



“十二五”职业教育国家规划教材  
经全国职业教育教材审定委员会审定



XIANDAI SHENGWU ZHIYAO  
GONGYIXUE

# 现代生物制药 工艺学

第二版

辛秀兰 主编



化学工业出版社



“十二五”职业教育国家规划教材  
经全国职业教育教材审定委员会审定

# 现代生物制药工艺学

## 第二版

辛秀兰 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

《现代生物制药工艺学》的内容包括天然生物材料的提取制药、发酵工程制药、细胞工程制药、酶工程制药和基因工程制药 5 个项目。天然生物材料的提取制药项目设计了 L-胱氨酸的制备、胰凝乳蛋白酶的制备、核苷酸的制备、溶菌酶的制备、甘露醇的制备、卵磷脂的制备 6 个工作任务, 发酵工程制药项目设计了青霉素的发酵生产、红霉素的发酵生产、金霉素的发酵生产、链霉素的发酵生产、维生素 C 的发酵生产、谷氨酸的发酵生产 6 个工作任务, 细胞工程制药项目设计了骨髓瘤细胞 SP2/0 的传代培养、SP2/0 细胞传代培养的常规检测、抗人血蛋白杂交瘤细胞系的建立、杂交瘤阳性克隆子的保藏、杂交瘤阳性克隆子的微载体培养、西洋参植物细胞的培养 6 个工作任务, 酶工程制药项目设计了胃蛋白酶的制备及酶活力测定、门冬酰胺酶的制备及酶活力测定、糖化酶的制备及酶活力测定、糖化酶的固定化、中性蛋白酶的固定化、胰蛋白酶亲和色谱 6 个工作任务, 基因工程制药项目设计了葡激酶的制备、 $\gamma$  干扰素的制备、重组人血管内皮生长因子 165 的制备、胰岛素的制备、人血白蛋白的制备、卡介苗重组疫苗的制备 6 个工作任务。教材的知识与目标设计和微生物发酵工、生物分离提取工、药物制剂工等国家职业大典规定的职业标准对应, 注重内容的科学性、实用性。

本教材适合高职高专院校生物技术、生物制药等专业使用, 也可作为行业培训用书和生物制药技术人员的参考用书。

## 图书在版编目 (CIP) 数据

现代生物制药工艺学/辛秀兰主编. —2 版. —北京: 化学工业出版社, 2016.9

“十二五”职业教育国家规划教材

ISBN 978-7-122-07869-8

I. ①现… II. ①辛… III. ①生物制品-生产工艺-职业教育-教材 IV. ①TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 180413 号

---

责任编辑: 李植峰 章梦婕 迟 蕾

装帧设计: 张 辉

责任校对: 宋 夏

---

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: 三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 11 字数 272 千字 2016 年 10 月北京第 2 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: 28.00 元

版权所有 违者必究

## 《现代生物制药工艺学》(第二版) 编写人员名单

主 编 辛秀兰

副主编 陈 亮 吴小兵

编 者 (按照姓名汉语拼音排列)

陈 亮 (北京电子科技职业学院)

董小岩 (北京五加和分子医学研究所有限公司)

韩明娣 (北京四环生物制药有限公司)

胡 平 (恩施职业技术学院)

胡仙妹 (郑州轻工业学院)

金丽华 (北京电子科技职业学院)

吕健龙 (北京四环生物制药有限公司)

宋 丹 (天津生物工程职业技术学院)

王 迪 (黑龙江职业学院)

王莉瑛 (北京电子科技职业学院)

吴小兵 (北京亦庄国际生物医药投资管理有限公司)

辛秀兰 (北京电子科技职业学院)

杨 晶 (黑龙江农业职业技术学院)

赵晓萌 (北京农学院)

郑 鸣 (河南牧业经济学院)

# 前言

现代生物制药工艺学是生物技术、生物制药类专业的必修课程之一。本书第一版出版于2006年8月，已重印数次，被国内大部分开设生物制药相关课程的高职高专院校采用，发行量达3万多册。编者利用所掌握的大量来源于生产实际的一线资料，以企业的实际生产任务为主线对教材内容进行修订，从而使教材更加满足高职高专院校的人才培养需求。本教材的编写团队由企业专家和专任教师共同组成。在企业专家的参与下，更多来源于企业生产一线的知识和技能要求被提炼和总结，并编写到教学项目、任务中，使教材的内容更贴近生产实际。

为适应职业教育教学方法改革的需要，教材的此次修订改为项目化教学的体例，共设计了天然生物材料的提取制药、发酵工程制药、细胞工程制药、酶工程制药、基因工程制药共5个教学项目、30个教学任务。教师可根据教学大纲和实验室的具体设备情况，灵活选择具体的教学任务，充分体现任务驱动、项目导向的现代教学模式，从而提升学生的生产实践能力。

教材的知识与能力目标设计与微生物发酵工、生物分离提取工、药物制剂工等国家职业大典规定的职业标准对应。编者通过与各类企业广泛沟通，了解企业生物药物生产的标准操作规程(SOP)，并将执行法规和规范、环保和安全意识等生物制药岗位所必需的职业素质融于教学目标中，以实现教学与岗位能力要求的对接。

为了使本书适应行业发展以及高职高专教育的需要，我们参考了大量国内外有关书籍和文献，并结合自己的教学实践进行编撰。其间得到了各位编写人员及所在单位的大力支持与配合，在此表示衷心的感谢。同时也对本教材第一版的各位编写人员所付出的辛勤努力表示感谢。由于作者水平有限，难免会有疏漏与不妥之处，敬请广大读者与同仁批评指正。

编者

2016年3月

# 第一版

# 前言

生物制药工艺学是高职生物技术应用、制药工程等工科专业和医药类专业的必修课程之一。目前,全国开设生物技术类的高等职业院校共有 200 多所,绝大多数学校均开设生物制药工艺学课程,但目前适合于高等职业教育的生物制药类教材却凤毛麟角,这种状况既不适应于社会对人才培养的要求,也不利于师生的教学。有鉴于此,本书的编者——这些在高等职业院校长期从事生物制药工艺学教学的教师希望通过自己的努力,为高职高专学生和教师提供一本简明、适用的生物制药工艺学教材。

本教材坚持理论知识“适度、够用”的原则,强化学生的实际操作技能的训练,充分体现职业教育特色,教材以技能训练为核心,注重理论知识的系统性和实验操作的可行性。教材共分两篇,第一篇为基础理论,第二篇为实验技术。

基础理论部分内容覆盖面广,包括概述、天然生物材料的提取制药、发酵工程制药、细胞工程制药、酶工程制药和基因工程制药六章内容,便于不同专业的学生和教师有效利用,尤其突出各类制药技术的工程实例,以适应高职教育的要求。天然生物材料的提取制药介绍从动植物组织、微生物细胞等生物体中提取生化药物的原则、操作原理和提取分离方法;发酵工程制药以抗生素为主线,介绍了 $\beta$ -内酰胺类、大环内酯类、四环素类和氨基糖苷类等抗生素的发酵工艺控制和提取精制方法;细胞工程制药主要介绍植物细胞和动物细胞的培养方法,以及利用动植物细胞进行生物制药的实例;酶工程制药主要介绍酶的固定化技术及酶工程制药实用技术;基因工程制药以实际应用为主,先简单介绍基因工程制药的实用技术,然后从基因工程上游技术和下游技术两个角度讲解基因工程的实际应用。

生物制药是一门实验技术,重点培养学生的实际动手能力。但传统的高职生物制药类教材均以理论为主导,通过大生产的实际操作实例来阐明实验操作要点,学生只能以“听实验”为主,而无法动手实施,大大限制了学生技术应用能力的培养。本书的第二篇实验技术共分五章,分别为天然生物材料的提取制药实验、发酵工程制药实验、细胞工程制药实验、酶工程制药实验和基因工程制药实验,共设置了 50 个实验。实验内容的选择以工业化大生产为依据,但同时也兼顾了国内大部分高职院校的实验和实训条件,对复杂的生物制药工艺实验进行了改良,增加实验室小规模生物制药实验,增强了实验室操作的可行性,利于培养学生的动手能力,各院校可根据实际情况灵活选用。

北京电子科技职业学院(原北京轻工职业技术学院)的辛秀兰、兰蓉、徐晶、吴志明,

中国食品工业（集团）公司的江波，湖北荆门职业技术学院的陈可夫，浙江金华职业技术学院的邵玲莉，安徽第一轻工业学校的刘纯根，北京医药器械学校的劳文燕、张虎成，四川工商职业技术学院的江建军、宁允叶，安徽合肥万博科技职业学院的姚振华等老师共同完成了本书的编写和审稿工作。为了使本教材适应行业发展及高职教育的需要，我们参考了大量的国内外有关文献，并结合自己的教学经验和实验经验进行了编撰，但由于作者水平有限，难免会有错误与不妥之处，敬请广大读者与同仁批评指正。

辛秀兰

2006年4月

# 目 录

项目一 天然生物材料的提取制药 .....	1	一、任务目标 .....	15
【项目介绍】 .....	1	二、必备基础 .....	15
【相关知识】 .....	2	1. 酶类药物的分类 .....	15
一、生化药物的分类 .....	2	2. 药用酶的制备方法 .....	17
二、生化药物的一般工艺 .....	2	3. 药用酶的常用提取纯化方法 .....	17
三、生化药物在医药工业中的地位 .....	3	三、任务实施 .....	18
【项目思考】 .....	4	任务五 甘露醇的制备 .....	20
【项目实施】 .....	4	一、任务目标 .....	20
任务一 L-胱氨酸的制备 .....	4	二、必备基础 .....	20
一、任务目标 .....	4	1. 多糖的来源 .....	21
二、必备基础 .....	4	2. 糖类药物的生理活性 .....	21
1. 氨基酸类药物的常用生产方法 .....	4	3. 多糖的提取纯化方法 .....	23
2. 氨基酸类药物的常用分离纯化技术 .....	5	三、任务实施 .....	24
三、任务实施 .....	6	任务六 卵磷脂的制备 .....	25
任务二 胰凝乳蛋白酶的制备 .....	8	一、任务目标 .....	25
一、任务目标 .....	8	二、必备基础 .....	25
二、必备基础 .....	8	1. 脂类药物的分类 .....	25
1. 材料的预处理 .....	8	2. 脂类药物的常用生产方法 .....	26
2. 多肽和蛋白质类药物的提取 .....	9	三、任务实施 .....	27
3. 多肽和蛋白质类药物的纯化 .....	10	参考文献 .....	28
三、任务实施 .....	10	项目二 发酵工程制药 .....	29
任务三 核苷酸的制备 .....	11	【项目介绍】 .....	29
一、任务目标 .....	11	【相关知识】 .....	29
二、必备基础 .....	11	一、发酵工程制药的研究范畴 .....	29
1. DNA 的提取与纯化技术 .....	12	二、发酵工程制药的工艺特点与要求 .....	30
2. DNA 的含量测定 .....	12	三、发酵工程制药与化学制药的比较 .....	31
3. RNA 的生产技术 .....	13	四、发酵工程药物研究开发的一般程序 .....	32
三、任务实施 .....	13		
任务四 溶菌酶的制备 .....	15		



【项目思考】 .....	33	任务五 维生素 C 的发酵生产 .....	58
【项目实施】 .....	33	一、任务目标 .....	58
任务一 青霉素的发酵生产 .....	33	二、必备基础 .....	58
一、任务目标 .....	33	1. 维生素 C 的基本知识 .....	58
二、必备基础 .....	33	2. 维生素 C 的功效 .....	58
1. $\beta$ -内酰胺类抗生素的发展背景 .....	33	3. 超滤技术 .....	59
2. $\beta$ -内酰胺类抗生素的分类和命名 .....	33	三、任务实施 .....	61
3. $\beta$ -内酰胺类抗生素的性质 .....	34	任务六 谷氨酸的发酵生产 .....	63
4. 萃取与结晶实验技术 .....	34	一、任务目标 .....	63
三、任务实施 .....	37	二、必备基础 .....	63
任务二 红霉素的发酵生产 .....	41	1. 氨基酸的结构、性质及应用 .....	63
一、任务目标 .....	41	2. 氨基酸在食物营养等方面的作用 .....	64
二、必备基础 .....	41	3. 等电点沉淀法 .....	64
1. 大环内酯类抗生素的结构、分类及药理作用 .....	41	三、任务实施 .....	65
2. 离子交换法和大孔树脂吸附法 .....	42	参考文献 .....	66
三、任务实施 .....	44	项目三 细胞工程制药 .....	67
任务三 金霉素的发酵生产 .....	47	【项目介绍】 .....	67
一、任务目标 .....	47	【相关知识】 .....	68
二、必备基础 .....	48	一、动物细胞工程 .....	68
1. 四环素类抗生素的活性 .....	48	二、植物细胞工程 .....	71
2. 四环素类抗生素的结构特点 .....	48	【项目思考】 .....	72
3. 发酵液的预处理 .....	48	【项目实施】 .....	72
4. 沉淀提取法 .....	49	任务一 骨髓瘤细胞 SP2/0 的传代培养 .....	72
5. 溶剂萃取法 .....	49	一、任务目标 .....	72
6. 减少差向异构物的方法 .....	49	二、必备基础 .....	72
三、任务实施 .....	50	1. 动物细胞培养技术的重要性 .....	72
任务四 链霉素的发酵生产 .....	52	2. 动物细胞的培养条件及营养需求 .....	72
一、任务目标 .....	52	3. 动物细胞传代培养前的准备 .....	74
二、必备基础 .....	52	4. 动物细胞传代培养的方法 .....	75
1. 氨基糖苷类抗生素的发展背景 .....	52	三、任务实施 .....	75
2. 氨基糖苷类抗生素的药理活性及性质 .....	52	任务二 SP2/0 细胞传代培养的常规检测 .....	76
3. 氨基糖苷类抗生素的分类 .....	53	一、任务目标 .....	76
4. 活性炭吸附技术 .....	53	二、必备基础 .....	77
5. 沉淀技术 .....	53	1. 细胞培养检测的常规项目 .....	77
6. 干燥技术 .....	54	2. 微生物污染的检测方法 .....	77
三、任务实施 .....	55	3. 预防污染 .....	79
		三、任务实施 .....	79

任务三 抗人血蛋白杂交瘤细胞系的建立 .....	80	一、酶的基本知识 .....	96
一、任务目标 .....	80	二、酶工程的基本知识 .....	98
二、必备基础 .....	80	三、药用酶的生产方法 .....	98
1. 动物细胞融合的概念 .....	80	<b>【项目思考】</b> .....	100
2. 细胞融合技术的发展历史 .....	80	<b>【项目实施】</b> .....	100
3. 杂交瘤技术制备单克隆抗体的原理 .....	81	任务一 胃蛋白酶的制备及酶活力测定 .....	100
4. 杂交瘤技术制备单克隆抗体的主要过程 .....	81	一、任务目标 .....	100
三、任务实施 .....	82	二、必备基础 .....	100
任务四 杂交瘤阳性克隆子的保藏 .....	84	1. 胃蛋白酶的组成、性质与保存 .....	100
一、任务目标 .....	84	2. 酶活力测定方法 .....	101
二、必备基础 .....	84	三、任务实施 .....	101
1. 动物细胞的冻存 .....	84	任务二 门冬酰胺酶的制备及酶活力测定 .....	102
2. 细胞的复苏 .....	84	一、任务目标 .....	102
3. 细胞活性检查 .....	85	二、必备基础 .....	103
4. 细胞计数 .....	85	1. 门冬酰胺酶的性质与用途 .....	103
三、任务实施 .....	85	2. 酶的微生物发酵生产 .....	103
任务五 杂交瘤阳性克隆子的微载体培养 .....	86	三、任务实施 .....	105
一、任务目标 .....	86	任务三 糖化酶的制备及酶活力测定 .....	106
二、必备基础 .....	86	一、任务目标 .....	106
1. 动物细胞大规模培养技术 .....	86	二、必备基础 .....	106
2. 动物细胞大规模培养的方法 .....	86	1. 糖化酶的特性 .....	106
3. 动物细胞生物反应器 .....	88	2. 糖化酶的产品规格 .....	106
4. 动物细胞培养的操作方式 .....	88	3. 糖化酶的使用方法和参考用量 .....	106
5. 动物细胞大规模培养的应用 .....	88	4. 使用糖化酶的优点 .....	107
三、任务实施 .....	88	5. 糖化酶使用注意事项 .....	107
任务六 西洋参植物细胞的培养 .....	90	6. 糖化酶的运输与贮存 .....	107
一、任务目标 .....	90	三、任务实施 .....	107
二、必备基础 .....	90	任务四 糖化酶的固定化 .....	109
1. 植物细胞培养技术的重要性 .....	90	一、任务目标 .....	109
2. 植物细胞培养条件及营养需求 .....	90	二、必备基础 .....	109
3. 植物细胞培养前准备 .....	91	1. 固定化酶的概念 .....	109
4. 植物细胞培养技术 .....	91	2. 固定化酶的实验技术 .....	110
三、任务实施 .....	92	3. 固定化酶的应用 .....	114
参考文献 .....	94	4. 固定化酶的研究前景 .....	115
项目四 酶工程制药 .....	95	三、任务实施 .....	115
<b>【项目介绍】</b> .....	95	任务五 中性蛋白酶的固定化 .....	117
<b>【相关知识】</b> .....	96	一、任务目标 .....	117

二、必备基础	117	调控及检测	142
1. 蛋白酶的基础知识	117	三、任务实施	143
2. 中性蛋白酶的基础知识	117	任务二 $\gamma$ 干扰素的制备	150
3. 蛋白酶固定化常用的材料——海藻酸钠	118	一、任务目标	150
三、任务实施	120	二、必备基础	150
任务六 胰蛋白酶亲和色谱	122	1. 干扰素的基本知识	150
一、任务目标	122	2. 真核细胞中目标基因的提取	150
二、必备基础	122	3. RT-PCR 技术	150
1. 亲和色谱技术	122	4. T 质粒载体	151
2. 其他分离技术	123	三、任务实施	152
三、任务实施	127	任务三 重组人血管内皮生长因子的制备	165
参考文献	128	一、任务目标	157
<b>项目五 基因工程制药</b>	130	二、必备基础	157
【项目介绍】	130	1. 生长因子的基本知识	157
【相关知识】	130	2. 毕赤酵母表达系统	157
一、基因工程技术的优势	130	三、任务实施	158
二、基因工程制药的发展史	131	任务四 胰岛素的制备	160
三、基因工程制药的特点	133	一、任务目标	160
四、基因工程药物的种类	133	二、必备基础	160
五、基因工程技术中的基本概念	134	胰岛素的基本知识	160
六、基因工程药物生产的基本过程	136	三、任务实施	161
七、基因工程制药实用技术	137	任务五 人血白蛋白的制备	162
【项目思考】	139	一、任务目标	162
【项目实施】	140	二、必备基础	162
任务一 葡激酶的制备	140	三、任务实施	162
一、任务目标	140	任务六 卡介苗重组疫苗的准备	163
二、必备基础	140	一、任务目标	163
1. 葡激酶的基本知识	140	二、必备基础	163
2. 目的基因的获得	140	1. 病毒载体的基本知识	163
3. 重组体的构成、导入和筛选	141	2. 疫苗的基本知识	163
4. DNA 重组体转入宿主菌	142	3. 重组卡介苗的基本知识	164
5. 重组子的筛选与鉴定	142	三、任务实施	165
6. 重组体在宿主细胞中的表达、		参考文献	166

# 项目一 天然生物材料的提取制药

## 【项目介绍】

### 1. 项目背景

天然生物材料的提取制药是指直接从生物材料中使用分离纯化技术制备药物。现代生物药物最初来源于植物、动物、微生物，而且以提取分离为先导。由于合成工艺、技术等限制，仍然有些氨基酸、维生素、核苷酸、酶、多糖等药物不能合成生产，必须直接从天然材料中提取，还有一些手性药物和半合成药物的中间原料也必须从天然材料中直接提取。

以氨基酸类药物为例，目前，国内市场上有丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、组氨酸、门冬氨酸钙等产品，生产厂家有宜昌三峡制药有限公司、天津天安药业股份有限公司等。

本项目以企业的生产实例为线索，设计了六个教学任务，学生主要学习从天然生物材料中提取氨基酸、蛋白质、核酸、多糖、酶类、脂类等六类生化药物的关键技术和相关知识。

### 2. 项目目标

- ① 熟悉生化药物的分类原则和种类。
- ② 熟悉常用生化药物的提取分离工序。
- ③ 掌握常用氨基酸类药物的生产方法。
- ④ 掌握常用蛋白质类药物的生产方法。
- ⑤ 掌握常用核酸类药物的生产方法。
- ⑥ 掌握常用糖类药物的生产方法。
- ⑦ 掌握常用维生素类药物的生产方法。
- ⑧ 掌握常用脂类药物的生产方法。

### 3. 项目主要内容

本项目主要完成从天然生物材料中提取氨基酸、蛋白质、核酸等活性成分，项目的主要学习内容见图 1-1。

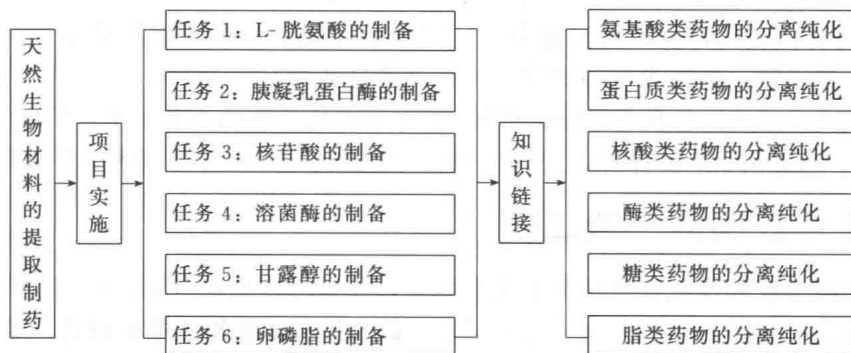


图 1-1 项目一主要学习内容

## 【相关知识】

生化药物 (biochemical drug) 是从生物体分离纯化, 用化学合成、微生物合成或现代生物技术制得的用于预防、治疗和诊断疾病的一类生化物质, 主要是氨基酸、多肽、蛋白质、酶及辅酶、多糖、脂类、维生素、激素、核酸及其降解产物等。这类物质是维持正常生理活动、治疗疾病、保持健康必需的生化成分。

生化药物最大的特点, 一是来自于生物体, 即来自于动物、植物和微生物; 二是其属于生物体中的基本生化成分。因此, 在医疗应用中显示出高效、低毒、量小的临床效果。随着人们对纯天然物质的青睐, 生化药物将受到极大的重视。

人们把用传统方法从生物体制备的内源性生理活性物质习惯称为“生化药品”, 而把利用生物技术制备的一些内源性物质, 包括疫苗、单克隆抗体等, 统称为生物技术药物。生物技术药物是在生化制药基础上利用现代生物技术发展起来的。传统生化制药的内容是现代生物制药的基础, 了解传统生化制药工艺对学习掌握现代生物制药技术十分必要。

生化药物的生产, 传统上主要是从动植物器官、组织、细胞、血浆中分离纯化制得, 但不包括从植物中提取、纯化所得的一些物质 (如生物碱、有机酸等)。从中药中提取的生物活性物质, 习惯上仍属于中药的范围。

### 一、生化药物的分类

生化药物主要按其化学本质和化学特性进行分类。该分类方法有利于比较同一类药物的结构与功能的关系、分离制备方法的特点和检验方法的统一, 因此一般按此法分类。

① 氨基酸及其衍生物类药物。这类药物包括天然的氨基酸和氨基酸混合物以及氨基酸的衍生物, 如 *N*-乙酰半胱氨酸、*L*-二羟基苯丙氨酸等。

② 多肽和蛋白质类药物。多肽和蛋白质是化学本质相同、性质相似, 只是分子量相对不同, 而导致其生物学性质上有较大差异的一类生化物质, 如分子量大小不同的物质其免疫学性质就大不一样。蛋白质类药物如血清白蛋白、丙种球蛋白、胰岛素等; 多肽类药物如催产素、降解素、胰高血糖素等。

③ 酶类药物。酶类药物可按功能分为消化酶类、消炎酶类、心脑血管疾病治疗酶类、抗肿瘤酶类、氧化还原酶类等。

④ 核酸及其降解产物和衍生物。这类药物有核酸 (DNA、RNA)、多聚核苷酸、单核苷酸、核苷、碱基及其衍生物, 如 5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤等。

⑤ 糖类药物。糖类药物以黏多糖为主。多糖类药物是由糖苷键将单糖连接而成, 但由于糖苷键的位置不同, 因而多糖种类繁多、药理活性各异。

⑥ 脂类药物。此类药物具有相似的性质, 能溶于有机溶剂而不溶于水, 其化学结构差异较大、功能各异。这类药物主要有脂肪、脂肪酸类、磷脂类、胆酸类、固醇类、卟啉类等。

### 二、生化药物的一般工艺

生物药物的提取和纯化可分为五个主要步骤: 预处理、固液分离、浓缩、纯化和产品定型 (干燥、制丸、挤压、造粒、制片等), 每一步骤都可采用各种单元操作。在提取纯化过程中, 要尽可能减少操作步骤, 因为每一操作步骤都不可避免地带来损失, 操作步骤多, 总收率会下降。生物药物提取工艺流程的基本模式如图 1-2 所示。

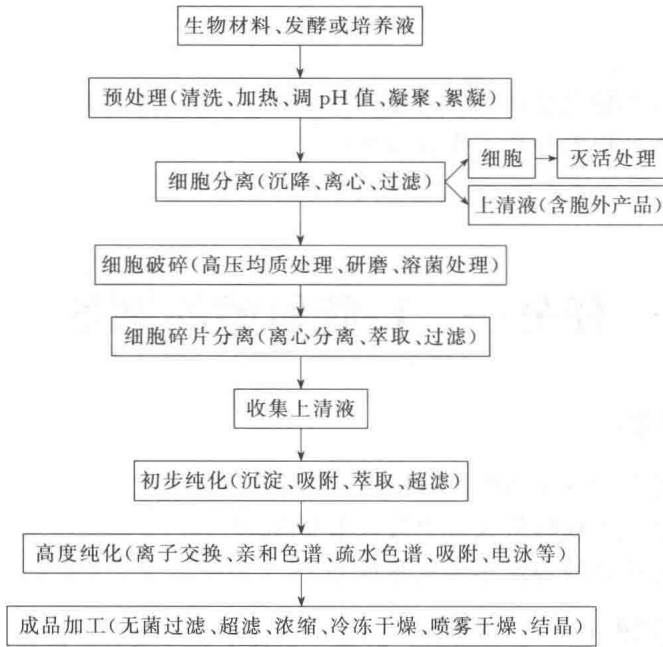


图 1-2 生物药物提取工艺流程的基本模式

### 三、生化药物在医药工业中的地位

① 生产迅速增长。生化制药经历了从粗加工到精加工，从加工原料到制剂生产的过程。在生产管理、质量监督、科学技术、人才培养等方面形成相对独立的体系，已成为我国的一大制药行业。

② 生产技术不断提高。我国的生化制药企业大都起步较晚、基础较差。近年来，生化制药企业在技术改造方面加强了力度、改造了车间、更新了设备。生化药物生产技术迈上了新台阶，为进一步发展打下了较好的基础。

③ 产品结构逐步优化，质量不断提高。近十年来，我国加强了科研工作，成功地开发出了一批新的生化药物，使生化药物结构发生了质的变化。同时，对于一批疗效确切但质量标准低的产品，通过整顿，提高了质量标准和临床疗效，增强了竞争能力。例如尿激酶，由于提高了质量，不仅不由国外大量进口，已向国外出口；降纤酶的质量标准也达到国际先进水平；人工牛黄制定了新的标准，更为接近天然牛黄的成分，疗效有了提高。总之，生化药物的结构与质量标准已开始向国际化发展，不断提高竞争能力，创造更大的经济效益和社会效益。

④ 产业结构改变，规模经济占主导地位。随着经济改革的深化、市场经济的建立、生化制药产业结构的不断变化，原来的附属厂已有相当一部分独立出来，得到较快的发展，同时出现了一批合资生化制药企业。20 世纪 80 年代只有少数几家产值较高的企业，而现在 30% 以上的企业产值较高。这 30% 的企业产值占全行业总产值的 50% 以上，充分发挥了规模经济的优势，占了主导地位。规模效益是生化制药今后发展的方向。

生化制药是医药产业的重要组成部分，与其他医药产业同样担负着保护人类健康、保护生产力的责任，需要更好、更快地发展。面向 21 世纪，对生化制药产业来说，面临着很好的发展机遇。生化药物在儿童发育和老年人的保健中将发挥重要的作用，在国内、国际市场上都有广阔的前景，一定会有更大的发展。

## 【项目思考】

- ① 生化药物的分类原则是什么？有哪些种类？
- ② 常用生化药物的提取分离工序有哪些？

## 【项目实施】

# 任务一 L-胱氨酸的制备

## 一、任务目标

- ① 熟悉氨基酸类药物的常用生产方法。
- ② 学会按照标准操作规程从人发中提取 L-胱氨酸。
- ③ 了解氨基酸类药物的药理作用及鉴定方法。

## 二、必备基础

### 1. 氨基酸类药物的常用生产方法

氨基酸是蛋白质的基本组成单位。作为生物大分子的各种蛋白质，在生命活动中表现出各种各样的生理功能，主要取决于蛋白质分子中氨基酸的组成、排列顺序以及形成的特定三维空间结构。蛋白质和氨基酸之间不断地分解与合成，在机体内形成一个动态平衡体系。任何一种氨基酸的缺乏或代谢失调，都会破坏这种平衡，导致机体代谢紊乱乃至疾病。因此，氨基酸类药物越来越受到重视。

生产氨基酸的常用方法有蛋白质水解提取法、微生物发酵法、酶合成法和化学合成法，通常将直接发酵法和微生物转化法统称为发酵法。现在除少数几种氨基酸用蛋白质水解提取法生产外，多数氨基酸都采用发酵法生产，也有几种氨基酸采用酶法和化学合成法生产。

① 蛋白质水解提取法。以毛发、血粉、废蚕丝等为原料，通过酸、碱或蛋白质水解酶水解成氨基酸混合物，经分离纯化获得各种氨基酸。水解法生产氨基酸主要分为分离、精制、结晶三个步骤。

本法的优点是原料来源丰富、投产比较容易；缺点是产量低、成本较高。目前仍有一定数量的品种（如胱氨酸、亮氨酸、酪氨酸等）用水解提取法生产。

② 酸水解法。一般是在蛋白质原料中加入约 4 倍重量的 6mol/L 盐酸或 8mol/L 硫酸，于 110℃ 加热回流 16~24h，或加压下于 120℃ 水解 12h，使氨基酸充分析出，除酸即得氨基酸混合物。本法的优点是水解完全、水解过程不引起氨基酸发生旋光异构作用，所得氨基酸均为 L 型氨基酸。缺点是营养价值较高的色氨酸几乎全部被破坏；含羟基的丝氨酸和酪氨酸部分被破坏，水解产物可与醛基化合物作用生成一类黑色物质而使水解液呈黑色，需进行脱色处理。

③ 碱水解法。通常是在蛋白质原料中加入 6mol/L 氢氧化钠或 4mol/L 氢氧化钡，于 100℃ 水解 6h，得氨基酸混合物。

④ 酶水解法。通常是利用胰酶、胰浆或微生物蛋白酶等，在常温下水解蛋白质制备氨基酸。本法的优点是反应条件温和、氨基酸不被破坏也不发生消旋作用、所需设备简单、无环境污染；缺点是蛋白质水解不彻底、中间产物较多、水解时间长，故主要用于生产水解蛋白和蛋白胨，在氨基酸生产上比较少用。

⑤ 微生物发酵法。发酵法是指以糖为碳源、以氨或尿素等为氮源，通过微生物的发酵繁殖，直接生产氨基酸，或是利用菌体的酶系，加入前体物质合成特定氨基酸的方法。其基本过程包括菌种的培养、接种发酵、产品提取及分离纯化等。所用菌种主要为细菌、酵母菌。随着生物工程技术的不断发展，采用细胞融合技术及基因重组技术改造微生物细胞，已获得多种高产氨基酸杂种菌株及基因工程菌，其中苏氨酸和色氨酸基因工程菌已投入工业生产。有目的地培养产率高的新菌种是发酵法生产氨基酸的关键。目前大部分氨基酸可通过发酵法生产，如谷氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、酪氨酸等，产量和品种逐年增加。

本法的优点是直接生产 L 型氨基酸、原料丰富、以廉价碳源如甜菜或化工原料（乙酸、甲醇、石蜡）代替葡萄糖，成本大为降低；缺点是产物浓度低、生产周期长、设备投资大、有副反应、单晶体氨基酸的分离比较复杂。

⑥ 化学合成法。化学合成法是利用有机合成和化学工程相结合的技术生产氨基酸的方法。通常是以  $\alpha$ -卤代羧酸、醛类、甘氨酸衍生物、异氰酸盐、乙酰氨基丙二酸二乙酯、卤代烃、 $\alpha$ -酮酸及某些氨基酸为原料，经氨解、水解、缩合、取代、加氢等化学反应合成  $\alpha$ -氨基酸。化学合成法是制备氨基酸的重要途径之一，但氨基酸种类较多、结构各异，故不同氨基酸的合成方法也不同。

本法的优点是可采用多种原料和多种工艺路线，特别是以石油化工产品为原料时，成本较低，生产规模大，适合工业化生产，产品易分离纯化；缺点是生产工艺复杂，生产的氨基酸皆为 DL 型消旋体，需经拆分才能得到 L 型氨基酸。目前多用固定化酶拆分 DL 型氨基酸，具有收率高、成本低、周期短的优点，促进了化学合成法的发展。蛋氨酸、甘氨酸、色氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、脯氨酸等采用化学合成法生产。

⑦ 酶合成法。酶合成法也称酶工程技术、酶转化法，是指在特定酶的作用下使某些化合物转化成相应氨基酸的技术。它是在化学合成法和发酵法的基础上发展建立的一种新的生产工艺。其基本过程是以化学合成的、生物合成的或天然存在的氨基酸前体为原料，将含特定酶的微生物、植物或动物细胞进行固定化处理，通过酶促反应制备氨基酸。固定化酶和固定化细胞等技术的迅速发展，促进了酶合成法在实际生产中的应用。

本法的优点是产物浓度高、副产物少、成本低、周期短、收率高、固定化酶或细胞可连续反复使用、节省能源。生产的品种有天冬氨酸、丙氨酸、苏氨酸、赖氨酸、色氨酸、异亮氨酸等。

## 2. 氨基酸类药物的常用分离纯化技术

氨基酸的分离是指从氨基酸混合液中获得某种单一氨基酸产品的工艺过程，是氨基酸生产技术中重要的环节。氨基酸的分离技术较多，下面介绍几种常用的方法。

① 溶解度法或等电点法。溶解度法是根据不同氨基酸在水和乙醇等溶剂中的溶解度不同，而将氨基酸彼此分离的方法。如胱氨酸和酪氨酸均难溶于水，但在热水中酪氨酸溶解度较大，而胱氨酸则无多大差别，故可将混合物中的胱氨酸、酪氨酸与其他氨基酸彼此分开。

氨基酸在不同溶剂中溶解度不同这一特性，不仅用于氨基酸的一般分离纯化，还可用于氨基酸的结晶。在水中溶解度大的氨基酸，如精氨酸、赖氨酸，其结晶不能用水洗涤，但可用乙醇洗涤去杂质；而在水中溶解度较小的氨基酸，其结晶可水洗去杂质。

各种氨基酸在等电点时溶解度最小、易沉淀析出，故利用溶解度法分离制备氨基酸时，常与氨基酸等电点沉淀法结合并用。

② 特殊沉淀剂法。氨基酸可以和一些有机化合物或无机化合物生成具有特殊性质的结晶性衍生物，利用这一性质可分离纯化某些氨基酸。如精氨酸与苯甲醛生成不溶于水的苯亚甲基精氨酸沉淀，经盐酸水解除去苯甲醛，即可得纯净的精氨酸盐酸盐；亮氨酸与邻二甲



苯-4-磺酸反应,生成亮氨酸磺酸盐沉淀,后者与氨水反应,得游离亮氨酸;组氨酸与氯化汞作用生成组氨酸汞盐沉淀,经处理得组氨酸。

本法操作简便、针对性强,至今仍是分离制备某些氨基酸的方法;缺点是沉淀剂比较难以去除。

③ 离子交换法。离子交换法是利用离子交换剂根据不同氨基酸吸附能力不同而分离纯化氨基酸的方法。氨基酸为两性电解质,在一定条件下,不同氨基酸的带电性质及解离状态不同,对同一种离子交换剂的吸附力也不同,故可对氨基酸混合物进行分组或单一成分的分离。例如,在 pH 5~6 的溶液中,碱性氨基酸带正电,酸性氨基酸带负电,中性氨基酸呈电中性,选择适宜的离子交换树脂可选择性吸附不同解离状态的氨基酸,然后用不同 pH 缓冲液洗脱,可把各种氨基酸分别洗脱下来。

④ 氨基酸的结晶与干燥。结晶是溶质以晶体状态从溶液中析出的过程。通过上述方法分离纯化后的氨基酸仍混有少量其他氨基酸和杂质,需通过洁净结晶或重结晶提高其纯度,即利用氨基酸在不同溶剂、不同 pH 介质中溶解度的不同,达到进一步纯化。氨基酸结晶通常要求样品达到一定的纯度、较高的浓度, pH 选择在 pI 附近,在低温条件下使其结晶析出。氨基酸结晶通过干燥进一步除去水分或溶剂获得干燥制品,便于使用和保存。常用的干燥方法有常压干燥、减压干燥、喷雾干燥、冷冻干燥等。

### 三、任务实施

#### (一) 实施原理

蛋白质是由各种氨基酸组成的,在一定条件下水解蛋白质可得到各种氨基酸的混合液。水解蛋白质的方法有酸解、碱解和酶解。根据不同的目的从蛋白质水解液中分离个别氨基酸通常可以采用柱色谱、等电点沉淀法、薄层色谱及电泳等方法,而分离胱氨酸多用等电点沉淀法。用酸水解的方法得到人发的水解液,然后用碱调 pH 到胱氨酸的等电点 pI 为 5.05 左右,胱氨酸便从蛋白质水解液中沉淀出来,粗品经过精制可得到胱氨酸结晶。

为了制备某种氨基酸,最好选择含此种氨基酸较丰富的蛋白质为原料。例如胱氨酸在角蛋白中含量较高,人发中约含 12%,羊毛中含量为 14.3%,因此常以毛发为原料制备胱氨酸。

胱氨酸是一种含硫氨基酸,为白色、六角形板状结晶或结晶粉末,无味,易溶于稀酸和碱性溶液,几乎不溶于水和醇。

胱氨酸是一种生化试剂,也可作为一种药物。主要用于各种脱发症,也用于痢疾、伤寒、流感、气喘、神经痛、湿疹以及各种中毒病患者等,因此有一定的使用价值。

#### (二) 实施条件

##### 1. 实验器材

500mL 短颈圆底烧瓶、沸石、冷凝管、石棉网、电炉、玻璃漏斗、胶头滴管、玻璃棒、抽滤瓶及布氏漏斗、恒温水浴锅、水泵(或真空泵)、表面皿、烧杯、毛细管、层析缸、滤纸、烘箱。

##### 2. 材料和试剂

无染发人发、碱面或中性洗衣粉。

10mol/L HCl 溶液、4% HCl 溶液、6% HCl 溶液、10% NaOH 溶液、25% NaOH 溶液、10% 氨水、2% CuSO<sub>4</sub> 溶液、活性炭粉末、0.1% EDTA、75% 乙醇、苯酚、5% 茚三酮-丙酮溶液、胱氨酸标准品。