

吡嗪酰胺的研究进展

李亚飞, 金利群, 柳志强, 郑裕国* (浙江工业大学生物工程研究所, 杭州 310032)

摘要: 目的 介绍吡嗪酰胺的研究进展。方法 本文对吡嗪酰胺的化学合成法和微生物催化转化法进行了综述, 并对两者进行了比较。同时, 对吡嗪酰胺的应用也作了探讨。结果 与化学法生产吡嗪酰胺相比, 微生物法催化转化 2-氰基吡嗪生产吡嗪酰胺, 具有反应条件温和, 产物产率高和纯度高优点。结论 吡嗪酰胺是一种重要的抗结核药物。由于在医药和化工方面的广泛应用, 其研究越来越引起人们的重视。

关键词: 吡嗪酰胺; 化学合成; 微生物法; 腈水合酶; 2-氰基吡嗪

中图分类号: R916.693

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)04-0307-06

The Research Progress on Pyrazinamide

LI Yafei, JIN Liquan, LIU Zhiqiang, ZHENG Yuguo* (Institute of Bioengineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To review the progress of pyrazinamide. **METHODS** This paper provides an overview about the chemical synthesis and biotransformation preparation of pyrazinamide, the advantages of the two methods and the application of pyrazinamide. **RESULTS** Compared with the chemical method, the microbial preparation of pyrazinamide with the substrate of 2-cyanopyrazine has the more advantages on the friendly reaction conditions, the high output and the purity. **CONCLUSION** Pyrazinamide is an important anti-tuberculous agent. It is receiving considerable attention for its application in pharmaceutical and chemical industry.

KEY WORDS: pyrazinamide; chemical synthesis; microbial method; nitrile hydratase; 2-cyanopyrazine

吡嗪酰胺(pyrazinamide, PZA), 又名氨甲酰基吡嗪, 由 Dalmer 和 Walter 于 1936 年首次合成^[1], 并于 1952 年发现其抗菌活性。吡嗪酰胺分子式 $C_5H_5N_3O$, 相对分子质量 123.11, 熔点 $192\text{ }^{\circ}\text{C}$, 白色结晶状粉末, 味微苦, 无臭, 常温在水中的溶解度小于 $15\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 溶于氯仿, 二氯甲烷, 难溶于苯。结构上, 吡嗪酰胺属于烟酰胺的结构类似物。近年来发现吡嗪酰胺对顽固菌有较好的杀菌作用, 故在临床广泛应用, 它与利福平已成为短程化疗中最有效的抗菌药物。由于吡嗪酰胺在抗结核药中的广泛应用, 因此它越来越引起人们的重视。

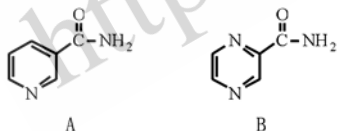


图 1 烟酰胺(A)和吡嗪酰胺(B)的化学结构式

Fig 1 Chemical structures of nicotinamide (A) and pyrazinamide (B)

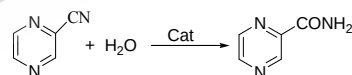
1 吡嗪酰胺的化学合成

目前, 国内外吡嗪酰胺的生产主要以化学法生产为主, 合成原料以吡嗪母环类为主, 如 2-氰基吡

嗪、2-吡嗪甲酸酯、吡嗪等, 在催化剂作用下通过水合作用, 氨解、氧化脱羧等方法合成吡嗪酰胺。

1.1 2-氰基吡嗪水合法

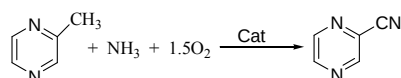
以 2-氰基吡嗪为原料, 通过水合作用来合成吡嗪酰胺是最近比较热门的方法, 其反应式为:



这条路线的报道最多, 技术最为成熟。从 2-氰基吡嗪经过碱或酸水合后便可得到吡嗪酰胺^[2-4]。此工艺路线短, 产率高, 容易规模化生产。

此方法的缺点在于原料 2-氰基吡嗪价格昂贵, 主要依赖于进口。因此, 开发廉价的合成 2-氰基吡嗪的工艺也是研究热点。

冯亚青等^[5]开发了一种由 V-Mo-OP 四元素组成的胺氧化催化剂(V-II 型), 以 2-甲基吡嗪为原料进行固相接触氨氧化反应制备 2-氰基吡嗪。反应式如下:



当 2-甲基吡嗪、氨气、空气的投料量分别为:

作者简介: 李亚飞, 男, 硕士生 Tel: 13588767615

E-mail: wqer_1212@163.com

*通信作者: 郑裕国, 男, 博士, 教授, 博导

Tel: (0571)88320630 E-mail: zhengyg@zjut.edu.cn

0.05, 200, 1000 mL·min⁻¹, 反应温度 430 °C, 2-氰基吡嗪单程收率大于 87%, 产品纯度大于 99%, 并进行了中试, 结果与小试吻合。

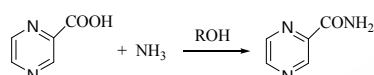
浙江大学^[6]报道了以 2-溴吡嗪为原料合成 2-氰基吡嗪, 反应式如下:



它以烷基苯为反应溶剂, 以碘化亚铜、碘化钾和 N, N'-二甲基乙二胺为组合催化剂, 2-溴吡嗪和氰化钠在氮气保护下在 100~150 °C 反应 20~48 h, 随后过滤, 滤液减压分馏得到 2-氰基吡嗪。产率在 70% 以上, 纯度为 99%。此工艺流程简单, 反应条件温和, 试剂廉价, 易于工业化生产。

1.2 2-吡嗪甲酸酯氨解法

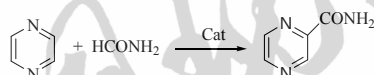
以 2-吡嗪甲酸酯为原料, 在醇溶液中和氨气或与液氨进行氨解合成吡嗪酰胺是最古老的方法。其反应式为:



该方法的主要缺点是原料 2-吡嗪甲酸酯合成路线长, 各个工序设备投资大, 能耗高, 合成比较困难^[7]。

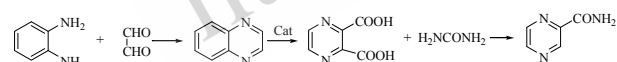
1.3 吡嗪氨还原法

以吡嗪为原料的合成方法, 反应如下:



该反应将吡嗪滴加到搅拌的浓硫酸中形成吡嗪硫酸盐, 冷却析晶后将晶体粉碎后分批加入到 0 °C 甲酰胺中, 同时加入过氧化氢和硫酸亚铁反应 15 min。减压蒸馏过量甲酸后以氯仿萃取得到吡嗪酰胺^[8]。这种方法工艺较短、路线简单, 可以从吡嗪一步合成吡嗪酰胺。但是产率低, 不适合工业化生产。

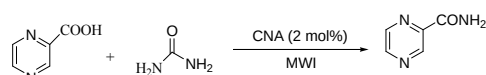
1.4 邻苯二胺氧化脱羧法



邻苯二胺和乙二醛脱水环化, 经萃取蒸馏后得到喹啉, 产率为 95%, 喹啉经高锰酸钾氧化合成吡嗪-2,3-二羧酸, 酸化析出。此步收率为 83%。吡嗪-2,3-二羧酸与尿素反应合成吡嗪酰胺^[9]。此方法的工艺条件简单, 但线路较长, 终产率只有 40% 左右。

1.5 2-吡嗪甲酸还原法

采用在固相合成方法, 酸和尿素在硝酸铈铵作为催化剂, 通过微波照射可以高产率合成酰胺。反应如下:



在微波照射下, 2-吡嗪甲酸在 1 min 内转化成吡嗪酰胺, 转化率高达 90%^[10]。此方法操作简单, 反应速率快, 转化率高, 属于环境友好型催化反应, 且成本低。

一般化学合成方法缺陷较多, 一方面有大量废酸废碱排出, 造成严重的环境污染, 另一方面设备要求高, 反应条件苛刻, 且有副产物生成, 合成路线一般较长, 成本较高。因此许多化学合成方法不太适合大规模工业化生产。国内目前主要的吡嗪酰胺生产企业有石家庄市第五制药厂、通辽市制药厂、沈阳故宫制药厂、上海吴淞制药厂、南通制药总厂、盐城制药厂、江苏太仓制药厂、江阴制药厂、浙江尖峰海洲制药有限公司、安庆市海宜制药厂、绿岛实业总公司厦门制药厂、湖南省株洲制药厂、台州市江北化工厂、广东省石龙华南制药厂、成都锦华制药厂等十几家企业。

2 吡嗪酰胺的生物法合成

2.1 腈水合酶

生物法生产酰胺类化合物主要是通过产腈水合酶菌株分泌的胞内酶选择性的作用于它的底物腈一步反应所得。微生物分解腈类化合物主要有两种途径: 一种是腈水解酶(nitrilase), 它催化腈直接水解, 一步生成羧酸及 NH₃; 另一种是腈水合酶(nitrile hydratase, NHase), 它催化腈水解生成酰胺, 在酰胺酶(amidase)存在的情况下, 酰胺也可进一步转化成羧酸及 NH₃ ^[11]。生物系统中腈的形成与代谢见图 2。

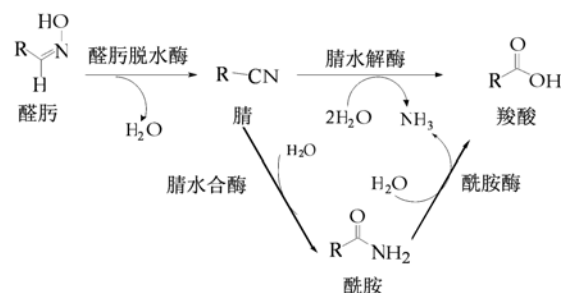


图 2 腈的代谢途径

Fig 2 Different pathways of nitrile metabolism

根据催化活性中心所含辅助金属离子不同, 腈水合酶可分为 2 类: 一类为高分子量腈水合酶

(H-NHase), 也称钴型脒水合酶; 另一类为低分子量脒水合酶(L-NHase), 也称铁型脒水合酶。铁型和钴型脒水合酶在氨基酸序列上具有很大的同源性, 并且具有相似的一级结构和二级结构, 具有 α 和 β

两个亚基, 活性中心位于 2 个亚基中间, 在 α 亚基中存在一个 Cys-X-L-Cys-Ser-Cys 的保守序列^[12], 这也揭示了 2 种水合酶可能具有相同的催化机制^[13], 见图 3。

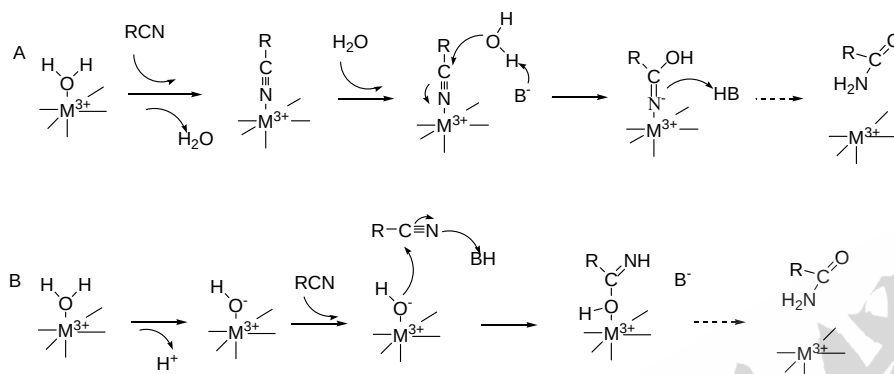


图 3 推测的脒水合酶催化机制

Fig 3 Two putative mechanism of Nhase

应用脒水合酶生产酰胺早已工业化, 生产丙烯酰胺第三代脒水合酶菌株 *Rhodococcus rhodococcus* J-1 的酶活已达到 2 480 单位。我国于 90 年代, 由上海农药研究所的沈寅初院士在我国泰山的土壤中发现了一株高效催化脒水合酶的菌株, 经选育后酶活达到 5 627.5 单位, 是迄今发现的脒水合酶酶活最高的菌株, 并应用此菌株建成采用生物技术生产大宗化工原料丙烯酰胺的工业性生产装置, 开创了国内生物催化法生产大宗化学品的先河^[14-15]。

2.2 吡嗪酰胺的生物法合成

欧洲和日本专利^[16-17]报道了产钴型脒水合酶红球属细菌 *R.rhodochrous* J1 生产吡嗪酰胺技术, 在培养基中存在钴离子的情况下, *R.rhodochrous* J1 静息细胞催化 2-氰基吡嗪生成吡嗪酰胺, 其转化率高达 100%, 且无副产物产生。

日本学者随后报道了 *R.rhodochrous* J1 在异戊脒作为诱导剂能表达脒水解酶, 采用静息细胞催化转化氰基吡嗪生产吡嗪酰胺的活性物质-吡嗪酸^[18]。在优化的条件下, $3.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氰基吡嗪转化成吡嗪酸, 摩尔转化率为 100%。反应液中最高产率为 $434 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 纯度能达到医学纯级别。

近年来, 采用基因重组或基因克隆构建基因工程菌, 以提高脒水合酶或脒水解酶表达水平、酶的稳定性和酶的活力受到广泛青睐。 *Comamonas testosteroni* 5-MGAM-4D 产脒水合酶和酰胺酶, 用于催化转化丙烯脒和甲基丙烯脒生产丙烯酸和甲

基丙烯酸^[19], 通过基因克隆, 可以只表达脒水合酶活性。世界专利^[20]报道了克隆 *Comamonas testosteroni* 5-MGAM-4D 脒水合酶生产吡嗪酰胺。它以 *E.coli* SW132 为表达宿主, 克隆表达重组 *Comamonas testosteroni* 5-MGAM-4D 脒水合酶, 序列分析表明 *Comamonas testosteroni* 5-MGAM-4D 脒水合酶的 α 和 β 亚基基因与 *Pseudomonas putida* 5B 同源性分别为 97% 和 82%。其热稳定性、反应条件稳定性均优于 *Pseudomonas putida* 5B 脒水合酶, 50 °C 保温 60 min 酶活仍保留 83%, 而后者完全失活。非固定化重组 *E.coli* SW132 在 23 °C 的磷酸盐缓冲体系 (pH7.0) 中催化转化浓度为 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 2-氰基吡嗪 15 min, 酰胺转化率为 100%, 酸转化率为 0%。

几年来, 笔者实验室一直致力于脒类化合物的生物催化与生物转化研究, 对脒水解酶和脒水合酶微生物细胞的选育、生物催化过程工程等方面进行了较多的工作, 以脒类化合物为底物, 通过脒转化酶的作用生产重要的医药中间体和精细化工产品取得了成功应用, 例如应用实验室分离得到的菌种 *Delftia tsuruhatensis* ZJB-05174 建立了 (S)-2,2-二甲基环丙烷甲酰胺的合成路线^[21], 应用 *Rhodococcus* sp. ZJUT-N595 建立了合成精细化工产品羟基乙酸的工艺路线^[22]和利用 *B.subtilis* ZJB-063 合成医药中间体对甲氧基苯乙酸^[23]等。

笔者实验室从土壤中筛选到一株产钴型脒水

合酶的菌种 ZJB-09104, 通过生理生化和 16sRNA 鉴定为 *Serratia marcescens* 属, 并对静息细胞催化转化 2-氧基吡嗪生成吡嗪酰胺的条件和酶的热稳定性做了初步研究。转化实验结果表明, 在转化过程中, 并无吡嗪酸产生, 说明 ZJB-09104 不含胍水解酶和酰胺酶, 只存在胍水合酶活性。该水合酶在中性和酸性环境中相对酶活都较低, 而在偏碱性环境中相对酶活较高, 在 Tris-HCl 缓冲体系中当 pH 为 9.0 时, 相对酶活仍有 86%, 说明该水合酶属于嗜碱性酶。已有报道的许多胍水合酶的耐热性都比较好^[24], 如 *R.rhodochrous* J1 在 60 °C 保温 60 min 仍有活性, 而 *P.chlororaphis* 在 20 °C 保温 30 min 后酶活只有原来的 5%。*P.thermophila* 胍水合酶在 60 °C 保温 120 min 仍保留原来酶活的 90%。而 ZJB09104 胍水合酶在 50 °C 以下热稳定性较好, 最适温度为 50 °C, 但随着温度增加或减少, 酶活力急剧下降, 温度为 65 °C, 酶活力只有原来的 60%。在 20 °C 时, 酶活力只有原来的 20%。

Serratia marcescens ZJB09104 只含有胍水合酶, 在 50 °C 具有良好的热稳定性, 可以作为合成吡嗪酰胺的潜在的生物催化剂。为了更好了解和得到适合工业化应用的 ZJB09104 胍水合酶, 下一步的主要工作是克隆和定点突变编码胍水合酶的基因, 使其在宿主内过量表达, 此项工作正在进行中。

3 吡嗪酰胺的应用

3.1 在医药方面的应用

吡嗪酰胺是一种重要的一线抗结核药物, 主要用于因其它抗结核药治疗失败的复治病例, 在 pH 5.5 条件下最小抑制浓度 (MIC) 为 6.25~50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[25]。它与利福平、异烟肼已成为短程化疗中最有效的抗菌药物, 能将结核病治疗疗程从 9~12 个月缩短到 6 个月, 故在临床上得到了广泛应用。此外, 吡嗪酰胺还可以作为抗癌药, 它对艾利希腹水肿瘤细胞有显著抑制作用, 可有效抑制肿瘤细胞有丝分裂, 减少癌细胞数量, 使肿瘤细胞从腹水中消失^[26]。

目前, 吡嗪酰胺的抗菌作用机制还不是很清楚, 普遍认可的抗菌机制为张颖等提出的吡嗪酸 (HPOA) 在细菌内外的动态平衡机制^[27]: 吡嗪酰胺扩散到 *Mycobacterium tuberculosis* 体内, 由吡嗪酰胺酶转化成吡嗪酸, 一部分吡嗪酸排出细菌体外使环境酸化, 质子化的吡嗪酸再通过被动运输和缺陷的外排机制扩散到细菌体内并不断积累, 从而抑制

膜的运输功能, 使细胞死亡。但对于吡嗪酰胺的具体作用靶标仍不确定, Ngo 等^[28]从酶动力学角度指出吡嗪酰胺、吡嗪酸及卤代吡嗪酰胺可以抑制纯化的分歧杆菌脂肪酸合酶 I (FASI), FASI 可以作为研究抗结核菌新药物的潜在靶标。Wang 等^[29]从蛋白质组学角度阐明了一线抗结核药物对 *M.smegmatis* 靶标代谢途径的影响, 吡嗪酰胺可以扰乱 *M.smegmatis* 细胞氮源代谢, 羧酸和有机酸代谢, 进而特异性地扰乱谷氨酸盐代谢和胺的降解。

由于吡嗪酰胺显著的抗结核菌活性, 以吡嗪酰胺作为中间体或原料合成更为广谱的、活性更高的抗结核杆菌新药物得到广泛关注, 在这一方面国外已经做了卓有成效的工作。Yamamoto 等^[30]合成了 39 种吡嗪衍生物和吡嗪酰胺类似物, 筛选出 4 种抗分歧杆菌 *M.tuberculosis*, *M. avium* 和 *M. intracellulare* 效果较好的药物。对照的 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 吡啶酰胺对任一结核杆菌无抗菌活性的实验条件下, N-羟甲基吡嗪硫代甲酰胺对 *M. intracellulare* 的 MIC 仅为同等条件下吡嗪酰胺的 1/8。由吡嗪酰胺为原料合成的吡嗪酰胺曼尼希碱, 由于其具有亲酯性, 更易穿透细胞膜而进入细胞, 并且能够在中性环境下具有抗菌活性, 体外对多药抗性结核杆菌的 MIC 仅为 0.20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 是吡嗪酰胺的 1/125^[31]。

通过卤化或烷基化合成吡嗪酰胺类似物可以得到抗菌活性更好的新化合物, 如 5-氯吡嗪酰胺具有比吡嗪酰胺更广谱的抗分歧杆菌活性^[32]。Dolezal 等^[33]通过卤化和烷基化吡嗪-2-羧酸酰胺合成新的抗分歧杆菌、抗真菌药物, 其中 5-叔丁基-6-氯-N-(3-氟甲基苯基)吡嗪-2-羧酸胺和 N-(3-三氟甲基苯基)吡嗪-2-羧酸胺对 *M. tuberculosis* 的最小抑制浓度分别为 3.13, 6.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3.2 在化工方面的应用

吡嗪酰胺可以作为配基通过氧或氮原子与镧系金属配合合成稀土金属化合物, 如 $\text{LnCp}^*(\text{MS})_2\text{PzA}$, $\text{Ln}=\text{Sm}$, Tb 和 Yb , 可应用于催化苯乙烯的聚合^[34]。吡嗪酰胺与其它金属形成的络合物还可以应用于元素分析、热分析等。

吡嗪酰胺也可以应用于感光材料, 它作为银胶的吸附物形成银胶-被吸附物底片成像。这种材料具有成胶快、感光性好等特点^[35]。同时聚吡嗪酰胺是一种高度透明、有良好操作性能, 并能阻水溶解的材料, 适用于大多数热成型工艺, 可使用传统加工设备, 包括薄板和薄膜的挤出设备, 吹膜制造、

纤维抽丝以及注塑加工等设备^[36]。

4 结论

近来,应用产脲水合酶微生物催化转化脲生产重要的医药中间体和精细化工产品受到广泛关注。而应用微生物催化合成吡嗪酰胺的报道并不多。微生物催化与转化 2-氰基吡嗪生产吡嗪酰胺的工艺具有高效、条件温和、环境污染小、成本低、产物光学纯度高优点,符合原子经济和绿色化学的发展方向,有着化学方法无可比拟的优越性。但由于存在底物或产物抑制以及酶不稳定性,许多生物催化剂很难达到工业应用的水平。但随着新的脲水解酶和水合酶的不断开发,以及基因工程和酶工程在生物催化与转化中的应用,大大改善了酶活力和稳定性,为生物催化酶在工业上的应用提供了广阔的前景。

REFERENCES

- [1] ELSEVIER LTD. Pyrazinamide [J]. Tuberculosis, 2008, 88(2): 141-144.
- [2] KOEI CHEMICAL CO. Production of pyrazinamide: Japan, 62111971(A) [P]. 1987-05-22.
- [3] ZERGEN J, RAZ B. Process for the preparation of pyrazinamide: European, 122355 A2 [P]. 1984-10-24.
- [4] YU F. Pyrazinamide and pyrazinamide tablets: China, 200410053805.9 [P]. 2005-06-22.
- [5] FENG Y Q, ZHANG S H, ZHOU L S, et al. Synthesis of 2-cyanopyrazine by catalytic ammoxidation [J]. J Chem Eng Chin Univ (高校化学工程学报), 2003, 17 (4): 395-399.
- [6] Zhengjiang University. Synthetic method of the 2-cyanopyrazine-a key intermediate of anti-tuberculous agent pyrazinamide: China, 200610154723.2 [P]. 2006-11-21.
- [7] MASSAJI H, YOSHIKI F, SHIGERA I. Production of pyrazinocarboxamide: Japan, 06271550 [P]. 1994-09-27.
- [8] CBZ Chemicals Limited. Methods of making pyrazinamide comprising treating protonated pyrazine with a reactive amide species: UK, 0120389.2 [P]. 2003-02-26.
- [9] ZHOU Q, ZHENG Y Y, LI B D, et al. Synthesis of pyrazinamide [J]. Jiangsu Chem Ind (江苏化工), 2005, 33(Suppl): 124-126.
- [10] REDDY C S, RAGHU M, NAGARAJ A. Ceric ammonium nitrate (CAN) promoted efficient solid phase synthesis of amide derivatives: A green approach [J]. Indian J Chem, 2008, 47B: 315-318.
- [11] BANERJEE A, SHARMA R, BANERJEE U C. The nitrile-degrading enzymes: current status and future prospects [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 60 (1-2): 33-44.
- [12] HASHIMOTO Y, SASAKI S, HERAI S, et al. Site-directed mutagenesis for cysteine residues of cobalt-containing nitrile hydratase [J]. J Inorg Biochem, 2002, 91(1): 70-77.
- [13] HOPMANN K H, HIMO F. Theoretical investigation of the second-shell mechanism of nitrile hydratase [J]. Eur J Inorg Chem, 2008, (9): 1406-1412.
- [14] SHEN Y C, ZHANG G F, HAN J S. Producing pyrazinamide by microbial method [J]. Ind Microbiol (工业微生物), 1994, 24(2): 24-32.
- [15] ZHANG Y H, FAN R P, SHEN Y C. Studies on a strain in producing nitrile hydratase [J]. Ind Microbiol (工业微生物), 1998, 28(3): 1-5.
- [16] YAMADA HIDEAKI. Biological production of amide: Japan, 2000470 (A) [P]. 1990-01-05.
- [17] HIDEAKI Y. Process for biological production of amides: European, 307926 B1 [P]. 1989-09-16.
- [18] MICHIIHIKO K, NORIYUKI Y, TORU N, et al. Nitrilase-catalyzed production of pyrazinoic acid, an antimycobacterial agent, from cyanopyrazine by resting cells of *Rhodococcus rhodochrous* J1[J]. J Antibiot, 1990, 43(10): 1316-1320.
- [19] ROBERT D, ROBERT F, GAVAGAN E, et al. Method for producing methacrylic acid acrylic acid with a combination of enzyme catalysis: US, 0148480 A1 [P]. 2003-08-07.
- [20] MARK P, ROBERT D, JOHN G, et al. Nitrile hydratase and amidase from *comamonas testosteroni* 5-MGAM-4D: US, 049618 A1[P]. 2006-11-05.
- [21] ZHENG R C, WANG Y S, LIU Z Q, et al. Isolation and characterization of *Delftia tsuruhatensis* ZJB-05174, capable of R-enantioselective degradation of 2, 2-dimethyl-cyclopropanecarboxamide [J]. Res Microbiol, 2007, 158(3): 258-264.
- [22] HU J G, WANG Y J, ZHENG Y G, et al. Isolation of glycolnitrile-hydrolyzing microorganism based on colorimetric reaction [J]. Enzyme Microbial Tech, 2007, 41(3): 244-249.
- [23] ZHENG Y G, CHEN J, LIU Z Q, et al. Isolation, identification and characterization of *Bacillus subtilis* ZJB-063, a versatile nitrile-converting bacterium [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2008, 77(5): 985-993.
- [24] GRAHAM D, PEREIRA R, BARFIELD D, et al. Nitrile biotransformations using free and immobilized cells of a thermophilic *Bacillus* spp.[J]. Enzyme Microbial Tech, 2000, 26(5-6): 368-373.
- [25] ZHANG Y, MITCHISON D. The curious characteristics of pyrazinamide: a review [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2003, 7(1): 6-21.
- [26] ZHOU L Y, FENG Y Q, QU H M, et al. The research progress of pyrazinamide [J]. Chem Prop Polym Mater (化学推进剂与高分子材料), 2002, 88(4): 4-6.
- [27] ZHANG Y, SCORPIO A, NIKAIIDO H, et al. Role of acid pH and deficient efflux of pyrazinoic acid in unique susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide [J]. J Bacteriol, 1999, 181(7): 2044-2049.
- [28] NGO S C, ZIMHONY O, CHUNG W J, et al. Inhibition of isolated *Mycobacterium tuberculosis* fatty acid synthase I by pyrazinamide analogs [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(7): 2430-2435.
- [29] WANG R, MARCOTTE E M. The proteomic response of *Mycobacterium smegmatis* to anti-tuberculosis drug suggests targeted pathways [J]. J Proteome Res, 2008, 7(3): 855-865.
- [30] YAMAMOTO S, TOIDA I, WATANABE N, et al. *In vitro* antimycobacterial activities of pyrazinamide analogs [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39 (9): 2088-2091.
- [31] SRIRAM D, YOGESWARI P, REDDY S P. Synthesis of pyrazinamide Mannich bases and its antitubercular properties [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16(8): 2113-2116.
- [32] ZIMHONY O, COX J S, WELCH J T, et al. Pyrazinamide inhibits the eukaryotic-like fatty acid synthetase(FASII) of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Nat Med, 2000, 6(9): 1043-1047.
- [33] DOLEZAL M, CMEDLOVA P, PALEK L, et al. Synthesis and antimycobacterial evaluation of substituted

- pyrazinecarboxamides [J]. Eur J Med Chem, 2008, 43(5): 1105-1113.
- [34] QUINI J G, MAIA A S, MIOTTI R D, et al. Organolanthanide compounds containing methanesulfonate and pyrazinamide ligand in styrene polymerization [J]. J Rare Earth, 2007, 25(2): 135-138.
- [35] BALDWIN J A, VICKOV B, ANDREWS M P, et al. Surface-enhanced raman scattering of mercaptopyridines and pyrazinamide incorporated in silver colloid-adsorbate films [J]. Langmuir, 1997, 13 (14): 3744-3751.
- [36] ANONYMITY. The broad application of polypyrzinamide in America [J]. China New Packaging(中国新包装), 2007, (1): 44.
- 收稿日期: 2009-08-12