

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

ZYGZEA

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

● 中国中文核心期刊

● 中国生物医学核心期刊

● 中国期刊方阵入选期刊

● 中国科技核心期刊

● 中国科学引文数据库来源期刊

● 中国药学会系列期刊

本期导读：

近年醇质体制备工艺及制剂研究进展

贺梦媛，丛竹凤，张兵，高鹏，高树中

功能性纳米材料用于肿瘤光热治疗的研究进展

刘家信，杨硕晔，徐晴晴，张梦玮，张璐



微信号: cjph-yygy



主 办

上海医药工业研究院

中国药学会

中国化学制药工业协会



11
2021年11月

第52卷

Vol.52 No.11

中国医药工业杂志

二〇二一年

第五十二卷

第十一期

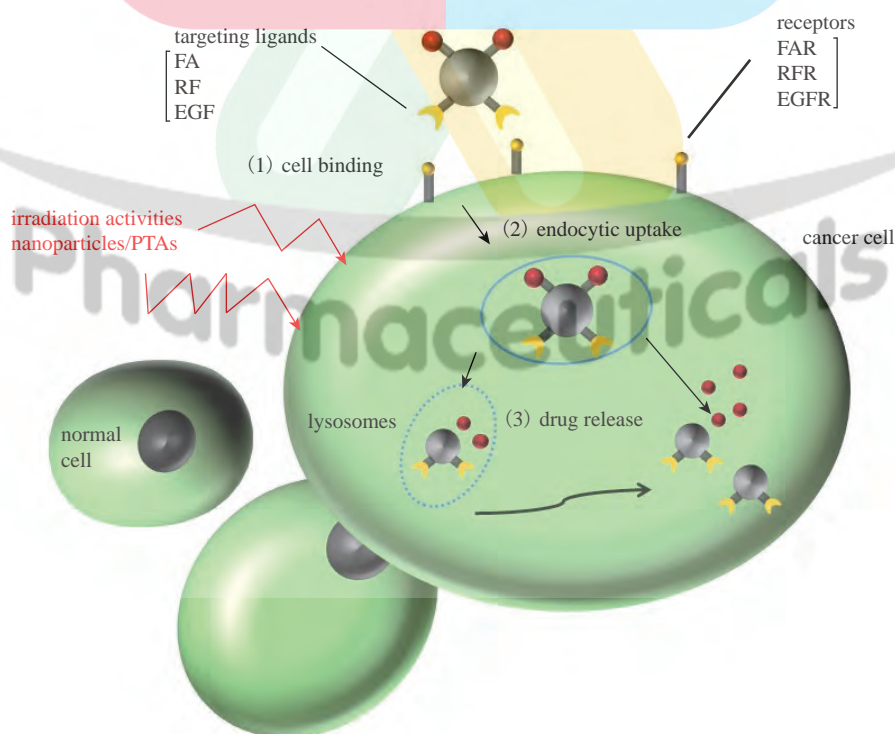
第1409-1548页

· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

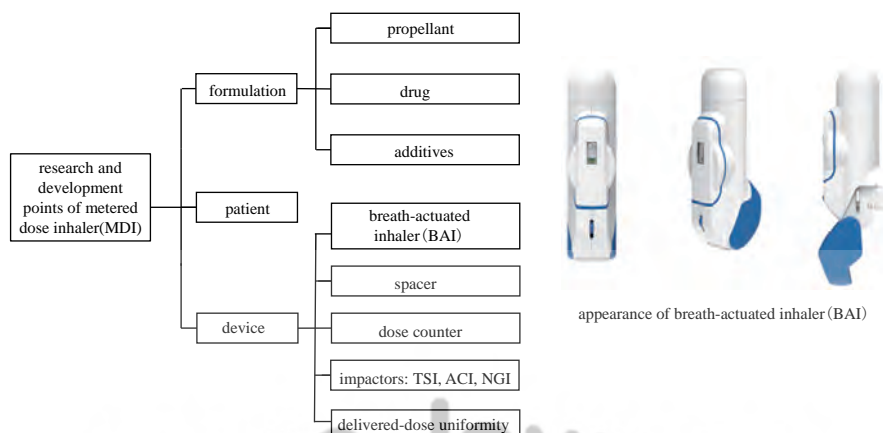
- 1409** 近年醇质体制备工艺及制剂研究进展.....贺梦媛, 丛竹凤, 张 兵, 高 鹏*, 高树中
Research Progress in Preparation and Pharmaceutical Dosage Forms of Ethosomes in Recent Years
.....HE M Y, CONG Z F, ZHANG B, GAO P*, GAO S Z
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.001



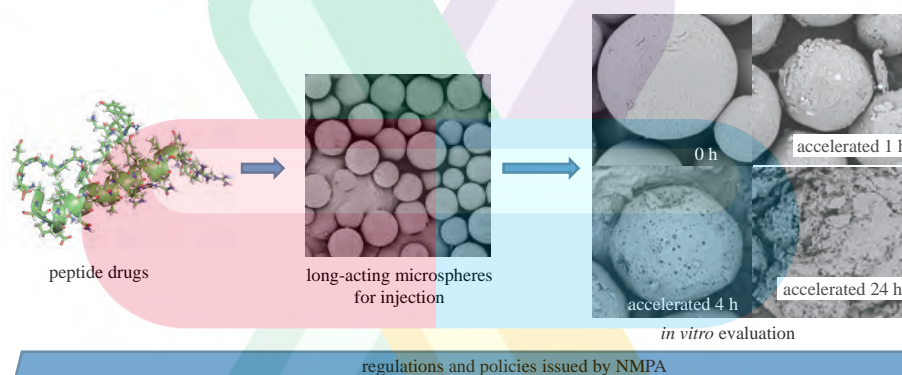
- 1418** 功能性纳米材料用于肿瘤光热治疗的研究进展....刘家信, 杨硕晔*, 徐晴晴, 张梦玮, 张 璐
Research Progress of Functional Nanomaterials in Application of Photothermal Therapy for Tumors
.....LIU J X, YANG S Y*, XU Q Q, ZHANG M W, ZHANG L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.002



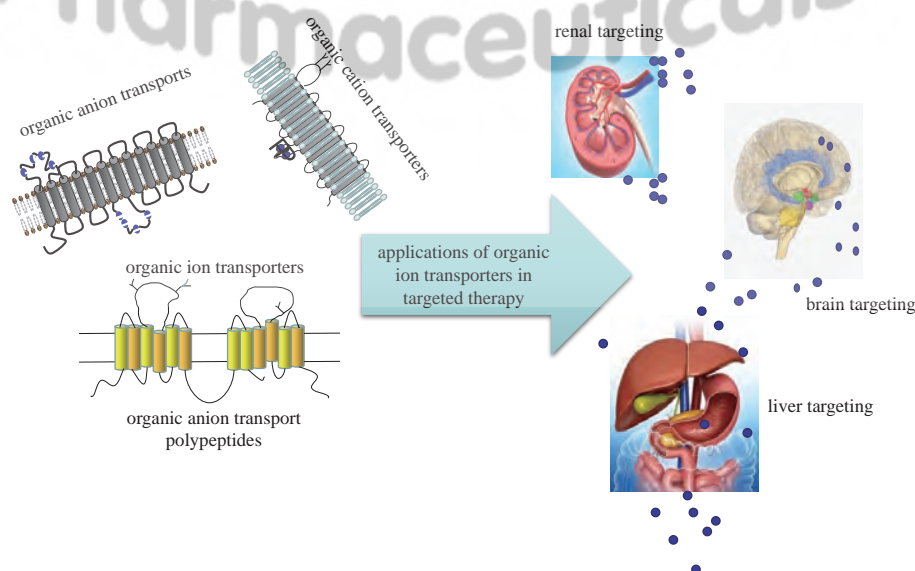
- 1429** 吸入气雾剂研发要点概述.....封安杰, 李凌军*
 Overview of Main Points of Metered Dose Inhaler.....FENG A J, LI L J*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.003



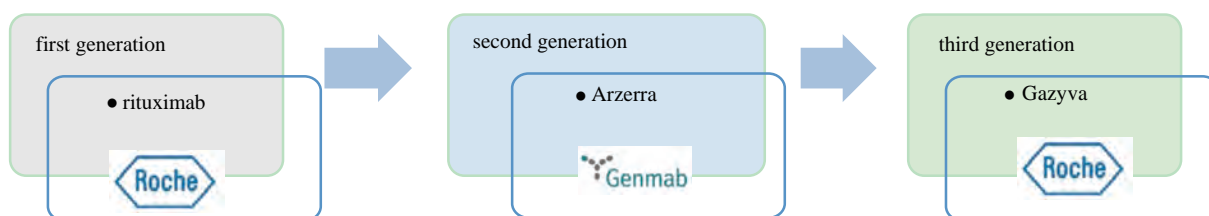
- 1436** 多肽类药物长效微球制剂仿制药研发要点浅析...顾玲玲, 吴忠虹, 尹霞, 苏日佳, 徐朋
 Introduction to Key Points for Development of Generic Long-acting Microsphere Preparations of Peptide Drugs.....GU L L, WU Z H, YIN X, SU R J, XU P
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.004



- 1444** 有机离子转运体相关靶向药物的应用进展.....王立, 冯俊宇, 任君刚, 王淑静, 张文君
 Application Progress of Targeted Drugs Related to Organic Ion Transporters.....WANG L, FENG J Y, REN J G, WANG S J, ZHANG W J
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.005

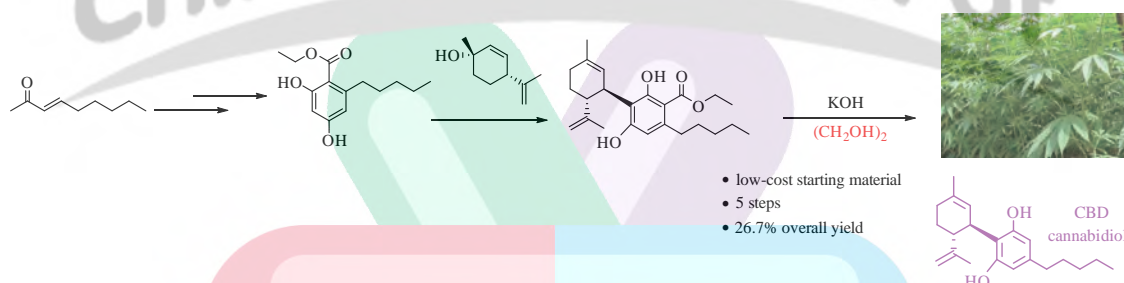


- 1452** 抗 CD20 单克隆抗体药物的研发进展.....郑淑贞, 周逢云, 代 虎, 朱建伟*
 Research and Development Progress of Anti-CD20 Monoclonal Antibody Drugs.....
ZHENG S Z, ZHOU F Y, DAI H, ZHU J W*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.006

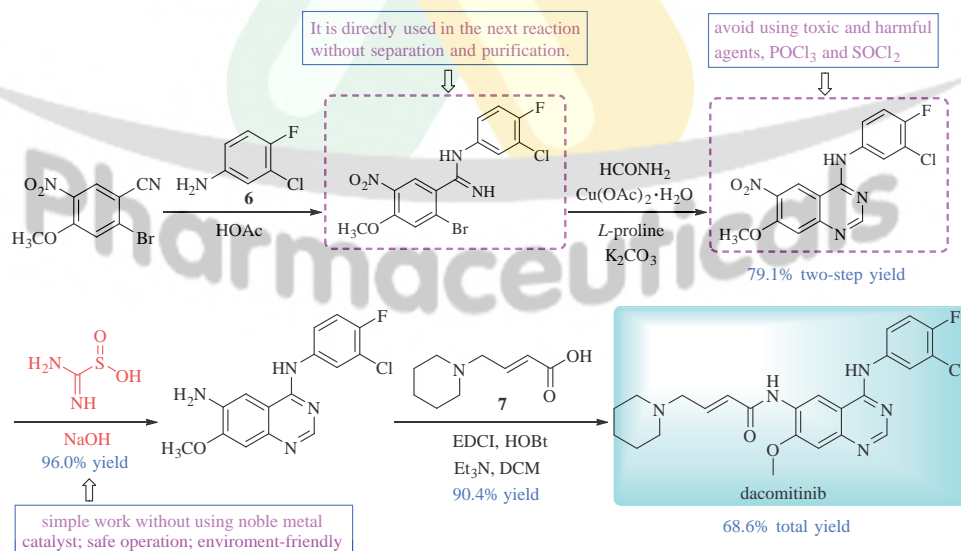


· 研究论文(Paper) ·

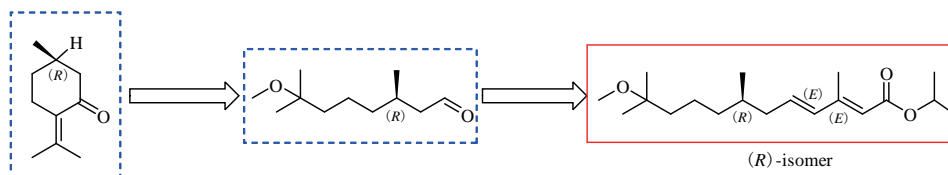
- 1460** 大麻二酚的合成工艺优化.....焦民茹, 黄子依, 彭新艳, 李建其, 张庆伟*
 Improved Synthetic Process of Cannabidiol.....
JIAO M R, HUANG Z Y, PENG X Y, LI J Q, ZHANG Q W*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.007



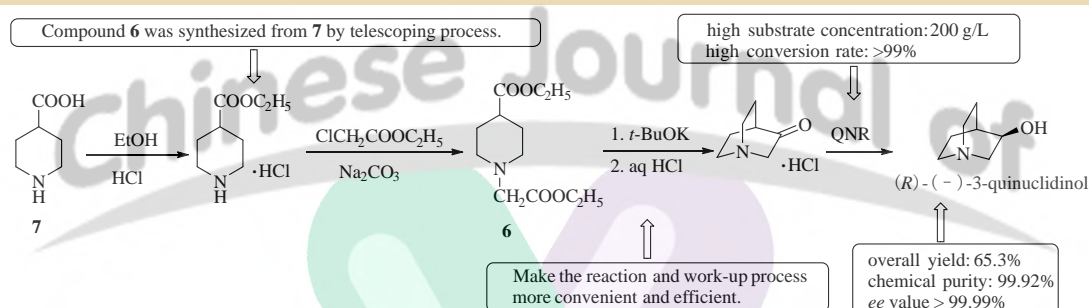
- 1464** 达克替尼的合成工艺改进.....刘长春, 周鑫鑫, 闵 沁, 侯跃阳, 陈秋云
 Improved Synthesis of Dacomitinib.....
LIU C C, ZHOU X X, MIN Q, HOU Y Y, CHEN Q Y
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.008



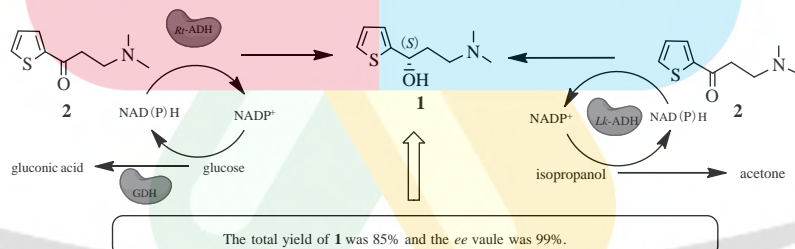
- 1468** 甲氧普烯中手性杂质的合成.....蔡建光, 阳 凯, 林塘煊, 王灵辉, 王 冠*
 Synthesis of Chiral Impurity in Methoprene...CAI J G, YANG K, LIN T H, WANG L H, WANG G*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.009



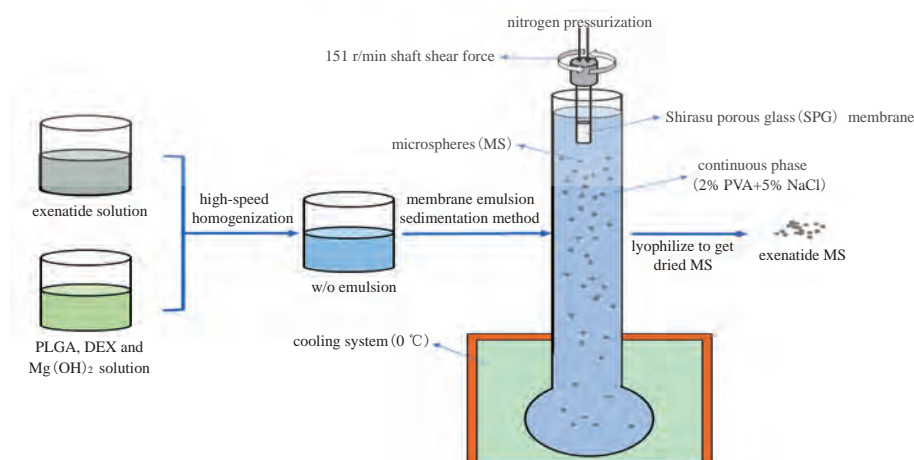
- 1472** (R)-(-)-3-奎宁环醇的合成工艺优化.....吴泽农, 蔡青峰, 张福利, 陈少欣, 余 俊*
 Process Optimization for Synthesis of (R)-(-)-3-Quinuclidinol.....
WU Z N, CAI Q F, ZHANG F L, CHEN S X, YU J*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.010



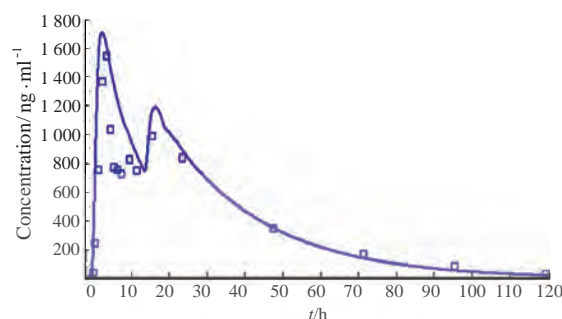
- 1476** 度洛西汀手性中间体的生物合成.....陈宇涵, 鄢定玉, 阳小姣, 钟国寿
 Biosynthesis of Chiral Intermediate for Duloxetine...CHEN Y H, YAN D Y, YANG X J, ZHONG G S
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.011



- 1480** 艾塞那肽长效缓释微球的研制.....王 猛, 张宇桐, 郜珍叶, 吴 飞, 金 拓*
 Preparation of Exenatide Long-acting Sustained-release Microspheres.....
WANG M, ZHANG Y T, GAO Z Y, WU F, JIN T*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.012

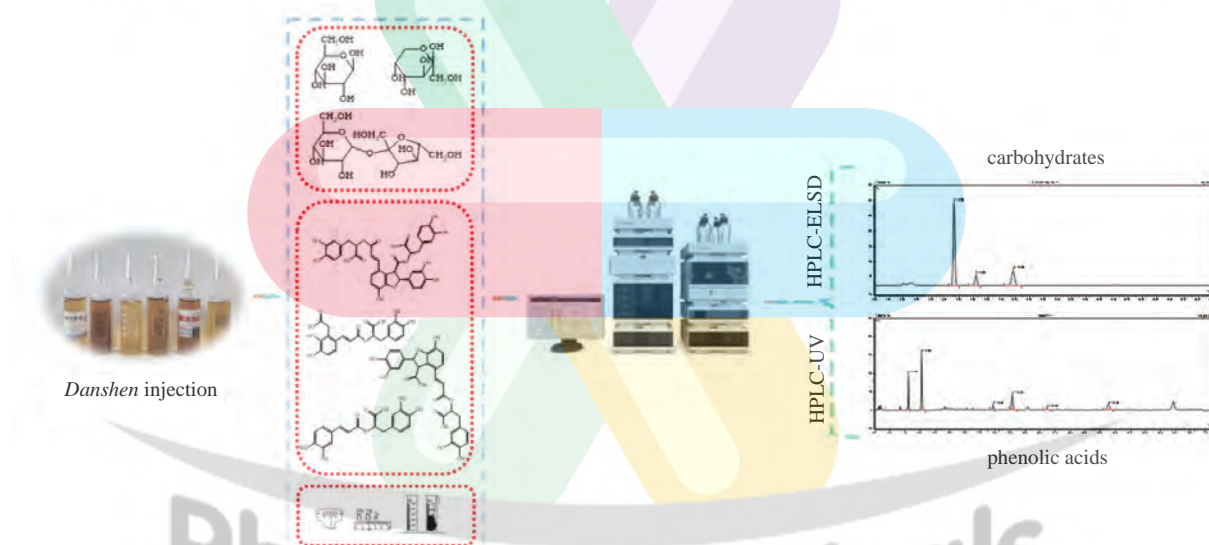


- 1487** GastroPlus 软件在预测甲苯磺酸索拉非尼片生物等效性中的应用.....孙运栋, 王小雷, 曾 金, 曹 祥, 徐翰林
Application of GastroPlus Simulation in Bioequivalence Study of Sorafenib Tosylate Tablets.....
.....SUN Y D, WANG X L, ZENG J, CAO X, XU H L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.013

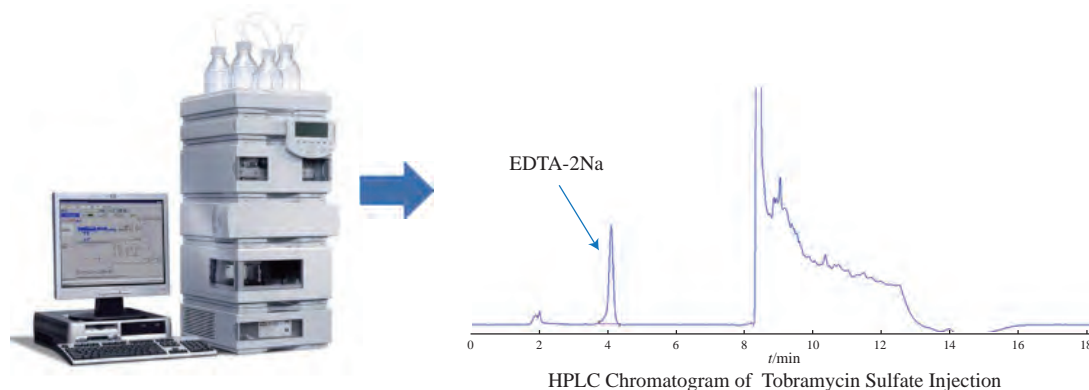


The figure shows drug concentration-time curve of sorafenib tosylate tablets predicted by GastroPlus software, which is basically consistent with the measured values.

- 1495** 市售丹参注射液的质量比较研究.....张 蓓, 李默影, 吴 彤, 周海凤*
Comparative Study on the Quality of Commercially Available *Danshen* Injection.....
.....ZHANG B, LI M Y, WU T, ZHOU H F*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.014

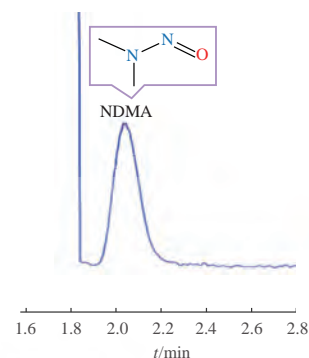


- 1501** HPLC 法测定硫酸妥布霉素注射液中乙二胺四乙酸二钠的含量.....范 迪, 赵敬丹, 闻宏亮, 秦 峰, 刘 浩*
Determination of Edathamil Disodium in Tobramycin Sulfate Injection by HPLC.....
.....FAN D, ZHAO J D, WEN H L, QIN F, LIU H*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.015

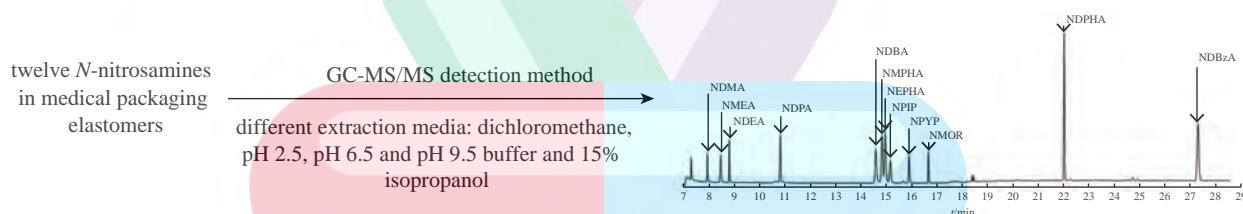


- 1504** LC-MS/MS 法测定盐酸二甲双胍缓释片中 *N*-亚硝基二甲胺及其产生原因初探.....张一平, 鲍梦娟, 贾永娟, 夏学军*
Determination of *N*-Nitrosodimethylamine in Metformin Hydrochloride Sustained-release Tablets by LC-MS/MS and Preliminary Study on Its Causes.....ZHANG Y P, BAO M J, JIA Y J, XIA X J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.016

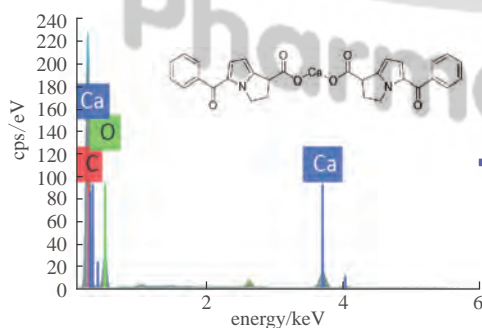
stress conditions	concentration of detected NDMA/ng·ml ⁻¹		
	metformin hydrochloride	pharmaceutical excipients	sustained-release tablets
initial	—	—	—
thermal degradation	—	—	—
photolysis	—	1.7	3.1
acid hydrolysis	—	—	—
alkaline hydrolysis	1.0	0.5	1.2
oxidation	9.8	18.5	38.9



- 1510** GC-MS/MS 法测定医药包装弹性体中的 12 种亚硝胺.....张 静, 翟小语, 吴 莹, 林黄静, 张毅兰*
Determination of Twelve Nitrosamines in Medical Packaging Elastomers by GC-MS/MSZHANG J, ZHAI X Y, WU Y, LIN H J, ZHANG Y L*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.017



- 1516** 酮咯酸氨丁三醇注射液中可见微粒的分析及控制.....郝贵周, 冯 中, 秦士慧, 庞黎玲, 朱 鹏, 张贵民*
Control and Analysis of Visible Particles in Ketorolac Tromethamine Injection.....HAO G Z, FENG Z, QIN S H, PANG L L, ZHU P, ZHANG G M*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.018



PP ampoules with lower calcium content should be selected as the packaging material for ketorolac tromethamine injection.

- 1522 美国 FDA 橙皮书的介绍及启示·····孙 搏, 陈桂良, 宁黎丽*
Introduction and Enlightenment of the US Food and Drug Administration's Orange Book·····
·····SUN B, CHEN G L, NING L L*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.019

- 1529 澳大利亚非处方药上市审评分类管理路径研究·····孟思梦, 吴 茹, 蒋 蓉, 邵 蓉*
Investigation on Management Path of Classification Management of Australian Over-The-Counter
Medicines Marketing Review·····MENG S M, WU R, JIANG R, SHAO R*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.020

- 1534 中国医药工业发展现状浅析与未来挑战·····汤 涵, 苗采烈, 林凡钰, 李宗阳, 李彩霞, 柳鹏程*
Development Status Analysis and Future Challenges of China's Pharmaceutical Industry·····
·····TANG H, MIAO C L, LIN F Y, LI Z Y, LI C X, LIU P C*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.021

· 其他 ·

广告索引 (1463)

制药工程专业英语特点与实践应用 刘莹 (1545)

制药行业英语教育教学理论与应用研究 姚晓超 (1546)

雷公藤多苷片的提取工艺研究及慢性肾病的改善 王姗姗 (1548)

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2021年第52卷 第11期 11月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.52 No.11 November 10, 2021

©All Rights Reserved

主 管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主 办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
总 编 辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副 总 编 辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责 任 编 辑	刘艺楠	Executive Editor	LIU Yinan
编 辑 出 版	《中国医药工业杂志》编辑部	Edited by	Editorial Board of Chinese Journal of Pharmaceuticals
编 辑 部 地 址	上海市北京西路1320号(200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road (W), Shanghai 200040, China
电 话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传 真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电 子 邮 箱	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网 址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电 话	021-62126987, 62473200	Tel	021-62126987, 62473200
传 真	021-62473200	Fax	021-62473200
电 子 邮 箱	ouyy@pharmadl.com	E-mail	ouyy@pharmadl.com
印 刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发 行 范 围	公开发行		
国 内 发 行	上海市邮政公司报刊发行局	Domestic Distributed by	Shanghai Post Company Newspaper Issuance Bureau
国 外 发 行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国 内 订 阅	全国各地邮政局		

* 通信作者, 如为第一作者则不加“*”号。*To whom correspondence should be addressed.

对文章贡献等同。#These authors contributed equally to this work. 征稿简则刊登于当年第1期

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*140*zh*P*20.00* *21*2021-11

版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

国内邮发代号 4-205

国外邮发代号 M6070



CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-yygy



微博: weibo.com/cjph

2022 年《中国医药工业杂志》征订信息

《中国医药工业杂志》是由上海医药工业研究院主管，上海医药工业研究院、中国药学会和中国化学制药工业协会主办的全国性医药科技刊物。

《中国医药工业杂志》是我国医药工业领域中办刊历史最长的医药期刊。自 1970 年 11 月创刊以来，《中国医药工业杂志》始终以报道我国医药工业和科研中的成果和经验为宗旨，刊载了大量反映中国医药工业发展水平的论文和论著，积累了丰富的第一手原始资料；同时密切关注国际上制药技术的发展新动向，刊登有指导意义的综述和专论。

《中国医药工业杂志》是全国中文核心期刊，“中国期刊方阵”入选期刊，中国生物医学核心期刊，中国科技核心期刊和中国科学引文数据库来源期刊，国家权威数据库中国知网（CNKI）收录期刊，多次荣获全国优秀科技期刊奖，上海市优秀科技期刊奖，华东地区优秀期刊奖。多年来一直入选“CA 千种表”，并位于全国医药期刊的前列，还被中国生物学文摘，中国药学文摘，中国化学文摘，*Analytical Abstracts*（分析文摘），*Biological Abstracts*（生物文摘）等中外数据库和文摘所收摘。

读者对象：医药、生物、化工等行业的生产、科研、教学、经营管理人员以及卫生系统的临床药学人员。

主要栏目：专论与综述、研究论文（化学药物与合成技术、微生物药物与生物技术、中药与天然药物、药物制剂、药理与临床、药品分析与质控、药物分离与纯化技术、制药装备与包装、实验技术等）、药学管理与信息、有机合成文摘、生物技术文摘和制剂技术文摘等。

本刊为月刊，每月 10 日出版，定价 20 元，全年 240 元。邮发代号：4-205。

订阅回执单

年 月 日

订阅单位					
详细地址					
收件人		联系电话		邮编	
全年订价	240元	份数		金额	

请将此回执寄回或传真至我刊发行部(复印有效)

邮局汇款 地 址：上海市静安区北京西路1320号，邮编：200040

银行汇款 开户银行：上海银行大通支行

单位名称：上海数图健康医药科技有限公司

帐 号：00002086885

编辑部联系：电话 021-62793151，传真 021-62473200，电子邮箱 cjph@pharmadl.com

发行部联系：电话 021-62896800，传真 021-62473200，电子邮箱 fxb@pharmadl.com

广告部联系：电话 021-62896800，传真 021-62473200，电子邮箱 lsj@pharmadl.com

《中国医药工业杂志》第十六届编辑委员会
EDITORIAL BOARD OF 《CHINESE JOURNAL OF PHARMACEUTICALS》
(以姓名拼音为序)

名誉主编 (HONORARY EDITOR-IN-CHIEF)

桑国卫* (SANG Guowei)

主任编委 (EDITOR-IN-CHIEF)

陈芬儿* (CHEN Fener)

顾问 (CONSULTANT)

白 骅 (BAI Hua)

孔德云 (KONG Deyun)

吴晓明 (WU Xiaoming)

陈凯先* (CHEN Kaixian)

李绍顺 (LI Shaoshun)

杨胜利* (YANG Shengli)

丁 健* (DING Jian)

沈竞康 (SHEN Jingkang)

朱宝泉 (ZHU Baoquan)

侯惠民* (HOU Huimin)

王广基* (WANG Guangji)

副主任编委 (ASSOCIATE EDITOR-IN-CHIEF) (△常务副主任编委)

陈代杰△ (CHEN Daijie)

林剑秋 (LIN Jianqiu)

王军志* (WANG Junzhi)

张万斌 (ZHANG Wanbin)

朱建伟 (ZHU Jianwei)

陈桂良 (CHEN Guiliang)

潘广成 (PAN Guangcheng)

杨 超 (YANG Chao)

张绪穆 (ZHANG Xumu)

胡文浩 (HU Wenhao)

唐 岳 (TANG Yue)

张贵民 (ZHANG Guimin)

周 斌 (ZHOU Bin)

李明华 (LI Minghua)

王 浩△ (WANG Hao)

张 霁 (ZHANG Ji)

周伟澄△ (ZHOU Weicheng)

编委 (MEMBER OF THE EDITORIAL BOARD)

蔡正艳 (CAI Zhengyan)

程卯生 (CHENG Maosheng)

范代娣 (FAN Daidi)

傅 磊 (FU Lei)

郭 文 (GUO Wen)

胡海峰 (HU Haifeng)

金 拓 (JIN Tuo)

刘东飞 (LIU Dongfei)

柳 红 (LIU Hong)

陆伟跃 (LU Weiyue)

马 璟 (MA Jing)

邵 蓉 (SHAO Rong)

孙会敏 (SUN Huimin)

陶 涛 (TAO Tao)

王建新 (WANG Jianxin)

王 彦 (WANG Yan)

吴 彤 (WU Tong)

杨立荣 (YANG Lirong)

殷 明 (YIN Ming)

张庆伟 (ZHANG Qingwei)

张志荣 (ZHANG Zhirong)

郑起平 (ZHENG Qiping)

周建平 (ZHOU Jianping)

庄春林 (ZHUANG Chunlin)

常 艳 (CHANG Yan)

邓卫平 (DENG Weiping)

方 浩 (FANG Hao)

甘 勇 (GAN Yong)

何 军 (HE Jun)

胡又佳 (HU Youjia)

李范珠 (LI Fanzhu)

刘玲玲 (LIU Lingling)

龙亚秋 (LONG Yaqui)

罗国强 (LUO Guoqiang)

潘红娟 (PAN Hongjuan)

沈 琦 (SHEN Qi)

孙小强 (SUN Xiaoqiang)

涂家生 (TU Jia sheng)

王 健 (WANG Jian)

王玉成 (WANG Yucheng)

吴 伟 (WU Wei)

杨 明 (YANG Ming)

尤启冬 (YOU Qidong)

张庆文 (ZHANG Qingwen)

赵临襄 (ZHAO Linxiang)

钟大放 (ZHONG Dafang)

周一萌 (ZHOU Yimeng)

陈少欣 (CHEN Shaoxin)

丁锦希 (DING Jinxi)

冯 军 (FENG Jun)

干荣富 (GAN Rongfu)

何 菱 (HE Ling)

黄则度 (HUANG Zedu)

李建其 (LI Jianqi)

刘新泳 (LIU Xinyong)

卢 懿 (LU Yi)

罗一斌 (LUO Yibin)

潘卫三 (PAN Weisan)

宋秋玲 (SONG Qiuling)

孙 逊 (SUN Xun)

涂 涛 (TU Tao)

王 旻 (WANG Min)

魏树源 (WEI Shuyuan)

吴 勇 (WU Yong)

杨苏蓓 (YANG Subei)

张福利 (ZHANG Fuli)

张卫东 (ZHANG Weidong)

赵文杰 (ZHAO Wenjie)

钟为慧 (ZHONG Weihui)

朱建英 (ZHU Jianying)

陈笑艳 (CHEN Xiaoyan)

董 琳 (DONG Lin)

冯 中 (FENG Zhong)

古双喜 (GU Shuangxi)

何严萍 (HE Yanping)

黄志红 (HUANG Zhihong)

李三鸣 (LI Sanming)

刘 忠 (LIU Zhong)

陆伟根 (LU Weigen)

吕 扬 (LÜ Yang)

朴虎日 (PIAO Huri)

苏为科 (SU Weike)

汤 磊 (TANG Lei)

屠永锐 (TU Yongrui)

王全瑞 (WANG Quanrui)

吴传斌 (WU Chuanbin)

吴勇琪 (WU Yongqi)

杨玉社 (YANG Yushe)

张启明 (ZHANG Qiming)

张英俊 (ZHANG Yingjun)

郑高伟 (ZHENG Gaowei)

周虎臣 (ZHOU Huchen)

朱雪焱 (ZHU Xueyan)

*院士

《中国医药工业杂志》编辑部成员 (EDITORIAL STAFF)

总编辑 (Managing Editor): 周伟澄 (ZHOU Weicheng)

副总编辑 (Associate Managing Editor): 黄志红 (HUANG Zhihong), 刘玲玲 (LIU Lingling)

责任编辑 (Editor): 刘玲玲 (LIU Lingling) (兼), 王 盈 (WANG Ying), 刘艺楠 (LIU Yinan), 刘文晗 (LIU Wenhan)

美术编辑 (Art Editor): 陆燕玲 (LU Yanling), 钱苗苗 (QIAN Miaomiao), 张丽冰 (ZHANG Libing)

编辑助理 (Editorial Assistant): 韦旭华 (WEI Xuhua)

广告、发行负责 (Advertisement Manager): 李朝凤 (LI Chaofeng), 金 雷 (JIN Lei), 欧阳怡 (OUYANG Yi)

承办单位: 上海数图健康医药科技有限公司

协办单位: 鲁南制药集团股份有限公司

度洛西汀手性中间体的生物合成

陈宇涵^{1,2}, 鄢定玉³, 阳小姣¹, 钟国寿¹

(1. 成都市龙泉驿区第二人民医院, 四川成都 610100; 2. 重庆医科大学, 重庆 400016;

3. 成都市龙泉驿区妇幼保健院, 四川成都 610199)

摘要: 本研究报道了 2 种运用重组工程菌, 以 3-二甲氨基-1-(噻吩-2-基)-1-丙酮 (**2**) 为底物, 建立生物合成重度抑郁治疗药度洛西汀的重要手性中间体 (*S*)-3-二甲氨基-1-(噻吩-2-基)-1-丙醇 (**1**) 的高效、低成本、绿色新方法。优化后 4 h 底物转化率达到 99% 以上, 产物收率高达 85%, 且 *ee* 值大于 99%。该方法利用酶偶联和底物偶联 2 种方法实现了辅酶循环, 无需添加外源性辅酶, 可显著降低生产成本, 为重度抑郁治疗药度洛西汀关键中间体的规模化生产提供了技术支持。

关键词: 生物合成; (*S*)-3-二甲氨基-1-(噻吩-2-基)-1-丙醇; 度洛西汀; 中间体; 不对称合成; 辅酶循环

中图分类号: O626.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-8255(2021)11-1476-04

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2021.11.011

Biosynthesis of Chiral Intermediate for Duloxetine

CHEN Yuhan^{1,2}, YAN Dingyu³, YANG Xiaojiao¹, ZHONG Guoshou¹

(1. Chengdu Longquanyi Second People's Hospital, Chengdu 610100; 2. Chongqing Medical University, Chongqing 400016;

3. Chengdu Maternity and Child Health Care Hospital of Longquanyi District, Chengdu 610199)

ABSTRACT: In this paper, two efficient, low cost, eco-friendly solutions of biosynthesis of duloxetine key intermediate (*S*)-3-(dimethylamino)-1-(thiophen-2-yl)propan-1-ol (**1**) was reported by using two recombinant strains as catalyst, 3-(dimethylamino)-1-(thiophen-2-yl)propan-1-one (**2**) as substrate. After optimization of reactions, 99% of substrate conversion was reached in 4 h with 85% of yield and *ee* 99%. Enzyme coupling and substrate coupling were used to realize the coenzyme cycle without adding exogenous coenzymes, which significantly reduced production costs. These solutions reported offered technical support for industrial production of the key intermediate of duloxetine for treatment of severe depression.

Key Words: biosynthesis; (*S*)-3-(dimethylamino)-1-(thiophen-2-yl)propan-1-ol; duloxetine; intermediate; asymmetric synthesis; coenzyme recycling

抑郁症是一种受环境影响, 精神和心理长期受到过大压力而引发的慢性疾病。根据 WHO 统计, 全球约有 3.5 亿抑郁症患者, 给社会带来了沉重的经济负担^[1]。度洛西汀是一种选择性 5-羟色胺及去甲肾上腺素受体抑制剂, 临床用于治疗中重度抑郁症^[1], 对糖尿病周围神经痛、紧张性尿失禁、纤维肌痛综合征、广泛性焦虑障碍也均有明显疗效^[2-5]。

(*S*)-3-二甲氨基-1-(噻吩-2-基)-1-丙醇 (**1**) 是度洛西汀合成过程中的关键中间体^[6], 主要合成方法有外消旋拆分法、化学催化法和生物催化法^[7-9]。

杨爱平等以 2-乙酰噻吩为原料, 经 Mannich 反应得到 3-二甲氨基-1-(噻吩-2-基)-1-丙酮 (**2**) 盐酸盐, 用硼氢化钠将 **2** 盐酸盐还原得到 3-二甲氨基-1-(噻吩-2-基)-1-丙醇 (**3**), 再经 (*S*)-扁桃-酸拆分制得 **1**, 总收率 43%, *ee* 值 80%~88% (图 1)^[10], 此法异构体浪费较多、收率较低、产物光学纯度偏低。

ZHU 等以刚性骨架手性氨基化合物 1,1'-二溴

收稿日期: 2021-06-21

作者简介: 陈宇涵(1994—), 男, 硕士, 药师, 从事生物不对称合成工作。

E-mail: 403303512@qq.com

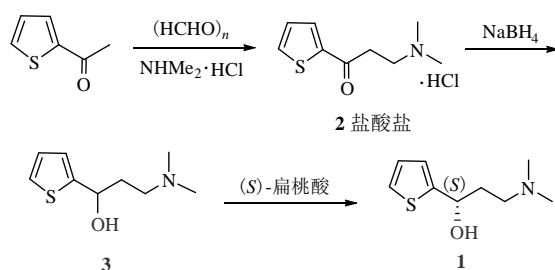


图 1 拆分法合成 1

Fig.1 Synthesis of 1 by Chiral Resolution

联异吡啶啉 (BIDN) 作诱导源, 以 1,1'- 双二苯基膦二茂铁 (DPPF) 作配体与二氯化钌配位结合, 制得一种高效金属不对称催化剂 $[\text{Ru}(\text{BIDN})\text{DPPF}]\text{Cl}_2$ 。在其催化下, 以 **2** 为催化底物, 5 MPa 氢压及碱性条件下催化反应 30 h 得 **1**^[11], 转化率 99%, *ee* 值 94% (图 2)。此法转化率高且产物光学纯度高, 但存在催化剂制备复杂、原料昂贵、催化条件苛刻、催化时间过长等问题, 严重限制了工业化应用。

生物合成法通常先收集土壤中的野生菌, 在较高底物浓度条件下筛出多株野生底物 **2** 耐受型菌株, 继续将耐受型野生菌株用于底物转化反应。李斌等筛选表达了多种重组立体选择性氧化还原酶, 最终得到高选择性还原酶 CR2 (GenBank: AB183149), 该酶能以 1 g/L 的 **2** 为底物, 使用辅酶还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (磷酸) $[\text{NAD(P)H}]$ 不对称催化得到 **1**^[12], 反应时间 6 h, 产率 92%, *ee* 值高达 99% (图 3)。但该酶对底物耐受性较差, 且催化过程中辅酶是按底物摩尔量添加, 生产成本较高, 还有进一步提升空间。生物催化虽拥有较高的产物光学纯度, 但也存在一些问题^[13], 如生物催化剂与底物比例过高 (250 : 1)、催化时间长、底物载量低、

辅酶无法循环利用, 其原因为野生型微生物酶表达量低且酶系复杂、辅酶含量低、非天然底物耐受性差等。

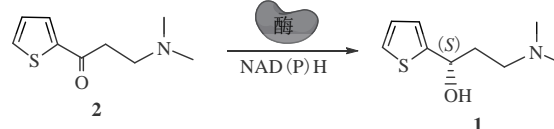


图 3 生物催化法合成 1

Fig.3 Synthesis of 1 by Biocatalysis

与拆分法和化学催化法相比, 生物催化制备手性中间体的方法具有反应条件温和、选择性高、环境友好等特点^[14]。为解决目前存在的问题, 本研究拟选用来自开菲尔乳杆菌 (*Lactobacillus kefir*) 的醇脱氢酶 (*Lk-ADH* GenBank: PRQ13348.1) 和圆红冬孢酵母菌 (*Rhodospiridium toruloides*) 的醇脱氢酶 (*Rt-ADH* Genbank: EMS18622.1) 作为羰基还原酶, 来自巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) 的葡萄糖脱氢酶 (glucose dehydrogenase, GDH) 作辅酶再生酶, 全合成相应酶编码基因片段, 并构建重组质粒。诱导重组工程菌后, 根据表达酶浓度来优化表达条件, 确保工程菌的目标酶能实现可溶性高表达。最终, 基于重组工程菌建立了通过酶偶联和底物偶联辅酶循环不对称合成 **1** 的方法, 并优化了反应条件。该法总产率 85.8%, 转化时间 4 h, 转化率和 *ee* 值均大于 99%。2 种催化还原方法均无需额外添加辅酶, 可通过辅助底物和 GDH 实现辅酶循环, 有利于降低生产成本, 为 **1** 工业化生产提供理论和技术支持。详见图 4。

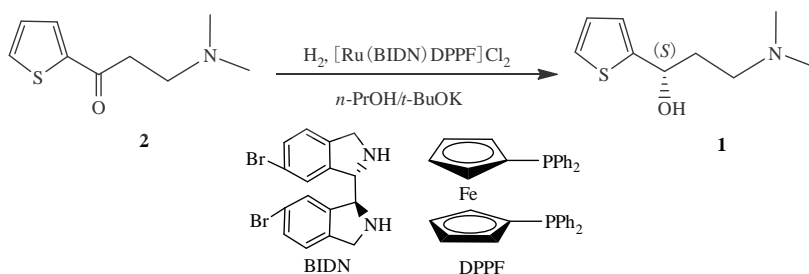


图 2 不对称法合成 1

Fig.2 Asymmetric Synthesis of 1

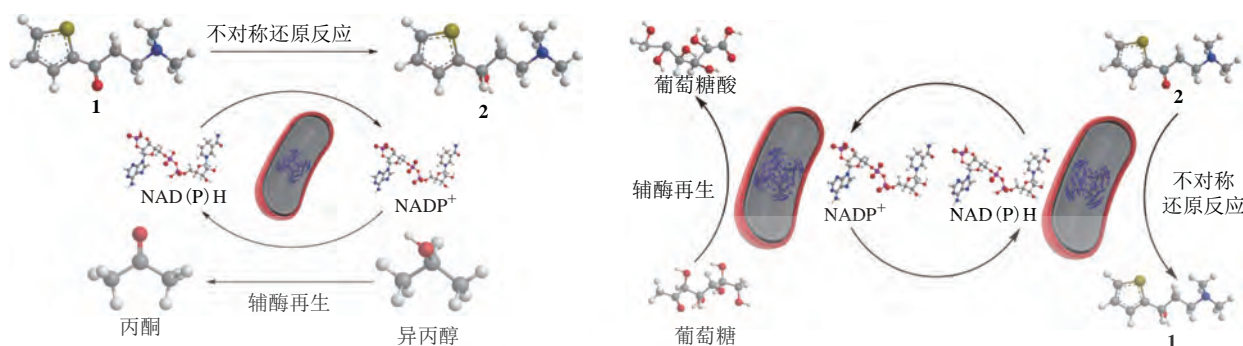


图4 辅酶循环合成1

Fig.4 Synthesis of 1 by Coenzyme Recycling

1 试验方法

1.1 表达载体的构建及酶表达

以 *Lk*-ADH 和 *Rt*-ADH 作羰基还原酶、GDH 作辅酶再生酶^[15]。将编码酶的全长基因片段进行全合成，再与 pET28α 载体连接，形成重组质粒 pET28α-*lk*-adh、pET28α-*rt*-adh 和 pET28α-*gdh*。在无菌操作台（苏州泰安空气技术有限公司）中将 2 管冻存 BL21 感受态细胞（100 μl，北京鼎国昌盛生物技术有限公司）解冻。依照说明书分别将提取得到的质粒（pET28α-*lk*-adh 或 pET28α-*rt*-adh）1.5 μl 加注至解冻感受态细胞中，冰浴 0.5 h。冰浴后将感受态细胞置 42℃ 热刺激 1.5 min，再冰浴冷却 2 min，然后加至灭菌后冷却至常温且不含抗菌药的 LB 酵母提取物：蛋白胨：氯化钠（1：2：2）液体培养基（OXOID，重庆川东化工有限公司）750 μl 中，37℃、150 r/min 条件下振荡复苏 45 min。分别将复苏后的菌液涂布于灭菌后加入含卡那霉素的 LB 固体培养基中，待培养液挥发后于 37℃ 孵箱（天津泰斯特仪器有限公司）中孵育过夜。于固体培养基中挑取单克隆菌落，分别接种于含 0.2 mg/ml 卡那霉素的 LB 液体培养基 20 ml 中，37℃、150 r/min 振荡过夜。分别吸取过夜活化的菌液 3 ml，接种至含 0.2 mg/ml 卡那霉素的 LB 液体培养基 300 ml 中，37℃、150 r/min 摇瓶培养，OD₆₀₀ 值达 0.8~1.0 时加入异丙基-*D*-β-硫代半乳糖苷溶液，摇瓶诱导表达 1 合成酶，蛋白质纯化后用聚丙烯酰胺（SDS-PAGE）凝胶电泳分析诱导后的细胞破碎液中各类蛋白成分。通过优化诱导剂浓度、诱导温度、诱导时

间，确定最适诱导表达条件。GDH 工程菌的构建及最适诱导条件参考文献^[15]。表达后菌液于 4℃、离心（8 500×g）5 min 收集菌体。菌体用 4℃ 的磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤，-20℃ 保存备用。

1.2 生物催化合成 (S)-3-二甲氨基-1-(噻吩-2-基)-1-丙醇 (1)

取 *Lk*-ADH 工程菌 60.0 mg 分散于 0.1 mol/L PBS（4 ml）中，加入 2（天津希恩思生化科技有限公司，48 mg）和适量异丙醇、NAD(P)H，维持一定 pH 值、温度，150 r/min 振荡反应。另取 *Rt*-ADH 和 GDH 工程菌各 30.0 mg 分散在 0.1 mol/L PBS 6 ml 中，加入 2（48 mg）和适量无水葡萄糖、NAD(P)H，维持一定 pH 值、温度，150 r/min 振荡反应。间隔一定时间分别取反应液用 TLC[展开剂：三氯甲烷：甲醇（9：1），成都科龙化工试剂公司]和 HPLC[色谱柱 Agilent Ecilpse Plus C₁₈ 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 甲醇：40 mmol/L 乙酸铵溶液（8.5：1.5）；流速 1 ml/min；检测波长 290 nm；进样量 5 μl] 监控反应。反应结束后，煮沸 0.5 h 充分沉淀蛋白。收集清液，加氢氧化钠溶液调至碱性，用等体积乙酸乙酯萃取 2 次。有机相经入无水硫酸钠（重庆川东化工有限公司）干燥，静置过夜。过滤，滤液蒸除溶剂，得白色或微黄色晶体 1。50℃ 减压干燥过夜，称重并计算收率。取产物溶于异丙醇，取 10 μl 用于光学纯度分析[色谱柱 Chiralcel OD-H 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 正己烷：异丙醇（98：2）；检测波长 235 nm；流速 5 ml/min]。¹H NMR、¹³C NMR、MS 确证结构。

2 试验结果

2.1 表达载体的构建及酶表达

将转染后的感受态细胞接种于含卡那霉素的固体培养基中可见单克隆菌落,表明含标记基因的质粒构建且转染成功。诱导表达条件经优化后,所得最适诱导表达条件为:异丙基-D-β-硫代半乳糖苷溶液浓度为 0.4 mmol/L;诱导温度为 *Lk*-ADH 15 °C, *Rt*-ADH 30 °C;诱导时间为 *Lk*-ADH 48 h, *Rt*-ADH 24 h。

2.2 生物催化合成 3-二甲氨基-1-(噻吩-2-基)-1-丙醇 (3)

经优化后, *Lk*-ADH 最适反应条件为:异丙醇 1.0 ml、72 mmol/L **2**, pH 7.0, 反应温度 40 °C。经优化后, *Rt*-ADH 最适反应条件为:无水葡萄糖 72 mg、100 mmol/L **2**, pH 7.0, 反应温度 30 °C。2 组催化反应均无需添加外源性辅酶即可达到 99% 的底物转化率。

HPLC 分析结果表明, **2** 的保留时间为 15.7 min, 监测 4 h, 所得转化率为: *Lk*-ADH 99.4%, *Rt*-ADH 99.6%。通过称量计算得到 2 组反应最终产物收率为: *Lk*-ADH 组 85.3%, *Rt*-ADH 组 85.6%。手性 HPLC 分析结果为: **1** 标准品保留时间为 15.1 min, 其对映异构体保留时间 17.2 min, 2 组工程菌催化产物的提取物保留时间为 15.9 和 15.8 min, 峰面积积分 >99%。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.73 ~ 1.74 (m, 2H), 2.12 (s, 6H), 2.23 ~ 2.33 (m, 2H), 4.86 (t, *J*=6.5 Hz, 1H), 5.79 (s, 1H), 6.92 (d, *J*=3.0 Hz, 1H), 6.94 ~ 6.96 (m, 1H), 7.36 (d, *J*=4.8 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 151.20, 126.94, 124.34, 123.04, 67.67, 56.48, 45.70, 45.18, 37.46。MS (*m/z*): 186 [*M*]⁻, 与 **1** 理论值一致。

3 结论

本研究运用重组工程菌,基于底物偶联和酶偶联法建立了生物合成 **1** 的高效、低成本、绿色新方法。其特点如下。①对于 2 种生物催化剂,使用单酶催化制备 **1** 时,生物催化剂制备技术难度及成本较双酶催化更低。使用双酶偶联催化制备 **1** 时,特定辅酶和再生酶的存在使反应效率更高,能承受更大的底物载量。②从生物催化剂的制备到产物的生物合

成,整个过程条件温和、污染小、效率高。③2 组生物催化剂均实现了无需外源性辅酶条件下的辅酶循环,显著降低了生产成本。④所建立的生物催化方法立体选择性好、催化效率高, *ee* 值和转化率均大于 99%, 为 **1** 的规模化生产提供了技术支持。

参考文献:

- [1] 过伟峰,曹晓岚,盛 蕾,等. 抑郁症中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(2): 141-148.
- [2] 寇 威,陈小平,刘 蔚,等. 度洛西汀联合依帕司他治疗糖尿病周围神经疼痛的临床疗效观察[J]. 国际医药卫生导报, 2020, 26(7): 929-931.
- [3] 王晓杰,潘志权. 度洛西汀合成路线图解[J]. 中国医药工业杂志, 2004, 35(5): 315-317.
- [4] 陈爱萍,邵培培,顾 文,等. 柴胡加龙骨牡蛎汤联合度洛西汀治疗纤维肌痛综合征 60 例疗效观察[J]. 北京中医药, 2020, 39(10): 65-68.
- [5] 孙振晓,于相芬. 度洛西汀不良反应近况文献概述[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2019, 25(2): 59-62.
- [6] 虞心红,温新民,汤 建,等. 盐酸度洛西汀的合成[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(6): 367-368.
- [7] 黄冠廷,杜育芝,彭 昆,等. 脂肪酶手性拆分的研究进展[J]. 广州化工, 2016, 44(9): 5-9.
- [8] 刘文强,李 莉. 手性药物及其中间体拆分方法的研究进展[J]. 药学报, 2018, (1): 37-46.
- [9] REN Z Q, LIU Y, PEI X Q, *et al.* Bioreductive production of enantiopure (*S*)-duloxetine intermediates catalyzed with ketoreductase ChKRED15 [J]. *J Mol Catal B: Enzym*, 2015, 113: 76-81.
- [10] 杨爱平,陈 灿. 抗抑郁药度洛西汀的合成方法综述[J]. 广东化工, 2012, 39(4): 39-40.
- [11] ZHU Q, SHI D, CHUN G X, *et al.* Ruthenium catalysts containing rigid chiral diamines and achiral diphosphanes for highly enantioselective hydrogenation of aromatic ketones [J]. *Chemistry*, 2011, 17(28): 7760-7763.
- [12] 李 斌,聂 尧,徐 岩. 高选择性不对称还原 *N,N*-二甲基-3-酮-3-(2-噻吩)-1-丙胺的重组氧化还原酶催化性质及其酶促转化[J]. 微生物学通报, 2017, (1): 1-8.
- [13] WANG Y J, LIU X Q, LUO X, *et al.* Expression and cloning enzymatic characterization of an aldo-keto reductase from *Candida albicans* XP1463 [J]. *J Mol Catal B: Enzym*, 2015, 122: 44-50.

(下转第1486页)

- poly (*DL*-lactic-co-glycolic acid) microspheres [J]. *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 2010, **58** (11): 1474-1479.
- [6] 郁 晓, 任 杰, 任天斌, 等. 两性霉素 B 缓释微球的制备及缓释性能研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2007, **26** (3): 445-451.
- [7] ZHU C, HUANG Y, ZHANG X, *et al.* Comparative studies on exenatide-loaded poly (*D,L*-lactic-co-glycolic acid) microparticles prepared by a novel ultra-fine particle processing system and spray drying [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, **132**: 103-110.
- [8] 李 想, 孙考祥, 李又欣. 长效微球制剂产业化研究进展[J]. 中国药学杂志, 2019, **54** (21): 1729-1733.
- [9] DIANA J N, TAO Y, DU Q, *et al.* PLGA microspheres of hGH of preserved native state prepared using a self-regulated process [J]. *Pharmaceutics*, 2020, **12** (7): 683.
- [10] 杨忆斐, 刘天龙. PLGA 纳米微粒的制备及应用[J]. 分析化学进展, 2020, **10** (4): 99-106.
- [11] 彭 巧, 宋 宁, 马 巍, 等. 影响 PLGA 微球包封率和粒径相关因素研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2015, **15** (29): 5790-5793.
- [12] 孙美丽, 班俊峰, 黄思玉, 等. PLGA 微球载药量和包封率的影响因素及控制[J]. 广东药学院学报, 2011, **27** (6): 643-648.
- [13] 王恺源, 高永良. 影响 PLGA 微球突释的因素以及控制技术[J]. 中国新药杂志, 2011, **20** (6): 557-562.
- [14] WANG Y, SUN T, ZHANG Y, *et al.* Exenatide loaded PLGA microspheres for long-acting antidiabetic therapy: preparation, characterization, pharmacokinetics and pharmacodynamics [J]. *RSC Adv*, 2016, **6** (44): 37452-37462.
- [15] 蔡梦琳, 王 猛, 陈吉丽, 等. 氢氧化镁的载入量和粒径对艾塞那肽 PLGA 微球体外释放行为的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2020, **51** (12): 1578-1585.
- [16] KANG J, WU F, CAI Y, *et al.* Development of recombinant human growth Hormone (rhGH) sustained-release microspheres by a low temperature aqueous phase/aqueous phase emulsion method [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, **62**: 141-147.

~~~~~

(上接第1479页)

- [14] GROGAN G. Synthesis of chiral amines using redox biocatalysis [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2018, **43**: 15-22.
- [15] CHEN Q, XIE B G, ZHOU L, *et al.* A tailor-made self-sufficient whole-cell biocatalyst enables scalable enantioselective synthesis of (*R*)-3-quinuclidinol in a high space-time yield [J]. *Org Process Res Dev*, 2019, **23** (9): 1813-1821.

Pharmaceuticals