

## 专题报道

## 自主井冈霉素再创新 催化其产业链式升级

——2008年度国家科学技术奖励项目专题报道(四)



郑裕国教授

井冈霉素是防治水稻纹枯病的必用农药。从20世纪70年代研制成功至今,生物农药“井冈霉素”仍然是我国防治水稻纹枯病的最好农药,年产量达几十万吨。浙江工业大学的科研人员以我国自主开发的井冈霉素为原料,攻克了系列关键难题,成功开发了高纯度井冈霉素生物催化生产井冈霉醇胺的产业化技术,建成了国内外生产能力最大的新产品井冈霉醇胺和高纯度井冈霉素生产线,实现了规模化生产,井冈霉醇胺作为关键中间体用于生产新一代酶抑制剂类糖尿病治疗药物,高纯度井冈霉素是生物农药新规格高端品种。此举打破了国外技术和市场的垄断,产品出口国际市场,高纯度井冈霉素国内外市场占有率第一,显著提升了国内生产厂家的国际竞争力及在该领域的影响力。促进了井冈霉素产业的升级。该项目由此获得2008年度国家技术发明二等奖,本刊记者就该技术的关键和应用等问题对项目负责人郑裕国教授进行了专访。

记者问:开发高纯度井冈霉素生物催化法生产高附加值产品井冈霉醇胺生产新方法,可以拓宽井冈霉素新的用途,有效降低糖苷酶抑制剂类糖尿病药物的生产成本,该项目创新技术是在什么样的背景下发展起来的?需要解决哪些关键技术?

郑裕国教授:井冈霉素是我国自主发明并大规模生产的第一个生物农药。由于井冈霉素具有无毒、高效、安全、使用方便、无抗药性、药效长、用量小等诸多优点,迅速成为防治水稻纹枯病的首选农药。

分析井冈霉素A的结构,可以发现其包含多个氨基环醇类化合物:井冈霉亚基胺A、井冈霉烯胺和井冈霉胺,可以先利用 $\beta$ -糖苷酶水解井冈霉素A中的 $\beta$ -糖苷键,得到井冈霉

亚基胺A,再利用C—N裂解酶裂解井冈霉亚基胺A中的C—N键,得到产物井冈霉烯胺和井冈霉胺,它们在开发酶抑制剂类的生物医药方面有重要应用,可以用来开发新一代糖苷酶抑制剂类糖尿病治疗药物——伏格列波糖。然而,本项目实施前,发酵效价不到10 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。发酵液中含有井冈霉素A、B、C、D、E、F、G、H等8种结构类似物,由于有效组分A的比例小,提高其纯度难度非常大,长期以来,井冈霉素一直以混合物形式的低纯度粗制品供应国内市场。有效组分A含量低、纯度低。在其后的生产过程中,由于技术原因,发酵效价和产品纯度一直得不到提高,导致根本无法满足下游产品井冈霉醇胺开发的需要。

为此,开发高纯度井冈霉素生物催化生产井冈霉醇胺的产业化生产技术,建立井冈霉醇胺和高纯度井冈霉素的生产方法,开发新产品、打开国际市场,显得十分迫切和必要,可以实现生物农药到生物医药的延伸,增强企业的竞争力,提升行业的技术水平,对促进我国糖苷酶抑制剂类糖尿病药物的开发和具有自主创新显著特色的生物农药骨干品种井冈霉素的更大发展具有十分重要的意义。

(1)生物催化法生产井冈霉醇胺的关键技术之一:获得高纯度的井冈霉素作为生物催化底物。长期以来,由于井冈霉素发酵单位和发酵液中A组分比例难以提高,使得分离的难度大、收率低、能耗大和废水排放量大,导致井冈霉素一直以粗制品供应国内市场。因此,高纯度井冈霉素的产业化生产需要进行一系列的技术开发:①创建高通量微生物筛选技术,获得井冈霉素高产菌种,有效降低发酵过程的原料和能源消耗量;②建立井冈霉素发酵过程的调控技术,提高发酵液中井冈霉素A组分含量和比例,减轻分离难度;③建立井冈霉素提取分离新工艺,提高井冈霉素A的收率和产品质量,有效减少分离过程的能耗和废水排放。

(2)生物催化法生产井冈霉醇胺的关键技术之二:获得高效裂解井冈霉素A的微生物菌株,创建生物催化、产物分离新工艺。创建井冈霉素的生物催化水解裂解和井冈霉醇胺生产的工艺新路线,获得符合制备糖尿病新一代治疗药物伏格列波糖要求的关键中间体,高效裂解井冈霉素A微生物菌株的筛选、生物催化、产物分离等方面的技术开发面临诸多创新性

的技术挑战,需要进行一系列的技术创新,建立井冈霉素高产菌和裂解菌的高通量筛选和育种技术和产物检测新方法,提高微生物选育的速度,获得可以应用于大规模生产的新菌株;从实验室试验、中试到产业化试验,研究井冈霉醇胺和高纯度井冈霉素新一代生产技术,建立微生物筛选育种、生物催化、提取分离新工艺,实现井冈霉醇胺和高纯度井冈霉素的产业化生产。

记者问:该项目技术成功解决了井冈霉醇胺和高纯度井冈霉素大规模生产的技术瓶颈,都在哪些方面有所创新和提高?

郑裕国教授:(1)课题组攻克了系列关键技术难题,创建了酶抑制显色反应与产物快速检测相结合的井冈霉素裂解菌高通量筛选技术,首次筛选到能够高效裂解井冈霉素的嗜麦芽寡养单胞菌、粪产碱菌、荧光假单胞菌、产酸克雷伯菌等,已保藏于中国典型培养物保藏中心。建立了工业微生物高效育种技术,显著提高井冈霉素 C—N 裂解酶活力、选择性和稳定性。(2)利用筛选得到的新菌株作为催化剂,建立了与菌种生物学、催化特性相匹配的细胞培养与水解、裂解同步技术工艺;流加补料细胞培养与水解、裂解同步技术工艺;多酶同步催化技术工艺;解除了底物的抑制,显著提高了底物的转化率和产物的浓度。(3)建立了高纯度井冈霉素裂解产物的分离新技术。首次采用大孔树脂与强碱排斥层析树脂联用技术,实现了相对分子质量只相差 2、结构和性质非常相似的井冈霉烯胺和井冈霉胺的分离,得到高纯度井冈霉烯胺和井冈霉胺的产品,解决了分离难题,并实现了规模化生产,步骤少、收率高。(4)根据井冈霉素生物活性作用原理,创建了酶抑制透明圈平板高通量筛选模型,利用等离子-紫外-化学交叉菌种选育技术,成功选育出性能稳定的高产菌株,井冈霉素 A 100 t 罐发酵效价高达 30 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上,成为全球发酵单位最高的农用抗生素,其发酵时空产率居所有抗生素之最。首次将新型大孔吸附树脂和高浓度碱法再生技术应用于井冈霉素的

提取分离上,井冈霉素的纯度和收率大幅度提高,A 含量高达 60%~90%,产品收率高达 67%以上,能耗和废水排放量减少 20%以上。

记者问:该项目建成了国内外产业化规模和生产能力最大的高技术新产品井冈霉醇胺和高纯度井冈霉素生产线,并实现了规模化生产,对我国行业的发展和产品的出口起到什么样的推动作用?

郑裕国教授:本项目产品质量优于国外同类产品,生产成本为国内外最低。通过高纯度井冈霉素生物催化生产的井冈霉醇胺具有很强的糖苷酶抑制活性,是合成新一代糖尿病治疗药物的关键中间体,用于合成伏格列波糖。井冈霉醇胺产业化技术的开发成功,可以促进糖尿病药物的快速发展,市场前景十分广阔。高纯度井冈霉素为井冈霉素下游新产品开发提供了原料,同时也形成了生物农药新规格高端产品,由于纯度和质量的提高,使井冈霉素安全、无毒、高效、廉价、用量小、无抗药性等诸多优点更加突出,在农业和植保中的应用领域也进一步拓宽,使其除了用于防治水稻文枯病以外,还可以用于防治小麦赤霉病、小麦白粉病、梨树黑星病、治番茄灰霉病、油菜菌核病等、鱼类烂腮病、果树上的轮纹病等、蔬菜的根腐病等,销量将会呈上升趋势。由于质量优于国外同类产品,成本国内外最低,井冈霉醇胺和高纯度井冈霉素产品得到国内外用户的好评,热销美国、西欧、南美和东南亚地区,高纯度井冈霉素国内外市场占有率居第一,市场份额还在进一步扩大。

高纯度井冈霉素生物催化生产井冈霉醇胺的产业化技术开发,不仅为酶抑制剂类生物医药中间体的生产提供了原料,有效降低糖苷类抑制剂类糖尿病药物的价格,而且提高了井冈霉素产品的质量、附加值,形成了井冈霉素生物农药的新规格高端产品,出口国际市场,促使井冈霉素产业的升级,形成了我国具有明显自主创新特色的民族品牌产品井冈霉素新的增长点。未来几十年,民族品牌骨干产品井冈霉素经久不衰的局面将会持久下去。(本刊记者:童志勇)

(上接第 89 页)

- [20] An Q F, Qian J W, Zhao Q, *et al.* Polyacrylonitrile-block-poly(methyl acrylate) membranes: 2. Swelling behavior and pervaporation performance for separating benzene/cyclohexane[J]. *Journal of Membrane Science*, 2008, 313(1/2): 60-67.
- [21] Wolinska-Grabczyk A. Effect of the hard segment domains on the permeation and separation ability of the polyurethane-based membranes in benzene/cyclohexane separation by pervaporation[J]. *Journal of Membrane Science*, 2006, 282(1/2): 225-236.
- [22] Zhao Q, Qian J, An Q, *et al.* Studies on pervaporation characteristics of polyacrylonitrile-b-poly(ethylene glycol)-b-polyacrylonitrile block

copolymer membrane for dehydration of aqueous acetone solutions[J]. *Journal of Membrane Science*, 2008, 311(1/2): 284-293.

- [23] 芦艳,于水利,蔡报祥.高分子有机膜改性技术研究进展[J]. *现代化工*, 2004, 24(S1): 84-86.
- [24] Frahn J, Malsch G, Matuschewski H, *et al.* Separation of aromatic/aliphatic hydrocarbons by photo-modified poly(acrylonitrile) membranes[J]. *Journal of Membrane Science*, 2004, 234(1/2): 55-65.
- [25] Khayet M, Nasef M M, Mengual J I. Radiation grafted poly(ethylene terephthalate)-graft-polystyrene pervaporation membranes for organic/organic separation[J]. *Journal of Membrane Science*, 2005, 263(1/2): 77-95. ■