

## 微生物法生产井冈霉醇胺技术

井冈霉醇胺(Valiolamine)是氨基环醇类化合物,是假氨基糖类糖水解酶抑制剂的核心结构。许多假氨基糖酶抑制剂类药物,如降糖药阿卡波糖、伏格列波糖的结构中,都含有井冈霉烯胺(Valienamine)和井冈霉醇胺的结构。同时,井冈霉烯胺也是生物农药井冈霉素(Validamycins)的组成结构。用微生物酶解的方法,裂解井冈霉素的C-N键,生产井冈霉烯胺,不仅可以促进井冈霉素产业的发展,而且可以生产高附加值的医药或农药中间体。

本项目从井冈霉素出发,用微生物酶催化技术,裂解井冈霉素的C-N键,得到井冈霉素的分解产物井冈霉烯胺,再进行生物和化学组合衍生制备井冈霉醇胺,为酶抑制剂类的生物医药或农药提供中间体和原料。

### 一、攻关任务、完成指标及水平

本项目在10m<sup>3</sup>发酵罐上进行了井冈霉素酶解试验,构建相应的分离、提取、纯化中试生产线,得到井冈霉醇胺产品。

攻关完成的主要内容包括:①选育得到了井冈霉素微生物酶解菌株,考察了菌种的稳定性;②对微生物菌种进行诱变处理,考察了诱变处理对微生物菌种遗传特性的影响;③优化井冈霉素微生物酶解的工艺条件,得到较佳的微生物酶解工艺路线;④进行井冈霉烯胺和井冈霉醇胺的提取、分离和纯化的工艺路线研究,以及井冈霉烯胺化学法衍生提取、纯化的研究,获得纯度符合市场要求的井冈霉醇胺产品,得到较佳的提取分离工艺路线;⑤建立和完善井冈霉烯胺和井冈霉醇胺的分析、检测方法,对微生物酶解过程和提取分离进行有效监控;⑥构建井冈霉素微生物酶解的中试生产线,考察底物、产物对酶解过程的影响。

本项目关键技术取得重大突破:筛选得到了能有效裂解井冈霉素的微生物高产新菌种,经过诱变,井冈霉素的转化率大幅度提高,在工程放大试验中得到较高的发酵收率。在分离提取技术中,解决了井冈霉烯胺和醇胺的分离难题,得到较高的提取收率。构建了10m<sup>3</sup>发酵罐生产井冈霉醇胺的中试生产线。

### 二、国内外研究进展

井冈霉素是氨基糖苷类农用抗生素,主要成分由A、B、C、D、E、F等组分组成,其中A组分对水稻纹枯病的活性最强,C和D组分几乎无效。从井冈霉素A的结构中可以发现,井冈霉素A是由含有井冈霉烯胺、井冈霉胺和β-D-葡萄糖等结构组成。通过微生物酶的作用,断裂井冈霉素C-N键可以制得环醇类化合物井冈霉烯胺和井冈霉胺。国外有报道称,已经发现一些微生物能够代谢产生断裂井冈霉素C-N键的裂解酶,如假单孢菌(*Pseudomonas denitrificans*)和短杆菌(*Flavobacterium saccharophilum*)等,但国内无相关报道。

以井冈霉素为原料,微生物法生产井冈霉烯胺,经组合衍生,生产伏格列波糖中间体——井冈霉醇胺,具有底物价格低、产物附加值高等优点。本课题组筛选了微生物酶解井冈霉素生产环醇类物质井冈霉烯胺和井冈霉醇胺的微生物菌株,对裂解结构做了分析和鉴定。在国内还未见有关微生物酶解制备井冈霉素制备环醇类物质的研究报告。糖苷酶抑制剂降糖药是一种使用较为广泛的医药产品,如阿卡波糖,国内有400万糖尿病患者在使用此药。本项目提出用生物技术法制备环醇类物质来合成糖苷酶抑制剂降糖药,是一条低成本、低污染的新工艺。

### 三、工艺流程及效益分析

工艺路线如下:

斜面→摇瓶→过滤→提取分离→化学法衍生→浓缩→结晶→干燥→产品

本项目建成了 150kg/a 井冈霉醇胺的中试生产线，在中试生产线上已经生产了的井冈霉醇胺，为许多厂商提供了样品，用于糖尿病药物的开发研究，取得了一定的经济效益。

从井冈霉醇胺作为糖尿病药物的应用上分析，其需求量将会更大。在治疗糖尿病的三大类药物（磺脲类、双胍类、酶抑制剂类）中，糖苷酶抑制剂药物由生物方法合成，其降血糖性能好，副作用小，深受患者欢迎。