

· 专 论 ·

天然药物化学史话：阿维菌素和伊维菌素

付 炎, 王子方, 李力更, 霍长虹, 吴一兵, 张嫚丽, 史清文*
河北医科大学药学院 天然药物化学教研室, 河北 石家庄 050017

摘 要: 微生物是天然产物的一大来源, 许多来自微生物的天然产物已被开发成药物用于治疗人类疾病, 或作为兽药、农药等发挥了重要的作用。来源于放线菌 *Streptomyces avermectinius* 的阿维菌素是第 1 个大环内酯类抗寄生虫药物, 其半合成衍生物伊维菌素可用于治疗人类河盲症与象皮病。2 位科学家因研发阿维菌素和伊维菌素做出的巨大贡献而获得诺贝尔奖。回顾阿维菌素到伊维菌素的研发历程, 以期给予从事相关研究的科学工作者以激励与启迪。

关键词: 天然药物化学; 微生物; 阿维菌素; 伊维菌素; 新药发现

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)17-3453-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.17.001

Historical story on natural medicinal chemistry: Avermectin and ivermectin

FU Yan, WANG Yu-fang, LI Li-geng, HUO Chang-hong, WU Yi-bing, ZHANG Man-li, SHI Qing-wen
College of Pharmaceutical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

Abstract: Microorganisms have provided abundant sources of natural products, which have been developed as commercial products for human medicine, animal health, and plant crop protection. Avermectin discovered from *Streptomyces avermectinius* was the first macrocyclic lactones against parasitic worms. The semi-synthetic derivative of avermectin, ivermectin, was used to treat onchocerciasis and lymphatic filariasis in human. Two scientists were awarded the Nobel Prize for the great contribution to the discovery and research of these drugs. This paper reviewed the study and development of avermectins and ivermectin. This is one of the series papers about historical story on natural medicinal chemistry.

Key words: natural medicinal chemistry; microorganisms; avermectin; ivermectin; new drug discovery

天然产物是指自然界生物在千百万年进化过程中体内合成的次生代谢产物, 其来源多样、结构丰富、活性新奇, 已成为发现治疗重大疾病的药物或重要先导化合物的主要来源^[1-2]。微生物是天然产物的重要来源之一, 许多从微生物中发现的天然产物已被开发为药物, 例如在 20 世纪 40 年代发现的青霉素 (penicillin)、链霉素 (streptomycin) 等。以青霉素、链霉素的发现及其应用为标志, 开启了天然药物开发的第一个“黄金时代”, 从发现青霉素至今, 超过 2.3 万个天然产物分子得到鉴别, 其中微生物特别是放线菌科 (Actinomycetaceae) 微生物贡献了

大量具有生物活性的天然产物分子^[3]。

2015 年, 日本科学家大村智 (Satoshi Omura, 1935—, 图 1)、爱尔兰科学家 William C. Campbell (1930—, 图 1) 因研发抗寄生虫特效药物阿维菌素 (avermectin) 和伊维菌素 (ivermectin) 做出的巨大贡献与发现青蒿素的我国科学家屠呦呦教授共同分享了当年度的诺贝尔生理学或医学奖^[4], 这表明关于天然产物的研究依然是学术界与制药行业关注的热点。随着科学技术的发展, 科学家对自然的认识越来越深刻, “回归自然 (return to nature)” 的呼声也越来越高, 天然药物研发又将迎来新的黄金时代^[5]。

收稿日期: 2017-06-10

基金项目: 河北医科大学教育科学研究课题 (2014yb-21, 2016yb-9); 2016 年河北医科大学校内科研发展基金 (kyfz111); 国家青年自然科学基金 (81602978)

作者简介: 付 炎 (1986—), 男, 河北石家庄人, 硕士, 主要研究方向为天然产物中活性成分研究。

Tel: (0311)86265634 E-mail: fuyan0228@hebm.u.edu.cn

*通信作者: 史清文 (1964—), 男, 河北沧州人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然产物中活性成分的研究。

Tel: (0311)86261270 E-mail: shiqingwen@hebm.u.edu.cn

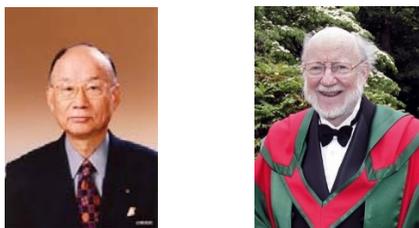


图 1 大村智教授 (左) 和 William C. Campbell 教授 (右)
Fig. 1 Prof. Satoshi Omura (left) and Prof. William C. Campbell (right)

本文通过简要回顾阿维菌素和伊维菌素的研发历程, 表达对以 2 位诺贝尔奖获得者为代表的科学家们的敬意, 同时希望能给药物研究工作者以启示。

1 阿维菌素的发现和伊维菌素的诞生

阿维菌素的发现者大村智教授 1958 年从山梨大学 (University of Yamanashi) 毕业后在东京都立墨田工业高中任教。大村智曾在日本筑波大学 (University of Tsukuba) 前身东京教育大学 (Tokyo University of Education) 的著名天然药物学家中西香尔教授 (Nakanishi Koji, 1925—) 门下学习, 后经其推荐进入东京理工大学, 1963 年完成硕士研究生课程, 1965 年进入北里研究所 (Kitasato Institute) 工作, 1968 年获东京大学药学博士学位, 1970 年又拿到东京理科大学的理学博士学位。1971 年大村智赴美国卫斯理安大学 (Wesleyan University), 在著名 Max Tishler 教授 (1906—1989, 图 2) 门下开始了为期 2 年的进修学习, 这成为大村智研究经历的一个重要转折点。



图 2 Max Tishler 教授 (左) 与 H. Boyd Woodruff 博士 (右)
Fig. 2 Prof. Max Tishler (left) and Dr. H. Boyd Woodruff (right)

Tishler 教授是美国化学界的传奇人物, 于 1933、1934 年在哈佛大学先后获得硕士和博士学位, 1937 年应邀进入默克公司 (Merck & Co.) 工作, 曾作为默沙东研究所 (Merck Sharp Dohme Research Laboratories) 的负责人和默克公司的高级副总裁, 领导或参与了维生素 B₁₂ (VB₁₂)、维生素 C (VC) 等多种维生素以及青霉素、链霉素和可的

松 (cortisone) 等的研发与大规模生产, 特别是二战期间青霉素的商业化生产, 不仅拯救了数万盟军战士的生命, 也为默克公司带来了巨大的利润, 1969 年 Tishler 教授从默克公司退休, 结束了他在这里 32 年的传奇职业生涯。Tishler 教授还曾担任美国化学学会 (American Chemical Society) 主席和美国化学学会杂志 (*J Am Chem Soc*, *JACS*) 主编。1987 年被里根 (Ronald Reagan) 总统授予国家科学奖章 (National Medal of Science), 以表彰他过去 50 年间对化学和人类健康的贡献。1970 年到逝世前 Tishler 一直在卫斯理安大学担任教授。

在美国进修学习期间, 大村智被 Tishler 教授推荐给默克公司负责微生物研究的土壤微生物学家、美国科学院院士 H. Boyd Woodruff 博士 (1917—, 图 2)。Woodruff 曾是抗生素之父 Selman Waksman (1888—1973) 的学生, 在攻读博士期间曾发现了放线菌素 (actinomycin)。1971 年 Woodruff 博士亲赴日本, 代表默克公司与北里研究所签订了合作协议, 资助大村智从土壤微生物中寻找抗生素的研究, 这可能是最早的校企联合研究之一。

1973 年大村智回到日本, 任日本北里研究所抗生物质研究室室长, 专门进行从土壤微生物中寻找先导化合物的研究, 同年北里研究所与美国默克研究所建立合作关系。1974 年, 大村智从静冈县伊东市川奈 (Kawana) 高尔夫球场附近收集的土壤样本中分离出了一种新的链霉菌属放线菌, 并将其与另外 53 个有活性潜力的菌株样本一同寄往默克研究所。1975 年, 美国科研人员通过一系列活性筛选, 发现这一菌株培养基对寄生虫 *Nematospiroides dubius* Baylis 感染大鼠表现出显著的活性, 并将其鉴别并定名为 *Streptomyces avermitilis* Kim & Goodfellow (阿维链霉菌、除虫链霉菌、灰色链霉菌, 图 3)。2002 年, 大村智团队通过形态、生理、生物化学与分类学的系统研究, 将其重新命名为 *Streptomyces avermectinius* (阿维链霉菌) [6]。



图 3 阿维链霉菌的显微照片
Fig. 3 Micrograph of *Streptomyces avermectinius*

在后续的研究中，默克研究所的 Thomas W. Miller 使用色谱方法从菌株培养基中分离得到了一类母体骨架含有 16 元环的大环内酯类化合物阿维菌素，其中包含 8 个组分。同时，William C. Campbell 对其中量最高、活性最强的阿维菌素 B_{1a} 进行了更加详细的研究，发现其对多种动物寄生虫及昆虫类、蛛形类生物均表现出很强的活性。1979 年，大村智团队、Miller 团队与 Campbell 团队分别进行了微生物的分离、鉴别与培养，活性化合物的提取分离与色谱鉴定，以及阿维菌素 B_{1a} 的活性 3 方面研究，同刊发表了以“*Avermectins, new family of potent anthelmintic agent*”为主题的 3 篇论文^[7-9]。阿维菌素的发现标志着一类全新的对人体内外寄生虫均有杀灭作用的“*内外杀虫药(endectocides)*”的诞生^[10-12]。2 年后，默克研究所的团队又报道了阿维菌素结构鉴定的结果(图 4)^[13]。

之后，Campbell 团队继续对阿维菌素进行结构修饰与活性测定，Jack Chabala 博士将阿维菌素 B_{1a} 和 B_{1b} 的 C-22, 23 双键进行了还原，得到还

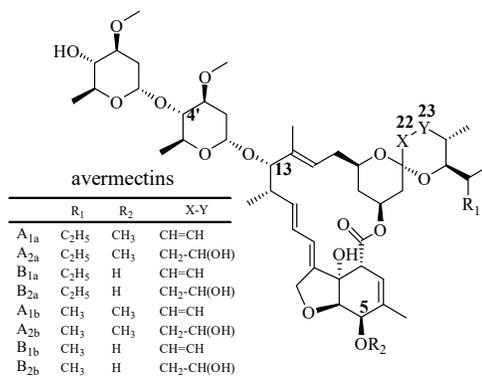


图 4 8 个阿维菌素的化学结构

Fig. 4 Chemical structures of eight avermectins

原后的产物即 22,23-双氢阿维菌素 B₁ 混合物(22,23-dihydroavermectin B_{1a, b}，其中 B_{1a} ≥ 80%，B_{1b} ≤ 20%)。经过实验发现，还原产物具有更为广谱抗虫活性与更高安全性。Campbell 将 22,23-双氢阿维菌素命名为伊维菌素(图 5)^[14-16]。1981 年，阿维菌素与伊维菌素被默克公司商品化并广泛应用于农业、畜牧业和医药行业，取得了巨大成功。

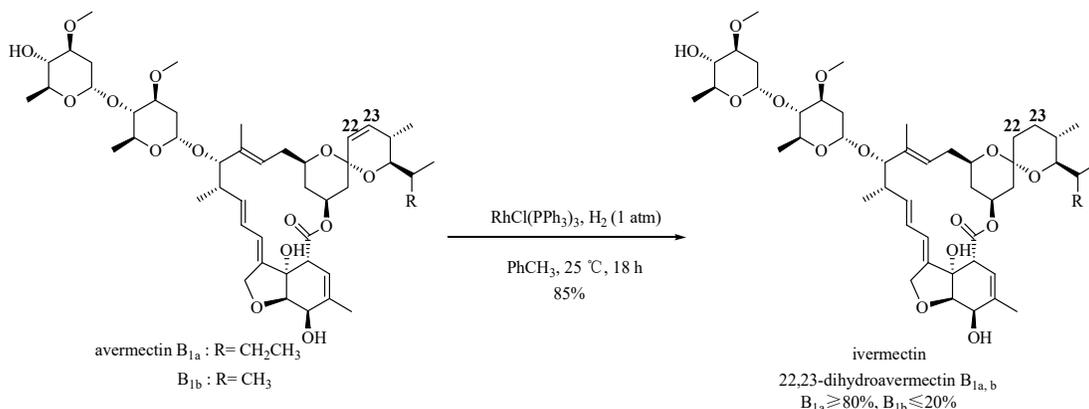


图 5 从阿维菌素 B₁ 衍生成为伊维菌素的反应

Fig. 5 Reaction from avermectin B₁ to ivermectin

2 药理作用机制与主要应用

药理实验研究表明，阿维菌素是神经递质 γ-氨基丁酸 (gamma-amino butyric acid, GABA) 激活剂，能够阻断寄生虫神经信号传递，使其麻痹致死；同时阿维菌素能够作用于寄生虫谷氨酸门控氯离子通道，通过阻碍其中枢神经系统的谷氨酸门控氯离子通道 (glutamate-gated chloride channels)，导致大量氯离子流入中枢神经细胞，影响中枢神经递质传递，引发麻痹最终死亡(图 6)。因吸虫和绦虫不具有 GABA 神经传导递质和谷氨酸门控氯离子通道，所以阿维菌素对其无杀灭作用。哺乳动物体内，

GABA 存在于中枢神经系统，而血脑屏障能够阻止阿维菌素进入其中，因此阿维菌素对于哺乳动物是相对安全的^[17-24]。阿维菌素的作用机制与一般杀虫剂不同，对常用农药产生耐药和抗药性的害虫具有良好的功效，同时其效用时间长、使用量较少，在日光下能够迅速分解，因此对人、畜和生态环境有较高的安全性。

20 世纪 70 年代，世界卫生组织 (WHO) 的工作人员在非洲统计流行病时，发现在西非一些地域约有 10% 的人及近半数的 40 岁以上男性都是盲人，另外约 30% 的人均有不同程度的视力问题，大多数年幼

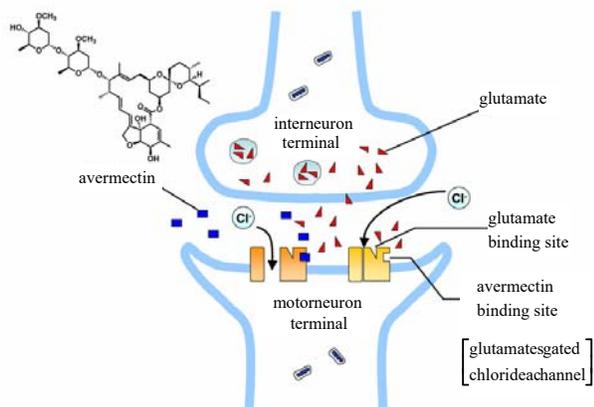


图 6 阿维菌素在线虫神经突触的作用模式^[24]

Fig. 6 Mode of action of avermectin at nematode synapse

儿童存在剧烈的皮肤瘙痒、皮肤结节、脱色等症状。受影响的国家大约有 36 个，近 2 亿人口生活在此病流行地区。由于这种疾病多发在沿河两岸地域，因此被称为河盲症 (river blindness, 图 7)。经过研究发现，这一疾病是由一种叫做盘尾丝虫的寄生虫引发，又名盘尾丝虫病 (onchocerciasis)，这种寄生虫通过生活在非洲热带的吸血的黑蝇叮咬皮肤而传染，成虫可以在人体内存活 15 年之久，其产出的幼虫称为微丝蚴 (microfilariae)。病原体微丝蚴能够寄生于人体皮下组织中淋巴管汇合处，会引起局部炎症反应和纤维组织增生。微丝蚴死亡时，感染者会产生剧烈的炎症反应，出现奇痒和各种皮肤病变。有些感染者会出现眼睛病变，最终发展为视力受损直至永久失明。



图 7 河盲症 (左) 与象皮病 (右) 患者

Fig. 7 Patient of river blindness (left) and elephantiasis (right)

为了解决这一严重问题，WHO、世界银行 (World Bank)、联合国开发计划署 (the United Nations Development Programme, UNDP) 与联合国粮食和农业组织 (Food and Agriculture Organization, FAO) 4 个联合国机构于 1974 年在西非 11 国联合开展了盘尾丝虫病控制计划 (Onchocerciasis Control Program)，防治人口达 3 000 万，涉及区域面积逾 120 万平方公里

(http://www.who.int/blindness/partnerships/onchocerciasis_OCP/en/)。

起初，工作人员期望通过在黑蝇繁殖地喷洒杀虫剂来控制河盲症的传播，但执行数年却收效甚微，有的地区还出现了对杀虫剂产生耐药性的黑蝇。与此同时，Campbell 在进行伊维菌素活性研究过程中，发现其能够杀死马颈盘尾丝虫 *Onchocerca cervicalis* 幼虫，这是导致河盲症的盘尾丝虫 *Onchocerca volvulus* 的近亲。默克公司的研究团队开始了伊维菌素是否能够用于治疗河盲症的研究。

1981—1982 年，默克研究所杰出的寄生虫学家 Mohammed Aziz (1929—) 博士首先进行并成功完成了伊维菌素的人体实验，实验证明河盲症患者使用伊维菌素后症状痊愈，体内微丝蚴基本消除；对于感染淋巴丝虫病 (lymphatic filariasis, 又名象皮病, elephantiasis, 图 7) 的患者，伊维菌素也有明显的改善作用^[25]。由于此类寄生虫疾病主要发生在非洲和拉丁美洲的贫困国家，多数患者缺乏购买药品的能力，默克公司与大村智教授均同意放弃人用伊维菌素药销售中的专利收益。经过包括默克公司、世界卫生组织、卡特中心 (The Carter Center, 由美国前总统 Jimmy Carter 夫妇成立的非盈利组织) 在内的多方国际合作，人用伊维菌素终于在 1987 年在法国上市，商品名为 Mectizan。同年，已成为默克公司 CEO 的 Roy Vagelos 宣布开展伊维菌素捐赠计划 (Mectizan Donation Program, MDP)，自 1987 年以来，默克公司已在 30 多个国家捐赠了超过 25 亿片伊维菌素。截止 2015 年，已有近 15 亿人口通过使用伊维菌素治疗了盘尾丝虫病。目前，非洲西部的盘尾丝虫病已被根除；至 2016 年 9 月，拉丁美洲的危地马拉、墨西哥、厄瓜多尔与哥伦比亚 4 国也已经彻底消除了这一疾病 (MDP 官方网站数据，<http://www.mectizan.org>)。

随着研究继续深入，伊维菌素的其他活性也不断被发现。如可用于治疗链尾线虫病 (streptocerciasis)^[26]、蝇蛆病 (myiasis)^[27]、旋毛虫病 (trichinosis)^[28] 等。伊维菌素对于疟疾、利什曼病 (Leishmaniasis)、锥体虫病 (trypanosomiasis) 以及臭虫等昆虫引发的疾病也有一定的治疗作用。目前伊维菌素的抗病毒、抗结核、抗癌活性的研究也在进行中^[29]。此外，伊维菌素对于白血病的治疗效果也有报道^[30]。这些研究成果非常有望进行临床试验，为人类健康做出更大的贡献。

3 阿维菌素衍生药物与全合成研究

阿维菌素是第 1 个大环内酯类 (macrolides, MLs) 的抗寄生虫药物。随着阿维菌素及其第 2 代衍生物伊维菌素的大获成功, 更多的阿维菌素类衍生药物被研发出来。常用的配药方案是将 2 种阿维菌素类单体化合物在 80:20~90:10 内进行配比混合^[31], 如默克公司开发的 Abamectin 就是阿维菌素 B₁ 的混合物 (B_{1a}>80%, B_{1b}<20%), 1985 年在澳大利亚用于牲畜 (当时伊维菌素尚未在澳大利亚获准上市), 商品名为 Vertimec 与 Agrimec (爱比菌素、齐螨素), 现常被用作杀螨剂 (acaricide)。其他制药公司也开始重视这一领域, 于是一系列大环内酯类杀虫药物上市^[32]。目前, 大环内酯类抗寄生虫药由两大类组成, 即阿维菌素类和米尔贝霉素类 (milbemycins)。多拉菌素 (doramectin) 是 20 世纪 90 年代由美国辉瑞公司 (Pfizer & Co.) 与英国曼彻斯特大学 (University of Manchester) 的研究团队通过突变生物合成 (mutational biosynthesis)^[33] 研发的阿维菌素第 3 代衍生物。Doramectin 是以环己烷羧酸 (cyclohexanecarboxylic acid) 为前体, 通过基因重组的 *Streptomyces avermectinius* 新菌株发酵后提取得到, 结构上可认为是阿维菌素 B₁ 的 C-25 位短碳链的环己烷取代产物 (图 8)^[34]。是目前治疗和预防体内线虫和体外寄生虫 (节肢动物) 感染效果最好的抗寄生虫药物之一。塞拉菌素 (selamectin) 是辉瑞公司以防治犬心丝虫 *Dirofilaria immitis* 为目标筛选研发出的多拉菌素类衍生物, 主要结构特点为 C-5 位肟基化 (图 8)^[35], 商品名为 Revolution 与 Stronghold, 目前属于全球最大动物保健企业 Zoetis (硕腾公司, 原为辉瑞动物保健部门, 2012 年独立) 的产品。

在实际使用中, 多种阿维菌素类药物存在着在动物奶中的残留量较高的严重问题, 因此, 此类药物禁止用于奶牛等产乳动物, 用于肉用动物时也需

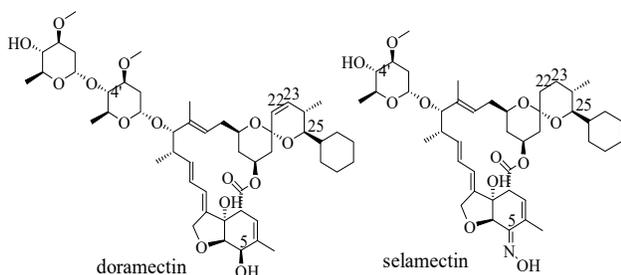


图 8 Doramectin 与 selamectin 的结构

Fig. 8 Structures of doramectin and selamectin

要较长的休药期。基于这一原因, 默克公司综合药物的奶血分配特性、药效及药动学特征等因素, 于 1994—1996 年从 60 余种阿维菌素类化合物的结构改造产物中筛选得到了埃普利诺菌素 (eprinomectin, 图 9), 即阿维菌素 B₁ 的 C-4'' 位上的羟基被乙酰氨基所取代后的衍生物^[36-38], 并于 1997 年获准上市, 成为首个用于产奶畜类的大环内酯类抗寄生虫药物。

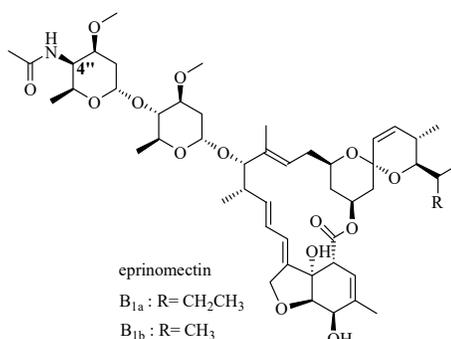


图 9 Eprinomectin 的结构

Fig. 9 Structures of eprinomectin

米尔贝霉素类 (milbemycins) 的发现甚至还早于阿维菌素。1967 年, 日本三共 (Sankyo) 株式会社在 *Streptomyces hygroscopicus* sub sp. *aureolacrimosus* 发酵液中发现米尔贝霉素, 其与阿维菌素相比仅在 C-13 位上少了 1 个双糖基, 根据化合物结构中是否具有氢化苯并呋喃结构, 又将其分为 α -型和 β -型。1983 年, milbemycin A₃ 和 A₄ 的混合物 (3:7, 图 10) 被用作杀螨剂在日本上市^[39-41]。1986 年, 又将 milbemycin A₃、A₄ 的 C-5 羟基变成肟基后得到的衍生物 (milbemycin A₃ 5-oxime $\leq 20\%$, milbemycin A₄ 5-oxime $\geq 80\%$, 图 10) 正式以商品名 Milbemycin oxime (米尔贝肟) 在日本上市, 主要用作犬的驱虫药^[42-43]; 1990 年后, Milbemycin oxime 在美国被批准上市, 用于预防犬心丝虫感染和治疗成年犬犬钩虫 *Ancylostoma caninum* 感染。

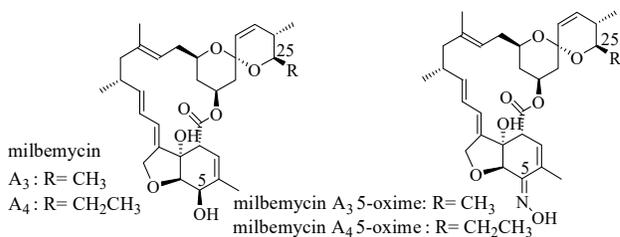


图 10 Milbemycin A₃/A₄ 与 milbemycin A₃/A₄ 5-oxime 的结构

Fig. 10 Structures of milbemycin A₃/A₄ and milbemycin A₃/A₄ 5-oxime

尼莫克汀 (nemadectin, 图 11) 是另一种 milbemycins 类衍生产物, 1983 年分别由英国葛兰素集团 (Glaxo Group) 和美国氰胺公司 (American Cyanamid) 的科学家各自独立从生长在澳大利亚的红砂中分离的放线菌 *Streptomyces cyaneogriseus noncyanogenus* 代谢物中提取得到的^[44-45], 后经协商 nemadectin 的产权完全转移至美国氰胺公司, 经过进一步开发, 其 C-23 位乙酰胺化衍生物 moxidectin (莫西菌素、莫昔克丁, 图 11) 问世, 并于 1990 年首先在阿根廷商品化, 成为一种兽用注射药物。

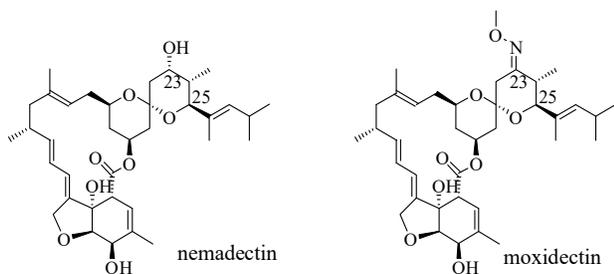


图 11 Nemadectin 与 moxidectin 的结构

Fig. 11 Structures of memadectin and moxidectin

尽管阿维菌素分子结构复杂, 如 16 元环大环内酯母核结构上含有 19 个手性中心、2 个糖基、多个碳碳双键与羟基等, 但是其多种相关化合物的全合成工作已经完成。1986—1987 年, 加拿大蒙特利尔大学 (University of Montreal) 的 Stephen Hanessian (1925—) 团队首先报道了对阿维菌素 B_{1a} 的全合成^[46-47], 接着 Steven V. Ley^[48]、James D. White^[49]和 Shuji Yamashita^[50]等科学家又先后各自有特色地完成了阿维菌素 B_{1a} 的全合成。此外, 耶鲁大学的 Samuel J. Danishefsky 团队于 1989 年报告了阿维菌素 A_{1a} 的全合成^[51]。阿维菌素衍生产物 milbemycins 类化合物 milbemycin β₃、D、E、G 等的全合成研究成果也有报道^[52-56]。

4 阿维菌素的生物合成

早在 20 世纪 80 年代, 大村智团队便开始以阐明阿维菌素生物合成途径为目标对其来源放线菌 *Streptomyces avermectinius* 的基因进行深入探索^[57], 经过 10 余年研究, 阿维菌素生物合成途径已基本阐明^[58], 与其功能相关基因簇的序列测定也已经完成^[59-60]。

阿维菌素的生物合成大致分为 4 个过程: ①起始单元的合成; ②在聚酮体合成酶 (polyketide synthase, PKS) 作用下合成起始糖苷配基, 即 6,8a-

开环、6,8a-脱氧、5-氧阿维菌素糖苷配基 (6,8a-*seco*-6,8a-deoxy-5-oxoavermectin aglycons); ③聚酮体形成后的修饰, 包括氧化、环化、还原、甲基化, 形成阿维菌素糖苷配基; ④脱氧胸苷二磷酸-L-齐墩果糖 (dTDP-L-oleandrose) 与阿维菌素糖苷配基的连接。

在 *S. avermectinius* 的基因簇序列中 (图 12), 82 kb 的连续区域是阿维菌素生物合成所必需的, 共包含 18 个开放式阅读框 (open reading frame, ORF), 其中 17 个直接负责阿维菌素的生物合成。在基因簇内部的 60 kb 片段中, 含有 4 个大 ORF: *aveA1-aveA2* 和 *aveA3-aveA4*, 分别编码 4 个阿维菌素聚酮体合成酶 AVES1、AVES2、AVES3、AVES4, 在这些聚酮体合成酶作用下形成了阿维菌素基本骨架糖苷内酯 (aglycone lactone) 结构; *aveE* 编码细胞色素 P450 单加氧酶 (cytochrome P450 monooxygenase) 催化 C-6 至 C-8a 位呋喃环的闭合; *aveF* 编码酮基还原酶 (β-ketoreductase, KD) 用以还原 C-5 位酮基; *aveB* 与齐墩果糖 (oleandrose) 合成有关, 并通过糖基化 (glycosylation) 作用使齐墩果糖结合到阿维菌素糖苷配基上最终成为阿维菌素。研究还表明, C-13 和 C-4' 位的 2 个齐墩果糖的存在对于阿维菌素表现出来的强效抗寄生虫活性至关重要, 而 C-13 位的羟基保证齐墩果糖能够与阿维菌素糖苷配基连接。AVES3 的模块 7 (module 7) 本应编码脱水酶 (dehydratase, DH), “负责” C-13 位羟基脱水反应, 但这一催化活性中心的组氨酸 (histidine, His) 被酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 代替, 因而失去了功能, 使得在后续的生物合成过程中 C-13 位的羟基能够保留, 内酯结构也能够形成。所以, 正是这一看似微不足道的小突变令阿维菌素具备了超凡的抗寄生虫活性。

2001—2003 年, 大村智团队完成了 *S. avermectinius* 全基因组序列 (9025608 bases) 的测定^[61-62]。这对深入研究 *S. avermectinius* 代谢的机制, 进而通过代谢工程手段理性设计高产的菌株提高阿维菌素产量或是通过改变菌株二次代谢物类型从而发现更多的活性产物, 并开发新一代药物, 具有重大的意义。

5 结语

阿维菌素是继青霉素、链霉素之后又一重要的来自于微生物的天然药物, 其研究者也因此做出的贡献而获得诺贝尔奖。回顾这段研究历程, 发现其

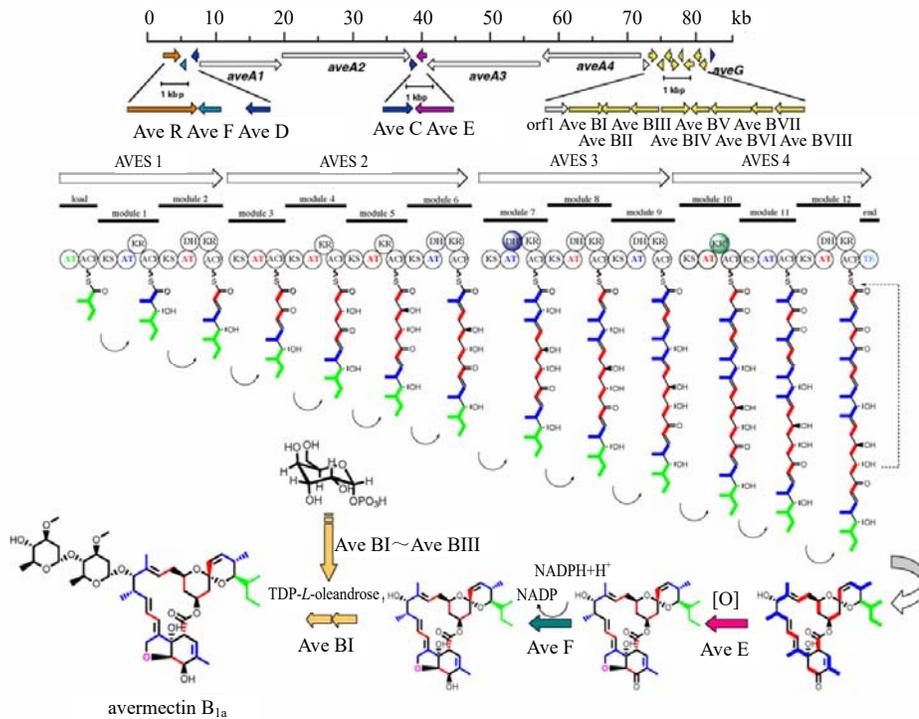


图 12 阿维菌素的生物合成^[24]
 Fig. 12 Biosynthesis of avermectin^[24]

中的宝贵经验对今天的天然产物研究、新药研发乃至公共健康事业的推进，仍具有重要的启示。

首先，校企合作的模式能够很好地整合团队与资源，提高研发效率。例如，20 世纪 70 年代，美国默克公司与日本北里研究所的合作开启了校企合作之先河，在这一模式下，团队管理与技术分工的优势发挥近于极致，涉及阿维菌素不同领域的研究团队各司其职，又积极协作，在短时间内完成了对这一化合物的完整研究并实现了成品上市。其工作效率之高、研究成果之多、经济效益之大，在此前几乎难以想象。

其次，成熟的研究策略是发现新天然药物的重要保证。从“抗生素之父”、链霉素的发现者、诺贝尔奖获得者 Selman A. Waksman 时代开始，经过几十年发展，从微生物中分离发现活性天然产物并进行后续研究的一整套策略已经日臻完善。早在 1986 年，大村智先生在获得 1985 年美国微生物学会 Hoechst Roussel 奖 (Hoechst-Roussel Award) 后，就曾发表 1 篇以“Philosophy of New Drug Discovery (新药开发的哲理)”为题的论文^[63]作为自己当时的研究成就与心得总结，其中也涉及部分阿维菌素的内容，即使在今天看来，这些研究思路与方法依然值得大部分天然药物研究者认真学习与借鉴。

最后，真正促进人类健康状况改善，是全社会形成合力的结果。从阿维菌素被发现，到成为治疗河盲症的特效药使亿万人远离病患，既需要科学家的发现与研究，也离不开制药企业的开发，同时也需要世界卫生组织等联合国机构与卡特中心等非政府慈善组织的基层工作者实施并推广治疗。阿维菌素的研发历程为如何建立完善、有效的治疗体系也提供了一个较为成功的案例。

2015 年诺贝尔奖除颁给中国的屠呦呦、日本的大村智与爱尔兰的 Campbell 外，另有一人的贡献也被评选委员会在获奖者官方介绍资料中提及^[64]，他就是默克公司前 CEO Roy Vagelos 博士 (图 13)，正是他的科学素养与远见卓识推动了阿维菌素和伊维菌素的研发推广计划。在 Vagelos 博士任职期间，默克公司和大村智先生放弃部分阿维菌素专利收益，并且开始实施伊维菌素捐赠计划，使得生活在发展中国家的贫困人民真正能够得到伊维菌素的有效救治。此外，Vagelos 为了抑制乙肝在中国的流行，曾于 2005 年决定将默克公司的基因工程乙肝疫苗技术和 2 个生产乙肝疫苗的工厂以 700 万美元的低价转让给了中国，并免费培训中方人员直到工厂开始投产。目前，中国拥有多家现代化的重组乙肝疫苗生产厂，产量巨大。Vagelos 的商业视野与人道主



图 13 Roy Vagelos 博士

Fig. 13 Dr. Roy Vagelos

义情怀，堪称制药企业领袖的楷模，也值得中国人民永远铭记。

在 2 位因阿维菌素研究而获得诺贝尔奖的获得者中，大村智先生于 2005 年当选为中国工程院外籍院士。大村智除了阿维菌素的相关研究，也在日本北里研究所建立起了许多筛选天然活性物质的原创性方法，发现了超过 130 种结构类型、330 种新的活性化合物^[65]。2011 年，大村智曾亲自撰写文章回顾了自己的研究生涯^[66]。2016 年，Campbell 也发表一篇题为“Lessons from the History of Ivermectin and Other Antiparasitic Agents”的文章，对伊维菌素及其他抗寄生虫药物研究的经验进行了总结和回顾^[67]。

据记载，中国的阿维菌素研究始于 1984 年，当时上海市农药研究所从广东揭阳土壤得到的菌株中分离得到与阿维菌素相同化学结构的活性产物，其中沈寅初教授（1938—，中国工程院院士，图 14）与李季伦教授（1925—，中国科学院院士，图 14）2 位院士为我国阿维菌素的研究做出了杰出的贡献。

随着我国阿维菌素的产业化生产不断发展壮大，目前国内已有相关产业的 4 个上市公司，形成了我国阿维菌素产业链。这些公司通过支持中国科学院微生物研究所等科研院所，采用合成生物学技术将阿维菌素 B_{1a} 的产量提高了 1 000 倍，市场价格由过去 2 万元/kg 降低到 500 元/kg，因此美国默克



图 14 沈寅初院士（左）和李季伦院士（右）

Fig. 14 Academician Yin-chu Shen (left) and Academician Ji-lun Li (right)

公司停止生产阿维菌素，转而向中国采购。2010 年 4 月，13 家阿维菌素生产企业成立中国农业工业协会阿维菌素协作组。2013 年 1 月，国家重点基础研究发展“973 计划”项目《合成微生物体系的适配性研究》针对提高阿维菌素的单位产率立项。截至 2015 年 9 月，中国成为阿维菌素唯一生产国。阿维菌素是仅有的一个年产值达到 30 亿元的生物农药，为我国带来了巨大的社会和经济效益^[68-69]。

本文为作者所编著《天然药物化学史话》系列文章之一。文中引用各方文献，部分图片源自网络，在此向原作者表示感谢。

参考文献

- [1] 郭瑞霞, 李力更, 王于方, 等. 天然药物化学史话: 天然产物化学研究的魅力 [J]. 中草药, 2015, 46(14): 2019-2033.
- [2] 史清文, 李力更, 霍长虹, 等. 天然药物研究与新药开发 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1583-1589.
- [3] Katz L, Baltz R H. Natural product discovery: Past, present, and future [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2016, 43(2): 155-176.
- [4] 付炎, 王于方, 李力更, 等. 天然药物化学史话: 天然产物研究与诺贝尔奖 [J]. 中草药, 2016, 47(21): 3749-3765.
- [5] Shen B. A new golden age of natural products drug discovery [J]. *Cell*, 2015, 163(6): 1297-1300.
- [6] Takahashi Y, Matsumoto A, Seino A, et al. *Streptomyces avermectinius* sp. nov., an avermectin-producing strain [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2002, 52(Pt 6): 2163-2168.
- [7] Burg R W, Miller B M, Baker E E, et al. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: Producing organism and fermentation [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1979, 15(3): 361-367.
- [8] Miller T W, Chalet L, Cole D J, et al. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: Isolation and chromatographic properties [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1979, 15(3): 368-371.
- [9] Egerton J R, Ostlind D A, Blair L S, et al. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: Efficacy of the B_{1a} component [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1979, 15(3): 372-378.
- [10] Campbell W C. An introduction to the avermectins [J]. *N Z Vet J*, 1981, 29(10): 174-178.
- [11] McKellar Q A, Benchaoui H A. Avermectins and milbemycins [J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 1996, 19(5): 331-351.
- [12] Omura S, Crump A. The life and times of ivermectin—a success story [J]. *Nature Rev Microbiol*, 2004, 2(12): 984-989.
- [13] Albers-Schonberg G, Arison B H, Chabala J C, et al.

- Avermectins. Structure determination [J]. *J Am Chem Soc*, 1981, 103(14): 4216-4221.
- [14] Chabala J C, Mrozik H, Tolman R L, *et al*. Ivermectin, a new broad-spectrum antiparasitic agent [J]. *J Med Chem*, 1980, 23(10): 1134-1136.
- [15] Campbell W C, Fisher M H, Stapley E O, *et al*. Ivermectin: A potent new antiparasitic agent [J]. *Science*, 1983, 221(4613): 823-828.
- [16] Campbell W C, Benz G W. Ivermectin: a review of efficacy and safety [J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 1984, 7(1): 1-16.
- [17] Fritz L C, Wang C C, Gorio A. Avermectin B_{1a} irreversibly blocks postsynaptic potentials at the lobster neuromuscular junction by reducing muscle membrane resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1979, 76(4): 2062-2066.
- [18] Mellin T N, Busch R D, Wang C C. Postsynaptic inhibition of invertebrate neuromuscular transmissions by avermectin B_{1a} [J]. *Neuropharmacology*, 1983, 22(1): 89-96.
- [19] Pony S S, Wang C C, Fritz L C. Studies on the mechanisms of action of avermectin B_{1a}: Stimulation of release of gamma amino butyric acid from brain synaptosomes [J]. *J Neurochem*, 1980, 34(2): 351-358.
- [20] Kass I S, Wang C C. Avermectin B_{1a}, a paralysing anthelmintic that affects interneurons and inhibiting motoneurons in *Ascaris* [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1980, 77(10): 6211-6215.
- [21] Arena J P, Liu K K, Paress P S, *et al*. Expression of a glutamate-activated chloride current in *Xenopus* oocytes injected with *Caenorhabditis elegans* RNA: Evidence for modulation by avermectin [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1992, 15(3/4): 339-348.
- [22] Omura S. Mode of action of avermectin [A] // Omura S. *Macrolide Antibiotics: Chemistry, Iology and Practice* [M]. New York: Academic Press, 2002.
- [23] Pony S S, Wang C C. Avermectin B_{1a} modulation of γ -aminobutyric acid receptors in rat brain membranes [J]. *J Neurochem*, 1982, 38(2): 375-379.
- [24] Omura S. Ivermectin: 25 years and still going strong [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2008, 31(2): 91-98.
- [25] Aziz M A, Diallo S, Diop I M, *et al*. Efficacy and tolerance of ivermectin in human onchocerciasis [J]. *Lancet*, 1982, 320(8291): 171-173.
- [26] Fischer P, Bamuhija J, Büttner D W. Treatment of human *Mansonella streptocerca* infection with ivermectin [J]. *Trop Med Int Health*, 1997, 2(2): 191-199.
- [27] Shinohara E H, Martini M Z, de Oliveira Neto H G, *et al*. Oral myiasis treated with ivermectin: case report [J]. *Braz Dent J*, 2004, 15(1): 79-81.
- [28] Basyoni M M, El-Sabaa A A. Therapeutic potential of myrrh and ivermectin against experimental *Trichinella spiralis* infection in mice [J]. *Korean J Parasitol*, 2013, 51(3): 297-304.
- [29] Omura S, Crump A. Ivermectin: Panacea for resource-poor communities [J]. *Trends Parasitol*, 2014, 30(9): 445-455.
- [30] Sharmeen S, Skrtic M, Sukhai M A, *et al*. The antiparasitic agent ivermectin induces chloride-dependent membrane hyperpolarization and cell death in leukemia cells [J]. *Blood*, 2010, 116(18): 3593-3603.
- [31] Pitterna T, Cassayre J, Hüter O F, *et al*. New ventures in the chemistry of avermectins [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(12): 4085-4095.
- [32] Campbell W C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012, 13(6): 853-865.
- [33] Dutton C J, Gibson S P, Goudie A C, *et al*. Novel avermectins produced by mutational biosynthesis [J]. *J Antibiot*, 1991, 44(3): 357-365.
- [34] Goudie A C, Evans N A, Gratton K A, *et al*. Doramectin—a potent novel endectocide [J]. *Vet Parasitol*, 1993, 49(1): 5-15.
- [35] Bishop B F, Bruce C I, Evans N A, *et al*. Selamectin: a novel broad-spectrum endectocide for dogs and cats [J]. *Vet Parasitol*, 2000, 91(3/4): 163-176.
- [36] Raymond J C, Dennis H K, Lisa M, *et al*. Syntheses of 4 “-epi-Amino-4”-deoxyivermectins B1 [J]. *J Org Chem*, 1994, 59(25): 7704-7708.
- [37] Shoop W L, Egerton J R, Eary C H, *et al*. Eprinomectin: A novel avermectin for use as a topical endectocide for cattle [J]. *Int J Parasitol*, 1996, 26(11): 1237-1242.
- [38] Holste J E, Smith L L, Hair J A, *et al*. Eprinomectin: A novel avermectin for control of lice in all classes of cattle [J]. *Vet Parasitol*, 1997, 73(1/2): 153-161.
- [39] Okazaki T, Ono M, Aoki A, *et al*. Milbemycins, a new family of macrolide antibiotics: Producing organism and its mutants [J]. *J Antibiot*, 1983, 36(4): 438-441.
- [40] Mishima H, Ide J, Muramatsu S, *et al*. Milbemycins, a new family of macrolide antibiotics structure determination of milbemycins D, E, F, G, H, J and K [J]. *J Antibiot*, 1983, 36(8): 980-990.
- [41] Ono M, Mishima H, Takiguchi Y, *et al*. Milbemycins, a new family of macrolide antibiotics studies on the biosynthesis of milbemycins a₂, a₄ and D using ¹³C labeled precursor [J]. *J Antibiot*, 1983, 36(8): 991-999.
- [42] Blagburn B L, Hendrix C M, Lindsay D S, *et al*. Efficacy of milbemycin oxime against naturally acquired or experimentally induced *Ancylostoma* spp. and *Trichuris vulpis* infections in dogs [J]. *Am J Vet Res*, 1992, 53(4): 513-516.
- [43] Shoop W L, Mrozik H, Fisher M H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health [J]. *Vet*

- Parasitol*, 1995, 59(2): 139-156.
- [44] Carter G T, Nietsche J A, Hertz M R, *et al.* LL-F28249 antibiotic complex: A new family of antiparasitic macrocyclic lactones. Isolation, characterization and structures of LL-F28249 alpha, beta, gamma, lambda [J]. *J Antibiot*, 1988, 41(4): 519-529.
- [45] Doscher M E, Wood I B, Pankavich J A, *et al.* Efficacy of nemadectin, a new broad-spectrum endectocide, against natural infections of canine gastrointestinal helminths [J]. *Vet Parasitol*, 1989, 34(3): 255-259.
- [46] Hanessian S, Ugolini A, Dube D, *et al.* Synthesis of (+)-avermectin B_{1a} [J]. *J Am Chem Soc*, 1986, 108(10): 2776-2778.
- [47] Hanessian S, Ugolini A, Hodges P J, *et al.* Progress in natural product chemistry by the chiron and related approaches-synthesis of avermectin B_{1a} [J]. *Pure Appl Chem*, 1987, 59(3): 299-316.
- [48] Ley S V, Armstrong A, Diez-Martin D, *et al.* Total synthesis of the anthelmintic macrolide avermectin B_{1a} [J]. *J Chem Soc Perkin Trans I*, 1991(4): 667-692.
- [49] White J D, Bolton G L, Dantanarayana A P, *et al.* Total synthesis of the antiparasitic agent avermectin B_{1a} [J]. *J Am Chem Soc*, 1995, 117(7): 1908-1939.
- [50] Yamashita S, Hayashi D, Nakano A, *et al.* Total synthesis of avermectin B_{1a} revisited [J]. *J Antibiot*, 2016, 69(1): 31-50.
- [51] Danishefsky S J, Armistead D M, Wincott F E, *et al.* The total synthesis of avermectin A_{1a} [J]. *J Am Chem Soc*, 1989, 111(8): 2967-2980.
- [52] Williams D R, Barner B A, Nishitani K, *et al.* Total synthesis of milbemycin β₃ [J]. *J Am Chem Soc*, 1982, 104(17): 4708-4710.
- [53] Crimmins M T, Al-awar R S, Vallin I M, *et al.* Asymmetric total synthesis of (+)-milbemycin D [J]. *J Am Chem Soc*, 1996, 118(32): 7513-7528.
- [54] Parmee E R, Steel P G, Thomas E J. A total synthesis of milbemycin E [J]. *J Chem Soc Chem Commun*, 1989(17): 1250-1253.
- [55] Steel P G, Mills O S, Parmee E R, *et al.* Total synthesis of milbemycin E: Resolution of the C(1)-C(10)fragment and final assembly [J]. *J Chem Soc Perkin Trans I*, 1997(4): 391-400.
- [56] Bailey S, Helliwell M, Teerawutgulrag A, *et al.* A total synthesis of milbemycin G: Approaches to the C (1)-C (10)-fragment and completion of the synthesis [J]. *Org Biomol Chem*, 2005, 3(20): 3654-3677.
- [57] Ikeda H, Kotaki H, Omura S. Genetic studies of avermectin biosynthesis in *Streptomyces avermitilis* [J]. *J Bacteriol*, 1987, 169(12): 5615-5621.
- [58] Ikeda H, Omura S. Avermectin biosynthesis [J]. *Chem Rev*, 1997, 97(7): 2591-2609.
- [59] MacNeil T, Gewain K M, MacNeil D J. Deletion analysis of the avermectin biosynthetic genes of *Streptomyces avermitilis* by gene cluster displacement [J]. *J Bacteriol*, 1993, 175(9): 2552-2563.
- [60] Ikeda H, Nonomiya T, Usami M, *et al.* Organization of the biosynthetic gene cluster for the polyketide anthelmintic macrolide avermectin in *Streptomyces avermitilis* [J]. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 1999, 96(17): 9509-9514.
- [61] Omura S, Ikeda H, Ishikawa J, *et al.* Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: Deducing the ability of producing secondary metabolites [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2001, 98(21): 12215-12220.
- [62] Ikeda H, Ishikawa J, Hanamoto A, *et al.* Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis* [J]. *Nature Biotechnol*, 2003, 21(5): 526-531.
- [63] Omura S. Philosophy of new drug discovery [J]. *Microbiol Rev*, 1986, 50(3): 259-279.
- [64] Useem M. *Roy Vagelos Attacks River Blindness* [M]. New York: Random House Inc., 1998.
- [65] Nakashima T, Takahashi Y, Omura S. Search for new compounds from Kitasato microbial library by physicochemical screening [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, doi: 10.1016/j.bcp.2016.09.026.
- [66] Omura S. Microbial metabolites: 45 years of wandering, wondering and discovering [J]. *Tetrahedron*, 2011, 67(35): 6420-6459.
- [67] Campbell W C. Lessons from the history of ivermectin and other antiparasitic agents [J]. *Annu Rev Anim Biosci*, 2016, 4(1): 1-14.
- [68] 陈金松, 刘梅, 张立新. 从阿维菌素获得诺贝尔奖到中国创造 [J]. *微生物学报*, 2016, 56(3): 543-558.
- [69] 陈金松, 苗靳, 刘梅, 等. 2015年诺贝尔奖分子阿维菌素与青蒿素不同在哪里? [J]. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46(3): 346-348.