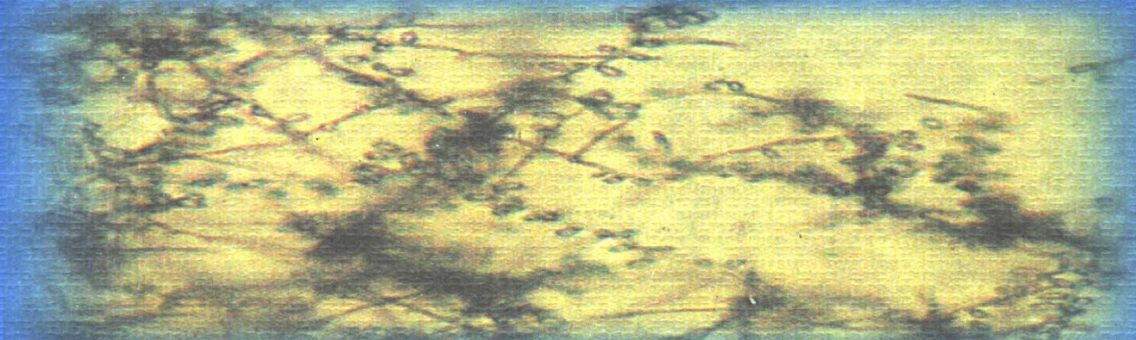
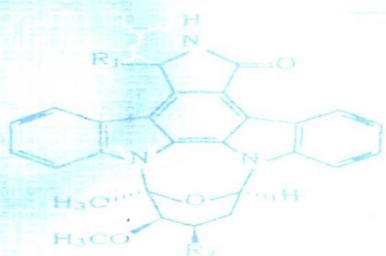




WEISHENGWUYAOWUXUE

陈代杰 编著

微生物 药物学



华东理工大学出版社

微生物药物学

陈代杰 编著

华东理工大学出版社

内 容 提 要

本书比较全面和系统地论述了国内外近年来寻找新微生物药物的有效途径和方法、微生物药物的生物合成、代谢调控、作用机制和耐药性以及质量标准等研究的最新进展。内容包括:扩大微生物的来源、应用微生物生物合成的原理、已知微生物药物的化学修饰、基因工程技术在微生物药物研究和生产中的应用、微生物来源的免疫抑制剂的筛选、微生物来源的酶抑制剂的筛选、微生物来源的受体拮抗剂的筛选、微生物来源的具有特殊生理活性的物质的筛选、微生物药物的作用机制及耐药性、次级代谢物的生物合成和代谢调节、微生物药物的质量控制和质量标准等。

本书可作为从事微生物药物研究、生产、教学和管理人员的参考书,也可作为有关专业的研究生和大、中专学生的参考书。

(沪)新登字 208 号

微生物药理学

陈代杰 编著

华东理工大学出版社出版发行

上海市梅陇路 130 号

邮政编码 200237 电话 021-64250306

新华书店上海发行所发行经销

上海展望印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 34.25 字数 834 千字

1999 年 9 月第 1 版 1999 年 9 月第 1 次印刷

印数 1~3000 册

ISBN 7-5628-0918-6/TQ·67 定价 80.00 元

前 言

微生物药物是指那些由微生物在其生命活动过程中产生的具有生理活性(或称药理活性)的次级代谢产物(有些学者也将一些具有药理活性的初级代谢产物归于微生物药物)及其衍生物。尽管那些具有抗微生物感染、抗肿瘤等作用的抗生素仍是组成微生物药物的主要部分,但近年来不断发现和开发成功的虽无抗微生物作用却具有诸如特异性酶抑制作用、免疫调节作用和受体拮抗作用等的生理活性物质已经成为当今微生物药物研究和开发的主体。

微生物药物学是药物化学的一个新的分支,它的研究内容包括微生物药物的生物合成途径、代谢调控原理、作用机制、产生菌的菌种选育以及寻找新药的基本方法和途径等。根据以上内容,微生物药物学是一门涉及到微生物学、生物化学、药理学、有机化学、微生物遗传学和分子生物学等多门学科的相互渗透的综合性学科。

青霉素的偶然发现开创了微生物药物的研究和开发的时代,链霉素的发现和应用促进了抗生素研究和开发的黄金时期的到来,而近年来生物学科中各个领域的发展,使人们能够应用一套比较完整的理论和方法,从微生物代谢产物中有系统地、有目的地筛选具有潜在临床和其它应用价值的生理活性物质以及进行微生物药物的生物合成、作用机制、代谢调控、产生菌的菌种选育等一系列的研究,逐渐形成了药物化学的一个新的分支——微生物药物学。编写《微生物药物学》是作者多年的愿望,其主要原因是在于从青霉素的发现到目前非抗微生物的药理活性物质筛选等研究的半个多世纪中取得了惊人的发展,特别是近年来随着分子药理学和分子生物学等有关学科的发展,使人们有可能从细胞水平和分子水平建立与各种病因学直接有关的筛选模型来寻找各种新的微生物药物,使已经成为了一门比较系统的学科。免疫抑制剂环孢菌素 A、降血脂药物普伐他丁和洛伐他丁等的发现以及在临床应用中取得的巨大成功,为微生物药物的进一步研究和开发展现了美好的前景。这不难从众多的国内外有关的学术专著和期刊中发现,但是似乎还没有一本比较系统地论述近年来微生物药物研究和开发进展的书籍。为此,作者在四年前就开始着手编写《微生物药物学》一书,希望本书能比较系统地介绍微生物药物的发展过程和研究进展,指望能对从事微生物药物研究、开发和教学等有关的人员有所裨益,同时也希望能对那些与微生物药物专业有关的大中专学生和研究生有所帮助。

在编写本书的过程中,作者收集和阅读了大量有关的国内外书籍和近期文献,特别是国内外专家、学者撰写的专题综述文章对本书的编写帮助不小。尽管如此,限于作者的水平,在本书中肯定存在有许多不足乃至错误之处。尤其是在编写第六、七、八、九章时显得有些零乱,抑或没有将某些重要的内容表达清楚甚至遗漏。另外,本书中的有些内容和观点已经被更新的内容和观点所取代。因此,作者恳请同行专家和读者在阅读过程中对本书的错误和不足之处不吝批评指正。

另外,在编写本书的过程中,上海医药工业研究院朱宝泉研究员对此非常重视,拿出了为研究生上课的备课笔记给予参考,使我收益不小。上海医药工业研究院朱春宝研究员协助

撰写了第四章的大部分内容;中国药科大学吴江副教授协助撰写了第十章中第二、三、四节的内容;上海药品检定所仇仕林研究员协助撰写了第十二章的内容,为此,作者表示衷心的感谢。

在本书的出版过程中,华东理工大学出版社郑斯雄社长和作为责任编辑的于川、沈啸虹付出了大量的心血;浙江新昌制药股份有限公司给予了大力的支持,一并谨表谢意。

目 录

第一章 绪 论

第一节 微生物药物的定义和组成	1
第二节 从抗生素到微生物药物的发展概况	2
一、抗生素时代的开创	2
二、抗生素发展的黄金时代	2
三、微生物来源的其它生理活性物质	
——微生物药物的最新组成部分	4
第三节 寻找微生物药物的基本途径和方法	6
第四节 当前寻找新微生物的热点	11

第二章 寻找新微生物药物的有效途径之一——扩大微生物的来源

第一节 稀有放线菌是产生新的生理活性物质的重要源泉	13
一、稀有放线菌及产生的生理活性物质	13
二、稀有放线菌的分离方法	16
三、一些链霉菌和稀有放线菌的电镜照片	20
第二节 从海洋微生物中寻找具有生理活性的新次级代谢产物	37
一、研究背景及现状	37
二、海洋微生物的生活习性及其多样性	37
三、参照海洋环境和改变培养条件,使海洋细菌产生新生理活性物质	38
四、需要海水的细菌及其对肿瘤具有潜在免疫活性的代谢产物	39
五、表明海洋细菌是生理活性化合物的源泉的其他实例	40
六、海洋微生物药物研究展望	52

第三章 寻找新微生物药物的有效途径之二——应用微生物生物合成的原理

第一节 定向生物合成	56
第二节 突变生物合成	65
第三节 外源微生物药物的生物转化	71
第四节 微生物原生质体融合	71
第五节 体内遗传重组	72

第四章 寻找新微生物药物的有效途径之三——基因工程技术在微生物药物研究和生产中的应用

第一节 抗生素基因工程研究的一些常用技术	74
一、载体宿主系统	74
二、外源基因的导入方法	77
第二节 抗生素生物合成基因的克隆	77
一、将目的基因克隆到标准宿主菌中,然后检测个别基因产物	77
二、克隆与阻断突变株互补的基因	79

三、利用突变克隆分析生物合成基因簇	79
四、克隆抗性基因并分析连锁的生物合成基因	80
五、用人工合成的寡核苷酸探测基因文库	80
六、直接克隆抗生素产生菌 DNA 大片段到非产生菌中	81
七、利用已克隆的生物合成基因为探针克隆同源基因	81
第三节 基因工程技术在新抗生素研究中的应用	82
一、应用 PCR 技术筛选新抗生素	82
二、基因图谱和菌种分类	82
三、杂合抗生素的产生	83
第四节 利用基因工程技术改良微生物药物生产菌种	93
一、解除限速步骤,提高抗生素产量	93
二、阻断支路代谢,增加有效组分的含量	101
三、引入血红蛋白基因增加抗生素产量	107
四、引入抗性基因或调节基因,提高抗生素产量	108
五、构建直接产生 7-ACA 和 7-ADCA 的基因工程菌	108
第五章 寻找新微生物药物的有效途径之四——已知微生物药物的化学修饰	
第一节 已知微生物药物结构改造的基础和目的	114
第二节 β -内酰胺类抗生素的结构改造	115
一、 β -内酰胺类抗生素的结构特征	115
二、当前 β -内酰胺类抗生素结构改造的动向	117
第三节 氨基糖苷类抗生素的结构改造	118
第四节 大环内酯类抗生素的结构改造	119
一、新大环内酯类抗生素的特征概述	121
二、新大环内酯类抗生素的抗菌活性	123
三、大环内酯类抗生素的拓宽应用研究	125
第五节 其它类别抗生素的结构改造	126
一、四环素类抗生素	126
二、安莎类抗生素	127
三、肽类抗生素	129
四、其它抗细菌抗生素	129
五、抗真菌抗生素	129
六、抗病毒抗生素	130
七、抗肿瘤抗生素	130
八、其它生理活性物质	132
第六章 寻找新微生物药物的有效途径之五——微生物来源的免疫调节剂的筛选	
第一节 免疫反应及其调节	134
第二节 微生物来源的免疫抑制剂	135
一、免疫抑制治疗的进展	135
二、微生物来源的免疫抑制剂	137
第三节 微生物产生的免疫抑制剂的一般筛选方法	145

一、体外筛选方法	145
二、体内筛选方法	147
第四节 免疫抑制剂的发展前景	148
第五节 微生物来源的免疫增强剂	149
一、Bestatin 的结构特性	149
二、Bestatin 的抗肿瘤活性	150
三、Bestatin 的其它临床应用	151
四、微生物来源的其它免疫增强剂	151
第七章 寻找新微生物药物的有效途径之六——微生物来源的酶抑制剂的筛选	
第一节 微生物来源的具有降血脂作用的酶抑制剂	154
一、血脂形成的机理	154
二、已有调血脂药物的种类	157
三、微生物来源的 HMG - CoA 还原酶抑制剂	158
四、微生物来源的鲨烯合成酶抑制剂	163
五、微生物来源的 HMG - CoA 合成酶抑制剂	165
六、微生物来源的 ACAT 抑制剂	166
七、微生物来源的其它具有降血脂作用的酶抑制剂	173
第二节 微生物来源的具有降血压作用的酶抑制剂	178
一、作用于肾上腺素合成酶系统的酶抑制剂	178
二、作用于肾素-血管紧张素系统的酶抑制剂	181
三、内皮素转换酶抑制剂	187
四、磷酸二酯酶抑制剂	189
五、PG 系统中血栓素 A ₂ 合成酶抑制剂	191
第三节 微生物来源的具有抗血栓作用的酶抑制剂	191
一、血栓形成的机理	191
二、已有抗血栓药物的分类及作用机理	194
三、微生物来源的凝血酶抑制剂	197
四、微生物来源的血小板凝集抑制剂	198
五、微生物来源的 XⅢa 因子抑制剂	2
六、微生物来源的血小板活化因子酰基转移酶抑制剂	201
第四节 微生物来源的具有抗肿瘤作用的酶抑制剂	202
一、微生物来源的蛋白激酶抑制剂	202
二、微生物来源的 DNA 拓扑异构酶抑制剂	211
三、微生物来源的法尼基转移酶抑制剂	216
四、微生物来源的血管生成抑制剂	220
五、微生物来源的芳香酶抑制剂	225
六、微生物来源的谷胱甘肽转移酶抑制剂	228
七、微生物来源的二酰基甘油醇激酶抑制剂	229
八、微生物来源的阻断肿瘤细胞粘附的抑制剂	230
九、微生物来源的黄曲霉毒素合成抑制剂	236
十、微生物来源的硫氧还蛋白抑制剂	238

十一、微生物来源的 DNA 迴旋酶抑制剂	238
第五节 微生物来源的 HIV 复制抑制剂	239
一、艾滋病病毒的遗传学特性	239
二、非微生物来源的 HIV 复制抑制剂	240
三、微生物来源的 HIV 复制抑制剂	244
四、微生物来源的抗 HIV 物质的筛选方法	250
第六节 微生物来源的具有抗炎症作用的酶抑制剂	251
一、微生物来源的 5-脂氧酶抑制剂	251
二、微生物来源的磷酸酯酶 A ₂ 抑制剂	253
三、微生物来源的人白细胞弹性硬蛋白酶抑制剂	257
四、微生物来源的溶磷脂酶抑制剂	258
第七节 微生物来源的其它一些酶抑制剂	259
一、微生物来源的淀粉酶和糖苷酶抑制剂	259
二、微生物来源的磷酸酯酶 C 抑制剂	263
三、微生物来源的门冬氨酰蛋白激酶抑制剂	265
四、微生物来源的肌浆球蛋白轻链激酶抑制剂	266
五、微生物来源的其它一些蛋白酶和肽酶抑制剂	267
六、微生物来源的黑色素合成抑制剂	279
七、微生物来源的乙酰胆碱酯酶抑制剂	282
八、微生物来源的细胞因子抑制剂	284
九、微生物来源的醛糖还原酶抑制剂	291
十、微生物来源的甾体 5 α -还原酶抑制剂	294
第八章 寻找新微生物药物的有效途径之七——微生物来源的受体拮抗剂的筛选	
第一节 微生物来源的具有降血压作用的受体拮抗剂	302
一、微生物来源的血管紧张素 I 受体拮抗剂	302
二、微生物来源的内皮素受体拮抗剂	303
三、微生物来源的心房促尿钠排泄因子受体拮抗剂	310
四、微生物来源的钙通道拮抗剂	311
第二节 微生物来源的具有抗血栓作用的受体拮抗剂	311
一、微生物来源的 vWF 受体拮抗剂	311
二、微生物来源的纤维蛋白原受体拮抗剂	312
第三节 微生物来源的具有抗肿瘤活性的受体拮抗剂	315
一、微生物来源的非甾体类雄激素受体拮抗剂	315
二、微生物来源的非甾体类雌激素受体拮抗剂	317
第四节 微生物来源的具有抗炎症作用的受体拮抗剂	320
一、微生物来源的速激肽受体拮抗剂	320
二、微生物来源的白三烯 B ₄ 受体拮抗剂	330
三、微生物来源的 C _{6a} 受体拮抗剂	332
四、微生物来源的肌醇-1,4,5-三磷酸受体拮抗剂	332
五、微生物来源的白细胞介素-1 受体拮抗剂	333
第五节 微生物来源的作用于神经系统的受体拮抗剂	334

一、微生物来源的兴奋性氨基酸受体-N-甲基-D-门冬氨酸受体拮抗剂	334
二、微生物来源的抑制性氨基酸受体- γ -氨基丁酸-苯丙二氮草受体拮抗剂	336
三、微生物来源的神经肽 Y 受体拮抗剂	337
四、微生物来源的缩胆囊素受体拮抗剂	338
第九章 寻找新微生物药物的有效途径之八——微生物来源的其它具有特殊生理活性物质的筛选	
第一节 微生物来源的抗氧化剂	342
一、氧化剂与疾病发生的关系	342
二、生物体分子的氧化产物	343
三、生物体内的抗氧化系统	344
四、已知的一些抗氧化剂的种类和作用机制	344
五、微生物来源的抗氧化剂	345
六、抗氧化剂物质的筛选方法	352
第二节 微生物来源的具有神经保护功能的生理活性物质	353
一、微生物来源的神经营养因子类物质	353
二、微生物来源的神经生长因子增强剂	354
三、微生物来源的神经蛋白保护物质	354
四、微生物来源的 Neuritogenic 物质	357
第三节 微生物来源的具有抗肿瘤活性的诱导物	360
一、微生物来源的 CSF 诱导物	360
二、微生物来源的肿瘤细胞分化诱导物	363
三、微生物来源的肿瘤细胞凋亡诱导物	368
第四节 微生物来源的其它一些特殊的生理活性物质	374
一、微生物来源的植物生长调节剂	374
二、微生物来源的具有刺激细胞纤维蛋白溶解作用的生理活性物质	375
第十章 抗生素的作用机制及耐药性	
第一节 β -内酰胺类抗生素的作用机制及耐药性	377
一、 β -内酰胺类抗生素的作用机制	377
二、 β -内酰胺类抗生素的耐药机制	378
第二节 氨基环醇类抗生素的作用机制及耐药性	390
一、氨基环醇类抗生素的发展	390
二、氨基环醇类抗生素的作用机制	398
三、氨基环醇类抗生素的耐药机制	398
四、氨基环醇类抗生素的结构改造与细菌耐药性	402
第三节 MLS 类抗生素的作用机制及耐药性	405
一、MLS 类抗生素的作用机制	405
二、MLS _B 类抗生素的耐药机制	408
第四节 四环类抗生素的作用机制及耐药性	410
第五节 糖肽类抗生素的作用机制及耐药性	414
一、万古霉素的作用机制	414

二、肽类霉素的作用机制	415
三、糖肽类抗生素的耐药性	417
第六节 多烯大环内酯类抗生素的作用机制	417
第七节 聚醚类抗生素的作用机制	420
第八节 其它类别的抑制细菌细胞壁合成的抗生素	423
第九节 其它类别的抑制细菌蛋白质合成的抗生素	427
第十节 核苷类抗生素的作用机制	430
第十一节 安莎环类抗生素的作用机制	433
一、利福霉素 SV 和 B	434
二、利福平	435
三、利福定	435
四、利福喷汀	435
五、柄型菌素	436
第十二节 细菌通透屏障与主动外排机制	
——更广义的耐药机制	436
一、具有低通透性屏障的细菌耐药性	436
二、主动外排作为细菌的耐药机制	437
第十三节 抗肿瘤抗生素的作用机制及肿瘤细胞的耐药性	438
一、抗肿瘤抗生素的作用机制	438
二、共价结合 DNA 作用机制的抗肿瘤抗生素	442
三、具有使 DNA 链断裂交互作用机制的抗肿瘤抗生素	444
四、肿瘤细胞多药抗性的遗传学特性	446
第十四节 抗生素作用的后效应	453
一、抗生素后效应的测定方法	453
二、影响 PAE 的因素	453
三、PAE 期间细菌学特性	454
四、抗生素或抗菌药物产生 PAE 的机理	455
五、PAE 的临床意义	456
第十五节 抗生素作用的逆反效应	458
一、抗生素逆反效应的含义	456
二、抗生素作用的逆反效应及其特性	456
第十一章 次级代谢物的生物合成和代谢调节	
第一节 次级代谢物生物合成的特征	462
第二节 次级代谢物生物合成的主要途径	462
一、生物合成途径	462
二、产生多样化化合物的生物合成机制	466
第三节 次级代谢物生物合成的代谢调节	468
一、磷酸盐对次级代谢物生物合成的调控	468
二、分解代谢物对次级代谢物生物合成的调控	469
三、其它因素对次级代谢物生物合成的调控	472

四、次级代谢物生物合成的表达调节	473
五、链霉菌形态变化和次级代谢	479
第四节 抗生素产生菌的自身防卫机制	485
一、以抗生素被钝化的自身防卫机制	485
二、以抗生素作用靶位被修饰的自身防卫机制	489
三、其它一些自身防卫机制	492
四、体内毒性抗生素产生菌的耐受性调控	493
第十二章 微生物药物的质量和质量控制	
第一节 制定微生物药物质量标准的内容时应考虑的问题	495
一、药品的有效性	495
二、药品的安全性	496
第二节 与微生物药物有效性有关的质量控制	496
一、药品化学本质的确证	496
二、多组分混合型药物中组分量的控制	499
三、有关物质含量限度的控制	503
四、异构体产物的控制	503
五、药物固体状态的控制	504
六、溶出度或释放度的控制	506
第三节 与微生物药物安全性有关的质量控制	506
一、过敏性杂质的控制	506
二、热原或细菌内毒素的检查	508
三、异常毒性的检查	509
四、降压物质的检查	509
五、无菌及微生物限度的检查	509
六、有机溶剂残留量的控制	510
附录	513

第一章 绪 论

第一节 微生物药物的定义和组成

微生物产生的次级代谢产物具有各种不同的生物活性,抗生素是人们熟悉的具有抗微生物感染、抗肿瘤作用的微生物次级代谢产物。自从40年代初青霉素用于临床以来,抗生素为人类做出了卓越的贡献。随着这一领域的迅速发展,抗生素一词的含义也在不断充实。1942年链霉素的发现者Waksman首先下的定义是:“抗生素是微生物在其代谢过程中所产生的、具有抑制它种微生物生长及活动甚至杀灭它种微生物性能的化学物质。”从那时起至50年代中期,由于基本上只有青霉素、链霉素、四环素等少数品种在临床上使用,它们都只起到抗菌的作用,所以这个定义是合适的。我国最初是将“antibiotic”按其原意译为“抗生素”的,但在当时这类物质都是抗“菌”的情况下,又将它改译为“抗菌素”,并沿用至80年代初期。之后,由于抗肿瘤、抗寄生虫等抗生素的不断发现,这类化合物的作用已远远超出了对微生物作用的范围。因此,一般认为抗生素的定义应是:“抗生素”是在低微浓度下有选择地抑制或影响它种生物机能的微生物次级代谢产物及其衍生物。有人曾认为将动、植物来源的具有同样生理活性的这类物质如鱼素、蒜素、黄连素等也归入抗生素的范畴,但多数学者认为传统概念的抗生素仍应只限于微生物的次级代谢产物。因此在临床上使用的由化学合成方法制备的各种抗菌药物也不属于抗生素的范畴。

近年来,由于基础生命科学的发展和各种新的生物技术的应用,由微生物产生的除抗感染、抗肿瘤以外的其它生物活性物质的报道日益增多,如特异性酶抑制剂、免疫调节剂、受体拮抗剂和抗氧化剂等,其活性已超出了抑制某些生物生命活动的范围。虽然这些活性物质中有些并不称为抗生素,但这类化合物确实是在抗生素研究的基础上发展起来的。为了区别于一般抗生素并强调其在医疗上应用的可能性,Monaghan等将这类物质称为“生物药物素”(biopharmaceutin)。国内不少学者认为,这类物质和一般抗生素均为微生物次级代谢产物,其在生物合成机制、筛选研究程序及生产工艺等多方面都有共同的特点,一旦有了实用价值,统称为微生物药物(microbial medicine)。因此,微生物药物的定义应该是:由微生物在其生命活动过程中产生的具有生理活性(或称药理活性)的次级代谢产物及其衍生物。这些具有生理活性的次级代谢产物包括:具有抗微生物感染和抗肿瘤作用的传统的抗生素以及特异性酶抑制剂、免疫调节剂、受体拮抗剂、抗氧化剂等。

第二节 从抗生素到微生物药物的发展概况

一、抗生素时代的开创

1929 年英国科学家 Fleming 发现了在含有金黄色葡萄球菌的培养基平板上污染了青霉菌,在青霉菌菌落周围细菌不能生长的现象。他把这个青霉菌分离出来后加以培养,发现其培养液能抑制各种细菌生长,并经动物试验证实其没有毒性,他依照产生菌 *Penicillium* 的名字把其中的活性成份命名为 penicillin(青霉素)。虽然当时 Fleming 没有分离出这种物质,但提示了将其用于临床作为化学治疗的可能性。十年后 Chain 和 Florey 经过进一步研究制得了青霉素结品的干制品而应用于临床,证明了它是一个有效的抗菌物质。在第二次世界大战中,为了治疗细菌感染,美国政府于 1941 年邀请了 Chain 和 Florey 到美国帮助开发青霉素的生产。经过与美国制药公司的共同努力,建立了适合于工业生产的沉没发酵技术。采用 X-射线照射法进行诱变育种提高其产生青霉素的能力,使用玉米浆培养基进行发酵,从而获得了青霉素工业生产成功,开创了抗生素时代。

二、抗生素发展的黄金时代

青霉素在临床上的奇异疗效,激发了世界各国有关学者的研究热情。美国科学家 Waksman 在继 Fleming 发现青霉素并应用于临床治疗后,第一个将由放线菌产生的链霉素作为抗菌药品应用于临床并同样取得了令人振奋的治疗效果。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。在以后的近 20 年内,陆续发现了众多的抗生素品种,其中不少被用于临床,由此造就了一个抗生素发展的黄金时代。

1. 传统抗生素的发展

除了以青霉素、头孢菌素为代表的 β -内酰胺类抗生素外,氨基糖苷类抗生素是抗菌抗生素中的一大门类,其代表品种有:1943 年由 Waksman 发现的对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌及耐酸菌都有良好活性的链霉素;1957 年由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等。大环内酯类抗生素是抗菌抗生素中的又一大类。继 1952 年,McGuire 发现的第一个有临床应用价值的大环内酯类抗生素——红霉素以来,陆续诞生了柱晶白霉素、麦迪霉素和螺旋霉素等具有临床应用价值的大环内酯类抗生素。 β -内酰胺类抗生素、氨基糖苷类抗生素和大环内酯类抗生素及其它们的衍生物是目前临床上应用的主要抗菌抗生素。

除了以上三大类的天然抗生素不断被发现并有些很快被用于临床外,其它类别的各种天然抗生素也同时被不断发现,如:1939 年,Oxford AE 等发现了第一个抗真菌抗生素——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(目前世界上都采用化学合成法来制备氯霉素和磷霉素);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,发现了新生霉素并很快用于治疗临床革兰氏阳性菌感染疾病,最近研究发现该药物还具有抗白三烯 B₄

(LTB₄)的抗炎活性;1957年,Sensi发现了安莎类抗生素的第一个成员——利福霉素,后来在利福霉素基础上经结构改造得到了利福平和其它一些衍生物,成为治疗结核病的有效药物;1962年,Godtfredsen报导了第一个甾类抗生素——羧链孢酸;同年又报导了林可霉素;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,其临床应用尚在开发之中。目前临床应用的大多数天然抗生素都是在50~60年代发现的。

自60年代起,人们在继续寻找抗菌抗生素的同时,开始从微生物代谢产物中寻找具有其它生理活性的物质。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。抗肿瘤抗生素柔红霉素、丝裂霉素C、博来霉素,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(又名他利霉素)等都是目前具有应用价值的天然抗生素。

2. 半合成抗生素的发展

随着青霉素的大量使用和其它抗生素的使用,临床上出现了耐药菌,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研究的一个主要方向,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酶的甲氧苯青霉素。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诞生了。

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、头孢噻肟和头孢他定等抗菌活性较强的半合成头孢菌素类抗生素。制备半合成头孢菌素类抗生素的另一条有效途径是从青霉素G经化学扩环—闭环等一系列反应制成7-氨基-3-去乙酰氧基头孢烷酸(7-amino-3-deacetoxycephaloranic acid,7-ADCA),再由此母核半合成了可供口服的头孢氨苄,头孢克洛等头孢类药物。由于头孢菌素母核比青霉素母核可供化学修饰的部位多,对青霉素酶稳定,因此半合成头孢菌素的工作比半合成青霉素的工作更为活跃。从抗菌谱较窄的第一代头孢菌素到抗菌谱较广的第三代头孢菌素的研制,已上市应用于临床的有50多个品种,为应用于临床的抗生素中最有潜力和最为广泛的一大门类(据统计,发达国家的 β -内酰胺类抗生素的临床使用量占有所有抗生素使用量的60%~70%;我国目前仅占20%~30%)。

在改造青霉素、头孢菌素化学结构的同时,对其他类别的抗生素结构改造工作也在活跃地进行并取得了有效的成果。如在四环类抗生素的结构改造中,从土霉素和去甲基金霉素经结构改造分别得到的脱氧土霉素(强力霉素)和二甲胺四环素在临床治疗中比其母体化合物都具更好的疗效。在氨基糖苷类抗生素的结构改造中,由卡那霉素经化学修饰得到的阿米卡星(丁胺卡那霉素)、阿贝卡星、地贝卡星和从庆大霉素B经化学修饰得到的异帕米星等都比其母体具更好的疗效。在大环内酯类抗生素的结构改造中,已合成的有乙酰螺旋霉素、乙酰麦迪霉素和罗红霉素、阿齐红霉素(氮红霉素)、甲红霉素等,特别是最近几年合成的几个

半合成红霉素产品,在临床治疗中具有很好的疗效,尤其是罗红霉素、阿齐红霉素和甲红霉素等半合成红霉素,由于它们比红霉素具有更高的血药浓度、更长的半衰期和更好的生物利用度及独特的抗菌范围,为 80 年代后期崛起的一类具有发展前途的大环内酯类抗生素。国内研制的罗红霉素、阿齐红霉素和甲红霉素等也已投放市场。抗肿瘤抗生素的结构改造工作也一直是药物化学工作者研究的热点,如何克服抗肿瘤抗生素的毒副作用是其结构改造的主要目标。一个非常成功的例子是从柔红霉素经结构改造所获得的阿霉素和表阿霉素,由于它们不仅降低了原来的毒副作用,且其用药剂量也有所降低,因而成为许多癌症化疗中首选的抗肿瘤抗生素。又如由美国默克公司开发的抗虫抗生素阿弗米丁的半合成产品依弗菌素已被作为杀虫抗生素广泛用于农业和畜牧业。因此,可以毫不夸张地说:50 年代至 60 年代,是从微生物的代谢产物中发现各种抗生素的黄金时代,而随后开创的从已有抗生素进行结构改造来发现各种疗效更高、毒副作用更低和更为有效的抗生素是又一个黄金时代,且还将继续发挥它的作用。

三、微生物来源的其它生理活性物质——微生物药物的最新组成部分

日本科学家梅泽滨夫是继 Fleming 和 Waksman 后,在抗生素研究领域作出卓越贡献的第三位科学家。50 年代,由他领导的科研小组发现了卡那霉素,以后在此基础上合成得到了阿米卡星,并很快被应用于临床。60 年代,他把研究方向确立在寻找抗肿瘤抗生素上,首先发现了抗肿瘤抗生素 sakamycin。随后又很快发现了具有临床应用价值的抗肿瘤抗生素博来霉素(国内又称争光霉素),并通过应用定向生物合成原理,筛选获得了更为有效的第二代博来霉素——培罗霉素(peplomycin)。梅泽滨夫在其一生的研究生涯中,发现了许多新的抗生素,其中不少已被应用于临床,为抗生素事业作出了巨大的贡献。

梅泽滨夫的另一个重要的贡献是提出了酶抑制剂的概念(这里所指的酶是动物和人体内产生的参与各种生命活动的有关的酶,而不是指由微生物产生的诸如 β -内酰胺酶等产生细菌耐药性的酶),开创了从微生物代谢产物中寻找其它生理活性物质的新时代。

从酶学的研究历史来看,第一代的研究是以阐明各种酶的一级结构和高级结构为标志;第二代的研究是以阐明酶的催化机制和限定分解机制为标志,这对理解酶的生理意义有着重要的作用;而对酶抑制剂的研究有可能对炎症、免疫、补体反应、致癌、癌的转移、病毒感染、肌肉营养障碍和自身免疫等各种疾病的病因予以阐明并提出治疗方案,这个领域可被称之为第三代的酶学研究,而从微生物代谢产物中寻找酶抑制剂也正是一个新的研究领域,学科间相互渗透,共同发展。

从传统的抗生素的研究开发转到从微生物的代谢产物中寻找具有生理活性物质的研究,可追溯到 60 年代初由 Umezawa 领导的研究小组所开创的酶抑制剂的研究。他们最初的研究依据是细胞表面的各种水解酶涉及到各种细胞现象的变化,而由微生物产生的各种蛋白酶抑制剂对于分析这些细胞表面水解酶的功能是非常有用的。经过他们不懈的努力,终于发现了一系列可作为生化工具的酶抑制剂,如亮肽素(leupeptins)、antipain、抑糜蛋白素(chymostatin)、elastatinal 和乌苯美司(bestatin)等。特别是进一步的体内试验发现,由 *S. olivoreticuli* 产生的具有二肽结构的 bestatin 不仅是氨肽酶 B 和亮氨酸氨肽酶抑制剂,且具有恢复已经损伤的免疫功能、活化细胞毒吞噬细胞、刺激细胞介导的免疫性、增强白细胞介素 1 和 2(interleukin 1 和 2, IL-1 和 IL-2)从巨噬细胞和脾细胞中释放。尽管当时

Umezawa 已经预言对细胞表面水解酶具有抑制作用的物质能够改变细胞功能,但对 bestatin 体内研究所发现的免疫调节作用震动了不少正在从事新抗生素筛选的研究人员,使他们从本质上开始真正认识到微生物的次级代谢产物不仅是作为抗生素可用于临床来医治疾病,由于它具有广泛的生理活性而有可能被开发成为各种药物用于临床。事实也正是如此,从微生物次级代谢产物中寻找各种生理活性物质已成为寻找新微生物药物的重要组成部分。因而 Umezawa 等的研究工作从微生物药物的研究进程而言,具有划时代的意义,开创了微生物药物的新纪元。

目前由美国默克公司发现的洛伐他丁(lavostatin)和日本三共公司发现的普伐他丁(pravastatin)为 β -羟基- β -甲基-戊二酰辅酶 A (β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA, HMG-CoA) 还原酶抑制剂(HMG-CoA 的还原是胆固醇合成途径中的限速反应,催化这一反应的 HMG-CoA 还原酶受到抑制后即可降低血液中的胆固醇浓度)。二者皆已用于临床,取得了十分显著的效果,这是微生物药物的突出成就。日本“生命科学与工业”杂志引述医药界权威的评价,认为这种新型药物对治疗高血脂症是一场革命,其深远影响就如同青霉素治疗感染疾病一样。近年来已发现了许多具有临床应用价值的酶抑制剂,它将是目前和今后相当长一段时间的研究热点。

在微生物产生的免疫调节剂中最为引人注目的是免疫抑制剂,这是因为 20 多年来器官移植外科手术取得了重大进展,人们意识到免疫抑制剂的重要性。1978 年,瑞士山道士公司把由真菌产生的、由 11 种氨基酸组成的环状聚肽环孢菌素 A 用于临床肾移植,从而开发了一种强有效的免疫抑制剂。目前还用于治疗自身免疫性疾病和类风湿性关节炎。环孢菌素 A 开始是作为抗真菌抗生素被发现的,后来测得其有很强的免疫抑制活性,在临床上取得了十分突出的疗效。这一成就对微生物药物的筛选是一个很大的鼓舞。FK506 是由链霉菌产生的 23 元环大环内酯类抗生素,体外试验和动物试验表明其生物活性和毒副作用都比环孢菌素 A 好,现已进入临床应用。雷帕霉素(rapamycin)具有与 FK506 相似的大环内酯结构,原来作为抗真菌抗生素筛选获得,现发现其免疫抑制活性比环孢菌素 A 和 FK506 更好,且具有协同作用,目前正在进行 III 期临床试验。这又将是一个很有前途的免疫抑制剂。

受体拮抗剂是根据受体配体结合原理筛选获得的具有特异性强、毒性小的生理活性物质。受体是细胞中一类生物活性分子,其功能是特异性识别和结合化学信使即配基(如药物、激素、神经递质、抗原和病毒等),结合后信号放大而最终产生生物反应。1985 年,从洋葱曲霉中找到了第一个非肽的缩胆囊素(CCK)受体拮抗剂 asperlicin。它对胰腺、肠和胆囊的受体亲和力比丙谷胺(proglumide)增加约 300 倍。在此基础上,又合成了活力比 asperlicin 强 1000 倍的 MR329。这类物质可能用于治疗与 CCK 有关的胃肠系统紊乱的疾病。催产素(oxytocin)受体拮抗剂 L-156,373 是由链霉菌产生的环状六肽化合物,与受体的亲和力不高,其半合成衍生物提高了活性,延长了作用时间,有可能用于延缓早产。

确实,应用传统的筛选模型,从微生物代谢产物中寻找新抗生素的机率愈来愈小。但是,酶抑制剂概念的提出和筛选模型的建立,是微生物药物筛选的一个新的里程碑。从表 1-1 和表 1-2 的结果来看,微生物来源的生理活性物质不仅是构成微生物药物的最新部分,且已是主要部分。