

HMG-CoA 还原酶抑制剂及其生物转化

于海 方慧英 诸葛健

(江南大学教育部工业生物技术重点实验室,无锡,214036)

摘要 对 HMG-CoA 还原酶抑制剂作用、发现和发展过程进行了总结,同时也对几种 HMG-CoA 还原酶抑制剂的微生物转化进行了归纳。

关键词 HMG-CoA, 酶抑制剂, 微生物转化

胆固醇含量的升高是冠心病发生的主要原因, HMG-CoA 还原酶抑制剂在降低胆固醇的药物中是最有效和比较安全的,因而得到广泛应用。HMG-CoA(羟甲基戊二酰辅酶 A, 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme)还原酶是催化 HMG-CoA 转化成羟甲基戊酸,也是肝内合成胆固醇的限速酶之一。因此可有效地减少或阻断体内胆固醇的合成,达到防治高血脂的目的。HMG-CoA 还原酶抑制剂和 HMG-CoA 是 HMG-CoA 还原酶的竞争性抑制剂^[2],前者的抑制能力要高于后者的结合能力 10 000 倍以上^[3]。现在临床上用的 HMG-CoA 还原酶抑制剂有美伐他汀(mevastatin)、洛伐他汀(lovastatin)、普伐他汀(pravastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、阿托伐他汀(atrovastatin)和西立伐他汀(cerivastatin)等等。其中美伐他汀、洛伐他汀是微生物产生的,普伐他汀是在微生物作用下将美伐他汀羟基化形成的。辛伐他汀是半化学合成的(底物是洛伐他汀),其余的全是化学合成的。

现在研究发现 HMG-CoA 还原酶抑制剂可防治中风^[4]、促进骨的形成^[5]和治疗骨质疏松症^[6],它也能降低病人的 C-活性蛋白(CRP)的血浆浓度,一些最新结果也进一步证实长期使用他汀类药物通过消炎减少心血管疾病的发生^[7]。HMG-CoA 还原酶抑制剂可降低 HFH(家族性高胆固醇血症病人)的 TC(总胆固醇)和 LDL(低密度脂蛋白)的水平,有效延缓动脉粥样硬化的进展^[8,9];他汀

类药物还具有非降脂的作用^[10]。现在又对 HMG-CoA 还原酶抑制剂的空间结构和作用机理有了更深入的研究^[1]。因此研究 HMG-CoA 还原酶抑制剂对治疗一些疾病尤为重要,它的优势正在逐渐体现出来^[11]。有学者认为对 HMG-CoA 还原酶抑制剂的研究是 21 世纪的一个新课题,不亚于当年青霉素的发现^[12]。

1 HMG-CoA 还原酶抑制剂发现

Endo 在 1971 年寻找通过微生物生产治疗胆固醇的药物时,从 6 000 多株中筛选出一菌株(*Penicillium citrinum*),它的提取液具有抑制 HMG-CoA 还原酶的作用,称之为 ML-236H(compactin, mevastatin)^[3];将提取液进行分离和提纯,最终确定其结构(图 1),在医学上称之为美伐他汀,又名美瓦停。其他一些研究者证实它在哺乳动物与高胆固醇血症患者中都有明显的降低血清中总胆固醇水平的作用。后因在日本谣传它能使狗的小肠发生形态学上的改变而停止临床应用^[13]。

1976 年,Endo 研究小组将美伐他汀样品和一些相关数据无偿提供给 Merck 公司,通过动物试验得出相同的结论。不久以后,该公司从土壤中分离到 *Aspergillus terreus*,它能产生美伐他汀的类似物——洛伐他汀(lovastatin,乐瓦停,美降之),发现它的抑制效果优于美伐他汀^[14,15],并能明显降低血清中

第一作者:博士研究生,讲师。

收稿日期:2001-12-31

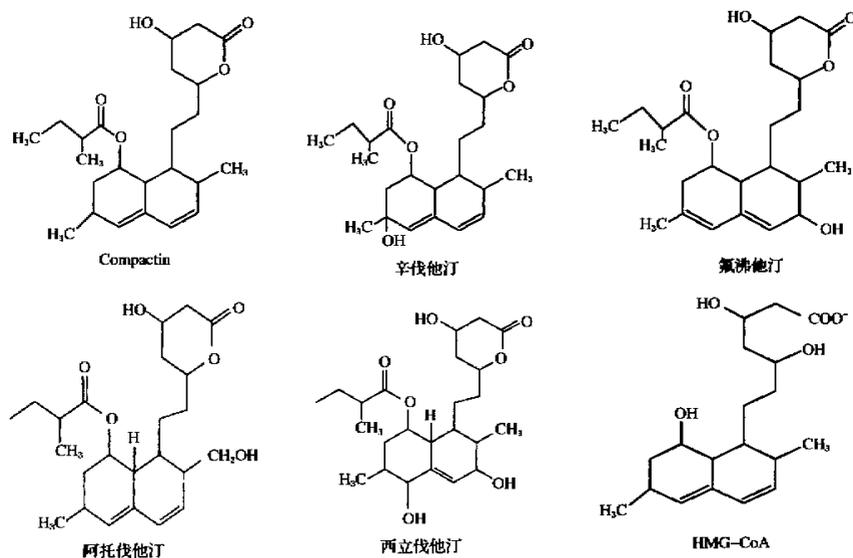


图 1 HMG-CoA 还原酶抑制剂和 HMG-CoA 结构示意图

总胆固醇的含量和原发性高胆固醇血症病人的 LDL-胆固醇,因其安全性好,在 1987 年获得 FDA 批准用于临床^[3]。

2 化学合成的 HMG-CoA 还原酶抑制剂

由于 HMG-CoA 还原酶抑制剂有一个基本的结构:多聚酮和羟基内酯,并且发现 HMG-CoA 还原酶抑制剂的作用位点是羟基内酯,这就促使研究者在保持其基本结构不变而对其进行化学修饰,Merck 公司首次以洛伐他汀为底物合成辛伐他汀(simvastatin),1994 年瑞士 Sandoz 公司首次人工合成氟伐他汀(fluvastatin),之后美国的 Warner-Lambert 公司上市了目前分子质量最大的含氟的他汀类药物阿托伐他汀(atorvastatin);1997 年德国 Bayer 公司上市了西立伐他汀(cerivastatin),是合成他汀类物质中分子质量最小的药物^[13](图 1)。有学者还对 HMG-CoA 还原酶抑制剂的抑制效果进行了比较,发现阿托伐他汀抑制效果最好,IC₅₀为 8 nmol/L,美伐他汀为最次,IC₅₀为 23 nmol/L,西立伐他汀、辛伐他汀和氟伐他汀的 IC₅₀依次为 10、11 和 28

nmol/L;而 HMG-CoA 与 HMG-CoA 还原酶结合的米氏常数为 4 μmol/L^[11]。

3 几种 HMG-CoA 还原酶抑制剂的生物转化

3.1 美伐他汀到普伐他汀(pravastatin)的生物转化

普伐他汀最初是从给药(美伐他汀)后的哺乳动物的代谢产物中分离得到的,发现它比美伐他汀更为有效^[16]。这就促使研究人员试图通过微生物将美伐他汀转化成普伐他汀(图 2)。最早获得成功的是 Serizawa 课题组,他们从大约 1000 株细菌和真菌中进行筛选,结果发现在 13 个属 26 个种的真菌中有 53 株菌具有此转化作用,而细菌中具有此转化作用的菌株很少,多数为放线菌,主要为 *Nocardia* sp. 和 *Streptomyces roseochromogenus*。在真菌中最好的一株为 *Mucor hiemalis* SANK363672,转化率大约为 43.7%。后来他们又发现含有 P450 单氧化酶的 *Streptomyces carboophilus* 也是具有此转化作用。在此研究基础上,Arnold^[17]研究小组检测其中有转化作用的 59 株放线菌,发现有一株 *Actinomadu-*

ra sp.2966(后编号为 ATCC 55678)具有较高的转化率(65~78%)。此研究小组从菌龄、培养基、底物添加方式等方面进行了系统的研究。

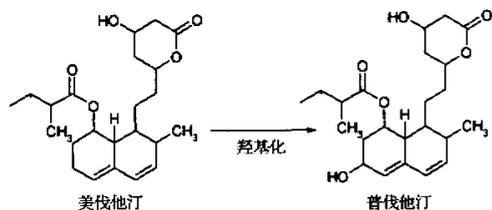


图2 美伐他汀和普伐他汀相互关系图

3.2 洛伐他汀和辛伐他汀的生物转化

3.2.1 微生物对洛伐他汀的转化

微生物对洛伐他汀(图3 a)的转化是在1983年由日本学者^[16]首次提出,他们在进行美伐他汀转化成普伐他汀时,偶然发现 *Mucor hiemalis* SANK 363672 对洛伐他汀

也具有转化作用,产物分别是6-羟基-洛伐他汀和3- α -羟基-异洛伐他汀(产率分别为17.3%和16.3%),它们的结构式见(图3 b、c),但二者对HMG-CoA还原酶的抑制效果低于洛伐他汀。1990年,Merck公司发现 *Actinomyces* MA 6474(ATCC53828)在适合条件下,对洛伐他汀的钠盐具有转化作用,可生成6-羟甲基-洛伐他汀和8-酰基洛伐他汀,后者对HMG-CoA还原酶的抑制效果好于洛伐他汀(EP381478;08.08.90)。1997年, Antonia Jekke^[18]发现 *Absidia coerulea* IDR705 (IDR: Institute for Drug Research Ltd., Budapest, Hungary)对洛伐他汀有转化作用,产物有两种:一种是C₂位的CH₃被CH₂OH所取代,此物质为新物质(图3 d);另一种是以前为化学合成的物质(图3 e)。二者对HMG-CoA还原酶的抑制效果同洛伐他汀相似。

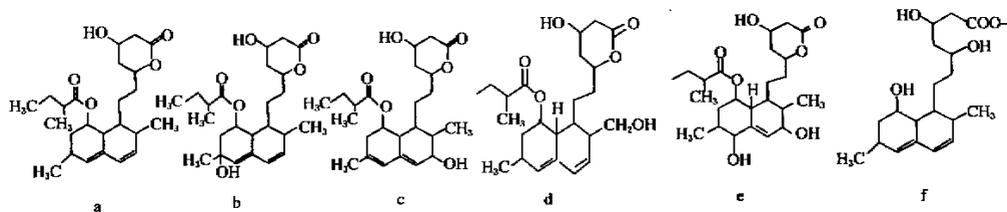


图3 洛伐他汀衍生物的结构示意图

还有一种是将洛伐他汀转化为 triod acid (图3 f)。由于它保留了HMG-CoA还原酶抑制剂的主要结构,因而它对HMG-CoA还原酶也具有抑制作用,同时 triod acid 还具有以下两点优越性(1) triod acid 可作为中间体合成新的他汀类药物(2)由于洛伐他汀和辛伐他汀结构极其相似,在辛伐他汀合成之后很难将未反应的洛伐他汀除掉,若将洛伐他汀转化成 triod acid,再通过结晶法就可将 triod acid 和辛伐他汀分开。菌株 *Clonostachys compactiuscula* 对洛伐他汀的钠盐或铵盐就有此种转化作用,产率可达60%以上,而对辛伐他汀没有作用。Schimmel等人还对转化酶的性质进行了研究^[19]。

3.2.2 微生物对辛伐他汀的转化

最初研究辛伐他汀生物转化的是 Merck 公司^[21-22],发现 *Nocardia atrophica* sp. *amethystina* 和 *Actinomyces* MA6474(ATCC53828)对辛伐他汀有明显的转化作用,转化后的产物见(图4),其中b物质有 α 、 β 两种形式。对 *Nocardia atrophica* sp. *amethystina* 来说,高浓度的辛伐他汀对转化有抑制作用,而低浓度、流加培养有利于转化产品的生成,作者还讨论了在小试和中试中溶解氧、种子培养基、流加方式等对转化率的影响;而 *Actinomyces* MA6474 是从土壤中分离得到的,主要对辛伐他汀钠盐有转化作用,文章中讨论了转化培养基的种类、pH、无机

盐等对转化率的影响,还对转化产品中的 $\alpha\beta$ 二者比例的产量进行了讨论。

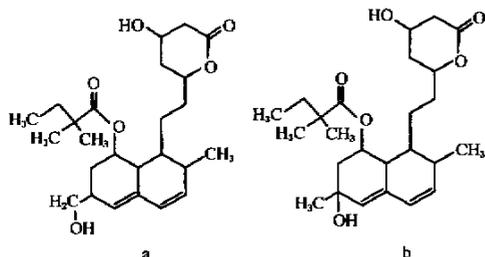


图 4 辛伐他汀 2 种衍生物的结构示意图

4 结 语

探讨利用微生物的转化作用来合成新的抑制剂或抑制剂的类似物,上面所讨论的生物转化是较为成功的例子;现在许多进行临床试验的 HMG-CoA 还原酶抑制剂都是化学合成的(由于西立伐他汀与其他降脂药物如吉非贝齐联用,导致罕见的肌无力不良反应,因而它已从全球市场撤出^[23]);当 HMG-CoA 还原酶抑制剂的家族出现新成员时,就需要对其进行一系列的试验,因此 HMG-CoA 还原酶抑制剂的研究是一项系统工程,需各学科学者共同努力。

参 考 文 献

- Istvan E S, Deisenhofer J. *Science*, 2001, 292 : 1160 ~ 1164
- 张哲峰,刘铁钢,张冬. *中国现代应用药理学*, 1999, 16(6) : 1 ~ 4
- Akira E. *Journal of Lipid Research*, 1992, 33 : 1569 ~ 1582

- 赵丽琴摘. *国外医药——药学分册*, 2000, 27(5) : 311
- Mundy G, Garrett R, Harris S et al. *Science*, 1999, 286 : 1946 ~ 1949
- 朱国英编译,王洪复审校. *国外医药——合成药生化药剂分册*, 2000, 21(5) : 289
- 吴萍摘. *国外医药——药学分册*, 2000, 27(5) : 54
- 杨人强摘. *国外医药——合成药生化药剂分册*, 2000, 21(4) : 226
- 胡发明. *国外医药——合成药生化药剂分册*, 2001, 22(5) : 292 ~ 294
- 王仁云综述,高建青审校. *国外医药——药学分册*, 2000, 27(3) : 137 ~ 140
- Dario C A. *J. Clin. Invest*, 2001, 108(3) : 365 ~ 366
- 胡大一,王振刚. *中国药理学杂志*, 2000, 35(3) : 212
- 吴万泰. *中国新药与临床杂志*, 2000, 19(3) : 214 ~ 216
- Akira E. *J. Antibiot.*, 1979, 33 : 334 ~ 336
- Alberts A W, Chen J, Kuron G et al. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1980, 77(7) : 3957 ~ 3961
- Serizawa N, Serizawa S, Nakagawa K et al. *J. Antibiot.*, 1983, 36 : 887 ~ 891
- Peng Y, Demain A L. *Journal of Molecular Catalysis B : Enzymatic*, 2000, 10 : 151 ~ 156
- Jekkel A, Konya A, Ilkoy E et al. *J. Antibiot.*, 1997, 50(9) : 750 ~ 754
- Schimmel T G, Scott B W, Michael J C et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, 63(4) : 1307 ~ 1314
- Gbewonyo K, Buckland B C. *Biotechnology and Bioengineering*, 1991, 37 : 1101 ~ 1107
- Joshua H, Michael S S, Kenneth E W. *J. Antibiot.*, 1991, 44(3) : 366 ~ 370
- Marcin C, White R, Hirsch C et al. *J. Ind. Microbiol.*, 1991, 8 : 157 ~ 164
- 傅毅. *国外医药——合成药生化药剂分册*, 2001, 22(6) : 380

Inhibitors of HMG-CoA Reductase and Microbial Conversion

Yu Hai Fang Huiying Zhuge Jian

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036)

ABSTRACT In this article, the function and discovery of the inhibitors of HMG-CoA reductase was reviewed. Microbial conversion of several inhibitors of HMG-CoA reductase was summarized.

Key words HMG-CoA, inhibitors of enzyme, microbial conversion