

天然药物的 生物转化

卢艳花 主编

王剑文 魏东芝 副主编



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

R977
L795

天然药物的 生物转化

卢艳花 主编

王剑文 魏东芝 副主编

R977

L795



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

天然药物的生物转化/卢艳花主编. —北京: 化学工业出版社, 2006. 2

ISBN 7-5025-8285-1

I. 天… II. 卢… III. 生物制品: 药物-生物-转化
IV. ①R977②TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 012288 号

天然药物的生物转化

卢艳花 主编

王剑文 魏东芝 副主编

责任编辑: 杨燕玲

文字编辑: 丁建华

责任校对: 于志岩

封面设计: 关 飞

*

化 学 工 业 出 版 社
现代生物技术与医药科技出版中心 出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 14 字数 244 千字

2006 年 4 月第 1 版 2006 年 4 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8285-1

定 价: 38.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

本书编写人员

主 编 卢艳花
副 主 编 王剑文 魏东芝

参编人员 (以姓氏笔画为序)

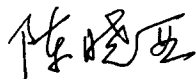
王剑文	苏州大学	药学院	
卢艳花	华东理工大学	生物反应器国家重点实验室	
刘志勇	华东理工大学	生物反应器国家重点实验室	
宋庆训	华东理工大学	生物反应器国家重点实验室	
陈召桂	华东理工大学	生物反应器国家重点实验室	
赵相国	华东理工大学	生物反应器国家重点实验室	
陶欣艺	华东理工大学	生物反应器国家重点实验室	
魏东芝	华东理工大学	生物反应器国家重点实验室	

序

人类长期以来利用天然药物防病治病，至今世界上许多国家和地区的人民仍然将天然药物作为防治疾病的重要手段。中药是我国医药宝库的重要组成部分，也是我国人民数千年来同疾病作斗争的有力武器。药用植物防治疾病的物质基础在于其中的有效成分，但植物中天然活性成分往往含量很低，如紫杉醇、三尖杉酯碱、喜树碱、人参皂苷 Rh_2 等含量在万分之几或更低。天然产物一般结构复杂，合成困难。另一个不容忽视的问题是，随着药物的开发利用天然野生资源贮存量也不断下降。

天然药物的生物转化技术就是应用植物细胞培养体系、微生物或酶等生物体系对天然活性化合物进行合成与结构修饰。该技术具有反应条件温和、污染小、成本低、副产物少等优点，并具有很高的立体选择性、区域选择性和基团选择性，能完成一些用化学方法难以进行的反应。生物转化技术为中药和天然药物原料药人工资源的开发提供了有效途径，为天然药物合成和结构修饰与设计提供了新的工具，为新天然药物的开发奠定了基础。生物转化技术在中药和天然药物创新研究中的重要性日显突出，正为更多的研究和生产部门所重视。

本书分为三篇（天然药物的微生物转化、天然药物的酶法生物转化、天然药物的植物细胞生物转化）来介绍和综述天然药物的生物转化研究现状，在介绍基础理论和基本操作的基础上，又给读者详细描述了近年来一些具有代表性天然药物的转化技术和采用的方法，对生物工程专业、中药专业、天然药物专业、药物化学专业等的本科生、研究生和科研技术人员，有很好的参考价值。



中国科学院上海生命科学研究院
植物生理生态研究所

2006年1月

前言

生物转化 (biotransformation) 在天然药物上的应用就是利用植物细胞培养体系、微生物或酶等生物体系对天然活性化合物进行合成与结构修饰。由于生物多样性和酶的多样性,可以对化学物质进行不同基团和不同形式的结构修饰,因此,生物转化(特别是微生物转化)近年来得到了长足发展,已广泛应用于药物筛选、药物代谢、有机合成研究等领域。同时还在新能源开发,环境保护,“三废”及有毒物质的处理等方面发挥重要作用。

我国有着丰富的天然药物资源,生物转化技术以其独特的优越性可以作为生产及通过结构修饰挖掘更多的有效活性化合物的有效手段。

本书较系统地介绍了天然药物生物转化的种类,在天然药物生产及结构修饰等方面的应用以及转化的新技术、新方法。

本书基础理论、最新研究进展和应用成果介绍并重,可供生物工程、有机化学、药物化学、精细化工等专业高年级学生、研究生、教师和科研人员以及生物化工、生物技术和相关专业科技人员参考。

天然药物活性成分繁多,本书仅就笔者可查阅到的相关文献资料,结合本实验室的研究工作经验整理编写,难免有疏漏之处,不妥之处恳请读者批评指正。

最后感谢化学工业出版社的大力支持,感谢各位作者为本书做出的贡献!

卢艳花

华东理工大学 生物反应器国家重点实验室

2006年1月

目 录

绪 论	1
-----	---

第一篇 天然药物的微生物转化	7
----------------	---

第一章 微生物基础知识	9
第一节 微生物学基础	9
第二节 微生物菌种的分离与选育	10
一、微生物菌种的分离	11
二、具体选育方法	12
三、无菌技术操作	13
第三节 微生物培养	14
一、实验室固体培养	14
二、实验室液体培养	17
三、生产实际固体培养	17
四、生产实际液体培养	18
第四节 微生物菌种保藏	19
参考文献	22
第二章 微生物转化的应用	23
第一节 在有机合成领域的应用	23
一、手性化合物合成与拆分	24
二、食品添加剂的合成	26
第二节 在新药开发中的应用	27

第三节 作为体外模型预测代谢	28
参考文献	31
第三章 微生物转化方法	33
第一节 微生物转化的反应	33
第二节 微生物转化的一般过程	37
第三节 几种常用的微生物转化方法	38
第四节 微生物转化反应的特点	39
参考文献	40
第四章 微生物转化的影响因素	41
一、转化的时间和温度	41
二、底物添加方法	41
三、酶的抑制剂	42
四、酶的诱导剂	42
五、生长调节剂	43
参考文献	43
第五章 新技术在微生物转化中的应用	44
一、基因工程技术在微生物转化中的应用	44
二、固定化细胞转化技术在微生物转化中的应用	44
三、双水相转化技术在微生物转化中的应用	45
四、超声波技术在微生物转化中的应用	45
五、有机介质中的微生物转化	46
六、生物反应器的应用	47
七、核磁共振、质谱技术在微生物转化中的应用	48
参考文献	48
第六章 天然药物的微生物转化	49
第一节 喜树碱	50
一、概况	50
二、喜树碱的生物合成	51
三、喜树碱微生物转化	53
第二节 雷公藤内酯	53
一、雷公藤甲素的微生物转化	54
二、雷公藤内酯酮的生物转化	54
第三节 鬼臼毒素	55
一、概述	55

二、微生物转化	56
第四节 蟾毒配基类	57
一、概述	57
二、微生物转化	58
第五节 大黄蒽醌类	62
第六节 麻黄碱	64
一、概述	64
二、生产方式	64
第七节 延胡索素	65
参考文献	67

第二篇 天然药物的酶法生物转化 71

第一章 酶和酶生物转化概述	73
第一节 酶的基本概念	73
一、酶的分类与命名	73
二、酶的结构与功能	75
三、酶催化反应的机制	82
四、酶反应动力学	84
第二节 酶生物转化的发展	90
第三节 生物转化酶的类型	91
一、有机合成中的酶类	91
二、中药应用中的酶类	92
第四节 酶生物转化的意义	93
一、有利于推动中药现代化的进程	93
二、有利于环境的可持续发展	94
三、酶转化技术日益成为工业应用方面的主力军	94
四、酶生物转化技术成为新药开发和改造传统制药 工艺的重要手段	94
参考文献	95
第二章 酶生物转化的方式	96
一、酶与底物的结合方式	96
二、反应的类型	98

参考文献	100
第三章 酶生物转化的调节	101
一、转化的时间和温度	101
二、转化的 pH 值	103
三、转化体系中的水含量	104
四、有机溶剂对酶转化的影响	105
五、激活剂和抑制剂对酶转化的影响	107
六、表面活性剂对酶转化的影响	107
七、射线对酶反应的影响	108
八、超声波对酶反应的影响	109
参考文献	109
第四章 天然药物酶法生物转化	110
第一节 紫杉醇	111
一、概述	111
二、紫杉醇的微生物转化	116
三、紫杉醇的微生物及酶法合成	124
第二节 青蒿素	132
一、青蒿素的来源	133
二、青蒿素的生物合成	141
第三节 皂苷类	143
一、人参皂苷	143
二、白头翁皂苷	145
三、甘草皂苷	146
第四节 黄酮类	146
一、大豆异黄酮	146
二、异槲皮苷	147
三、新橙皮苷二氢查耳酮	147
第五节 红景天苷	148
参考文献	149

第三篇 天然药物的植物细胞生物转化————— 155

第一章 植物细胞培养与植物细胞生物转化概述	157
第一节 植物细胞培养的基本概念	157

一、细胞	157
二、组织培养	157
三、细胞培养	158
第二节 植物细胞培养方法	158
一、外植体的选择	158
二、愈伤组织诱导	159
三、细胞的选育与诱变	160
四、培养基	162
五、培养方法	164
第三节 植物细胞培养与次生代谢	166
一、次生代谢	166
二、次生代谢的调节	167
三、次生代谢物的提取和分离	172
第四节 植物细胞生物转化的发展概况及特点	179
一、发展概况	179
二、特点	180
第二章 植物细胞生物转化的主要反应类型	181
一、羟基化反应	181
二、糖基化反应	183
三、氧化还原反应	184
四、水解反应	185
第三章 植物细胞生物转化系统	187
一、悬浮细胞	187
二、固定化细胞转化系统	188
三、发根转化系统	189
第四章 植物细胞生物转化的调节	191
一、植物细胞的影响	191
二、外源底物的影响	192
三、培养条件的影响	194
第五章 天然药物的植物细胞生物转化	196
第一节 紫杉烷类化合物	196
第二节 青蒿素	199
第三节 鬼臼毒素类化合物	200
第四节 强心甘类	203

一、洋地黄毒苷的生物转化	203
二、蟾毒配基类化合物的生物转化	204
第五节 雷公藤内酯	205
参考文献	207

一、天然药物生物转化基本概念

生物转化技术就是应用植物细胞培养体系、微生物或酶等生物体系对外源化合物进行合成与结构修饰。天然药物生物转化就是利用生物转化技术对天然活性化合物进行合成与结构修饰。

天然药物是人类长期以来用于防病治病的有力武器，应用历史悠久，至今世界上许多国家和地区仍把天然药物作为防治疾病的重要手段。天然药物防治疾病的物质基础在于其中的有效成分。但天然活性成分往往含量很低，如紫杉醇、三尖杉酯碱、喜树碱、人参皂苷 Rh_2 等在植物中的含量仅为万分之几或更低。天然产物一般结构复杂，结构中常含有多个不对称中心，化学合成难度较大，利用化学法进行合成生产或结构修饰获得高活性新化合物，都很费时、费力。另外，天然野生资源随着药物的开发利用储存量也不断下降，现有的野生资源难以满足工业化生产的需要。

相对于化学合成，生物转化具有反应条件温和、污染小、成本低、副产物少等优点，并具有很高的立体选择性、区域选择性和基团选择性，能完成一些用化学方法难以进行的反应。生物转化技术为中药和天然药物原料药人工资源的开发提供了有效途径；为天然药物合成和结构修饰与设计提供了新的工具；为以天然活性成分为先导发现新的药物提供了新的思路与方法；为新天然药物的开发奠定了基础。生物转化技术在中药和天然药物创新研究中具有重要意义，它正为更多的研究和生产部门所重视。

天然药物的生物转化研究，涉及生物技术中基因工程、发酵工程、酶工程、细胞工程等多领域内容，在中药和天然药物创新研究中具有重要意义。

二、天然药物生物转化的发展

我国在天然药物生物转化方面的研究工作的发展大致可归纳为三个阶段。

第一阶段：植物组织和细胞培养

从 20 世纪 60 年代中国科学院上海植物生理生态研究所罗士韦教授进行人参组织培养开始，到 80 年代，全国已经有 30 多个单位、100 余人从事中药的组织培养研究工作。其中以广西药物所的罗汉果快速繁殖、山东大学生物系与菏泽地区中药材实验站的怀地黄去病毒研究以及中国药科大学的人参研究等成果为这一阶段的代表性研究成果。

第二阶段：悬浮细胞培养

从 1983 年起，我国的天然药物生物技术进入悬浮细胞培养的新发展期，大规模培养技术得到长足发展。其中以中国科学院植物研究所和化学冶金研究所的紫草大规模培养、华中理工大学的红豆杉大规模培养以及上海中医药大学的黄芪毛状根大规模培养为这一阶段的代表性研究成果。

第三阶段：微生物、酶转化技术的应用

从 20 世纪 90 年代以来，我国的天然药物生物转化进入微生物、酶转化阶段。尤其跨入 21 世纪以来，应用微生物和酶法转化技术研究天然药物成为研究热点，引起了各国学者的关注。

三、天然药物生物转化的特点

生物合成和生物转化反应提供了许多常规化学方法不能或不易合成的化合物的合成方法。具有以下的特点。

1. 专一性强

对于复杂结构的天然活性成分来说，利用化学合成来进行结构修饰存在着得率低、反应专一性差、副产品多等缺点，生物转化技术却可弥补化学合成的不足。生物转化的实质就是利用植物细胞或（微生物）中的酶或利用商品酶将加入到反应系统中的外源底物的某一特定部位或功能基团进行特异性的结构修饰，因此它具有酶催化反应的高度专一性，这是化学方法无法比拟的。天然产物大多是手性化合物，在制备活性天然产物或手性药物时，可采用化学不对称合成或拆分技术。酶以其高效和立体专一的特点在这方面具有很大的价值。选择性羟基化反应尤其是在非活化位置上的羟基化反应是生物转化比人工合成明显具有优势的地方。

2. 副产物少、产量高

目前已知生物转化具有多种生物转化能力，如羟基化、酯化、氧化、糖基化、甲基化和乙酰化等，生物转化强调外源底物与目标产物之间通过一步反应完成，其实质是一种酶的催化反应。它可以代替几步化学反应，而且反应专一

性强,副产物少,因此生物转化的得率往往比化学合成高。

3. 反应条件温和

生物转化反应条件比较温和,通常是在常温、常压、pH 值近乎中性的条件下进行反应,与化学合成条件迥然不同。这样不仅可以改善工作人员的劳动条件,而且可避免或减少强酸、强碱或有毒物质的使用,从而减少对环境的污染,成为绿色化工的范例。

4. 可以进行化学方法难以进行的反应

生物转化可以针对某一化合物特定的分子部位进行特定的反应,而化学方法却可能难以进行。例如甾类化合物 C11 的羟基化反应,用化学方法很难进行,但用微生物或植物细胞,由于存在 C11 羟化酶,可以很容易地在这一位置进行羟基化。可的松类激素之所以具有优良的抗炎活性,主要是甾体异核 11 位导入了一个氧原子,至今已阐明微生物和植物细胞几乎对甾体各位置都能进行专一反应,优于化学合成。

四、生物转化在天然药物研究中的应用

1. 为天然药物的生产提供了有效途径

依靠从天然资源中提取,分离天然药物费时、费力、浪费资源。为此,针对特定有效成分的天然药物生产技术近年来引起了研究者极大关注。就天然资源来说,其中往往不只含有一种活性成分,常含有一些生源关系相近或结构类似的化合物,可以选择合适的微生物或合适的酶,把生源关系相近或结构类似的化合物转化为需要的特定的天然化合物,把资源丰富、活性较低的次生代谢物转化为人类需要的稀有、昂贵的天然药物。如朱大元、余伯阳等发现多种微生物能定向地将喜树碱转化成 10-羟基喜树碱,10-羟基喜树碱比喜树碱疗效好、毒性低,更为常用且价格更为昂贵;大连轻工学院的金凤燮教授利用糖苷水解酶,将人参皂苷 Rb_1 等转化成含量只有十万分之几的人参皂苷 Rh_2 和 Rg_3 。又如紫杉醇在红豆杉树皮中的含量为树皮干重的 0~0.01%,3kg 百年生的红豆杉树皮方可获得 300mg 左右的紫杉醇,含量极低;另一方面,红豆杉生长非常慢以及太平洋红豆杉的稀少也使得树皮产量受到限制。相反紫杉醇的市场需求量却极大。这样,通过其他途径和方法获得紫杉醇的研究就显得极其重要。Dai JG 等研究证明,红豆杉的细胞培养是获得紫杉醇和相关的紫杉烷二萜化合物的最可行的方法。近年来以紫杉烷类化合物为底物进行生物转化以获得有活性的化合物研究也获得了不少有意义的结果。从红豆杉组织培养中可获得的高含量的 C14 氧取代的紫杉烷类化合物 sinenxan A,其含量达到细

胞干重的5%左右,是抗癌药物紫杉醇和紫杉宁(taxinine)的半合成原料。

2. 为天然药物结构修饰与设计提供了新的工具

以天然活性成分为先导通过结构修饰发现新的药物,以往这类工作也多是
通过有机合成来完成结构改造。但天然产物一般结构复杂,不易简单合成,利
用化学法进行结构修饰获得高活性新化合物,费时、费力,并且存在着得率
低、反应专一性差、副产物多等缺点,特别是有些反应(如醚键的断裂等)目
前利用化学手段较难实现。生物转化技术可以弥补化学合成的不足。

3. 结合药物筛选,为新药开发提供了研究手段

将生物转化用于复杂天然药物的筛选和研制,通过与高效快速药物筛选手
段结合,可以发掘具有知识产权保护的,具有中国研究特色的新天然高效活性
先导化合物。以组合化学理论为研究思路,以生物转化和生物催化技术为研究
手段,通过生物组合化学(bio-combinatorial chemistry)概念的提出,经对既
具有明确生物活性又有中国药物研究特色的天然复杂化合物或活性组分的研究,
使这些化合物(或组分)在具氧化还原、羟化、水解、碳-碳键合成、特
异反应等多种反应催化作用的微生物或酶的作用下转化产生新的组合型天然化
合物群。再通过与药理筛选手段结合,寻找新的高活性或低毒性的天然活性先
导化合物,研制成具有自主知识产权的新天然药物。

4. 提高天然活性成分的生物利用度

较高纯度的天然活性成分往往溶解度差或体内吸收不好,造成天然活性
成分常常在体内外药效学活性差异较大,而生物转化则可以在解决这类问题
的过程中发挥更大的作用。如我国首创的抗疟药物青蒿素类水溶性与其活性
有关,余伯阳利用微生物转化手段在青蒿素及其衍生物蒿甲醚、双氢青蒿素
结构中引入了羟基,增加了水溶性,而其抗疟作用活性中心过氧桥未发生任
何改变。

5. 成为中药制剂中除去大分子杂质的有效方法

微生物和酶降解技术还可以成为中药制剂中除去大分子杂质的有效方法。
在中药制剂的前处理研究中,除去杂质对减小制剂用量、克服制剂吸湿性等具
有重要意义。利用微生物或酶来进行大分子杂质的除杂有较好的特异性。比如
在对中药多糖类活性物质的研发中常遇到蛋白类杂质的干扰,为此通过利用水
解蛋白酶,能较好地除去这类杂质,使多糖得出率大大提高。反之也可利用合
适酶除去糖类杂质。

因此,以微生物、植物细胞、酶为反应器,进行天然活性物质的生产和加

工、结构修饰，以此为推动的天然产物的生物转化和生物合成研究与开发，在国内中药和天然药物研究和开发中的作用正为更多的研究和生产部门所重视。尤其微生物（酶）转化技术是天然药物活性成分生产与结构修饰追求的最佳技术手段之一。正确利用现代生物技术合理地解决中医药现代科学研究和产业开发中的重要问题，必将有力地推动我国的中医药现代化和国际化进程，使中药这一中国传统优势在现代科学技术手段强有力的支撑下焕发出青春，为加入WTO后的中国民族产业的国际竞争注入活力。