

医药技术新进展

YI YAO JI SHU XIN JIN ZHAN

巴雅尔 主编



中国医药科技出版社

登记证号: (京)075 号

内 容 提 要

本书分六章着重介绍了抗生素、医药生物技术、化学合成药、药物制剂和剂型研究、药物仪器分析和新药研究与管理等方面发展的新趋势、新品种和新技术。

图书在版编目 (CIP) 数据

医药技术新进展/巴雅尔主编. —北京: 中国医药科技出版社,
1996
ISBN 7-5067-1566-X

I. 医… II. 巴… III. 药物-生产工艺-进展 IV. TQ460.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (96) 第 05862 号

中国医药科技出版社 出版
(北京西直门外北礼士路甲 38 号)
(邮政编码 100810)

煤炭工业出版社印刷厂 排版
河北省香河县印刷厂 印刷
全国各地新华书店 经销

*

开本 787×1092mm^{1/16} 印张 31^{1/2}
字数 743 千字 印数 1—1500
1997 年 8 月第 1 版 1997 年 8 月第 1 次印刷

定价: 48.00 元

本书编委会名单

主 任 邓国华

副主任 段可达 张宝瑞 宁忠义
巴雅尔

成 员 (以姓氏笔画为序)

于文洲 王 熳 辛桂玲

谷俊恒 张立德 张 华

张 浩 顾志平 杨文彬

倪广平 陈耀鸿 袁富山

编写说明

本书是根据河北省经济贸易委员会《关于开展经济、工程两个系列职称培训的意见》、国家医药管理局《关于开展医药继续教育的实施意见》编写的医药工程技术人员专业读物，供医药工程技术人员自学进修使用。

本书编写的原则是结合医药行业的实际，着重介绍国内外医药发展的新趋势、新品种、新技术和新药管理的有关知识，力求既有先进性、又具有实用性。

本书内容广泛，共分六章，读者可根据自己从事的专业选读。

本书各章节编写人员分别是：第一章第一、二节 张华（华北制药厂），由倪广平（河北省科学院）审改，第三节 于文洲（华北制药厂），第四节 袁富山（华北制药厂）；第二章 陈耀鸿（华北制药厂）；第三章 顾志平（河北省药物研究所），谷俊恒（石家庄市第一制药厂）；第四章 张立德（河北医科大学）；第五章 张浩（华北制药厂）；第六章 杨文彬（河北省药物研究所）。全书由巴雅尔（河北省医药管理局）终审定稿。王熳（河北省医药管理局）协助负责全书的编辑工作，韩志忠（河北省药物研究所）负责化学结构式排版。

医药行业是多学科高新技术密集的行业。近年来，其发展更是日新月异。由于编者知识水平有限和编写仓促，因此缺漏和错误之处在所难免，热诚欢迎读者不吝赐教。

编 者

1995年3月

目 录

第一章 抗生素	1
第一节 天然新抗生素的研究发展动态	1
一、引言	1
二、天然新抗生素的研究发展动态概述	1
三、传统抗生素的筛选研究进展	7
四、微生物产生的药理活性物质	16
五、微生物来源的农用生物活性物质	26
第二节 常用天然抗生素	31
一、天然 β -内酰胺抗生素	32
二、天然氨基糖甙类抗生素	37
三、天然四环类抗生素	41
四、天然大环内酯类抗生素	42
五、多肽类抗生素	47
六、多烯类抗真菌抗生素	53
七、抗肿瘤抗生素	56
第三节 半合成 β -内酰胺抗生素研究进展	61
一、半合成头孢烯类抗生素	62
二、氧头孢烯类和碳头孢烯类抗生素	101
三、半合成青霉烷类和氧青霉烷类抗生素	103
四、青霉烯类、碳青霉烯类抗生素	118
五、单环 β -内酰胺类抗生素	127
第四节 非 β -内酰胺半合成抗生素	131
一、氨基糖甙类半合成抗生素	132
二、四环类抗生素的结构改造	142
三、大环内酯类半合成抗生素	148
四、利福霉素类半合成抗生素	153
五、林可霉素类半合成抗生素	163
六、半合成抗癌抗生素	168
第二章 医药工业生物技术	182
第一节 基因工程	182
一、基本原理	182
二、研究方法	182
第二节 细胞工程	187
一、基本原理	187

二、研究方法	187
第三节 酶工程	191
一、基本原理	191
二、研究方法	193
第四节 发酵工程	202
一、基本原理	202
二、研究方法	203
第五节 生物技术在医药工业上的应用	205
一、基因工程	205
二、细胞工程	206
三、酶工程	206
第六节 医药生物技术发展概况	207
一、概论	207
二、生物技术发展的不同阶段	208
三、生物技术产品的销售市场	208
四、医药生物技术产品分类	208
五、美、日、西欧、前苏联等国医药生物技术开发情况	210
六、国内医药生物技术产品开发概况	212
七、若干医药生物技术产品制造的工艺路线	214
第七节 医药生物技术品种发展近况	215
一、医药生物技术产品品种	216
二、已上市的医药生物技术产品	227
三、开发中的医药生物技术产品	229
四、总结	235
第三章 化学合成药物	238
第一节 抗感染药物	238
一、喹诺酮类	238
二、磺胺类药物	243
第二节 维生素类药	246
一、概述	246
二、生产临床品种	247
三、临床评价及其发展前景	252
四、合成工艺路线	253
第三节 解热镇痛类药物	256
一、概述	256
二、生产临床品种	256
三、临床评价及发展前景	264
四、合成工艺路线	264
第四节 心血管药物	267

一、概述	267
二、生产临床品种	267
三、临床评价及发展前景	290
四、合成工艺路线	291
第五节 消化系统药物	300
一、概述	300
二、生产临床品种	300
三、临床评价及发展前景	311
四、合成工艺路线	312
第六节 抗肿瘤药物	314
一、概述	314
二、生产临床品种	314
三、临床评价及发展前景	325
四、合成工艺路线	325
第七节 神经系统药物	329
一、概述	329
二、合成工艺路线	332
第八节 其它类药物	333
一、呼吸系统用药	333
二、计划生育用药	334
三、激素类药物	334
四、抗病毒及肝炎治疗药物	334
第四章 药物制剂和剂型研究	336
第一节 制剂技术的最新进展	336
一、实用化的新技术及新的药物治疗系统	337
二、正在开发中部分实用化的新技术及新的治疗系统	341
三、正在开发中的第四代制剂技术——靶向给药系统	348
四、其它提高生物利用度的新技术	349
五、中药制剂的新进展	351
第二节 制剂设计与选择剂型的条件	353
一、制剂是一门综合性科学	353
二、决定制剂剂型的因素	353
第三节 药物作用部位与剂型	358
一、口服剂型	359
二、注射剂	361
三、经皮、插入、埋入等的 DDS 类制剂	363
第四节 药效持续时间与剂型	363
一、药理效应指标	364
二、起效与持续时间	364

三、剂型及药效持续时间的控制方法·····	366
四、制剂的评价·····	367
第五节 药物稳定性与剂型·····	368
一、流通过程中的稳定性·····	369
二、流通过程以后的稳定性·····	371
第六节 药物副作用与剂型·····	373
一、给药形式与产生副作用的差别·····	373
二、口服制剂的持续性与产生副作用的差别·····	374
三、制剂添加剂与产生副作用的关系·····	375
四、关于注射剂的问题·····	375
五、医疗实践中的问题·····	376
第七节 药物使用性与剂型·····	376
一、有关医务人员及病人的使用性·····	377
二、剂型与使用性·····	377
三、通过 DDS 提高药物使用性 ·····	379
四、制剂的物性及性状与使用性·····	380
五、包装和容器与使用性·····	381
六、提高使用性与医院药师·····	382
第八节 制剂开发举例·····	382
一、一种新的口服缓释药物传递系统——干吸收乳·····	382
二、长效头孢氯氨苄制剂·····	383
三、舌下给药用睾丸素-环糊精复合物 ·····	384
四、前体药物——乙酰水杨酸盐制备·····	384
第五章 药物仪器分析·····	386
第一节 药物分析所用的主要仪器分析方法及仪器分析室的基本要求·····	386
一、仪器室的环境·····	387
二、仪器的安置·····	387
三、仪器档案·····	387
第二节 紫外可见分光光度计·····	388
一、仪器的特点·····	388
二、测定原理·····	388
三、药物分析对仪器的基本要求·····	389
四、仪器需要定期检查的项目·····	392
五、可选购的附件·····	392
六、各种分光光度计·····	392
第三节 红外分光光度计·····	397
一、测定原理·····	397
二、红外光谱图的解析·····	399
三、红外分光光度计·····	401

四、红外光谱法在药物分析中的应用	404
第四节 高效液相色谱仪	405
一、仪器的用途	405
二、色谱法的原理与分类	405
三、色谱法的重要参数与公式	405
四、仪器的结构与组成	409
五、中国药典对高效液相色谱法的一般要求	427
六、应用举例——哌拉西林含量测定（1990年版中国药典法）	427
第五节 气相色谱仪	429
一、流动相系统	429
二、固定相系统	429
三、检测器系统	431
四、定性定量方法	433
五、毛细管色谱柱	436
六、气相与质谱或红外的联用仪	436
第六节 核磁共振碳谱	438
一、仪器与原理	439
二、化学位移	439
三、碳谱的标识技术	440
四、应用举例	440
第七节 质谱仪及应用	442
一、原理	442
二、仪器	443
三、应用举例	447
第八节 粉末 X 光衍射仪及应用	448
一、原理	448
二、仪器	448
三、应用举例	448
第九节 其它几种常用的分析仪器	451
一、电子天平	451
二、溶出度仪	454
三、微粒测定仪	454
四、自动旋光仪	457
第六章 新药研究和新药管理	461
第一节 新药研究	461
一、国外新药研究简介	461
二、我国新药研究概况	468
第二节 新药管理	489
一、新药审批管理的内容	490

二、新药审批与临床药理·····	491
三、新药审批的技术审查与咨询机构·····	491
四、国外药品在中国注册、进口及临床试验的有关规定·····	491
五、新药保护及技术转让·····	492

第一章 抗 生 素

第一节 天然新抗生素的研究发展动态

一、引言

1929 年青霉素的发现开辟了抗生素化疗的新时代,使许多感染性疾病得到了有效的控制。纵观整个抗生素的发展史及其所取得的辉煌成就,抗生素的研究、生产大体上可分为三个发展阶段。第一个阶段是 60 年代以前的 20 年左右的时期,这一时期是抗生素发展的黄金时代,在这期间找到了许多有重要临床价值的天然抗生素。第二个阶段是从 60 年代初开始的半合成抗生素阶段,这一时期以生物合成和化学半合成的方法制备了一系列药代动力学更佳、疗效更高的抗生素衍生物。特别是具有高效、低毒、广谱、抗耐药菌等特点的半合成青霉素和头孢菌素得到了迅速发展。进入 80 年代后又出现了抗生素发展的第三个高峰,这一时期发现的新抗生素的特点是酶抑制剂、免疫调节剂、杀虫剂等药理活性物质占有相当大的比例。目前,在新抗生素的研究领域中,除继续保留一部分力量进行传统的抗细菌、抗真菌等抗生素的研究外,已将大部分的注意力和研究力量投入到各种药理活性物质的筛选中。可以预见,今后抗生素的研究发展,将以药理活性物质为主导,推出各种前所未有的新的天然抗生素,以解决人类生存和发展中所遇到的医疗、保健、工农业生产和环境保护等一系列重大而迫切的问题。

二、天然新抗生素的研究发展动态概述

微生物生长繁殖过程中产生的代谢产物种类繁多、结构各异,是寻找新抗生素的重要天然宝库。自青霉素发现之后,人们不断地从微生物的代谢产物中筛选到有价值的抗生素,为人类感染疾病的治疗做出了极大的贡献。随着抗生素数量的增加,随机筛选抗生素的重复机率高,鉴别工作量大,使得人们一度对从微生物代谢产物中寻找新抗生素的信心有所下降。近年来,随着生物学各相关学科的发展,通过生物技术的应用,建立了许多各具特色的筛选方法,使得新发现的抗生素的种类和数量不断增加,从微生物代谢物中寻找抗生素仍不失为新抗生素研究的一条重要途径。

在过去相当长的一段时期内,人们研究开发微生物代谢产物的目标主要集中在寻找抗菌和抗肿瘤抗生素上,而且受研究手段的限制,一些具有重要药理活性的代谢物未能被发现。日本学者 Umezawa 通过建立酶抑制剂的筛选方法,开创了微生物代谢产物资源利用的新时期。Brown 根据细菌对 β -内酰胺类抗生素产生耐药性的原理,建立了 β -内酰胺酶抑制剂的筛选方法,得到了克拉维酸及碳青霉烯类新型 β -内酰胺化合物;Sykes 等应用 β -内酰胺抗生素超敏感菌株,从细菌的代谢产物中筛选到了单环 β -内酰胺抗生素 monobactam。

微生物来源的各种药理活性代谢物质的研究开发表明,设计新的特异、灵敏的筛选方

法是充分利用微生物资源的关键。80 年代以来天然新抗生素的筛选研究及其所取得的进展主要表现在以下几个方面：

（一）新的微生物资源不断得到开发利用

50 年代以来，约有 60% 以上的新抗生素来源于放线菌科的链霉菌属。从 70 年代中期开始，稀有放线菌开始受到人们重视。Weinstein 等于 60 年代开始对稀有放线菌进行研究，他们选择小单孢菌属菌落为筛选对象，发现了对绿脓杆菌有效的氨基糖苷类的庆大霉素等抗生素，并建立了有效的稀有放线菌的分离方法。目前，各国学者正广泛地从陆地、腐叶、湖泊沼泽、海洋等处采集土壤样品，以扩大微生物菌种来源。另外在菌种的分离体系和鉴定方法方面也不断发展和完善，对菌种的分类鉴定已由经典的以形态和培养特征为主、生理生化特征为辅的传统方法，逐步过渡到在细胞和分子水平上的计算机辅助识别。细胞壁糖和氨基酸分析、气相色谱、红外光谱和核磁共振等技术的应用，加速了产生新抗生素的稀有放线菌的发现。

迄今，自然界被人们认识的微生物仅占 10% 左右，作为抗生素产生菌筛选研究过的微生物就更少了，因此，研究开发利用微生物资源的潜力还很大。

为了增加土壤微生物分离中某种菌的出菌率，可以采用一些特殊的步骤，包括对土样进行物理、化学处理以及在分离琼脂中添加选择剂或抑制剂，如腐殖酸、几丁质、明角质毒素或某种抗生素，使微生物在分离前处于良好发育状态而被捕获。

（二）微生物产物的应用领域不断扩大

当前，微生物的研究开发中，除继续致力于抗细菌（耐药菌及条件致病菌）、抗深部真菌、抗肿瘤、抗病毒等传统领域研究外，对抗寄生虫、除草剂、杀虫剂、免疫调节剂、酶抑制剂（包括糖尿病、抗高血压、溶血栓的特异性的酶抑制剂）等药理活性物质的筛选研究，给予了越来越高的重视，并且获得了许多有重要价值的新抗生素。如抗寄生虫药物 Avermectin 及其衍生物 Ivermectin 是一个广谱的抗线虫、抗昆虫的抗生素，是罕见的大环内酯二糖衍生物。它们的抗寄生虫活性比现今已知的任何合成的抗蠕虫剂都要高，能够干扰多种无脊椎动物的神经传导，现已成为商业化的兽医药物。另外，Avermectin 对一种由黑蝇为媒介的丝虫病有效，可干扰丝状线虫在人群中的传播。

微生物来源的多醚类抗球虫抗生素，由于结构特殊，与医用抗生素没有交叉耐药性，是公认的安全饲料添加剂，对防治鸡瘟、促进禽蛋产量有很大的作用。

Omura 发现的对单、双子叶猪耳草等有效的广谱除草剂 Phosalacine (bialaphos 类的除草剂)，比当前广泛使用的合成除草剂 alachlor 等的效力高约一千倍，且无毒、安全。而后者长期接触则有致癌的危险。另外，1987 年在美国上市的 Lovastatin 被公认为是目前最为安全有效的降胆固醇药物。

当前，微生物来源的各种有药理活性的产物，正冲破以往传统的抗生素的概念和应用范围，有人认为抗生素的定义已经不能概括这些活性物质，甚至提议用“生物药物素”来代替。

（三）新的特异筛选模型的应用使更多的新抗生素得以发现

随着病原生物学和病理生物化学研究的进展，各种新的筛选模型和方法不断涌现，为寻找新型抗生素打下了基础。80 年代以来报导的新抗生素的筛选模型大部分是按作用机制精心设计的，随机的筛选方法逐步被理性筛选方法所取代。如筛选各种酶抑制剂的模型、肿

瘤细胞分化逆转模型、耐药模型、超敏感菌模型、噬菌体模型、化学筛选法、生化代谢模型、促进剂-增强剂筛选方法、防止形成孢子或孢子质体法、真菌无规则生长诱导等。

1986 年 Rake 等报道了筛选糖肽类抗生素的新方法。其作法是在筛选培养基中添加万古霉素、并应用对其耐药的葡萄球菌及特殊拮抗法,从被筛选的 1936 株放线菌中找到了 44 株糖肽类抗生素产生菌,经鉴别后获得了 6 个新的糖肽类抗生素。Hotta 建立的氨基糖苷类抗生素的耐药筛选谱,使氨基糖苷类产生菌株的筛得机率高达 10%。

一种非常有用的筛选方法是采用酶抑制系统,由此可望找到一些具有抗菌、农用或药理活性的新抗生素,如 β -内酰胺酶、几丁质酶或各种羟化酶的抑制剂等。

一个较为理想实用的筛选模型,其运作机理要与人类疾病有较好的相关性,同时,筛选操作过程要简便易行,能够处理大量的样品。一种与人类疾病相关性愈好的模型,其筛选得到的先导化合物愈接近或愈有希望成为治疗用的药物。目前,在国际上流行的所谓“以作用机理为基础的筛选模型”(Mechanism-based Assay),被认为是与人类疾病相关性较好的模型。

以作用机理设计的模型其含义是:以人类疾病产生的生化过程中相关酶或受体为分子靶而设计的筛选模型。由这些模型筛选到的特异性的酶抑制剂或配体-受体结合拮抗剂,可望用于调控该疾病的生化过程,从而成为治疗疾病的新药。

应用上述理性筛选药理活性物质最典型的例子是降胆固醇药物——羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂的筛选成功。该种抑制剂通过抑制人体内合成胆固醇的关键限速酶(羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶)的活性来减缓人体内合成胆固醇的速度。

另外,在除草剂的筛选研究领域,bialaphos 类除草剂筛选模型的设计是通过对合成除草剂的作用机制研究之后,发现合成除草剂在植物体内抑制谷氨酰胺的合成,因而积累氨杀死植物,据此设计出抗谷氨酰胺代谢物的筛选方法。

一般认为,在抗肿瘤抗生素的筛选中,通过使用生物化学筛选方法如抑制癌细胞生长所需的酶系统、免疫促进剂、有丝分裂抑制剂、或用能影响细胞表面特征的模式等,比过去一般的体外细胞系统或体内移植的动物模型要好得多。

(四) 新抗生素结构改造后的再评价

天然抗生素本身往往存在毒性大、抗菌谱窄、药理性不理想等问题。把微生物产生的天然抗生素作为先导化合物,进行一系列化学结构的改造,也许能够得到具有优良性能的新化合物,克服天然抗生素的诸多缺点。目前临床上广泛应用的 β -内酰胺类的抗生素几乎都是通过化学修饰而得到的。因此在获得新结构的抗生素以后,不以天然性质来决定取舍,要通过半合成结构改造以后,再进行全面评价。

6-APA 的发现,开创了发展半合成青霉素的新时代,从不耐酶、不耐酸、窄抗菌谱的青霉素母体出发合成出一系列具有耐酶、耐酸和广谱抗菌的新品种,并且带动和促进了头孢菌素结构改造工作的发展。目前新开发的头孢类半合成抗生素具有耐青霉素酶、耐头孢菌素酶、抗革兰氏阴性菌能力强的特点。

半合成抗生素的另一大成就是氨基糖苷类抗生素的结构改造,使得它们的抗菌活性较母体化合物大为提高,而其肾毒和耳毒较母体化合物减轻。

具有新颖碳青霉烯类结构的 Thienamycin,具有抗菌谱广、抗菌力强、耐酶的特点,但很不稳定,经改造后得到的 Imipenem,解决了不稳定的问题。后来在使用中发现它在体内

受肾脱氢肽酶的降解,该酶在人体代谢过程中不起重要作用,Merck 公司的学者合成了一种该酶的抑制剂 Cilastatin,与 Imipenem 组成混合剂(商品名: Primaxin, Thienam)一同使用。该混合剂目前被认为是有史以来抗菌谱最广、抗菌力最强的抗细菌药物。

蒽环类的抗生素阿霉素具有不可逆的累积性心脏毒性,通过化学修饰得到的四氢吡喃阿霉素 (TH-adriamycin) 经临床验证,仍保持很高的抗肿瘤活性,而心脏毒性大为降低。

作为抗生素研究发展的一个重要方面,化学结构改造表现出越来越广阔的发展前景,成为抗生素研究中一个非常活跃的领域。关于半合成抗生素的研究开发动态将在后面讨论。

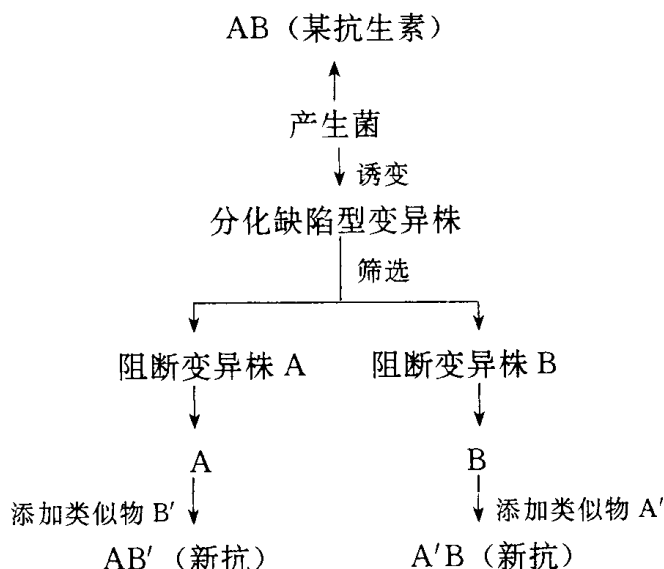
(五) 生物技术在新抗生素的研究开发中崭露头角

近年来,随着生物技术的不断发展,使得利用生物技术进行新抗生素的研究开发越来越受到人们的重视,成为获得新抗生素的一个重要途径,下面就有关生物技术在抗生素研究中的一些应用作简单的介绍。

1. 突变生物合成技术

突变生物合成技术是利用紫外线、亚硝基胍等诱变剂处理抗生素产生菌,使其缺失合成过程中的某些酶而失去合成中间代谢物的能力,从而阻断抗生素的合成。在补加正常前体后可恢复产抗生素的能力。如果加入正常前体的类似物,可产生出该种抗生素的相应类似物(新抗生素),这个过程就称为突变生物合成。应用突变生物合成方法进行新抗生素的研究有以下三种类型。

(1) 利用分化缺陷型变株获得新抗生素。其原理如下:



近年来在氨基糖苷类、大环内酯类、蒽环类抗生素的研究中已广泛地应用了这一方法,已由巴龙霉素产生菌 *S. rimosus* 获得了杂交霉素 C_1 、 C_2 ; 利用 Baumycin 产生菌 *S. coerule-orubidus* ME130-A 的分化缺陷型变株 Iu-222, 获得了 1-羟基-13-双氢柔红霉素和 N-甲酰-13-双氢柔红霉素两个新的蒽环类抗生素。

(2) 利用营养缺陷型变异株 灰黄霉素产生菌灰黄青霉菌经诱变处理后筛得蛋氨酸营养缺陷型变株,在该变株发酵培养时添加乙硫氨酸和蛋氨酸的混合物,可产生比灰黄霉素活性更强的抗生素 α' -乙氧基灰黄霉素。

(3) 利用次级代谢发生变化的非分化缺陷型突变株 阿霉素就是柔红霉素产生菌通过诱变处理获得的这类突变株所产生的新抗生素。利福霉素 B 产生菌的这类变异株能够产生

新的抗生素利福霉素 P、Q、R。

2. 常规杂交生物合成技术

常规杂交一般是指将两个具有不同基因型的菌株通过接合使遗传物质重新组合, 从中分离和筛选出具有新性状的菌株。通过抗生素产生菌的种内种间杂交获得新抗生素已有许多成功的报道。大环内酯抗生素 Turimycin 的产生菌 *Str. hygrosopicus* 与蒽环抗生素 Violamycin 的产生菌 *Str. violaceus* 二者的阻断变株进行种间常规杂交, 重组体能够产生一种新的蒽环类抗生素——Iremycin。通过常规杂交产生新抗生素的机理是很复杂的, 有可能是通过激活受体菌中的沉默基因而产生新的抗生素。

3. 细胞融合技术

细胞融合技术是 70 年代后期发展起来的一种遗传重组技术, 应用这一技术进行微生物种内、种间或属间融合, 不仅能产生具有新的遗传性状的菌种, 而且对抗生素的产生亦有很大的影响。1982 年, 日本的山下富美男首先报道了用 Istamycin 产生菌和灰色链霉菌进行种间原生质体融合, 获得了产新抗生素 Indolizomycin 的重组子。日本的三乐-大洋研究组应用原生质体融合技术于阿克拉霉素的产生菌加利利链霉菌, 成功地得到了比阿克拉霉素活性更高的 α -羟基阿克拉霉素的产生菌。

原生质体融合比常规杂交的重组频率高, 适用范围更广泛、更随机, 遗传物质的传递也比较完全, 融合频率不受致育型或接合型的影响。可同时有两个以上的亲株进行融合, 是微生物体内基因重组十分有效的方法。它不仅可以提高某些菌种产生抗生素的能力, 也是获得新抗生素的有效途径。

4. 基因重组技术

基因重组技术在寻找新抗生素, 增加抗生素产量方面有很大的应用潜力。借助基因工程引入调控基因, 激活宿主内的沉默基因, 是开发新抗生素的一条新途径。通过基因重组技术有可能构建出更加适合于生产要求的菌种, 取得诱变育种很难达到的成就。此外, 基因重组技术在研究抗生素的生物合成途径及耐药机制方面也大有作为。

(1) 引入新的酶基因产生杂合抗生素: 近年对链霉菌 DNA 重组及表达系统的研究取得了一定的进展, 已有可能分离出抗生素的结构基因。Hopwood 于 1981 年提出了通过产生不同抗生素的链霉菌之间生物合成基因的转移可以产生新抗生素的理论, 并且成功地利用基因克隆技术将 Actinorhodin 产生菌中的羟化酶基因转移到 Medermycin 产生菌中得到表达, 获得了“杂合抗生素”Mederrhodin。另外, 他们还将 Actinorhodin 生物合成途径的基因转移到 Granactin 产生菌内, 通过源于两个不同的链霉菌结构基因编码酶之间的相互作用, 产生另一种“杂合抗生素”Dihydrogranatirhodin。目前, 由基因工程产生杂合抗生素已成为改造天然抗生素结构的一种重要手段。

(2) 引入调控基因产生新抗生素: A 因子是由 Khochlov 等报道的诱导灰色链霉菌进行链霉素生物合成的物质, 它在极低的浓度下就能诱导链霉素的生物合成, 是一种被称为“微生物激素”的调节物质。除 A 因子外, 已报道的还有 B 因子、L 因子、PPGPP、PPGPPP 和瓜氨酸等, 它们的结构见图 1-1。这些化合物对一些菌株的气生菌丝或孢子的形成, 以及对抗生素自身耐药性的产生也能起到诱导作用。

Khochlov 将放线菌天蓝色链霉菌 A₃ (2) 中对 A 因子以及对放线紫红素和 Undecylprodigiosin 两种抗生素的产生具有正调控作用的基因 *afsB* 克隆到另一放线菌变铅青链霉

菌中,该菌能大量产生原来几乎不产生的上述两种抗生素。这可能是因为 *afsB* 使变铅青链霉菌中处于沉默状态的上述抗生素合成系统的开关打开了。由此联想到其它放线菌的基因组中也可能存在着某些处于沉默状态的抗生素生物合成系统。

随着对链霉菌基因表达的深入了解,将进一步开辟利用基因工程手段通过激活沉默基因产生新的抗生素。

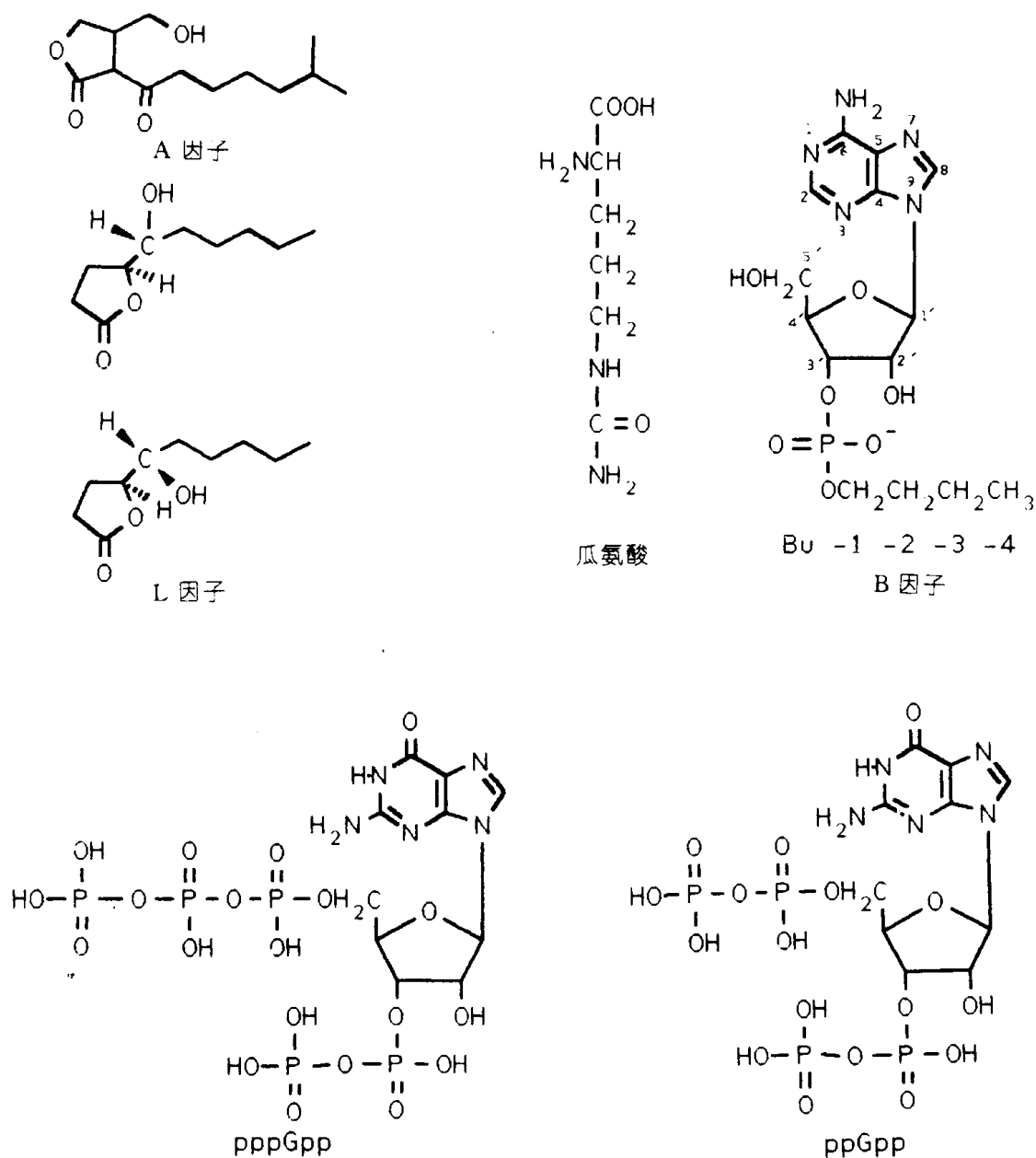


图 1-1 抗生素生物合成诱导物的化学结构

(六) 分离、提纯和鉴别技术的进步有力地推动了新抗生素研究的发展

提取和鉴别技术的进步,对于新抗生素的研究来说是至关重要的。研究对象的及早鉴别,可以尽量避免重复发现已知抗生素。各种早期鉴别方法包括菌种形态特征、抗菌谱、层析谱和各种理化数据。生物学方法只能给出有限的情报信息,如将各种理化测试如纸层析、薄层层析及光谱数据等结合在一起考虑,就会有较高的参考价值。但这种表现的层析和理化数据并不能区分出结构上只有细微差别的抗生素如柔红霉素和阿霉素。要在早期作出正

确的鉴别,对于一些半精品或纯品与已知抗生素的理化数据进行全面比较,则必须使用现代化的信息系统才行。

目前,由于各种分离手段及仪器分析技术的进步,使得鉴别未知化合物的能力有很大的提高。应用高效液相色谱、薄层层析和气相色谱技术结合红外、核磁、质谱以及分子旋光谱、X-光衍射等仪器分析手段,可以较早地确定复杂分子的化学结构。

随着分离方法的进展,经常还能在发酵液中分离或鉴别出某些所谓的小组份。研究表明,绝大多数的微生物一般能够产生一系列结构非常接近的化合物。目前,从一种发酵液中分离出二、三十种小组份的情况是非常普遍的。其中放线菌中小组份的百分率比霉菌和细菌要高得多。近几年发现的许多抗生素就是从已知抗生素的产生菌中发现的小组份分离得到的,如柱晶白霉素、制霉菌素、多粘菌素等。有些小组份是非常有价值的,如头孢菌素C、卡那霉素B和庆大霉素B。可以通过人工突变和改变培养基等手段来提高发酵液中某些小组份的含量。

三、传统抗生素的筛选研究进展

(一) 抗菌抗生素

1. β -内酰胺类抗生素

β -内酰胺抗生素是一类结构中有 β -内酰胺环的天然和半合成抗菌化合物的总称。由于这类抗生素特异性地抑制细菌细胞壁的生物合成,对无细胞壁构造的哺乳动物细胞几乎无毒,加上通过化学改造可以获得活性更高、抗菌谱更广及对耐药菌有效的一系列衍生物,使人们对这一类抗生素具有特殊的兴趣。

几十年来,通过各国科学家的不懈努力,已经从自然界中找到了许多不同种类的 β -内酰胺母核抗生素,图1-2是天然的 β -内酰胺类抗生素母核的类型。

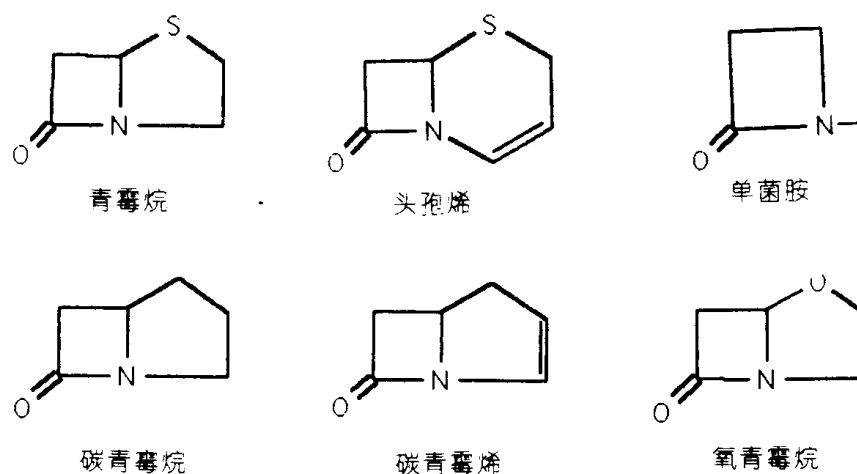


图1-2 天然 β -内酰胺抗生素母核类型

继1929年弗莱明发现青霉素,1945年布罗兹发现头孢菌素之后,随着筛选模型和分离技术的发展,人们开始从霉菌以外的微生物中寻找 β -内酰胺类的抗生素。1971年从链霉菌中找到了含有7 α -甲氧基的头霉素C;1976年从诺卡氏菌中首次发现了含有单环 β -内酰胺的诺卡杀菌素,从链霉菌中找到了不含硫的 β -内酰胺类抗生素的新成员棒酸(clavulanic acid,为 β -内酰胺酶抑制剂);1977年发现迄今为止抗菌活性最强的碳青霉烯类橄榄酸衍生