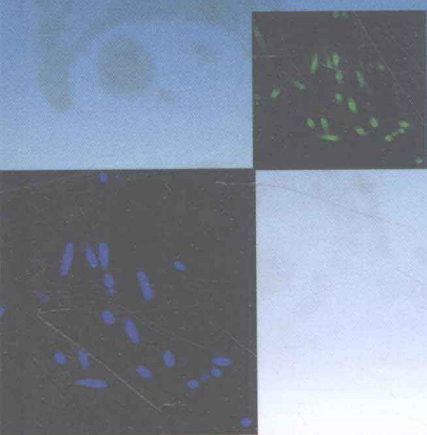


张景红 编著

微生物 在药物研究中的应用

Application of
Microorganism
in Drug Discovery



化学工业出版社

张博红 主编

微生物

在药物研究中的应用

Applications of
Microorganisms
in Drug Discovery

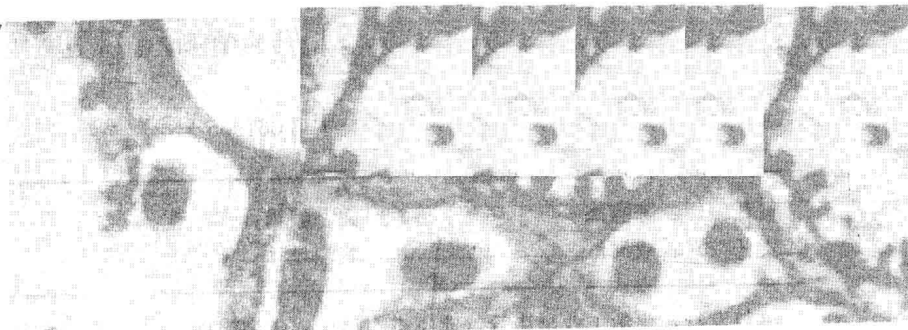
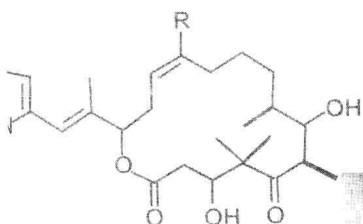


张景红 编著

微生物

在药物研究中的应用

Application of
Microorganism
in Drug Discovery



化学工业出版社

· 北京 ·

微生物在药物的发现、转化修饰和生物合成等方面发挥着日益重要的作用。本书采用基础与实际应用并重的方式,对微生物在药物研究中应用的原理、技术方法、研究成果及应用等方面做了系统的论述,特别是对新发展起来的双向固体发酵、宏基因组学、组合生物催化和微生物浸出、海洋微生物炮制中药等多项技术进行了比较详细的讨论。

本书可供从事微生物药物研究的相关人员参考,也可作为高等院校相关专业的教师、本科生、研究生的教学及科研参考书。

图书在版编目(CIP)数据

微生物在药物研究中的应用/张景红编著. —北京:化学工业出版社, 2011.5
ISBN 978-7-122-10939-2

I. 微… II. 张… III. 微生物学: 药理学-研究 IV. R914.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 061965 号

责任编辑: 陈燕杰

文字编辑: 李 瑾

责任校对: 战河红

装帧设计: 韩 飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

710mm×1000mm 1/16 印张 23 $\frac{3}{4}$ 字数 507 千字 2011 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 78.00 元

版权所有 违者必究

前言

微生物作为一种重要的资源，广泛地存在于陆地、海洋以及各种与其共生、寄生和共代谢的自然界生物环境中。近年来，随着分子生物学、基因工程、分离分析等多种学科的技术在微生物这一学科的综合应用，微生物在药物研究中的重要作用凸显。目前，已经应用双向固体发酵、宏基因组学、组合生物催化等多项技术，成功地从陆地、海洋、肠道微生物、共生、寄生、内生和极端等多种微生物资源中分离出各种各样、极为丰富的活性代谢产物。微生物除了作为一种资源外，业已成为药物研究中不可缺少的工具之一。在药物的发酵、转化、代谢，珍稀药用植物的纯培养、新药研发、减毒增效等方面发挥着令人瞩目的作用。

微生物有着非常强大的分解转化和代谢物质的能力，并能产生丰富的次生代谢产物。微生物产生的一些酶在天然药物的修饰和转化、手性药物的合成、消旋药物的拆分以及通过生物转化技术寻找新药等方面取得了长足的进步。许多化学合成工艺相当复杂的药物、重要的药物中间体、肠内菌活性代谢产物、植物激素合成、药物减毒、增效修饰等重要反应，目前已经能够用微生物或酶转化技术得以替代，这一领域的飞速发展，使得微生物转化的概念得到了前所未有的拓展和延伸。特别是，近年来，随着现代基因工程技术在微生物研究中的成功应用以及多种微生物合成基因簇的鉴定，利用微生物药物生物合成的原理，从分子水平改造已有的微生物药物产生菌，也已经成为获得活性药物的一条重要途径。更为重要的是，利用微生物组合生物合成技术，为大量、全新的非天然“天然产物”的创造带来新的前景，蕴藏着极大的生机，为新药的发现提供了一条崭新的途径。微生物必将成为一种开拓性的活性天然药物的重要资源，成为未来药物发现的重点方向。

本书的目的即为读者介绍当今各种微生物，包括：陆地、海洋、肠道微生物、共生、寄生、内生、极端等多种微生物，并系统地介绍微生物与药物研究和新药开发的密切关系，以及在药物研究中的应用；通过对其应用原理、技术方法和研究成果的系统介绍，以便读者从微生物的分离、微生物的发酵、微生物的转化、次生代谢产物、肠内菌代谢、基因测序以及各种药物合成中关键基因簇的鉴定等方面，探究微生物和药物发现之间的关系；通过研究微生物转化、代谢与药物的药理、药效、减毒、增效的关系，让读者深入了解药物的代谢规律，探索各种资源的微生物，特别是海洋微生物、寄生、共生和内生等微生物的各种次生代谢产物；解释已经探明活性的各种天然产物；通过对各种药用价值极高的微生物合成基因以及基因簇的详细介绍，了解目前微生物生物合成的发展趋势，从而有目的地实现对微生物的有效研究和利用，发现和合成更多、更好的有价值活性产物。本书共分为六章，

第1章、第2章、第3章系统地介绍了微生物发酵技术、微生物转化技术、组合生物合成技术。第4章、第5章分别介绍了肠道菌和海洋微生物的分类、分离的技术方法，肠道菌药物代谢的原理、技术、方法以及海洋微生物的宏基因组分离方法，已经鉴定的药物合成基因簇和药物合成的原理和方法，全面地总结了2000~2010年期间，已经分离的各种海洋、共生、内生代谢产物。第6章，结合自己课题组工作，介绍极端微生物浸出技术的概念、技术原理和微生物浸出技术在相关药物研究中的应用。

本书突出实用性和综合创新性，又兼顾考虑了各种微生物研究方法和试验手段的先进性，以可操作规范化为目的，理论联系实际，尽可能收集整理目前微生物研究领域最新的技术、方法和最新成果，并对该领域已经分离的、具有重要药理活性的化合物结构、活性和分离的微生物进行简明扼要、深入浅出的介绍。第六章中详细介绍了作者课题组，近年利用极端微生物、海洋微生物在矿物中药的炮制减毒、增效方面取得的一些研究进展。

本书所列的每一种微生物均从基本原理入手，以主要的药物和微生物作用的转化、代谢和合成的机理为中心，结合近年来最新的研究成果，倾力合成此书，以期成为一本可供相关行业中从事实际研究和教学的人员使用的工具书。

本书作者的研究团队在多年丰富的科研工作经验基础上，将在微生物药物研究中积累的资料和经验，加以一一筛选，其中张景红博士独立完成本书40万字的撰写工作，并整理成文，奉献给各位读者分享。在本书完稿之时，笔者怀着虔诚的心情，时刻期待着本书读者的宝贵意见和批评。微生物药物的研究是一个“经久不衰”的研究领域，真诚期待尽作者绵薄之力，与众多挚爱微生物研究的工作者一起，为微生物药物的发展贡献力量。

本书在福建省自然科学基金(2008J0102)、福建省重点项目基金(2008Y0055)、泉州市科技计划2008Z12、华侨大学人才启动项目(BS105)、华侨大学基本科研业务费专项基金资助(JB-ZR1134)的鼎力资助下得以完成，本书在编写过程中承蒙华侨大学分子药物教育部工程研究中心的许瑞安教授、刁勇教授的大力支持，李红玉教授和倪永清博士提出诸多有益的建议，在此深表谢意！

张景红 博士
华侨大学分子药物研究所
华侨大学分子药物教育部工程研究中心
zjh@hqu.edu.cn
2011年1月

目 录

第 1 章 微生物发酵技术在药物研究中的应用

1

1.1 微生物发酵药物的基本概念	1
1.1.1 微生物发酵药物的概念	1
1.2 微生物发酵药物的原理和技术方法	1
1.2.1 微生物发酵药物的原理	1
1.2.2 微生物发酵药物技术方法	2
1.3 微生物发酵技术在药物研究中的应用	7
1.3.1 促进植物药物有效成分溶出, 增强药效	7
1.3.2 双向发酵炮制有毒中药, 降低有毒成分的含量、提高药用价值	9
1.3.3 利用真菌发酵废弃药渣, 变废为宝, 拓展和利用资源	11
1.3.4 利用植物内生菌发酵, 直接提取植物活性成分	13
1.3.5 利用药用植物毛状根发酵, 获得多种活性成分	21
1.3.6 利用共生菌发酵, 发现药物新成分	21
1.4 展望	28
参考文献	29

第 2 章 微生物转化技术在药物研究中的应用

31

2.1 微生物转化药物的基本概念	31
2.1.1 微生物转化药物的概念	31
2.2 微生物转化药物的原理和技术方法	31
2.2.1 微生物转化药物的原理	31
2.2.2 微生物转化药物的技术和方法	42
2.3 微生物转化在药物研究中的应用	47
2.3.1 微生物转化在药物前体和具有治疗作用的活性物质生产中的应用	47
2.3.2 微生物转化在甾体类药物研究中的应用	47
2.3.3 微生物转化在手性药物研究中的应用	57
2.4 微生物转化在天然药物定点修饰研究中的应用	60
2.4.1 甾体类天然药物的转化定点修饰	60
2.4.2 黄酮类中药成分的微生物转化	61

2.4.3 萜类成分的微生物转化修饰	62
2.4.4 皂苷类成分的微生物转化修饰	70
2.4.5 香豆素类成分的微生物修饰	75
2.4.6 生物碱类成分的生物转化	75
2.5 微生物转化在提高天然药物水溶性研究中的应用	77
2.6 物体外转化可以作为模型帮助确定药物代谢途径	79
2.7 展望	87
参考文献	87

第3章 微生物组合生物合成技术在药物研究中的应用

94

3.1 微生物组合生物合成的概念	94
3.1.1 微生物组合生物合成的概念	94
3.2 微生物组合生物合成技术的原理和策略	95
3.2.1 微生物组合生物合成技术的原理	95
3.2.2 微生物基因簇和组合生物合成的策略	95
3.2.3 微生物基因簇组合生物合成天然产物的策略	100
3.3 微生物基因簇在药物生物合成中的应用	107
3.3.1 放线菌基因簇在药物生物合成中的应用	107
3.3.2 黏细菌	120
3.3.3 假单胞菌	127
3.4 展望	130
参考文献	130

第4章 肠道微生物代谢技术在药物研究中的应用

132

4.1 药物肠道微生物代谢的基本概念	132
4.1.1 肠道微生物概念	132
4.1.2 肠道微生物和药物代谢的关系	133
4.1.3 肠道菌药物代谢的概念	136
4.2 肠道微生物代谢药物的基本原理和技术方法	136
4.2.1 肠道微生物代谢药物的基本原理	136
4.2.2 药物肠道代谢的基本反应	137
4.2.3 药物肠道菌代谢的模型	147
4.2.4 药物代谢的检测方法	160
4.3 肠道微生物对药物的转化在创新药物研究中的应用	166
4.3.1 肠道微生物的种类	167
4.3.2 肠道微生物的转化酶	167
4.3.3 肠道微生物对药物转化的主要反应	168

4.4 应用举例——计算机模拟全自动控制——体外胃肠道模拟系统 (TIM) 在药物生物代谢解毒中的应用	199
4.4.1 TIM 系统	199
4.4.2 重组酵母对反式-肉桂酸的代谢 (实例)	201
4.5 展望	203
参考文献	203

第5章 海洋微生物在药物研究中的应用

211

5.1 海洋微生物及海洋药物	211
5.1.1 海洋微生物的概念	211
5.1.2 海洋药物的概念	211
5.1.3 海洋微生物药物产物来源	212
5.2 海洋微生物的分类及特点	212
5.2.1 海洋放线菌	213
5.2.2 海洋真菌	215
5.2.3 海洋蓝细菌	215
5.2.4 海洋真核微藻	215
5.2.5 变形细菌	216
5.2.6 假单胞菌、弧菌及其他	216
5.3 海洋微生物药物研究的技术和方法	216
5.3.1 宏基因组的概念	216
5.3.2 宏基因组学的研究方法	220
5.3.3 宏基因组文库的建立及其克隆体系	222
5.3.4 宏基因组学在应用中亟待解决的问题	224
5.4 海洋微生物药物与海洋微生物次生代谢产物的研究	225
5.5 已经进入临床和临床前研究的海洋微生物次生代谢产物	283
5.5.1 Didemnin B	283
5.5.2 Dolastatin 10	283
5.5.3 Dolastatin 15	284
5.5.4 Ecteinascidin-743	285
5.5.5 Salinisporamide A	285
5.6 海洋微生物的生物合成途径	286
5.6.1 海洋药物研究现状	286
5.6.2 海洋微生物次生代谢物生物合成基因簇	287
5.7 海洋无脊椎动物共生菌次生代谢分离技术	303
5.7.1 研究现状	303
5.7.2 海洋微生物分离方法	305
5.7.3 化学检测方法	307

5.7.4 成像技术	309
5.8 展望	313
参考文献	313

第6章 微生物浸出技术在中药创新研究中的应用

317

6.1 微生物浸出的概念	317
6.1.1 微生物浸出炮制中药概念的提出	318
6.1.2 微生物浸出矿物中药的原理	319
6.2 微生物技术在矿物中药创新研究中的应用	335
6.2.1 微生物浸出技术在提高难溶中药水溶解性研究中的应用	335
6.2.2 海洋微生物代谢技术在中药炮制研究中的应用	340
6.3 应用实例	342
6.3.1 雄黄微生物溶解液药物动力学研究	342
6.4 展望	348
参考文献	349

中英文对照

350

1.1 微生物发酵药物的基本概念

1.1.1 微生物发酵药物的概念

“发酵”的一般概念是“微生物对有机物的作用，获得某种或几种产品”，而广义的发酵概念是“微生物对有机物的分解或合成以取得几种成分，微生物在发酵基质上生长因其酶的作用，分解基质产生多种成分，有的被微生物应用生长菌丝体，也有的留存在基质中，这是一种生物的分解、合成过程”。随着现代生物工程、基因工程和酶学理论和技术的应用，发酵技术也由原来单一的发酵，发展为液体发酵、液体深层发酵、固体发酵、新型（双向性）固体发酵工程，其工艺由原来作坊式的单一发酵，发展成为现代以生物反应器为主的全自动化、可控的、可全程动态分析的现代发酵工艺。

更为可喜的是，该工艺所涉及的微生物从单一、野生、混合的本身无功效的霉菌或酵母菌，发展到了单一纯培养、混合和自身具有药用价值的“菌质”，这一飞跃，也给药物的发酵研究带来了历史机遇，药物的发酵从远古的单纯对药物的发酵炮制，发展到药物有效成分的提取、新的代谢成分的发现、药渣发酵的再次利用、增效减毒以及固体双向发酵培育菌药等领域。

1.2 微生物发酵药物的原理和技术方法

1.2.1 微生物发酵药物的原理

就其本质而言微生物发酵药物也是现代生物转化技术的一种，运用生物工程方

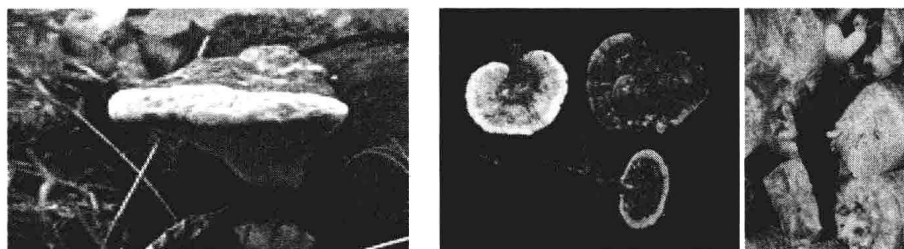


法, 通过生物体内的酶体系, 将一种外源化合物(如药物)转化成另一种结构上相关的化合物, 其本质是催化外源物质进行结构改造的催化化学反应。但是二者既有联系也有一定的区别, 生物转化旨在利用微生物体内的丰富酶系, 对特定的一种或多种成分, 进行多种修饰, 包括氧化、还原、水解、结合等反应, 产生低毒、高效、多能的转化或代谢成分, 这种技术针对某一药物成分。而发酵技术更多地偏向药物的整体成分的变化。

1.2.2 微生物发酵药物技术方法

1.2.2.1 微生物发酵的菌种和应用

(1) 灵芝 见图 1.2-1 所示, 灵芝是一种以降解木质为生的大型担子菌类药用真菌, 具有白色的菌根和坚实的子实体。其中赤灵芝 [*Ganoderma lucidum* (W. Curt. : Fr.) Lloyd] 和树舌灵芝 [*Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat] 是两种最常用的药用品系。灵芝在中国被称作“Ling-Zhi”, 在日本则被称为“Reishi”, 而且据《神农本草经》记载, 灵芝作为一种亚洲传统药物被用于治疗各种疾病已有数千年的历史。灵芝主要用于治疗冠心病、动脉硬化、肝炎、关节炎、肾炎、支气管炎、哮喘、肿瘤及胃溃疡等疾病, 灵芝在抗病毒, 尤其是抗 HIV 病毒感染方面具有极大潜力。灵芝在自然界中稀少罕见, 而国际市场对于其子实体及菌丝体生物量的需求与日俱增, 野生资源难以满足日益增强的开发需求。国内外, 相继开展了各种人工发酵培养技术, 成功地通过以木头或秸秆为培养基质袋栽或直接在原木上培养而完成对灵芝的人工栽培。而以固体培养基和深层液体培养基等生物反应器进行的生物技术培养也被引入进行小范围试生产。从灵芝菌丝体及子实体中分离到的多种具有药理活性的化学组分主要包括: 三萜类、多糖类、蛋白质、氨基酸、核苷、生物碱、类固醇、内酯、脂肪酸以及酶, 其中最重要的是三萜类和多糖类化合物。目前在灵芝属中已经发现了超过 150 种的三萜化合物, 如灵芝酸、赤芝酸、灵芝草酸、灵芝-22-烯酸、灵赤酸、树舌环氧酸、赤芝酮、灵芝醛和灵芝醇^[1]。具有代表性的化合物如图 1.2-2 所示。



树舌灵芝

赤灵芝

图 1.2-1 树舌灵芝、赤灵芝的照片

灵芝属微生物凸显出的多种突出的治疗效果和其自身具有的丰富的代谢能力, 引发了众多学者的研发兴趣, 国内外学者以灵芝菌作为有效的菌质和多种药物联合

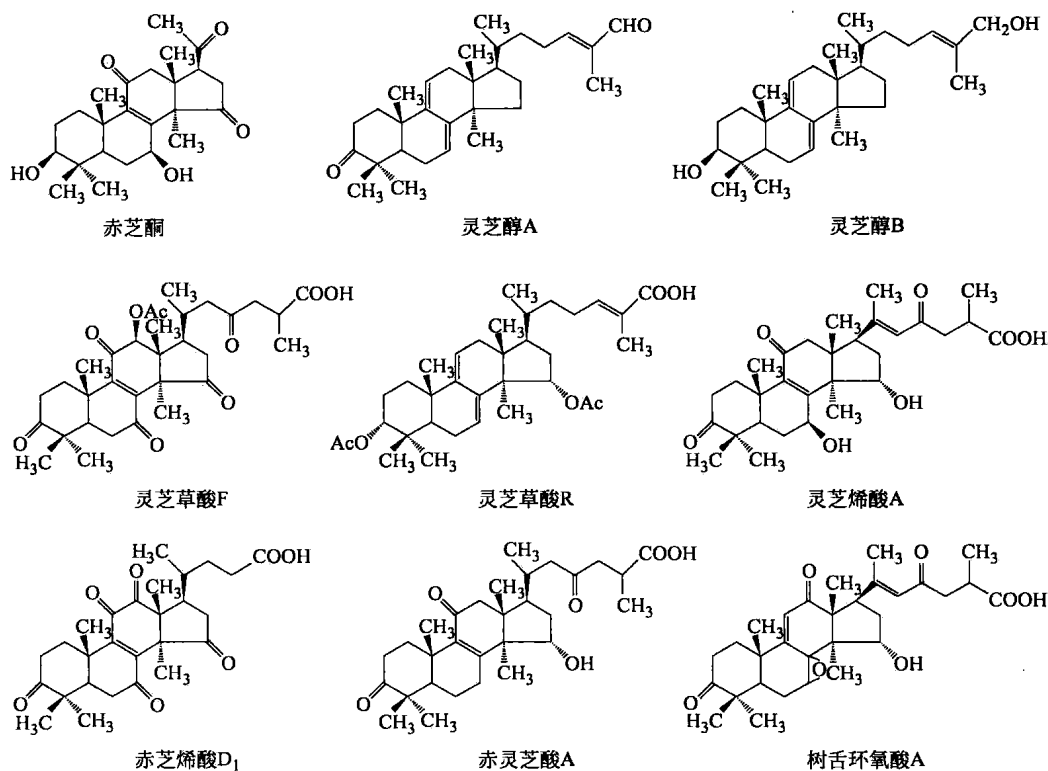


图 1.2-2 灵芝中分离出的化合物

发酵取得一定的效果。魏巍等^[2]考察了6味中药：黄芪、补骨脂、淫羊藿、巴戟天、红毛五加和川芎，与灵芝进行组合发酵效果。实验结果表明：灵芝-黄芪这一发酵组合能大量增加灵芝发酵液体的多糖含量，具有明显延长小鼠负重游泳时间的作用，具有缓解体力疲劳、改善睡眠、耐缺氧、抗肿瘤的功效作用，起作用效应明显高于单一对照组。徐鹏等^[3]研究了27味中药对灵芝菌发酵及其酪氨酸酶抑制活性的研究，结果表明，中药黄芩对灵芝发酵液的酪氨酸酶抑制活性显著提高，而且灵芝中的 β -糖苷酶可能对芦丁转化为槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷的过程起关键作用。与此同时，由于糖基的去除，减少了黄酮与酪氨酸酶作用的空间位阻，增加了转化产物对酪氨酸酶抑制活性。由此说明，灵芝和中药配伍发酵过程中产生的酶促反应促进了其代谢过程，而在另一方面，中药黄芩作为一种药性菌质，在促进灵芝生长的同时，产生了协同的药理活性。另外，潘扬等人^[4]将马钱子作为“药性基质”，运用双向固体发酵技术，使其和灵芝、槐耳、猴头等20种真菌分别发酵，结果马钱子菌质中马钱子类生物碱成分发生了质和量的明显变化，整体毒性明显降低。以中药渣为基质进行灵芝固体发酵，其固体菌丝中多糖含量为子实体中多糖含量的2.4倍，氨基酸含量除半胱氨酸外，其余氨基酸含量均高出灵芝子实体中对应氨基酸含量的2倍以上，固体菌质中的氨基酸总量为子实体的2.64倍，必需氨基酸总量为灵芝子实体的2.67倍。利用中药渣作为药用真菌的培养基质，既能促进药用



真菌的生长,增加药用成分的含量,又能为真菌药物增添新的性味功能,废弃药渣的再利用,为药物提取工艺的现代化发展提供了有益的方向。

(2) 酵母菌 分布广、体积小、表面积大、代谢旺盛、繁殖速度快,其细胞蛋白质含量高达50%以上,并含有人体必需的氨基酸。中药发酵品如六神曲、半夏曲、建神曲主要是酵母菌发酵的产品,现代工业利用酵母菌体可以提取核苷酸、辅酶A、细胞色素c、凝血质、核黄素、有机酸、甘油等。

(3) 霉菌 霉菌在自然界分布也很广,在药物发酵中很常见,次生代谢产物也很多。现代发酵工业用霉菌发酵生产酒精、抗生素(青霉素、灰黄霉素)、酶制剂(淀粉酶、纤维素酶)、甾体激素、维生素等。中药红曲以纯种紫色红曲霉菌(*Monascus purpureus* Went)发酵而得,红曲发酵后产物具有活血化瘀、健脾消食的作用。而对红曲次级代谢产物研究发现,红曲中含有多种生理活性物质,如其中具有降胆固醇功效的洛伐他汀,降血压有效成分为 γ -氨基丁酸及葡萄糖胺,天然抗氧化物质黄酮酚等就是红曲和紫色红曲霉菌发酵的产物。白家峰等人^[5]利用筛选到的黑青霉HB-2对牛蒡子进行发酵,其分泌的 β -葡萄糖苷酶可以在温和的条件下特异性降解牛蒡子苷,将牛蒡子苷元的含量由0.19%提高到1.8%以上,不仅使发酵后的牛蒡子抗炎作用显著增强,还将起效时间缩短了50%,取得了良好的炮制效果,成为牛蒡子现代有效炮制的新方法。

(4) 其他类 随着发酵技术的深入研究,在许多杆菌、有色菌和一些植物内生菌的筛选上都做了一些极有意义的尝试。例如,地衣芽孢杆菌,具有分泌糖苷水解酶、纤维素水解酶、淀粉酶等多种酶系能力,利用其能够产生纤溶酶和间接纤溶能力发酵红花(富含纤维素),则提高了红花抗羟基自由基氧化活性和其对小鼠肝脂质过氧化的抑制作用,起到了通过微生物炮制中药,提高疗效的目的。

1.2.2.2 微生物发酵的技术方法

(1) 液体深层发酵 液体发酵也称液体深层发酵,是在抗生素发酵技术基础上发展起来的,沿用了传统发酵生产工艺。20世纪80年代后,国内外纷纷开展了有关药用真菌液体发酵(主要是深层发酵)的应用研究。表1.2-1列出了适于深层培养的部分大型食用真菌、药用真菌的液体发酵,既可快速大量生产制备出多糖、多肽、生物碱、萜类、甾醇、苷类、酚类、核酸、氨基酸、蛋白质、维生素等多种物质,与此同时,还可生产出菌龄整齐一致、生命力强、数量巨大的液体菌种,以此满足扩大生产的需要^[6]。

表 1.2-1 适于深层培养的部分大型食用真菌

中文名	拉丁名	主要应用领域
双胞香菇	<i>Agaricus bisporus</i> (J. Lge) Imbach	液体菌种、食品添加剂
香菇	<i>Lentinus edodes</i> (BerK) sing.	液体菌种、制药、食品
侧耳	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fr.) Quel	液体菌种
羊肚菌	<i>Morchella esculenta</i> var. <i>conica</i> (Pers.)	食品添加剂
猴头	<i>Hericium erinacius</i> (Bull) Pers	液体菌种、制药、食品



续表

中文名	拉丁名	主要应用领域
金针菇	<i>Flammulina velutipes</i> (Curt. ex Fr.) Sing	液体菌种、食品
灵芝	<i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss. exFr.) Karst.	保健食品、药品
草菇	<i>Volvariella volvacea</i> (Bull. ex Fr.) sing.	液体菌种
黑木耳	<i>Auricularia auricula</i> (L. ; Hook.) Underw.	液体菌种
榆耳菌	<i>Gloeoatereum incarnatum</i> S. Ito et Imai	液体菌种、药品
滑菇	<i>Pholiota nameko</i> (T. Ito) S. Ito et Imai	液体菌种、食品
银耳	<i>Tremella fuciiformie</i> Berk.	药品

如图 1.2-3 所示，药用真菌深层发酵生产工艺流程沿用了传统的发酵生产工艺，即试管斜面菌种→一级摇瓶种→二级种→三级种→发酵罐。有关培养基配方方面的研究包括：碳源、氮源、碳氮比、pH 值、无机盐、微量元素、维生素、生长因子、增黏剂等，以及有关发酵过程中参数控制的研究包括：接种量、温度、搅拌速度、空气流量、糖含量、pH 值、纯度、活力、菌丝形状、发酵液中菌丝体个数和质量等。但是，液体深层发酵本身也存在很多问题，如对无菌度要求严格、设备繁琐操作复杂、发酵液浓度达到一定程度后搅拌不均匀、传质受阻等，这种技术方法仍需要进行更深入的研究、改进和提高。

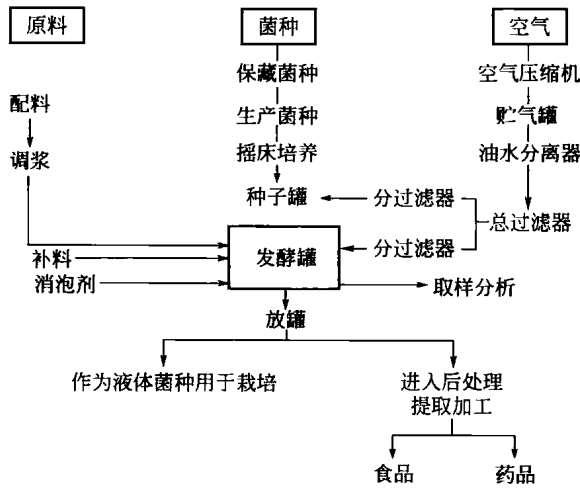


图 1.2-3 大型食（药）用真菌深层发酵生产工艺流程

(2) 固体发酵 中国古代早有“制曲工艺”，发酵生产多种曲、酱、酒等供药用，如著名中药“神曲”早在 1500 年前已有记述，其生产工艺认为是中药生物技术固体发酵的原始雏形，固态发酵与液态发酵相比，固体发酵成本低、产物浓度高、能耗少。在生产过程中，无废水、废气产生且固体发酵有利于次生代谢产生，能够克服液体发酵环境抑制微生物代谢的缺点，固体发酵中所产生的大量酶，如表 1.2-2 所示，包括纤维素酶、木质素酶、蛋白酶、木聚糖酶、淀粉酶、果胶酶、脂肪酶、漆酶等，在酶制剂生产中具有巨大的潜力^[7]。



表 1.2-2 固体发酵生产酶的种类与产酶微生物

酶的种类	酶生产所用微生物
纤维素酶、木聚糖酶	曲霉菌、木霉菌属、香菇、青霉菌、脉孢菌、侧孢霉菌等
漆酶、木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶	黄孢原毛平革菌、彩绒革盖菌、毛革盖菌、糙皮侧耳等
蛋白酶(酸性、中性、碱性)	曲霉菌、根霉菌、青霉、杆状杆菌等
脂肪酶	假丝酵母、根霉、曲霉、脉孢霉
植酸酶	曲霉菌
淀粉酶	曲霉菌、根霉菌、毛霉菌、杆状细菌、酵母

(3) 药性基质的双向固体发酵 药性基质的固体发酵, 即将一些富含营养成分的药物作为培养基的一部分的发酵过程, 一方面微生物通过利用药物基质培养基中的药物作为营养物质进行生长, 同时微生物在生长过程中代谢的丰富酶系对基质中的药物成分进行分解代谢, 产生的酶系可能将药物中的非淀粉多糖降解从而有利于有效成分的释放, 可能将有效成分转化为活性更高的化合物, 亦可能将药物中毒性成分降解或转化为其他有益化合物^[8]。

(4) 固体发酵生物反应器^[9] 随着一些固体发酵生物反应器在药物生产中的大规模应用, 多种创新药物得以大规模生产, 如表 1.2-3 所示。

表 1.2-3 固体发酵的应用

微生物/生物催化剂	基质	产物	生物反应器类型
黑曲霉	柳叶菜种子	孢子	固定床列
黑曲霉	木薯渣	柠檬酸	柱式反应器
米曲霉	麦麸+椰子油饼(3:1)	中性金属蛋白酶	静态瓶
解淀粉芽孢杆菌	花生油饼+麦麸(1:1)	α -淀粉酶	静态瓶
枯草芽孢杆菌	米糠	伊枯草菌素 A	圆筒形反应瓶
德氏乳杆菌	橄榄油饼+甘蔗渣	乳酸	静态瓶
德氏乳杆菌	罗望子籽粉	丹宁酸酶	静态瓶
红曲霉	Jack fruit seed 榴连种子	天然色素	柱式反应器
高山被孢霉	米糠	未饱和脂肪酸	静态瓶
简青霉	豆粕	脂肪分解酵素	静态瓶
简青霉	橄榄油饼+甘蔗渣(1:1)	脂肪分解酵素	固定床反应器
米根霉	椰子油饼+芝麻饼肥(1:1)	肌醇六磷酸酶	静态瓶
链霉菌	大豆饼粉	α -半乳糖苷酶	静态瓶
棒状链霉菌	棉子饼, 葵花饼	甲氧头孢菌素 C	静态瓶
嗜热子囊菌	麦秸	纤维素酶	生物反应器
里氏木霉	麦麸	纤维素酶	静态瓶



续表

微生物/生物催化剂	基质	产物	生物反应器类型
木霉 TUBF927	胶体几丁质	壳二糖酶	静态瓶
鲁氏酵母 2547NRRL-Y	芝麻油饼	左旋谷氨酰胺酶	静态瓶
米赫根毛霉	蔗糖+海藻酸钠固定化细胞	帕拉金糖月桂酸己酯	固定床
产脂肪酶的米根霉	以葡萄糖为主的合成废水	有机酸和生物柴油	填充床反应器
产氢污泥	碳水化合物基质,富含聚乙 烯辛烷的厌氧污泥	氢气和乙醇	流化床
酪丁酸梭菌 JM1	富含葡萄糖的聚氨酯泡沫体	生物产氢	固定床生物反应器

1.3 微生物发酵技术在药物研究中的应用

1.3.1 促进植物药物有效成分溶出，增强药效

植物类药物资源丰富，其有效成分多存在于胞浆中，而植物细胞壁是由纤维素、半纤维素、果胶质、木质素等物质构成的致密结构。在有效成分提取过程中，当胞浆中的有效成分向提取介质扩散时，必须克服细胞壁及细胞间质的双重阻力，有效成分浸出受阻。见表 1.3-1 所示，微生物可利用药物中的成分为营养物质进行

表 1.3-1 微生物及产酶种类

酶的种类	微 生 物
蛋白酶	黑曲霉、米曲霉、枯草杆菌、栖土曲霉等
淀粉酶	黑曲霉(左美曲霉、泡盛曲霉)、根霉(雪白根酶、德氏根霉)、拟内孢霉、红曲霉等
糖化酶	德氏根霉、泡盛酒曲霉、爪哇根霉、河内根霉、台湾根霉、日本根霉、黑曲霉、雪白根霉、宇左美曲霉、米曲霉、臭曲霉、海枣曲霉、伯顿拟内孢霉和红曲霉等
凝乳酶	易脆毛霉、微小毛霉、五通桥毛霉、总状毛霉和米根霉等
脂肪酶	假丝酵母、黑曲霉、黄曲霉、根霉(德氏根霉)、白腐核菌、白地霉(白地霉)、青霉(圆弧青霉)、毛霉(爪哇毛霉)、镰刀霉及假单胞菌、无色杆菌、葡萄球菌等
半纤维素酶	曲霉、根霉、木霉
纤维素酶	木霉菌(绿色木霉、康氏木霉)、黑曲霉、青霉和根霉、漆斑霉、康宁木霉等
单宁酶	真菌中的曲霉属、青霉属、根霉属、毛霉属黑曲霉等
果胶酶	文氏曲霉、苹果青霉、黑曲霉、白腐核菌、米曲霉、胞壁酵母、木质壳霉、芽孢杆菌、梭状芽孢杆菌、葡萄孢霉、三叶草毛盘孢霉、镰刀霉等
α -半乳糖苷酶	酵母菌中有假丝酵母、毕赤酵母、卡尔斯伯酵母、啤酒酵母、意大利酵母、八孢裂殖酵母等；霉菌有泡盛酒曲霉、烟曲霉、黑曲霉、米曲霉、栖土曲霉、蝇缢曲霉、青霉、根霉、毛霉等；放线菌有费氏链霉菌、橄榄色链霉菌、玫瑰多刺链霉菌
葡萄糖异构酶	包氏链霉菌、多毛链霉菌、黄微绿链霉菌、橄榄色链霉菌、锈红链霉菌、委内瑞拉链霉菌等
葡萄糖氧化酶	黑曲霉、米曲霉、丁烯二酸曲霉、青霉属、点青霉、灰绿青霉、黄色青霉、紫色青霉、尼崎青霉、绳状青霉、拟青霉属、帚霉属等