

2011第三届碳青霉烯类药物360°产业论坛

培南类药物生物催化技术研究进展



郑裕国
浙江工业大学
2011-05-26

1

汇报内容

1. 培南类药物及概况
2. 培南类药物最新研究进展
3. 生物催化合成培南药物关键手性源技术
4. 生物催化在培南关键手性源合成中的实践

2

1. 培南类药物及概况

1.1 培南类药物

碳青霉烯(carbapenem)和青霉烯(penem)类抗生素合称为培南类药物，是20世纪70年代发展起来的新型结构β-内酰胺类抗生素，具有超广谱、高效能的抗菌活性。



3

1. 培南类药物及概况

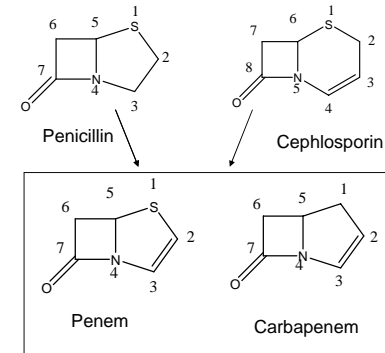


图1. 青霉素类、头孢菌素类、青霉烯类和碳青霉烯类母核结构

Biochem Pharmacol. 2006 Mar 30; 71(7):1085-95.

4

1. 培南类药物及概况

1.2 培南类药物特点

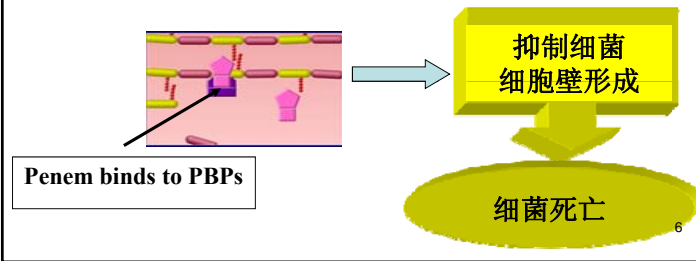
- 抗菌谱广
- 抗菌作用强
- 对多数细菌产生的β-内酰胺酶高度稳定
- 具有抗生素后效应（PAE）



1. 培南类药物及概况

1.3 作用机制

碳青霉烯类抗生素作用机制是与青霉素结合蛋白（PBPs）结合，抑制黏肽转肽酶，使其催化的转肽反应不能进行，从而抑制细胞壁形成，导致细菌死亡。



1. 培南类药物及概况

1.4 在临床上的使用

- 呼吸系统感染
- 血液系统感染
- 泌尿生殖系统感染
- 腹内感染
- 皮肤与软组织感染
-

7

1. 培南类药物及概况

1.5 上市情况

表1 国内外已上市的培南类抗生素

序号	中文通用名	英文通用名	首次上市时间	供应商
1	亚胺培南	Imipenem	1985年	Merck & Co
2	帕尼培南	Panipenem	1994年3月	Daiichi Sankyo
3	美罗培南	Meropenem	1995年1月	Dainippon Sumitomo Pharma
4	法罗培南	Faropenem	1997年9月	Daiichi Sankyo
5	厄他培南	Ertapenem	2002年4月	Merck & Co
6	比阿培南	Biapenem	2002年6月	Wyeth
7	多尼培南	Doripenem	2005年9月	Shionogi
8	泰比培南酯	Tebpenem	2009年5月	Meiji Seika

（数据来源：Pharmaproject数据库，更新时间为2010年4月）

8

2. 培南类药物研究进展

➤ 当前研究重点和方向

- 寻求抗耐甲氧西林金葡球菌（MRSA）、铜绿假单胞菌等G⁺耐药活性有所增强的新抗生素；
- 探索半衰期长，对中枢神经系统毒性小的新碳青霉烯类抗生素；
- 发展酯型前体的口服药物；
- 采用化学-酶法相结合，改造原有生产的工艺路线。

9

2. 培南类药物研究进展

➤ 近年上市的培南类药物

厄他培南	多尼培南
比阿培南	泰比培南酯

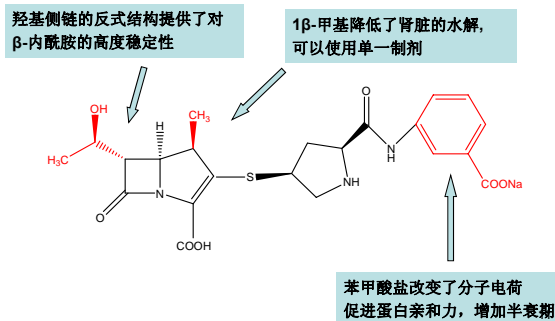
➤ 研发中的培南类药物

DX-8739	CL-191121
IIb	L-695256
SM-17466	L-786392
SM-216601	

10

2.1 近年上市的培南类药物

➤ 厄他培南（Ertapenem）



2.1 近年上市的培南类药物

➤ 厄他培南（Ertapenem）

➤ 由美国Merck公司开发，于2002年6月首次在美国上市。

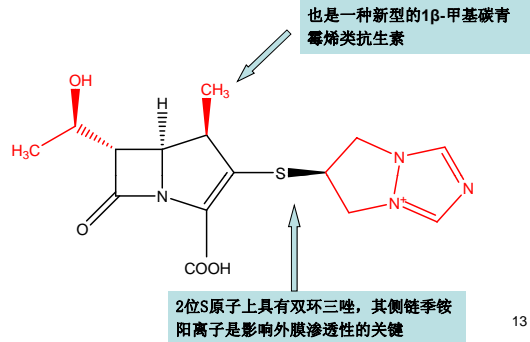
➤ 特点：抗G⁺菌的活性不如亚胺培南；抗G⁻菌（除铜绿假单胞菌）的活性优于亚胺培南。

➤ 适应症：治疗细菌性感染，包括肺炎、腹部感染、皮肤及皮肤结构感染、尿路和妇产科感染。

12

2. 培南类药物研究进展

➤ 比阿培南 (Biapenem)



2.1 近年上市的培南类药物

➤ 比阿培南 (Biapenem)

➤ 由美国惠氏 (Wyeth) 开发，2001年授权日本明治治果 (Meiji Seika) 制药株式会社，于2002年6月首次在日本上市。

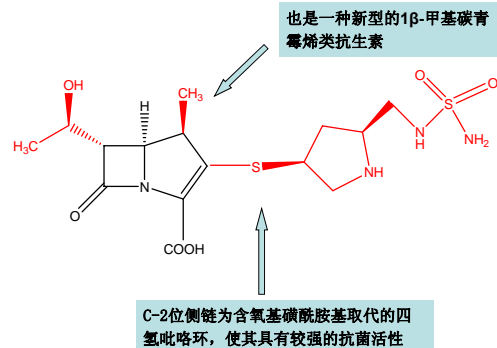
➤ 特点：对DHP-I比美罗培南稳定；对G⁺的活性不如亚胺培南，但优于美罗培南；对G⁻的活性不如美罗培南，但优于亚胺培南。

➤ 适应症：治疗成人腹腔感染、呼吸道感染和尿路感染。

14

2.1 近年上市的培南类药物

➤ 多尼培南 (Doripenem)



2.1 近年上市的培南类药物

➤ 多尼培南 (Doripenem)

➤ 由日本盐野义公司开发，2005年7月首次在日本上市。

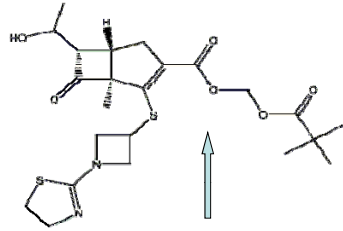
➤ 特点：对 β -内酰胺酶与DHP-I稳定；对G⁺和G⁻菌的活性比较均衡，都具有较强的拮抗作用，包括铜绿假单胞菌。

➤ 适应症：治疗泌尿系统、呼吸系统和腹腔感染等。

16

2.1 近年上市的培南类药物

➤ 泰比培南酯 (Tebpenm)



为酯型前药，口服吸收好，是首个口服碳青霉烯类高端抗生素

17

2.1 近年上市的培南类药物

➤ 泰比培南酯 (Tebpenm)

➤ 由惠氏公司开发，2009年5月首次在日本上市。

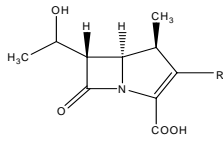
➤ 口服碳青霉烯类抗生素前药，在小肠粘膜可以转化为活性代谢产物。

➤ 特点：抗菌活性等同于亚胺培南，对G⁺菌和G⁻菌具有广谱的抗菌活性，尤其对肺炎链球菌等G⁺菌有很强活性。

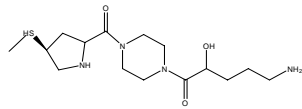
18

2.2 研发中的培南类药物

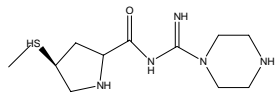
➤ 2.2.1 吡咯烷硫基取代的培南类药物



母核



DX-8739 抗铜绿假单胞菌活性强

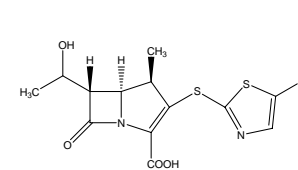


IIb 抗MRSA活性强

19

2.2 研发中的培南类药物

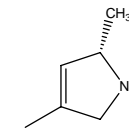
➤ 2.2.2 噻唑硫基取代的培南类药物



母核



SM-17466 抗MRSA活性强，
抗铜绿假单胞菌活性较弱

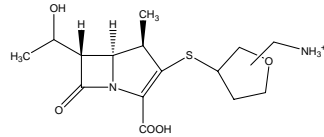


SM-216601 抗MRSA活性强

20

2.2 研发中的培南类药物

2.2.3 四氢咪喃硫基取代的培南类药物



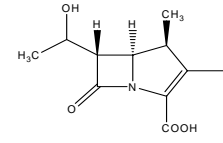
CL-191121

对β-内酰胺酶稳定，具有良好的抗菌活性，抗G⁺菌活性优于比阿培南与美罗培南，抗G⁻菌活性优于亚胺培南。

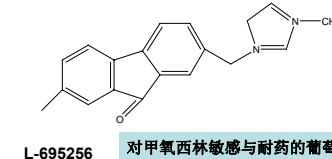
21

2.2 研发中的培南类药物

2.2.4 芳基与杂环取代的培南类药物

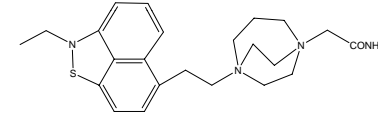


母核



L-695256

对甲氧西林敏感与耐药的葡萄球菌都有较强的活性，但抗G⁻菌较差



L-786392

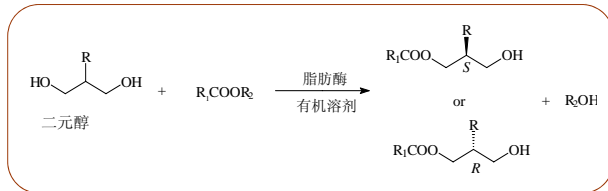
抗MRSA活性强

22

3. 生物催化合成培南药物关键手性源技术

生物催化合成培南关键手性源的途径分析

脂肪酶 (EC 3.1.1.3)



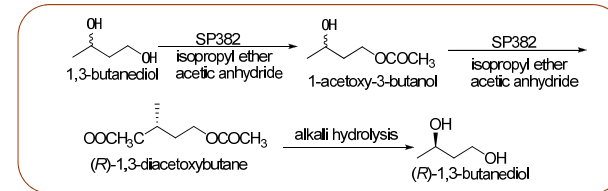
- 脂肪酶可对消旋化合物选择性酯化，不需要辅助因子，大多可作用于非天然底物，并表现出高度的立体选择性。

23

3. 生物催化合成培南药物关键手性源技术

生物催化合成培南关键手性源的途径分析

脂肪酶 (EC 3.1.1.3)



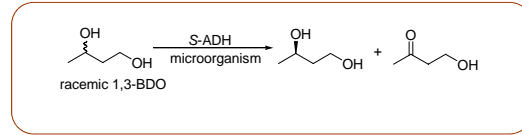
- Eguchi等利用固定化SP382脂肪酶(*Candida sp.*)重复催化双酰化反应拆分(R,S)-1,3-丁二醇工艺，光学纯度达98%以上。

24

3. 生物催化合成培南药物关键手性源技术

生物催化合成培南关键手性源的途径分析

氧化还原酶



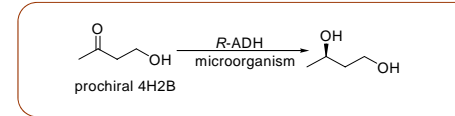
日本大赛瑞公司报道了利用近平滑假丝酵母 (*Candida parapsilosis* IFO 1396) 拆分外消旋体制备(R)-1,3-丁二醇, 光学纯度达到94%, 得率达到48%。

25

3. 生物催化合成培南药物关键手性源技术

生物催化合成培南关键手性源的可能途径

氧化还原酶



日本大赛瑞公司利用乳酸克鲁维酵母 (*Kluyvermyces lactis* IFO 1267) 不对称还原手性4-羟基-2-丁酮制备(R)-1,3-丁二醇, 光学纯度达到93%, 得率达到99%。

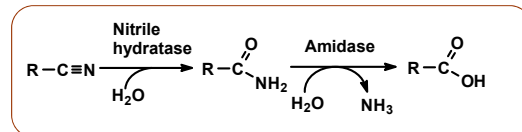
以上两种反应途径得率高, 但立体选择性较低, 难以满足药物合成需求。

26

3. 生物催化合成培南药物关键手性源技术

生物催化合成培南关键手性源的途径分析

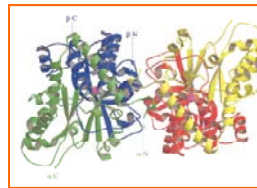
腈转化酶



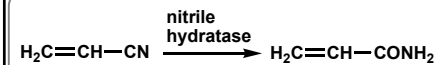
- 腈转化酶酶源丰富, 活力较高;
- 腈转化酶的底物腈易于合成, 原料成本低。

27

◆ 腈水合酶(Nitrile hydratase, EC 4.2.1.84)

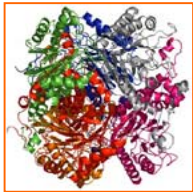


- 以 Co^{2+} 或 Fe^{2+} 为辅基的金属酶;
- 亲和性强, 催化效率高;
- 大规模应用于大宗化学品工业化生产成功范例;

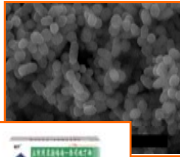



28

酰胺酶(Amidase, EC 3.5.1.4)



- 立体选择性严格，底物谱宽；
- 制备手性化合物的工具酶；

29

3. 生物催化合成培南药物手性源的关键技术

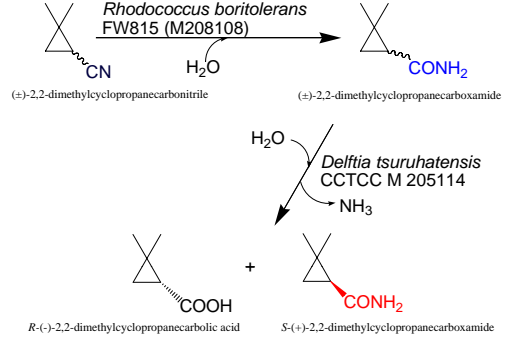
生物催化合成培南关键手性源的优势

- 微生物酶源丰富，活力较高；
- 立体选择性高；
- 反应条件温和；
- 酶能催化的反应范围很广；
- 环境友好。

生物酶是合成培南药物关键手性源的重要工具之一！

31

生物催化法生产(S)-(+)-2,2-二甲基环丙甲酰胺



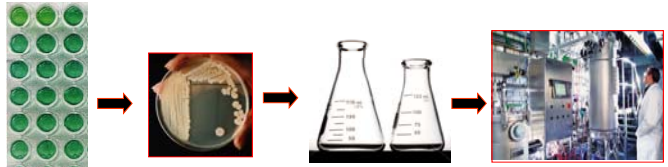
30

1. 脞水合酶催化(±)-2,2-二甲基环丙甲脞水合制备(±)-2,2-二甲基环丙甲酰胺；
2. R-脞胺酶拆分(±)-2,2-二甲基环丙甲酰胺制备(S)-(+)-2,2-二甲基环丙甲酰胺。

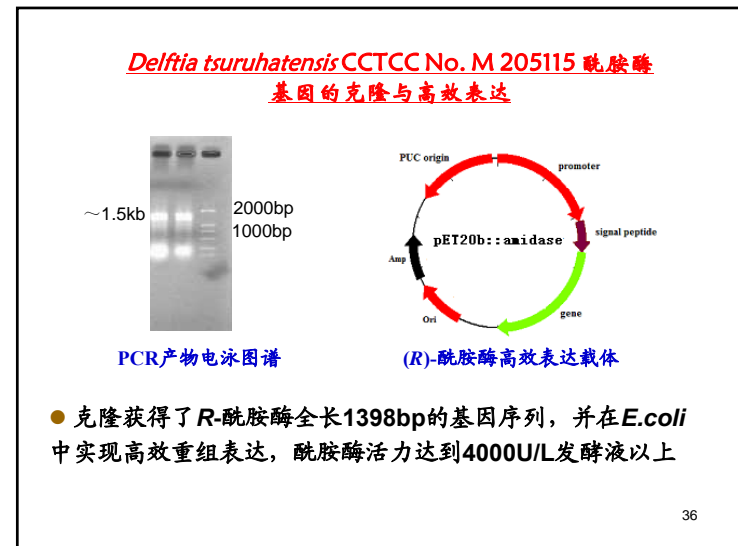
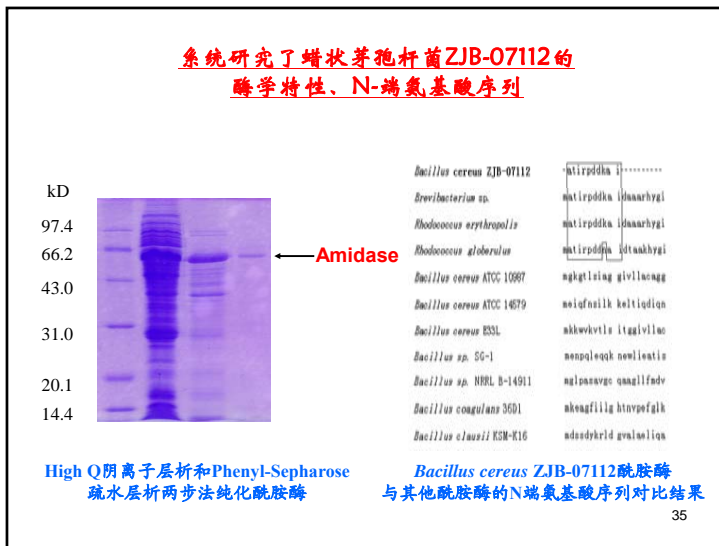
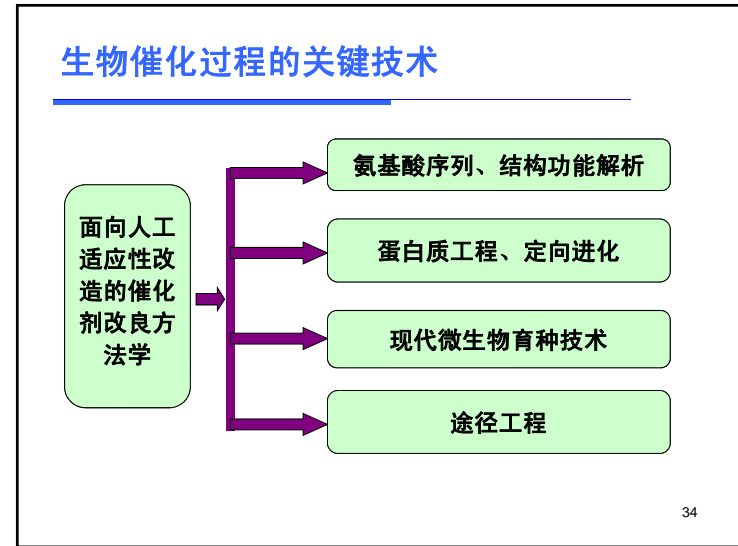
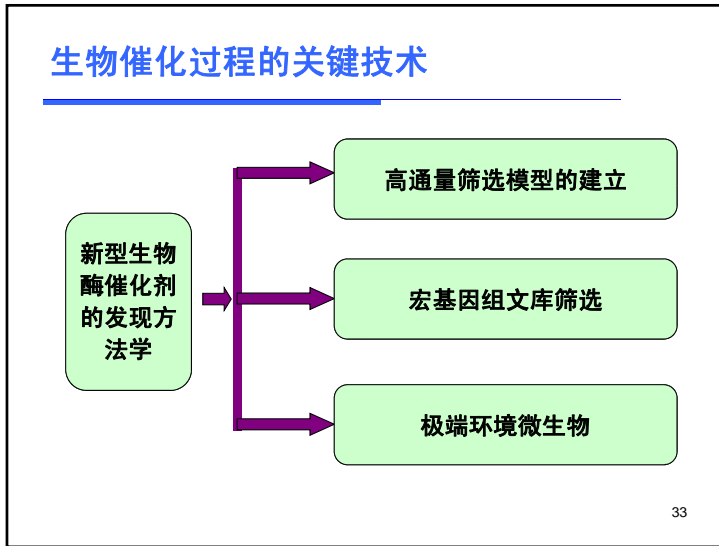
3. 生物催化合成培南药物手性源的关键技术

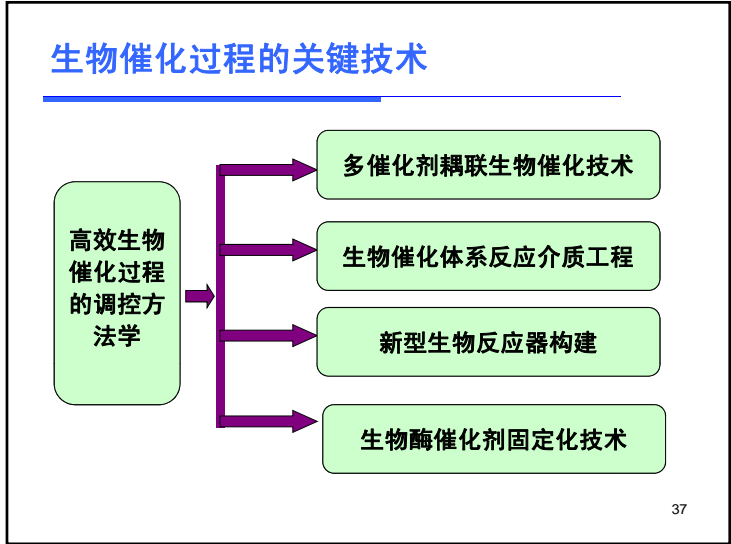
生物催化过程的关键技术

- 新型生物酶催化剂的发现方法学；
- 面向人工适应性改造的催化剂改良技术；
- 高效生物催化过程的调控技术；



32





4. 生物催化在培南关键手性源合成中的应用

4.1 脞水合酶/酰胺酶双酶耦联法生产(S)-2,2-二甲基环丙甲酰胺

西司他丁钠

- 亚胺培南/西司他丁的复配——泰能，是抗重症感染治疗的首选药物
- (S)-2,2-二甲基环丙甲酰胺是关键手性中间体

38

二甲基环丙烷骨架具有特殊的键角和刚性平面结构，其衍生物的合成一直是手性技术的难题。

现有技术的缺陷

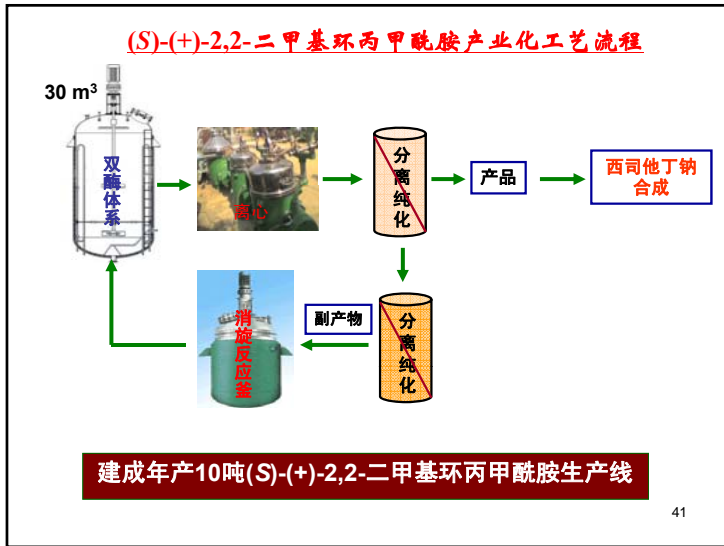
- 合成步骤长，收率低
- 手性拆分试剂昂贵，成本高
- 有毒有害原材料使用量大
- 光学纯度难以达到药物合成要求

39

开发了双酶耦联生物催化合成新工艺

- 创建了脞化合物生物催化合成手性二甲基环丙烷骨架化合物的新方法
- 首创了(S)-2,2-二甲基环丙甲酰胺脞水合酶、酰胺酶两步酶法新工艺，实现高效、高立体选择性手性合成

40



4.1 双酶耦联法生产(S)-2,2-二甲基环丙甲酰胺

与传统工业化化学法比较

比较内容	化学法	本技术
反应步骤	8步	2步(双酶一锅法)
反应条件	多步反应条件苛刻	25-30 °C
收率	10%左右	47%以上
有机溶剂使用	氯化亚砷、氯仿、二氯甲烷、乙醚、甲醇等	丙酮等少量三类溶剂
固废	5吨/吨产品	少量菌体
废水	2000吨/吨产品	300吨以下

42

我国第一套利用脲转化酶生产手性化学品的工业化装置!

国际上第一条化学-酶法生产亚胺培南/西司他丁钠的产业化生产线!

43

4. 生物催化在培南关键手性源合成中的应用

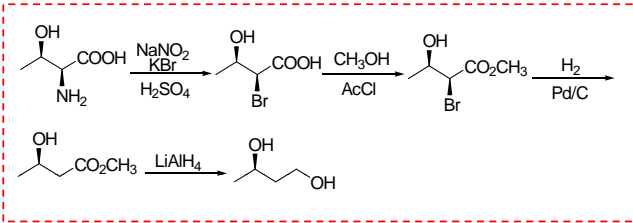
4.2 生物转化法制备培南类药物关键手性中间体(R)-1,3-丁二醇

● (R)-1,3-丁二醇是培南类药物母核氮杂环丁酮(4AA)的关键手性中间体

44

4.2 生物转化法制备 (R)-1,3-丁二醇

化学合成法生产(R)-1,3-丁二醇工艺的途径1

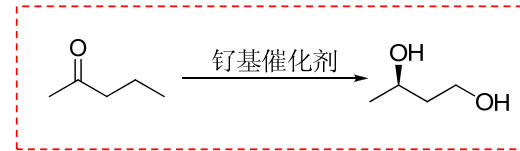


以L-苏氨酸为原料，在KBr条件下亚硝化脱氨，再经甲酯化、氢解脱溴和还原等4步反应制备(R)-1,3-丁二醇。该工艺原料成本高，有毒有害原辅料用量大，收率不高。

45

4.2 生物转化法制备 (R)-1,3-丁二醇

化学合成法生产(R)-1,3-丁二醇工艺的途径2



Ru-BINAP催化4-羟基-2-丁酮不对称加氢还原技术，收率达99%。但该手性催化剂制备成本高，回收利用困难，无法实现规模化生产。

46

4.2 生物转化法制备 (R)-1,3-丁二醇

开发了生物催化不对称还原制备(R)-1,3-丁二醇工艺



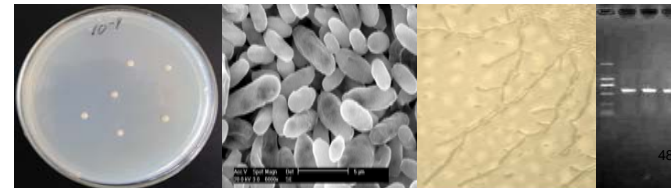
● 以潜手性4-羟基-2-丁酮为底物，利用生物催化剂不对称还原制备(R)-1,3-丁二醇，实现高效、高立体选择性手性合成。

47

4.2 生物转化法制备 (R)-1,3-丁二醇

研究结果

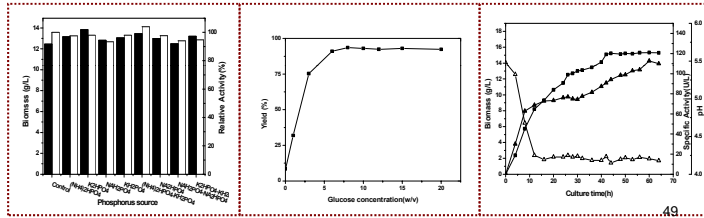
- 筛选得到一株能够高效、高立体选择性不对称还原4-羟基-2-丁酮生成(R)-1,3-丁二醇的菌株ZJB-09162；
- 通过形态学、生理生化鉴定、18S rDNA 和系统发育分析，最终确定该菌株为克鲁斯假丝酵母(*Candida krusei*)。



4.2 生物转化法制备 (R)-1,3-丁二醇

研究结果

- 优化发酵工艺，提高了生物催化剂活性和立体选择性；
- 采用高效生物催化过程的调控方法学，对生物催化过程进行监测和优化，大幅度提高了产物的收率和光学纯度。



浙江工业大学

谢谢大家!

