。1943年,一个崭新的青霉素沉浸培养工艺终于诞生了,此工艺把花费大量劳动力(从清洗、装料、灭菌、接种及培养到出料等纷繁的过程)和占用大量空间(生产1 kg含量为20%的青霉素要用约80000个1 L的培养瓶)的表面培养方法以及价格昂贵发展为适合工业生产的发酵技术。此工艺采用X射线照射法诱变育种提高产生青霉素能力,使用玉米浆培养基进行发酵,采用带有机械搅拌和通气设备的密闭式发酵罐(发酵罐的体积达5m^3),对适用于沉浸技术的青霉菌进行培养并用离心萃取机和冷冻干燥机把青霉素从发酵液中提取和精制,使青霉素的产量和质量大幅度提高,生产成本显著下降,从而获得了青霉素工业生产的成功,开创了抗生素时代。

青霉素在临床上的奇异疗效,激发了全世界各国学者的研究热情。1946年,美国科学家Waksman在继Fleming发现青霉素并应用于临床治疗后,宣布其实验室发现了第二种应用于临床的抗生素——链霉素,其对抗结核杆菌有特效。人类战胜结核病的新纪元自此开始。与青霉素不同的是,链霉素的发现绝非偶然,而是精心设计的、有系统的长期研究的结果。Waksman因此荣获1952年诺贝尔医学或生理学奖。更为可贵的是,Waksman根据自己的研究工作,提出了一整套较为系统的如何从微生物中寻找抗生素的方法,这为以后有目的地从微生物中筛选抗生素奠定了基础。



图1-2 著名微生物学家Selman Abraham Waksman

在以后的20年时间内人们陆续发现了众多的抗生素品种,形成了以青霉素、头孢菌素为代表的β-内酰胺类抗生素、氨基糖苷类抗生素[如1957年日本科学家Hamao Umezawa(梅泽滨夫)发现的对耐药菌有效的卡那霉素;1963年由Weinstein发现的毒性较小的庆大霉素]、大环内酯类抗生素(1952年McGuire发现的红霉素,以及后来发现的麦迪霉素、螺旋霉素和柱晶白霉素等等)三大类天然抗生素。除了以上三大类天然抗生素不断被发现和临床应用,其他类别的各种天然抗生素也不断被发现,如1939年Oxford等从青霉菌(*Penicillium griseofulvum*)菌丝体中分离得到的第一个抗真菌的含氯的次级代谢产物——灰黄霉素,其后又发现了制霉菌素和两性霉素B等具有临床应用价值的抗真菌抗生素;1947年发现了第一个广谱抗生素——氯霉素;1948年Dugger发现了第一个可供口服的抗生素品种——金霉素,这代表着四环类抗生素的诞生,以后又得到了土霉素和毒性较低的四环素;1953年,香豆素类抗生素的代表药物新生霉素的发现和临床上治疗革兰阳性菌感染疾病的迅速应用。1957年,Sensi发现了安莎类抗生素的第一个成员——利福霉素,后期在利福霉素基础上经结构改造得到了利福平和其他一些衍生物,成为治疗结核病的有效药物;1962年,Godtfredsen报道了第一个甾体抗生素——夫西地酸;同年又报道了林可霉素;1967年发现了磷霉素;1974年我国发现了具有独特化学结构的创新霉素,它对痢疾杆菌和大肠杆菌感染的小鼠都表现一定的保护作用。目前临床应用的大多数天然抗生素都是20世纪50—60年代发现的。

20世纪40—50年代以抗生素为首的生物合成药物工业的兴起使工业微生物的生产进入了一个新的阶段,无论在菌种的筛选、培养、诱变和训育,还是深层多级发酵的发酵、提取技术

都达到了一个新的高度。

到了 20 世纪 60 年代，人们在继续寻找抗生素的同时，开始从微生物代谢产物中寻找具有其他生理活性的物质。抗肿瘤抗生素、用于治疗家畜疾病的抗虫抗生素、农用抗生素和抗病毒抗生素的筛选工作由此蓬勃开展。抗肿瘤抗生素中有糖肽类的博来霉素、蒽环类的丝裂霉素 C、柔红霉素，抗虫抗生素盐霉素、莫能霉素、阿弗米丁，农用抗生素春雷霉素、有效霉素、井冈霉素，抗病毒抗生素阿糖腺苷、偏端霉素 A 等天然抗生素。

随着青霉素的大量使用和其他抗生素的使用，临床上出现了耐药性，过敏反应也时有发生，这就促使药物化学家试图寻找在临床上能够对付耐药菌和提高疗效的新型药物。对原有抗生素进行结构改造来寻求具有更好临床效果的新衍生物就是一个方向，因此，抗生素发展到 60 年代出现了一个新的研究领域，即开始进入了半合成抗生素的时代。

1959 年，英国的 Chain 利用大肠杆菌酰胺酶裂解青霉素 G 制成了 6－氨基青霉烷酸（6－aminopenicillanic acid，6－APA）。同年，英国 Beecham 公司从 6－APA 合成了苯乙青霉素，以后又合成了耐青霉素的甲氧苯青霉素。接着，合成了耐酶、可供口服和注射的苯唑青霉素和抗菌谱广的氨苄青霉素，广泛地应用于临床，从此半合成抗生素的时代来到了。真正将半合成抗生素推向黄金时期的是半合成头孢菌素类抗生素的出现。60 年代在半合成青霉素发展的启发下，Glanxo 公司的研究人员从低活性的头孢菌素 C 经化学裂解得到了 7－氨基头孢烷酸（7－aminocephaloranic acid，7－ACA）母核，从此半合成头孢菌素的工作开始活跃起来，先后合成了如头孢噻吩、头孢唑啉、头孢噻肟和头孢他啶等抗菌活性较强的半合成头孢菌素类抗生素。

与第一代生物工程产品相比，40 年代以后以抗生素为代表的一类由次级代谢产物产生的生物合成药物具有如下特点：形成途径复杂，发酵周期长，产物结构较原料复杂和不稳定，生产过程在纯种或无菌条件下进行，绝大多数属于好氧发酵，通气量要求大，氧供应要求高。

1.2.3 现代生物技术与生物合成药物

1953 年 Watson 和 Crick 共同提出了 DNA 的双螺旋结构，为 DNA 的重组奠定了基础，同时也开创了以分子生物学为主导的现代生物技术的新纪元。1974 年美国的 Boyer 和 Cohen 首次在实验室中成功实现了基因的转移，为基因工程开启了通向现实的大门，从而使人们有可能在实验室中组建按照人们意志设计的新生命体。基因工程是把外源基因在体外与载体 DNA 连接以后导入宿主细胞，使之能复制和表达外源基因的克隆，从而可以获得所需要的目标产品。



图 1－3 基因工程之父 Herbert Wayne Boyer



图 1－4 基因工程创始人 Stanley Norman Cohen

20世纪70年代以后随着基因重组、原生质体融合、突变生物合成技术、杂交瘤技术、细胞和组织培养、酶的固定化、动植物细胞的大规模培养、现代化生物反应器和单克隆抗体等技术的迅速发展,促使生物合成药物再度飞跃式发展。这期间的现代生物技术及其产品的特点是运用了DNA重组、细胞融合等技术的成果。开发或已经开始生产的与医药有关的DNA重组技术产品有干扰素、胰岛素、生长激素及其相关因子、淋巴细胞活素、血纤维蛋白溶解剂、疫苗、胸腺素、白蛋白、血因子、促红细胞生长素、促血小板生长素、降血钙素、绒毛膜促性腺激素、抗血友病因子Ⅷ、乙型肝炎疫苗等等。这些产品对于医治一些过去人们束手无策的疑难杂症、遗传性疾病等有良好的前景。

1.2.3.1 基因药物是现代生物合成药物研发的主要方向

应用基因技术研制和开发的药物称为基因工程药物,它是通过重组DNA等技术将治疗疾病的蛋白质、肽类激素、酶、核酸和其他药物基因转移至宿主细胞进行繁殖和表达,最终获得相应药物。这些药物包括蛋白质类生物大分子、初级代谢产物,如苯丙氨酸及丝氨酸等以及次生代谢产物抗生素等10多种类型。

从生物技术的发展来看,20世纪70年代限制性核酸内切酶的发现(1970年)和重组DNA技术相继成功(1972)使得基因药物的生产成为可能。1976年,美国加州大学旧金山分校Boyer教授首次将外源基因——生长抑制素释放因子以质粒为载体转入大肠杆菌并获表达。企业家Swanson闻讯拜访了Boyer并协议建立了基因公司,当年世界上第一家应用生物技术开发新药的公司(Genetech公司)建立,并于1977年生产出治疗肢端肥大、隐性胰腺炎的生长抑制素释放因子。而以往常规生产是从动物的下丘脑提取,每获1mg需10万只羊;该技术的成功则使每克价格降至300美元。该公司相继推出基因工程新产品:人胰岛素(1978年)、胸腺素α-1(1979年)、干扰素α,β(1980年)和γ(1981年)、纤溶酶原激活剂(TPA,1982年)、肿瘤坏死因子和凝血因子Ⅷ(1984年),至1986年,仅TPA年营业额即高达10亿美元。基因工程转化为生产力并产生巨大经济效益,不仅震惊世界,并从而赋予生物技术这一概念以特定含义。1982年美国Lilly公司首先将重组胰岛素投放市场,标志着世界第一个基因工程药物的诞生。基因药物因为其疗效好,副作用小,应用范围广,成为各国政府和企业投资开发的热点领域。

1989年,我国批准了第一个在我国生产的基因工程药物——重组人干扰素α1b,标志着我国生产的基因工程药物实现了零的突破。重组人干扰素α1b是世界上第一个采用中国人基因克隆和表达的基因工程药物,也是第一个我国自主研制成功的拥有自主知识产权的基因工程一类新药。从此以后,我国基因工程制药产业从无到有,不断发展壮大。

综观这20年来,新崛起的基因工程技术在医药研制方面的应用已取得了十分显著的成效。首先,基因工程技术能明显提高生化药物的生产效率,降低生产成本和改进医疗效果。其次,基因工程提供了大规模制取人体内活性物质的技术。人体内的许多生物活性极强、含量极微的活性物质,用传统技术难以制备,而用基因工程技术则可以在极其复杂的机体细胞内提取出所需的基因,生产出比原来多数百倍乃至数千倍的该类物质。其三,基因工程药物对以往难以治疗的病症有特效,如人的促红细胞生长素是治疗由肾功能衰竭引起的贫血的特效药。其四,基因工程药物大多来自人体内蛋白质、激素或活性多肽,一般毒副作用较少。最后,生产基因工程药物与生产化学合成药物不同,一般不需要庞大的厂房,污染问题也比较容易解决,新药开发周期较短。这些都昭示着医药工业体系正在发生着划时代的变革。

基因工程技术的运用使药品开发发生了根本性的转变，治疗性蛋白质分子设计与工程化已取得突破性进展，如今基因工程药物已进入第三代蛋白质治疗药物发展阶段。通过基因工程手段可以使过去一些生产困难的产品，如激素、酶、抗体等生物活性物质明显提高产品质量与收率，同时大幅度降低生产成本，降低患者的用药费用，提高患者的生活质量。

1.2.3.2 单克隆抗体与现代生物合成药物

抗体作为药物用于人类疾病的治疗已有很长的历史。最初的抗体药物源于动物多价抗血清即第一代抗体药物，主要用于一些细菌感染性疾病的早期被动免疫治疗。虽然有一定的疗效，但异源性蛋白引起的较强的人体免疫反应限制了这类药物的应用，因而逐渐被抗生素类药物所代替。1975 年，德国学者 Köhler 和英国学者 Milsetein 首创杂交瘤技术，他们成功地将骨髓瘤细胞和产生抗体的 B 淋巴细胞融合，定向地产生只作用于某抗原决定簇的单克隆抗体，由此开创了单克隆技术，也使抗体药物再次进入人们的视野。第二代抗体药物就是利用杂交瘤技术制备的单克隆抗体及其衍生物。良好的均一性和高度的特异性，使单克隆抗体被广泛应用于疾病的诊断和科学实验研究中。1982 年，美国斯坦福医学中心的 Levy 等人制备了一个针对 B 细胞淋巴瘤患者瘤细胞的单抗，临床应用显示治疗后患者病情得到有效缓解，瘤体消失，取得很好效果。1986 年美国 FDA 批准了世界上第一个单抗治疗性药物——抗 CD3 单抗 OKT3 用于抗移殖排斥反应。此时抗体药物的研制和应用达到了高潮，但是由于大多数单抗均为鼠源性，其对人体的毒副作用日渐显现。鼠源单抗在人体内反复使用引起人抗鼠抗体（HAMA）反应，从而降低疗效，引起过敏反应。20 世纪 90 年代初的抗内毒素单抗治疗脓毒败血症的失败就是一个代表。随后开始采用基因工程的方法生产人源或人源化的单抗以及嵌合型的单抗。抗体药物的研发进入第三代即基因工程抗体的时代。与第二代单抗相比，基因工程抗体能降低抗体的鼠源性，降低甚至消除人体对抗体的排斥反应。1984 年第一个基因工程抗体人-鼠嵌合抗体诞生，随后多种新型基因工程抗体不断出现，如人源化抗体、单价小分子抗体（Feb、单链抗体、单域抗体、超变区多肽等）、多价小分子抗体（双链抗体、三链抗体、微型抗体）、双特异抗体、抗原化抗体、细胞内抗体、催化抗体、免疫脂质体以及抗体融合蛋白（免疫毒素、免疫粘连素）等。用于制备新型抗体的噬菌体抗体库技术成为继杂交瘤技术之后生物科学研究中又一突破性进展。近些年在噬菌体抗体库基础上，又发展了核糖体展示抗体库技术。这一技术筛选抗体的整个过程在体外进行，不经过大肠杆菌转化的步骤，因此可以构建高容量、高质量的抗体库。进入 21 世纪，抗体技术和抗体药物研发上市的速度明显加快。

单克隆抗体是生物医药产业中增长最快的领域之一，占到全球生物制药市场的 35% 左右。单克隆抗体具有三种独特的作用机制，分别为靶向效应、阻断效应和信号传导效应。单克隆抗体药物主要用来治疗肿瘤、自身免疫性疾病和感染性疾病，尤其是在癌症治疗方面的疗效突出。单克隆抗体作为诊断试剂也已经被广泛应用，如快速乙肝表面抗原酶标诊断试剂盒、对肿瘤的诊断和检测试剂等。近年来单抗治疗药物发展迅速，一些已经被应用于临床。单抗药物一般分为治疗疾病（尤其是肿瘤）的单抗药剂、抗肿瘤单抗偶联物、治疗其他疾病的单抗药物。单抗药剂针对的靶点通常为细胞表面的疾病相关抗原或特定的受体，如最早被美国 FDA 批准用于治疗肿瘤的单抗药物利妥昔单抗；抗肿瘤单抗偶联物，也称免疫偶联物（immunoconjugate），由单抗与有治疗作用的物质（如放射性核素、毒素和药物等）两部分构成，其中包括放射免疫偶联物、免疫毒素、化学免疫偶联物，此外还有酶结合单抗偶联物、光敏剂结合单抗偶联物等。

1.2.3.3 选择性催化与手性药物的生物合成

随着科学技术的发展,人们越来越认识到药物分子的不同光学异构体具有不同生物利用度、分布、代谢和排泄特点。当手性药物分子进入生物体后,在体内与具有手性的生物大分子作用时,手性药物的对映异构体之间就会产生差异,从而导致药效学和毒性的差别。因此,外消旋药物开始引起人们的重视,重视手性药物及其药理学的研究。自20世纪90年代开始,各国药政部门规定开发新药时应将立体异构体分开,分别进行药理、毒理、代谢研究。1992年3月FDA发布了手性药物的指导原则,明确要求在向FDA提交的有关新药申请中,必须说明包括对映体的不同生理活性、药理作用、代谢过程和药物动力学情况以及临床作用的所有信息。这极大地推动了全球范围内手性药物的研究和发展。随着手性药物的深入研究,对手性药物临床作用的认识不断深入。手性药物的市场一直保持快速(>20%)增长的趋势。在我国,2006年12月国家食品药品监督管理局(SFDA)发布了《手性药物质量控制研究技术指导原则》。由此,我国手性药物的研究与开发以较高的水平和速度前进。

综观这些年来的研究,制备手性药物的技术主要有三类:① 色谱法;② 化学不对称合成与拆分;③ 生物合成与拆分。前两种方法均是以手性换手性,需要使用手性源,如手性配基、手性试剂、手性催化剂及手性溶剂,因此,造成了成本高,特别是化学不对称合成需要使用的催化剂大多为过渡族金属元素的有机配合物,价格昂贵而且不环保,医药上受到一定的限制。手性的生物合成、转化和拆分不需要手性源,反应条件温和,立体选择性强,副反应少,产率高,产品的光学纯度高。生物技术的飞速发展中,选择性强的生物催化能合成各种复杂的立体结构,同时也能适应大规模的工业生产。生物催化反应具有高度的化学、区域和立体选择性,特别适用于医药、食品和农药等精细化工产品的合成制备,这些领域对单一对映体功能化合物的需求量正在逐年增加。生物催化法在手性药物合成中发挥着重要作用,并将会得到更广泛的应用。生物催化过程一般无污染或污染较少、能耗相对较低,是一种环境友好的合成方法,它将会为绿色化学工业做出贡献。更奇妙的是,通过生物定向改造技术设计和制备的酶(如抗体酶等)进行生物催化合成还能完成许多现有的化学合成难以完成的,甚至不能做到的不对称合成反应。生物酶或细胞法实现手性药物的生物合成与转化的发展前景非常诱人,各种新的方法与技术正在不断出现,抗体酶、交联酶晶体、反胶束酶、固定化酶、酶的修饰及非水相酶学等都是当今酶学研究的活跃领域,这些技术的发展与完善必将推动手性药物转化的研究发展。

1.2.3.4 基因工程技术在药物制备中的应用

(1) 基因工程疫苗

基因工程疫苗是将病原的保护性抗原编码的基因片段克隆入表达载体,用以转染细胞或真核细胞微生物及原核细胞微生物后得到的产物,或者将病原的毒力相关基因删除掉,使之成为不带毒力相关基因的基因缺失苗。应用基因工程技术能制备出不含感染性物质的亚单位疫苗、稳定的减毒疫苗及能预防多种疾病的多价疫苗。如把编码乙型肝炎表面抗原的基因插入酵母菌基因组,制成DNA重组乙型肝炎疫苗;把乙肝表面抗原、流感病毒血凝素、单纯疱疹病毒基因插入牛痘苗基因组中制成的多价疫苗等。1986年美国正式批准基因工程乙肝疫苗投放市场。我国科技工作者也克隆得到在我国流行的乙肝病毒亚型的HBsAg的基因,研制了适合我国国情的乙肝基因工程疫苗。

(2) 应用基因工程技术改良菌种

发酵工业用菌是发酵工业的核心,优良的菌种是提高发酵产物的质量和产量的首要条件。

需要全本请访问 www.ertongbook.com