

酶法制备抗生素

蔡润生

(中国科学院药物研究所, 上海)

七十年代以来, 微生物深层发酵技术逐步采用固定化技术实现连续化工艺。已知酒精、醋酸^[1]、 α -淀粉酶^[2]、某些氨基酸以及氰化物的降解都可采用固定化技术或酶工程技术, 达到省料、节能、减少污染的目的。

青霉素和头孢菌素八十年代生产量占总抗生素的76%以上, 生产技术上某些环节已逐步进入生物反应器时代。当前最成功的生物技术是酶法制取半合成青霉素、头孢菌素中间体——6APA和7ADCA。应用最广的是大肠杆菌青霉素酰化酶, 分子量70000, 基因编码约2.7Kb, 克隆到pBR322载体, 每个细胞能扩增50个拷贝, 酶活力约提高6倍^[3]。1960年每公斤大肠杆菌菌体可制备0.5—1kg 6APA, 最近生产水平提高至100—250kg, 不论反应条件, 裂解下脚对环境的污染, 都比化学裂解方法先进^[4]。此外, 真菌中的青霉素V酰化酶目前也已工业化应用^[1,6]。

用微生物酰化酶裂解头孢菌素C至今未被应用, 由青霉素G经过化学法扩环, 经酶水解, 最终只能得到7-氨基去乙酰氧基头孢烷酸7ADCA, 因3位上也被脱酰。7ADCA方法已工业化, 取得巨大经济效益。日本曾报告先用*Trigonopsis variabilis*将头孢菌素C转化为戊二酰7ACA, 然后再用*Comanomas*或*Pseudomonas*脱酰为7ACA。不产素的青霉素酰基

转移酶, 在苯氧乙酸或青霉素V存在下, 可将头孢菌素C转化为7-苯氧乙酰胺基头孢菌酸(V-7ACA), 然后用青霉V酰化酶脱酰为7ACA^[1,7]。

利用 α -氨基酯水解酶(α -amino ester hydrolase)进行脱脂酰化, 合成青霉素, 头孢菌素已逐步成熟, *Pseudomonas KY*的 β -内酰胺酶系被削弱的变种, 能成功地缩合对羟基苯甘氨酸甲酯或其他侧链的酯与7ADCA产生羟苄青霉素或头孢菌素IV(cephalexin), 收率可达85—90%, 固定化系统可连续操作70天, 酶法合成一旦成功, 将对青霉素头孢菌素的生产具有极大的吸引力^[5,6]。

在研究 β -内酰胺类生物合成途径基础上, 近年来已先后发展, 利用青霉菌的菌体或原生质体转化 δ (L- α 氨基己酰)-L-半胱氨酸-D-缬氨酸三肽为异青霉素N; 固定化无细胞体系, 尚含有异构酶、扩散酶等完全系统, 合成五元或六元环。固定化青霉素的泡囊(Vesicle)可连续合成青霉素G达35天。放线菌*Streptomyces clavuligerus*的无细胞制备也可用作合成头孢菌素A(cephamycin A), 可见生物反应可连续地进行抗生素的全合成^[7-9]。

红霉素、泰乐霉素或蒽醌类的苷元, 均可借用具有特殊功能的另一菌种来修饰或缩合其他种糖而产生新抗生素^[10,11]。卡那霉素可用小单孢菌的甲基化系统对

4'位甲基化, 并能在3', 4'位羟基上脱氧而制成混合霉素 (combimicins)^[12]。移植另一菌的功能特点, 制成生物催化器, 对前一菌的产物作结构修饰, 打破用纯种合成一类抗生素能力的限制, 正如化学反应, 能选择地用不同衍生物的合成, 制造新抗生素。

固定化用于短杆菌肽^[13,14]、核昔肽 (Nikkomycin)^[15]、nisin生产成功, 表明抗生素生产技术已向多酶生物反应器化迈进了一步。

参 考 文 献

- [1] *J. Ferm. Technol.* 62:139—149, 1984.
 [2] *Applied Microb. Biotechnol.* 19:301—305, 1984.

- [3] *Biotechnology Vol.1, Chaptet 5*, 1982.
 [4] *Enzyme Microb. Technol.* 5:403—416, 1983.
 [5] *Agric. Biol. Chem.* 47:2503—2509, 1983.
 [6] *Applied Biochem. Biotechnol.* 8:295—302, 1983.
 [7] *Applied Microb. Biotechnol.* 20:115—160, 1984.
 [8] *Can. J. Microb.* 25:1526—1531, 1983.
 [9] *Applied Microb. Biotechnol.* 19:312—315, 1984.
 [10] *Chem. Pharm. Bull.* 30:223—229, 1982.
 [11] *J. Antibiotics* 34:435, 1983.
 [12] *J. Antibiotics* 34:771—781, 1981.
 [13] *Antib. Agens. Chemth.* 15:126—130, 1976.
 [14] *Enzyme Microb. Technol.* 5:403—416, 1983.
 [15] *Applied Microb. Biotechnol.* 19:140—152, 1984.
 [16] *Biotech. Lett.*, 5:503—508, 1983.
 [17] *Biotech. Lett.*, 6:549—554, 1984.