

井冈霉素的分离及鉴定

上海市农药研究所农抗组

(上海)

由吸水放线菌 (*Streptomyces hygroscopicus* var. *jinggangensis* Yen.) 产生的抗菌素是葡萄糖苷类的碱性水溶性抗菌素, 对水稻纹枯病具有优良的防治作用, 经离子交换层析分离提纯可以得到 I、II、III、IV 四个组份, 经理化鉴定证明其中 II、III 两个组份分别和已知的 Validamycin A 和 B 相似。

井冈霉素是由吸水链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus* var. *jinggangensis* Yen.) 产生的碱性水溶性抗菌素^[1], 经全国多点大田药效试验, 证明对水稻纹枯病具有良好的防治作用^[2]。本文报告井冈霉素的分离鉴定结果。

一、井冈霉素的分离

菌种: 吸水链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus* var. *jinggangensis* Yen.)。

发酵培养基 (%): 淀粉 2, 葡萄糖 2, 酵母粉 1, NaCl 0.25, NH_4Cl 1.5, KH_2PO_4 0.015, 玉米浆 2, CaCO_3 0.7。pH 7.2。

分离提纯: 井冈霉素存在于发酵液中, 将发酵液过滤, 除去菌丝体, 滤液调 pH 8, 加 2% 活性炭, 搅拌 2—3 小时, 收集活性炭, 用水洗活性炭三次, 滤饼用 0.5 N H_2SO_4 : 丙酮 (3:7) 溶液洗脱, 洗脱液除去丙酮, 加活性炭脱色, 得黄色液体。用碳酸钙中和, 中和液迅速通过 732 阳离子交换树脂及 330 阴离子交换树脂, 除去阴阳离子杂质, 得淡黄色液体, 此液通过 1×2 强酸性阳离子交换树脂柱, 用蒸馏水洗涤饱和树脂, 然后用 0.5 N NH_4OH 洗脱, 收集活性部分, 减压浓缩, 最后用丙酮析出沉淀。

为了进一步纯化, 采用强碱性离子交换树脂 (Zerolite-FF, 200 目, OH 型), 进行层析分离, 用蒸馏水展层, 分部收集活性部分, 减压浓缩, 用丙酮析出可得 I、II、III、IV 等四个组份。

二、理化性质

组分 II 白色粉末, 吸湿性强, 无一定熔点 (102°C 左右熔化), 易溶于水, 可溶于甲醇、二氧六环、二甲基甲酰胺, 难溶于丙酮、乙醇, 不溶于乙醚、苯、氯仿、四氯化碳、乙酸乙酯、石油醚等有机溶剂。在 pH 5—9 时均较稳定, 对碱性高锰酸钾、吐林氏试剂、费林氏试剂、蒽酮试剂、硫酸-酚试剂以及联苯胺-高碘酸钾试剂均呈阳性反应, 对坂口试剂及 Elson-Morgan 试剂则呈阴性反应, 用中和法测定其中和当量为 538 ± 20 。元素分析: C 46.62%, H 6.92%, N 2.98%, $[\alpha]_{\text{D}}^{15} = 110^\circ$ (C = 1, H_2O), 紫外光谱呈现末端吸收, 红外光谱 (图 1) 指明有羟基 (3390) 及醚键 ($-\text{O}-$) (1025, 1075) 的存在, 核磁共振谱 (图 2) 指明在 $\delta 6.0$ ppm 处有一

本文于 1975 年 4 月 7 日收到。

* 本报 15(2): 110 将“冈”写作“岗”, 在此更正。

个异头质子, 在 δ 3.2—5.0 ppm 处有一组

带羟甲基 $\left(\begin{array}{c} | \\ -C-OH \\ | \\ H \end{array} \right)$ 存在。

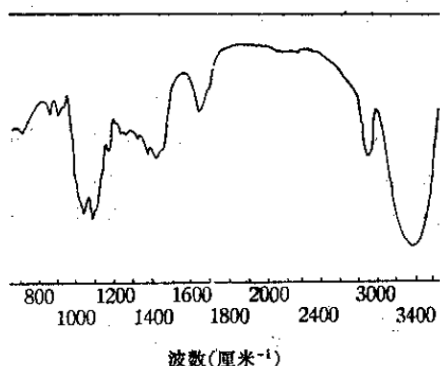


图1 组分II的红外吸收光谱(KBr 压片)

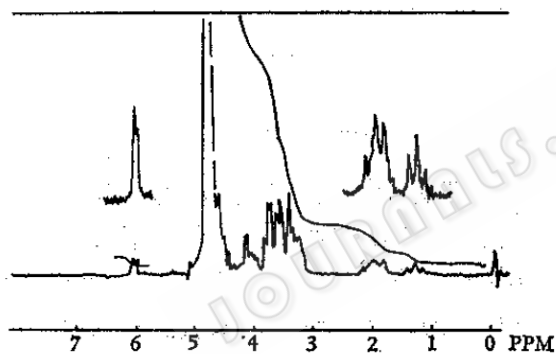


图2 组分II的核磁共振谱(100兆周, D_2O 作溶剂, D.S.S. 作内标)

用 1 N H_2SO_4 在 105—110°C 烘箱中水解 10 小时, 得到葡萄糖和一个与组分 I 相似的化合物。水解物薄层层析见图 3。

组分 III 碱性吸显性粉末, 基本理化性质和组分 II 相似, $[\alpha]_D^{15} = 106^\circ$ ($C = 1$, H_2O), 中和当量 550 ± 30 , 元素分析: C 46.01%, H 7.53%, N 2.75%, 紫外光谱为末端吸收, 红外光谱(图 4), 和组分 II 相似, 核磁共振谱(图 5)和组分 II 稍有不同, 在 2.45 ppm 处还有一小峰。

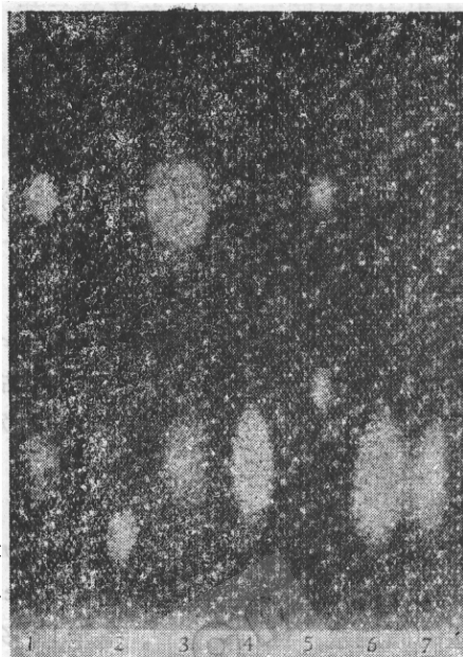


图3 井冈霉素水解产物薄层

层析图: (硅胶 G, 溶剂: 正丙醇: 醋酸: 水 = 4:1:1)

1. D-葡萄糖+组分 I; 2. 组分 II;
3. 组分 II 水解物; 4. 组分 III;
5. 组分 III 水解物; 6. 组分 I;
7. 组分 I 水解液。

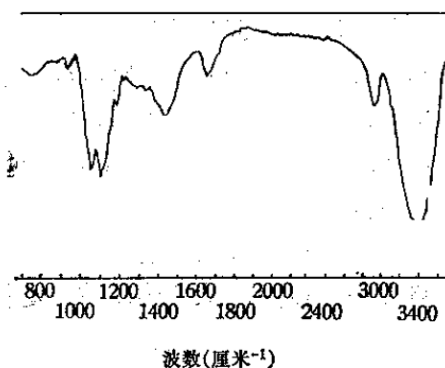


图4 组分III 红外吸收光谱(KBr 压片)

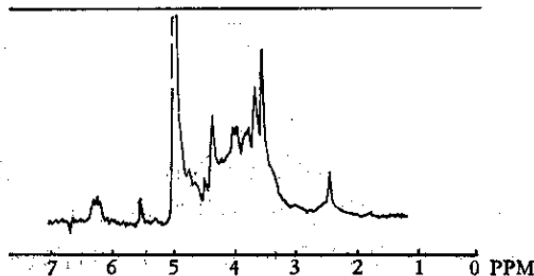


图5 组分III 核磁共振谱(60兆周, D_2O 作溶剂, TMS 作内标)

此外,硅胶G薄层层析(表1)的结果证明,组分II和III是不同的。

表1 井冈霉素薄层层析 Rf 值

溶 剂	组分 II	组分 III
丙酮:H ₂ O(7:3)	0.78	0.79
乙酸乙酯:HAC:H ₂ O(3:1:3)	0.00	0.00
正丁醇:乙醇:H ₂ O:吡啶 (35:15:40:10)	0.60	0.66
正丙醇:HAC:水(4:1:1)	0.25—0.30	0.34—0.36

在硫酸水解组分III的水解物中有一个和组分II相同的D-葡萄糖,但另一个点和Validamine不同(图3)。

三、对结果的分析

根据以上理化性质以及井冈霉素的生物活性,与已知农用抗菌素进行了比较,说明井冈霉素组分II和III分别和*Streptomyces hygroscopicus* var. *limoneus* No. 7545所产生的Validamycins A和B相似(表2)。

表2 井冈霉素 A、B 和 Validamycins A、B 主要理化性质比较

性 状	井 冈 霉 素		Validamycin	
	A	B	A	B
	白色吸湿性粉末	同 左	同 左	同 左
熔 点	约 102° 熔化	同 左	约 100° 熔化	同 左
C	46.62%	46.01%	46.64%	45.58%
元素分析 H	6.92%	7.53%	7.15%	6.92%
N	2.98%	2.75%	2.95%	2.71%
旋光 $[\alpha]_D^{25} \frac{C}{M}$ (C=1, H ₂ O)	110±10°	106°±10	110°±15	102°±10°
功能团反应				
碱性 KMnO ₄	+	+	+	+
费林反应	+	+	+	+
酚-硫酸	+	+	+	+
坂口试剂	—	—	—	—
Elson-Morgan 试剂	—	—	—	—
薄板层析 Rf 值	0.25—0.30	0.34—0.36	0.24—0.30	0.30—0.43

现在我们把组分II和III称为井冈霉素A和B。

关于组分I,从薄层层析、生物活性以及对酚-硫酸试剂的反应看,初步认为和Validamine相似,但未进行详细研究。组分IV含量很少基本未进行分析。

参 考 资 料

- [1] 上海农药研究所农抗组: 微生物学报, 15(2): 110—113, 1975。
- [2] 上海农药研究所药效组: 微生物学通报, 2(1): 10, 1975。
- [3] Takashi, Iwasa et al.: J. Antibiotics, 24(2): 119, 1971。

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF JINGGANGMYCINS

AGRICULTURAL ANTIBIOTIC GROUP, SHANGHAI INSTITUTE OF PESTICIDES

(Shanghai)

Jinggangmycins showing a curative effect against the sheath blight of rice plants were isolated from the culture broth of *St. hygroscopicus* var. *jinggangensis* Yen., and purified by ion-exchange chromatography. They are glucoside-containing antibiotics, and are soluble in water, DMF, methanol and insoluble in ethylacetate, ether, petroleum ether etc. They give positive reactions with anthrone, phenol-sulfuric acid, Fehling reagent and alkali KMnO_4 solution.

The UV spectrum of jinggangmycin in aqueous solution shows only end absorption and the IR spectrum indicates the presence of $-\text{OH}$ and $-\text{O}-$ at the 3390 cm^{-1} and $1025, 1075\text{ cm}^{-1}$.

On hydrolysis with 1 N sulfuric acid at $105-110^\circ\text{C}$ for 10 hr., jinggangmycins give D-glucose.

From their physical and chemical properties as well as the biological characteristics, jinggangmycins behaved like validamycins.