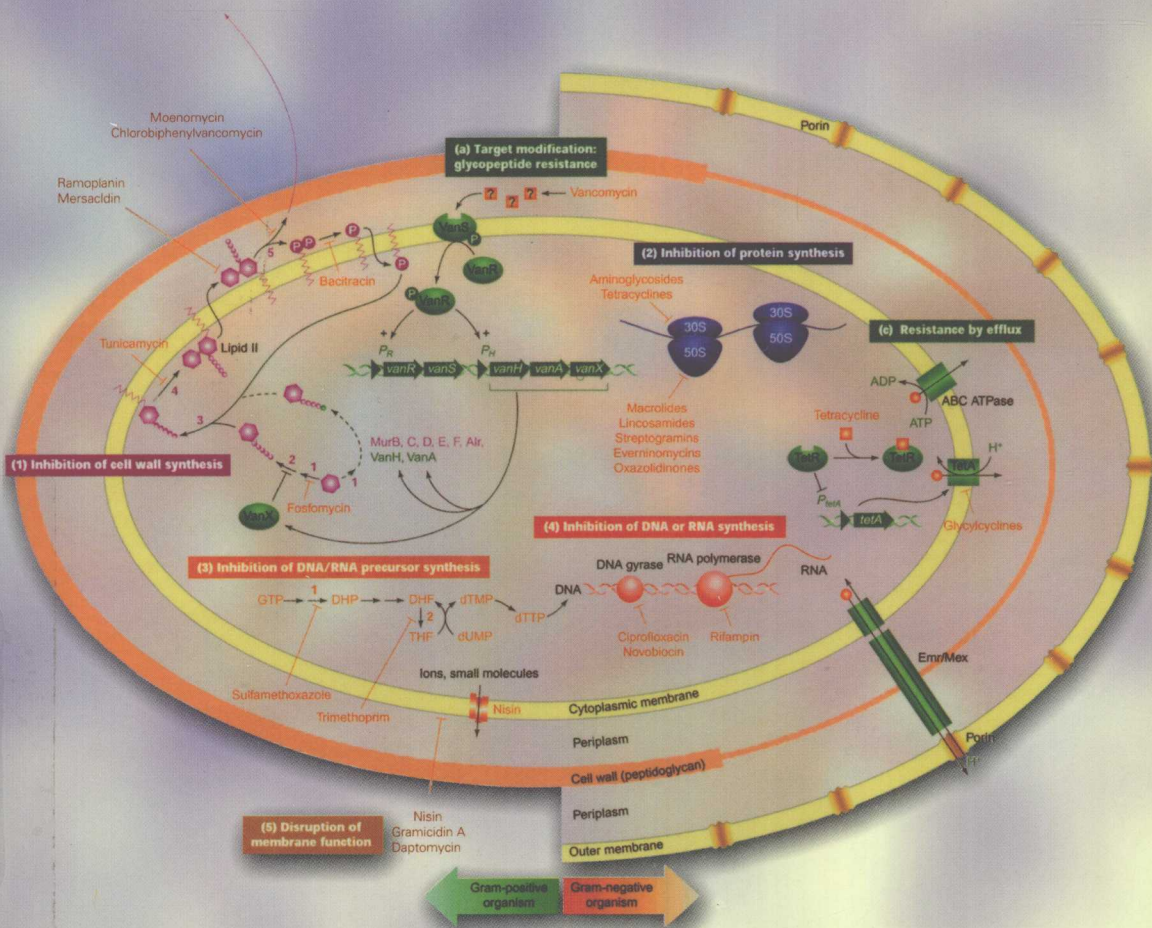


抗生素

Antibiotics

[美] Christopher Walsh 著 王峰 温琦 刘立明 译



THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS

THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS

THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS




THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS

抗生素

ANTIBIOTICS

【美】 Christopher Walsh 著
王峰 温琦 刘立明 译

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

抗生素/(美) 沃尔什 (Walsh, C.) 著; 王峰等译.
北京: 中国轻工业出版社, 2009.3
书名原文: Antibiotics: actions, origins, resistance
ISBN 978-7-5019-6739-1

I. 抗… II. ①沃…②王… III. 抗生素-研究 IV.
R978.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 181164 号

Copyright ©2003 by ASM Press. All rights reserved. Translated and
published by arrangement with ASM Press, Washington, DC; USA.

责任编辑: 李亦兵 李刚刚
策划编辑: 李亦兵 江娟
版式设计: 王超男

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印刷: 三河市世纪兴源印刷有限公司

经销: 各地新华书店

版次: 2009 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

开本: 720×1000 1/16 印张: 18

字数: 360 千字 插页: 4

书号: ISBN 978-7-5019-6739-1 定价: 44.00 元

著作权合同登记 图字: 01-2007-1148

读者服务部邮购热线电话: 010-65241695 85111729 传真: 85111730

发行电话: 010-85119845 65128898 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

61353K1X101ZYW

译者序

抗生素是抗致病微生物药物中的一个重要部分，是微生物在生长过程中为了生存竞争的需要所产生的在低微浓度下选择性抑制或杀灭其他微生物的化学物质或其衍生物。2007年抗生素国际市场销售额约为280亿美元，年均增长4%左右。2007年我国抗生素市场规模为600亿元人民币，年增长速度在10%左右。

在抗生素研究领域，国外主要技术进展包括：①根据新药靶筛选模型，从极端环境微生物的次级代谢产物中寻找新的抗生素；②根据微生物次级代谢产物的生物合成原理，采用代谢工程技术对生产菌种进行改良，以得到优质高产的抗生素生产菌种，或应用组合生物合成和组合生物催化技术，构建“杂合抗生素”生产菌或“杂合小分子库”，从而获得新型的抗生素分子；③采用化学方法对已知抗生素进行结构修饰，筛选疗效优异的抗生素；④应用基于计算机的大规模发酵控制与优化技术，提高发酵水平，降低生产成本；⑤开发应用新型分离纯化介质，不断提高抗生素质量，改善生产环境，降低污染。对于我国的抗生素工业，应当通过不断提高菌种的生产水平、优化生产工艺、降低生产成本来提高我国抗生素产品的竞争力；另一方面，采用基因工程、代谢工程以及组合生物合成等技术策略，对在我国医药行业和保障人民健康中有着举足轻重影响的抗生素工业生产菌种进行目标明确的基因改良，并对获得的优良菌种进行生产工艺的优化和再研究。

综上所述，为了获得高效抗生素新品种并对其改造，需关注几个关键科学问题：①抗生素作用机理与细菌抗药性机制；②微生物高效合成抗生素的基因表达、代谢与调控网络；③抗生素结构特性与其功效。正是基于本书对抗生素作用机理、合成机制、结构特性与功效等基础知识的详尽阐释，并结合我国抗生素工业的研究现状，我们翻译此书，为促进我国抗生素工业的发展贡献微薄之力。

本书的作者是具有 Hamilton Kuhn 教授之称的 Christopher T. Walsh 教授，曾担任 Dana-Farber 癌症研究所的主席和麻省理工学院化学与生物学系主任，现为哈佛大学医学院生物化学与分子药学的系主任，还兼任 Whitehead 研究所、Helen Hay Whitney 基金的董事。43年来，Christopher T. Walsh 教授出版超过650篇文章和书籍，在分子药学领域可谓是德高望重。

本书对抗生素的来源、作用以及抗性展开论述，探讨了一些机理的研究进展，对抗生素领域的发现和探索做了一番展望。这本书的出版也反映了作者在该领域的深厚的学术积淀和严谨的治学态度，以及在该领域取得的突出成绩和贡献，也是广大医药界的学术同仁和企业团体值得学习的榜样。

王峰 温琦 刘立明

前 言

本书专注于作者研究团队持续关注的四个研究热点：酶抑制剂、细胞壁合成途径、抗生素抗菌机理与细菌耐药机制、聚酮和非核糖体多肽类天然产物的生物合成。

这一方法的最基本前提是：通过分析这些小分子物质如何选择性地作用于微生物细胞生存的一条或多条生理过程，从历史与未来的角度理解抗生素的作用并将其分类。本书主要关注微生物产生的具有抗生素活性的天然产物，它们以此作为化学武器来对付周遭的细菌，另一方面，也阐释了化学合成的抗生素。尽管有成千上万种化合物表现出抗生素的活性，但仅仅少许结构型化合物能治愈人类的感染性疾病。本书的主要内容是围绕着抗生素分类而展开的。

抗生素的分类主要依据其作用的对象：细菌细胞壁的合成；细胞蛋白质的合成；DNA的复制与修复；胸腺嘧啶生物合成的叶酸辅酶依赖途径。在本书的第一部分，主要阐述抗生素如何阻止特定蛋白作用于重要的微生物的过程，及其小分子药物的结构能够产生这些抗生素活性的原因。

第二部分从微生物合成抗生素以自我保护方面阐释了细菌耐药性的发展。进而从三个方面详尽解释了细菌耐药性的机制：破坏抗生素、激活跨膜抗生素运输泵、修饰目的结构以降低抗生素敏感性。

第三部分从链霉菌中控制次级代谢产物合成基因转录与表达水平的调控网络入手，描述了抗生素合成的分子逻辑。聚酮类和非核糖体多肽类化合物主要通过由脂肪酸合酶组成的多模块装配线而合成。这一模块装配线策略可保证抗生素具有丰富的结构，并且为直接的、联合的生物合成提供了良好的前景。

最后一部分描述了扩大细菌靶点的前景以及新型抗生素可能出现的位置。随着更多细菌基因组序列的注释，抗生素研究已从靶点缺乏进入到了靶点丰富的时代。新型抗生素可能来源于化学合成和生物合成。

这本书的出版得益于我所领导的研究团队成员5年来围绕抗生素作用方式、生物合成途径以及抗性机制等方面而进行的热烈的讨论和卓越的研究工作。作者特别感谢 John Trauger 为本书插图而进行的卓越的工作、感谢 Gary Marshall, Raymond Chen, Hiten Patel, Steve Bruner, Mike Burkart, Susan Clugston, Rahul Kohli, Heather Losey 和 Lusong Luo 为本书插图的原创、设计、改进以及错误的修正而付出的辛苦劳动。感谢 Tanya Schneider, Sarah O'Connor, 尤

其是 Lusong Luo 为参考文献的引用而付出的辛苦劳动。特别感谢 Gary Marshall 为本书的文稿和插图的最后校对而付出的细致、艰辛的劳动。

Christopher Walsh
2003 年 1 月

目 录

第一部分 抗生素简介

第一章 抗生素：基本概念	2
--------------	---

第二部分 有效的靶点和抗生素的主要类型

第二章 抗生素的主要类型及其作用模式简介	10
第三章 作用于细胞壁生物合成的抗生素	17
第四章 阻断细菌蛋白质生物合成的抗生素	43
第五章 阻断 DNA 复制与修复的抗生素：喹诺酮类药物	55
第六章 抗菌药物的其他靶点	62

第三部分 抗生素抗性

第七章 自然和人为发生的免疫应对获得的抗性	74
第八章 抗生素抗性细菌对抗生素进行的酶解与酶修饰	88
第九章 主动外排系统产生的抗生素抗性	104
第十章 通过抗生素靶点的修饰和替代产生的抗生素抗性	118

第四部分 抗生素的生物合成

第十一章 生产抗生素的有机体中抗生素生物合成的调控	132
第十二章 聚酮类抗生素的生物合成：装配线酶学	146
第十三章 非核糖体肽类抗生素的酶学装配线	164
第十四章 其他类型抗生素的生物合成	186

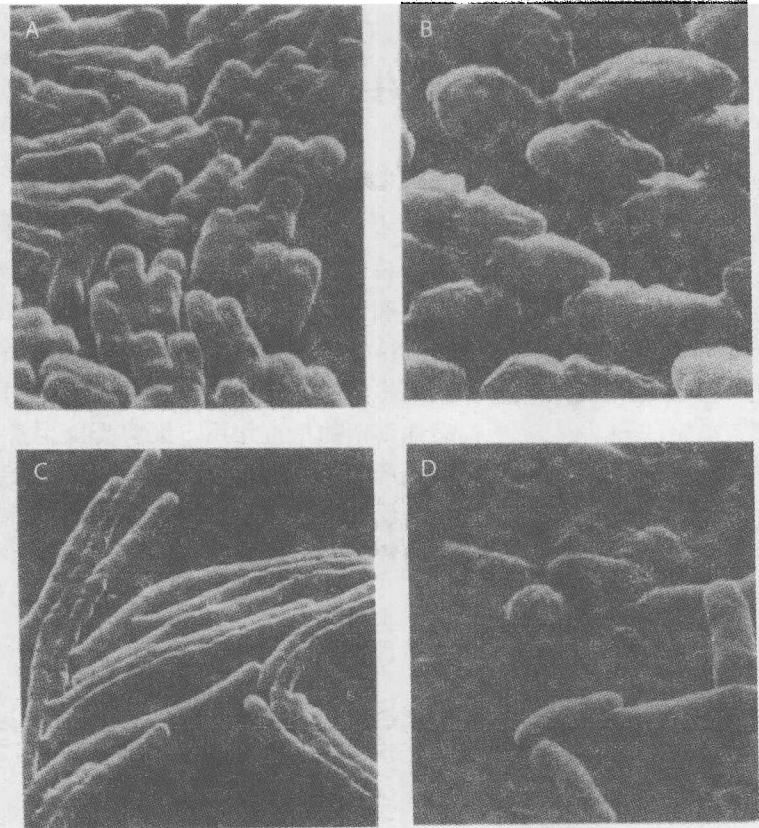
第五部分 寻找新型抗生素及延长其有效使用寿命的新策略

第十五章 抗生素靶点的新发现	200
第十六章 新型抗生素分子	227
第十七章 新型抗生素使用原则和面临的挑战	238
参考文献	247

第一部分 抗生素简介

本书导读部分主要围绕抗生素的相关内容展开讨论。目前抗生素按来源分主要包括天然存在和人工合成两大类。这些抗生素在治疗人类细菌性疾病中起着非常重要的作用。天然抗生素主要来源于生物体的自身保护作用和预敏感性细菌的抵抗作用。细菌受抗生素作用之后，将会产生强烈的耐药性，而这一必然的进化规律是保证不断发现新抗生素、改进和发展抗生素的最重要的动力。

第一章 抗生素：基本概念



β -内酰胺类抗生素对细菌的影响

(A) 未处理的棒状大肠杆菌细胞；(B~D) 经不同 β -内酰胺类抗生素处理后的细胞，显示了裂解的细胞碎片、损伤的中央胞壁和原生质球

(图 A~C 是由 Greenwood 和 O' Grady 于 1973 年摄；图 D 是由其于 1969 年摄，已经许可)

一、什么是抗生素，它们来自何处？

抗生素是指一类能够杀死或抑制微生物（包括细菌和真菌）生长的化合物。如图 1.1 所示，能抑制细菌生长的抗生素称为抗菌素，如氯霉素；而引起细菌细胞死亡的抗生素称为杀菌素，它能使细菌数量减少，如青霉素。同样一种抗生素有可能是抗菌素也有可能是杀菌素，因使用环境和作用对象而定，因为一些抗生

素能在某些环境下表现抑菌活性，而在另一环境下则表现为杀菌活性。抗生素能杀死微生物细胞的机制在于：抗生素选择性地阻断了微生物细胞代谢中一些关键代谢过程，导致微生物细胞中的一个或多个代谢途径或结构单元损伤，从而启动了细菌死亡的一系列反应过程。

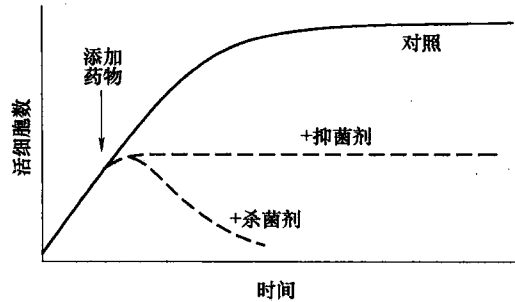


图 1.1 抗菌素和杀菌素对于对数生长期细菌生长的影响 (摘自 Scholar 和 Pratt, 2000, 已经许可)

抗生素主要分为天然存在

和人工合成的两大类。在过去的 60 多年里，大量的抗生素进入临床使用。治疗传染性疾病的抗生素均是天然存在的产物，是由某种微生物在某一特定环境中产生的，它通过改变环境条件以影响其周围的其他微生物，或是调节这些细菌的生长，或是使其消失。天然类抗生素主要由细菌和真菌产生，其中最主要是放线菌，鉴于此，抗生素又可分为抗细菌素和抗真菌素。由于各种分子和细胞的靶点以及微生物细胞的渗透问题上的复杂性和专一性，在治疗上，没有一种有效的人工试剂可以与抗细菌素和抗真菌素相媲美。在医疗上，由于高致病性细菌感染的高发病率和抗细菌药物的数量巨大，形式多样，本书没有囊括抗细菌素和抗真菌素这两个板块，而是将中心内容集中在抗细菌素上。

目前，临床上所使用的主要（典型）的抗生素是天然产物或是天然产物的半合成衍生物。如第二章将要谈及的，临床应用上的三种人工合成抗生素被认为是典型例子：20 世纪 30 年代出现的磺胺类药物、20 世纪 60 年代出现的喹诺酮类药物、2000 年美国批准的噁唑烷酮类药物。本书将把它们与天然抗生素归为一类，以综述其发现与发展历程。另外，人工合成抗生素的目的和出发点比较明确，均来自于药学研究实验室里的药物化学和传染性疾病预防项目。

来源于天然或人工合成的抗生素的发现、临床应用的发展反映了 20 世纪抗生素发展过程的不同方向：一是从药物化学角度以及传统方法来讲，更强调纯化合物所能达到的治疗特异性和实用性。这一方向最典型的代表是磺胺类药物自 20 世纪 60 年后的广泛应用 (Amyes, 2001)；另一重要发展方向则是从自然界分离得到新的抗生素，最典型的例子是分离得到青霉素，从而成功地推动了青霉素类、头孢菌素类、四环素类、链霉素类以及新一代氨基糖苷类、氯霉素、糖肽类、乙基琥珀酸红霉素酯、大环内酯类抗生素的发现及在临床上的广泛应用。

作为两个抗生素发现的典范，它集中体现了新一代 β -内酰胺类抗生素和大环内酯类的半合成变体的衍进。最典型的发展方向是化学科学应用于抗生素工业

从而定向赋予抗生素一些新特性，如口腔生物利用度、增加稳定性、广谱活性和对抗性微生物的有效性。

二、不同种类的抗生素在细菌中的靶点不同

不同结构特性的抗生素，无论是合成的、天然的还是半合成的，在细菌中的抑菌和杀菌的靶点不尽相同（见 Gale, 1981; Russell 和 Chopra, 1996）关于这一点将在下一章作详细的阐述。当在微生物液体培养基中或在合成药物化学项目中发现一种新型抗生素分子时，就需要应用已知的反应机理将其与基准抗生素进行比较。一个新机理发现的过程表明新的作用靶点主要是通过生化分析和检测而得到的。然后，关于靶点的知识和主要抗菌药物的作用机理也需要一定范围的分析，那样才可以作用机理来完成新发现抗菌药物的分类，例如，依据细胞壁生物合成或蛋白质合成的抑制剂进行分类。

新抗生素分子的评价遵循一个典型的分级程序。首先，检测一种新的化合物对平板上的菌株有效，其中的许多病原体来源于临床的分离，而且许多对上一代抗生素都具有抗性。其次，如果一种新的候选抗生素对标记菌株显示了足够的功效，那么这个分子将会在高度感染的动物模型中进行评估，实验动物的特定组织接种了特定的细菌（如血液细菌感染或者说是菌血症），以确定该候选分子起到了保护作用还是治疗作用。然后再利用敏感菌和耐药菌的感染实验，来比较新抗生素与标准抗生素。如果这一新分子通过上述检测，则被当作一种新的研究对象。

三、微生物何时产生抗生素，它们又是如何做到自我保护的呢？

具有抗生素活性的天然产物基本上都是次级代谢产物，它在大多数生长条件下是微生物体内不必要的代谢途径，因为微生物在生长活跃阶段时次级代谢途径相对于初级代谢途径和维持生命的新陈代谢功能来说，是次要的。但是当抗生素生产者进入稳定期，并且面对空间和营养的竞争，它们就启动了编码抗生素分子的基因，并以此限制与它们竞争的微生物的生长或是打一场高水平的化学战。此后抗生素生产者在生长上具有选择优势，包括有权使用它们垂死的竞争者的营养元素，它们对维持抗生素生成途径具有选择压力，并且能在需要时及时打开这些途径。我们将检测在已知细菌之间（个体间的传感）和细菌内部（双组分调节途径）的信号和传感结构来开启对抗生素途径的认知。

产生抗生素的细菌以及真菌需要启动自我保护或者自身免疫机制以保护自身免受这种致死性化学武器的伤害。正如我们将要在第七章中探讨的，它们应用了多种策略。其共同点是：将合成的抗生素从生产者的细胞中释放到细胞外的培养基中，以维持较低的胞内浓度。某些抗生素，如氨基糖苷链霉素、大环内酯竹桃霉素，它们在尚无活性，离最后的催化成熟还有一步之遥时被释放到细胞外，其最后

的催化步骤在细胞外完成。其他抗生素生产者通过改变自身细胞壁的结构，修饰细菌核糖体中蛋白质合成结构的肽基转移酶组分，或是 DNA 复制酶产生脱敏结构突变以保护自身免受分解。也有人认为，这种自我保护机制很有可能与抗生素生物合成途径是共生关系，并且自身保护和抗生素合成基因经常是群生和共同调节的。

四、抗性是如何发展的？

在数百万年里，抗生素由细菌和真菌的某些亚群产生并作用于它们的邻居，进化的压力迫使受攻击的细菌产生抗性机制以求生存。同样的，在抗生素治疗人类传染病的 70 年里，致病菌也无情地发展了，表现在临床上它们对一种接一种的抗生素产生了抗性 (Amyes, 2001; Levy, 1998)。大量的细菌细胞和较短的传代时间促进了突变体的产生。细菌 DNA 复制机制的错误率是 $1/10^7$ ；这就是说，每复制一个长 3×10^6 bp 的包括 3000 个基因的基因组，每代就会出现 0.3 个错误。如果种群中有 10^{11} 个细菌，例如，一个正在接受全身血液细菌感染治疗的病人，他身上就有可能有 1000 个突变体。如果这种变异是在细菌基因组的 1000 个基因中随机分布的，那么每三个中有一个就会发生突变。如果其中之一为幸存者提供了选择优势，例如，当给定的抗生素存在时，具有抗性的细菌就会被选中，当与其相邻的微生物都死了的时候，它们仍然生长，并取而代之。依此推断：细菌群体中抗性的发展是极有可能的。抗生素应用越广，产生抗性的可能就越大，除非该抗性需要多重突变。就如表 1.1 所示，自从 20 世纪 30 年代首次报道的氨苄磺胺抗生素开始，临床上显著的抗生素抗性就在 10~30 年的时间里随之而来。在美国，人们每年要开出 8000 万个抗生素处方，囊括了 12500t 的药物。在大概 50 年的抗生素时代里，生产和发售的抗生素估计达到了 100 万 t，包括那些用于动物和农业的，促进了病原体抗性菌株的显著增长。

表 1.1 抗生素抗性的发展

抗 生 素	发现时间	发现抗性时间
磺胺类药物	20 世纪 30 年代	20 世纪 40 年代
青霉素	1943	1946
链霉素	1943	1959
氯霉素	1947	1959
四环素	1948	1953
红霉素	1952	1988
万古霉素	1956	1988
甲氧西林	1960	1961
氨苄西林	1961	1973
头孢菌素	20 世纪 60 年代	20 世纪 60 年代晚期

来自 Palumbi (2001)，经允许。

第二个抗性产生的必要条件，细菌抗生素抗性对于选择的统计学可能性来说，在机制上是有用的。我们可以这样认为，对于天然存在的抗生素，导致人类疾病的病原菌，其多数不同的抗性机制似乎都是从抗生素生产菌上获得抗性决定簇和结构。病原菌迫于生存压力而获得了抗生素生产菌内在的自我保护策略。合成抗生素一个潜在的优势就是它们不是早已存在于生物圈中的，因此就没有一个内在的耐药机制可以被目标病原菌迅速地获得。尽管如此，现有的酶已经经受重重突变产生对磺胺类药物和甲氧苄啶的抗性（见第六章）。例如，溢流机制在使喹诺酮类抗生素丧失活性中起到重要作用。

五、对新抗生素的持续需求：它们将从何而来？

最近半个世纪的传染性疾病的流行历程其实就是一部新抗生素的发现史，如果该抗生素是有效和安全的，它将被广泛应用，随之而来的是抗性的发展，分子学上的解释详见第十七章。为了抵制这种抗性，医药化学家以具有抗性的病原菌作为目的菌来检测已有抗生素的变体，找到广谱的分子即重新获得能抵制这种抗性菌的抗生素。在 β 内酰胺类抗生素中，这已经导致多重迭代的青霉素结构和一直发展至第四代的先锋霉素，每个代表性的化学修饰体，或是扩展了抗菌谱，或是抵制了正在蔓延的抗药性。在大环内酯类抗生素中，乙琥红霉素紧随着的有扩大抗菌谱的阿奇霉素、克拉仙霉素和酮内酯，广谱制剂也刚进入市场。这些例子是天然抗生素结构的增量变化的产物。

在过去的半个世纪中，另一种看待这一挑战的方法（Palumbi, 2001）是关于治疗葡萄球菌感染的抗生素的进展（图 1.2）。自从 1946 年引进以来，青霉素是几乎普遍有效的。直至 1961 年，半合成氨苄西林仍是处理葡萄球菌感染的 β -内酰胺酶活性的必需药物。到了 1986 年，对于具有甲氧西林抗性的金黄色葡萄球菌，万古霉素是治疗的选择。随后 1999 年的噁唑烷酮类利奈唑胺显示了对多重耐药的葡萄球菌的抑制活性。

有两种类似的鉴别新的具有抗病原菌活性的分子的方法，分别是新抗生素细菌发酵液的持续筛选和源自组合化学途径的大量合成数据库的发展。经过 60 多年的发展，高通量筛选比传统的筛选方法的确少了许多弯路，从大量的未曾培养过的微生物和抗生素组合生物合成途径寻找新的抗生素生物合成基因所做的努力，也许可以证明新的抗生素结构在自然界是存在的。这两种途径都基于同一研究，即许多编码抗生素代谢途径的基因是簇生的，因此可以作为连续的基因组克隆和操作。伴随着官能团的增加和构建的复杂性，合成化合物数据库持续扩大，这也许将成为当前优化新结构骨架的主要来源。

下一部分我们将回顾细菌中主要的有效靶点，这些靶点是主要的抗生素已经发现的作用点。在本书的最后部分，我们将描述在寻找并验证抗生素新靶点方面所做的努力，起源于大概 60 种细菌的全序列基因组的利用度。

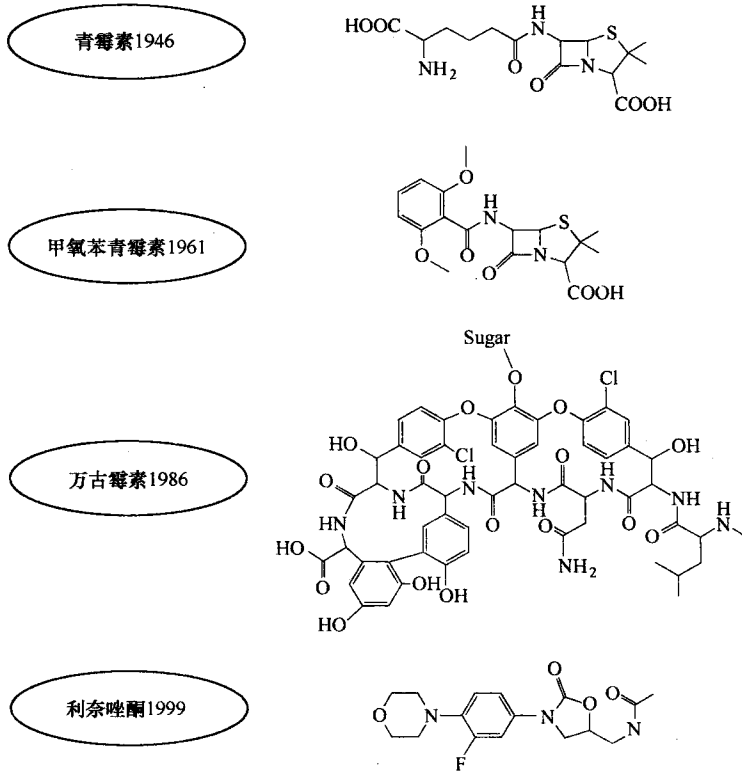


图 1.2 用于治疗葡萄球菌感染的抗生素的进展 (Palumbi, 2001)

六、本文的方法和结构

本书致力于解决以上部分所提出的问题。从治疗人类传染性疾病的主要原因、抗生素的作用机理、主要抗药性的发生发展模式以及最后在新抗生素和替代抗生素的更替规律，来探讨抗生素的起源。

在此章节的介绍之后，第二部分（第二章至第六章）主要围绕抗生素分类和细菌中已经被抗菌药物确定的杀伤靶点，最显著的细胞壁的生物合成，蛋白质的生物合成，DNA 复制和修复，叶酸盐和 RNA 生物生成等。

第三部分（第七章至第十章）介绍抗生素抗性机理。这一部分从分析抗生素产生菌的自我保护机制说起。然后验证 3 种抗性策略——抗生素破坏作用、外排泵作用、抗生素靶点结构修饰。

第四部分（第十一章至第十四章）是针对抗生素生物合成的分子逻辑性的研究。本部分第一章讨论了细菌间的标准信号分子以及双组分调节系统，这个系统能够转换外部信息来有选择地激活基因，进而打开抗生素生物合成途径，从而应对外部环境变化。同时将产生如四环素和红霉素这样的聚酮抗生素的集合线性逻辑

辑与合成如青霉素，万古霉素，杆菌肽这类非核糖体肽抗生素的这一平行的集合线性逻辑进行描述和比较。弄明白这些集合线性的运作模式将成为代谢工程中发现新分子的一个前奏。

第五部分（第十五章至第十七章）对当前发现和主要生产主要抗生素的策略作了一个总结性的讨论，这些策略是通过再检查已确立的靶点和对细菌基因组学的研究来确认一些抗菌靶点的新的基因产物。最后一章讨论了延长抗生素存在的有效寿命和发现新型抗生素的必要性。

第二部分 有效的靶点和抗生素的主要类型

已经确认的靶点和主要的抗生素种类在本部分中（第二章至第六章），我们调查了已被证明对于人类感染疾病有效的主要的抗生素药物种类。将抗生素根据在细胞壁表面和细胞内部的靶点进行分类，主要有四大类：（1）抑制细胞壁的合成（第三章）的 β -内酰胺类抗生素和糖苷类的万古霉素；（2）分别抑制细菌核糖体的30S亚基和50S亚基（第四章）的氨基糖苷类/四环素类和大环内酯类抗生素；（3）喹诺酮类抗生素，如环丙沙星，通过作用于DNA拓扑异构酶使DNA聚合酶与DNA脱离，从而抑制细菌的DNA复制（第五章）；（4）磺胺类和甲氧苄氨嘧啶类药物，可以通过破坏叶酸相关辅酶的合成途径从而抑制DNA的合成，同时阴离子肽类可以破坏膜的完整性（第六章）。