

二株产生麦迪霉素的链霉菌

中国医学科学院药物研究所抗菌素研究室
(北 京)
四川抗菌素工业研究所新抗菌素研究室
(成 都)

从四川和广东的土壤中分离到两株产生麦迪霉素的链霉菌: 74-10204 和 1748。经形态、培养特征和生理特性的研究表明, 前一菌株与生米卡链霉菌 (*Streptomyces mycarofaciens*) 近似, 但形态与培养特征有某些不同, 并能利用甘露醇, 故定名为生米卡链霉菌四川变种* (*Streptomyces mycarofaciens* var. *Sichuanensis* Yan); 后一菌株鉴定为生米卡链霉菌 1748 (*S. mycarofaciens* 1748)。

这两株菌所产生的抗菌素, 经不同溶剂中的溶解度、熔点、比旋光度、分子量和化学反应性质的测定, 红外和紫外吸收光谱、核磁共振波谱及质谱分析, 确定为麦迪霉素。

1974 年, 我们在筛选大环内酯类抗菌素的过程中, 分别从广东省大埔县和四川省南川县土壤中分离到两株链霉菌。前者编号为 1748, 后者编号为 74-10204。这两株菌所产生的抗菌素, 对革兰氏阳性细菌有抗菌作用, 并对耐红霉素的细菌表现交叉耐药性。本文报道对这两株菌的分类鉴定及对它们所产生的抗菌素的鉴别结果。

表 1 链霉菌 1748、74-10204 和生米卡链霉菌的形态特征

菌号或 菌名	链霉菌 1748	链霉菌 74-10204	生米卡 链霉菌
形态			
气生菌丝	细密绒毛状	繁茂细长	丰富
孢子丝	螺旋规则	螺旋松散, 不规则	螺旋紧密、 规则
孢 子	椭圆, 表面 有刺	椭圆, 表面 有柔软毛发	圆或椭圆, 表面有刺

注: 用甘油硝酸盐琼脂培养基。

一、链霉菌 1748 和链霉菌
74-10204 的分类鉴定

链霉菌 1748 由广东大埔白候公社北上村大队汤下山山腰杂草丛下土壤中分离而得; 链霉菌 74-10204 自四川南川县药物研究所标本园森林杂草下土壤中分离出。对这两株菌的形态、培养特征和生理特性, 在两个实验室分别进行了观察和测定, 结果见表 1—4。同时, 和已报道过的产生麦迪霉素的生米卡链霉菌 (*S. mycarofaciens*)^[1] 作了比较。

由表 1—4 可见, 链霉菌 1748、74-10204

的生物学特性和生米卡链霉菌基本相似, 但是, 链霉菌 74-10204 的孢子丝呈不规则的松散螺旋状 (见图版 I-1), 孢子表面为毛发状 (见图版 I-2), 而且在碳源利用方面, 它能利用甘露醇; 而生米卡链霉菌的孢子丝螺旋紧密规则、孢子表面为刺状, 且不能利用甘露醇。因此, 将链霉菌 74-10204 定名为生米卡链霉菌四川变种 (*S. mycarofaciens* var. *Sichuanensis*); 链霉菌 1748 的

本文于 1977 年 5 月 20 日收到。
* 由中国科学院微生物研究所阎逸初同志协助鉴定和定名。

表 2 链霉菌 1748、74-10204 和生米卡链霉菌的培养特征

培养基	基内菌丝			气生菌丝			可溶性色素		
	1748	74-10204	生米卡链霉菌	1748	74-10204	生米卡链霉菌	1748	74-10204	生米卡链霉菌
蔗糖硝酸盐琼脂	贫乏,杏仁黄—豆汁黄	贫乏,豆汁黄—荷花白	贫乏,无色—乳脂色	乳白—灰白 细密绒毛状	微白浅灰—蛛网灰 II _b 52'	缺乏,棉絮状,微白灰	无	无	无
甘油硝酸盐琼脂	丰富,V74'—深栗棕	丰富,淡豆沙—栗棕—桂皮淡棕	暗褐	粉白—淡红灰—淡藤罗紫,细密绒毛状	白带粉红—蚌肉白(间少量铅灰)	白色,以后变灰棉絮状	微染(同基内)—淡栗棕	无	无或微浅褐色
葡萄糖天门冬素琼脂	V73'—栗棕—深栗棕	中度生长,乳白—杏仁黄—簇黄	浅褐—微红褐	少,淡红灰	鱼肚白—珍珠灰—乳白间少量樱红	玫瑰—白色	微染(同基内)	无	无或微褐黄色
甘油天门冬素琼脂	桂肉淡棕—IV75'—深栗棕	生长较好,杏仁黄—茉莉黄间桂皮淡棕	浅褐—浅微红褐	蚌肉白—灰白—淡红灰	白—鱼肚白—乳白	无或很缺乏,白色	微染	无	无
甘油苹果酸钙琼脂	V74'—栗棕	丰富,III13'—III77' 酱紫	浅褐色	粉白—淡红灰,细密绒毛状	X37,青莲灰棉絮状	玫瑰,以后变灰,棉絮状	微染,(同基内)	无	无
苹果酸钙琼脂	贫乏,杏仁黄	很贫乏,无色	贫乏,乳脂色	少,乳白	无	无	无	无	无
无机盐淀粉琼脂	酱紫	生长好,茉莉黄—栗棕—I _b 44' (间暗玉紫)	微紫,暗褐	丰富,粉白—荷花白	棉絮状,中灰—微紫灰—III _b 67' (间郁金红)	微红玫瑰—灰,棉絮状	微染,(同基内)	无	无
营养琼脂	蛋黄	中度,象牙黄,(间少量) II _b 54'	微黄褐	无	白—微灰—浅灰(间草珠红)	很缺乏,白色	无	无	无
酪氨酸琼脂	豆汁黄—III65'	象牙黄—浅驼色—鹿角棕—葡萄紫	微红褐	无	丰富,白间珍珠灰—微紫灰间少量白色	白色	无	无	无
燕麦粉琼脂	V62'—葡萄紫	丰富,鹿角棕—甘蔗紫—象牙黄(间酱紫)	生长好,浅褐—褐	少,粉白—淡红灰	微紫灰—灰—III _b 53'—淡藤萝紫	丰富,玫瑰—白色—灰色	无,或微染	无	无
贝奈特氏(Bennett's)琼脂	栗棕—深栗棕	丰富,桂皮棕—芒果棕—栗棕—葡萄紫	褐—暗褐	丰富,灰白—淡红灰,—蛛网灰	白,粉白间象灰	玫瑰	微染(同基内)—淡栗棕	无	浅褐
土豆块	深栗棕—黑褐	好,淡栗棕	生长好,褐—近黑色	丰富,乳白—灰白—粉白,细密绒毛状	白—珍珠灰—深灰	丰富,微灰褐	栗棕—深栗棕	浅褐,淡栗棕	暗褐

注: (1) «色谱», 科学出版社, 1957 年。

(2) 在 28℃ 培养 4 周。

表 3 链霉菌 1748、74-10204 和生米卡链霉菌利用碳源的情况

碳源	利用情况			碳源	利用情况		
	链霉菌 1748	链霉菌 74-10204	生米卡链霉菌		链霉菌 1748	链霉菌 74-10204	生米卡链霉菌
葡萄糖	+	+	+	甘露醇	—	+	—
果糖	+	+	+	水杨甙	±	+	+
淀粉	+	+	+	鼠李糖	—	—	—
糊精	+	+	+	木糖	—	—	—
半乳糖	+	+	+	蔗糖	±	—	—
阿拉伯糖	±	—	±	棉子糖	—	—	—
甘露糖	+	+	+	山梨醇	—	—	—
麦芽糖	+	+	+	乳糖	±	+	+
甘油	+	+	+	菊糖	—	—	—
肌醇	+	+	+	卫矛醇	—	—	—

注：(1) “+”表示生长良好；“±”表示生长很差；“—”表示不生长。
(2) 以普戈二氏培养基^[1]为基础培养基。

表 4 链霉菌 1748、74-10204 和生米卡链霉菌的生理特性

试验内容	1748	74-10204	生米卡链霉菌
硫化氢的产生	—	—	—
硝酸盐还原	+	+	+
淀粉水解	+	+	+
纤维素分解	—	—	—
脱脂牛乳凝固	+	+	+
脱脂牛乳酪化	+	+	+

注：“+”表示阳性反应；“—”表示阴性反应。

形态和培养特征与生米卡链霉菌的基本相同，定名为生米卡链霉菌1748(*S. mycarojaciens* 1748)

二、麦迪霉素的分离、提纯及理化性质

链霉菌 1748 和链霉菌 74-10204 的发酵液中所分离到的抗菌素（以下简称抗菌素 1748 和抗菌素 74-10204），经初步鉴别，均为大环内酯类抗菌素，分离并提纯了这两种抗菌素，经理化性质测定，证明是相同的抗菌素——麦迪霉素

(一) 分离和提纯

发酵液用草酸或盐酸酸化至 pH3.0 左右，过滤除去菌丝，滤液用氢氧化钠调节至

pH8.0，用醋酸丁酯抽提，抽提液中加入水并用盐酸调节 pH 为 2.0，搅拌，分出水溶液，再用氢氧化钠调节水溶液的 pH 至 8.0，用醋酸乙酯或二氯甲烷，或苯抽提，抽提液经减压浓缩得黄白色粗制品。

将粗制品溶于少量苯中，通过中性活性氧化铝柱，用苯-丙酮(4:1)混合液洗脱，洗脱液用 2% 磷酸二氢钠溶液洗涤数次后，浓缩至少量体积，再通过中性活性氧化铝柱，用苯-丙酮(4:1)混合液洗脱，洗脱液经浓缩后加入石油醚沉淀出提取物，过滤、干燥，即为呈白色粉末状的抗菌素纯品。提取物可在苯-环己烷混合液中结晶。

(二) 抗菌素 1748 和抗菌素 74-10204 的理化性质及其与麦迪霉素的比较

溶解性 两种抗菌素均易溶于甲醇、乙醇、正丁醇、丙酮、氯仿、醋酸乙酯、醋酸丁酯、四氯化碳、乙醚和苯；不溶于己烷、环己烷、石油醚；微溶于水，在水中的溶解度随温度升高而降低。

熔点和比旋光度，见表 5。

紫外吸收光谱，见图 1—2。

红外吸收光谱，见图 3—4。

核磁共振波谱，见图 5—6。

表 5 抗菌素 1748、74-10204 和麦迪霉素理化性质的比较^[1,3]

	抗菌素 1748	抗菌素 74-10204	麦迪霉素
熔点(℃)	粉末: 122—124 结晶: 135—138	粉末: 121.5—123.5	粉末: 122—124 结晶: 135—138
旋光 $[\alpha]_D^{25}$ (Cl, 乙醇)	—65°	—63°	—61°
紫外吸收峰毫微米 (E _{1%} ¹ _{厘米})	231.5 (336)	232 (333)	232 (315)
红外光谱厘米 ⁻¹ (溴化钾片)	3,450 (O—H) 2,700(醛, C—H) 1,730(酯、内酯 C=O) 1,634(C=C)	3,500 (O—H) 2,730 (醛 C—H) 1,735(酯、内酯 C=O) 1,636(C=C)	3,500 (O—H) 2,730(醛 C—H) 1,740(酯、内酯 C=O) 1,630 (C=C)
核磁共振谱 δ , ppm (CDCl ₃)	2.55, N(CH ₃) ₂ 3.52, OCH ₃ 5.6—6.8, 烯质子 9.65, CHO	2.51, N(CH ₃) ₂ 3.52, OCH ₃ 5.57—6.8, 烯质子 9.68, CHO	2.53, N(CH ₃) ₂ 3.54, OCH ₃ 5.59—6.80, 烯质子 9.67, CHO

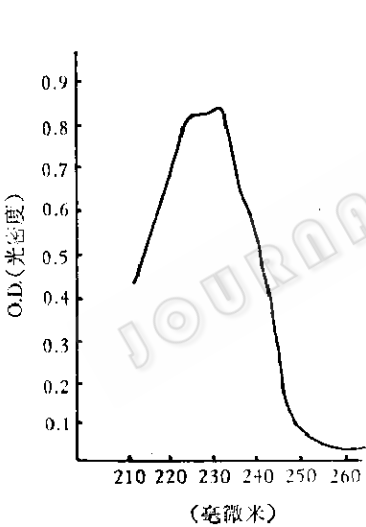


图 1 抗菌素 1748 的紫外吸收光谱(溶剂: 甲醇)

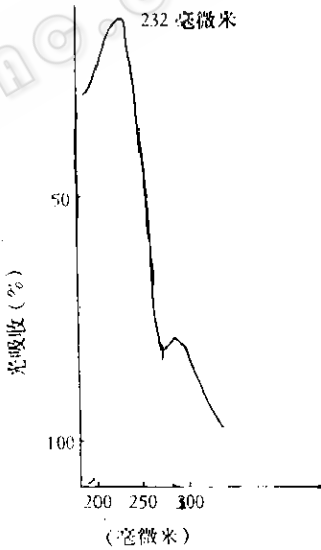


图 2 抗菌素74-10204的紫外吸收光谱(溶剂:乙醇)

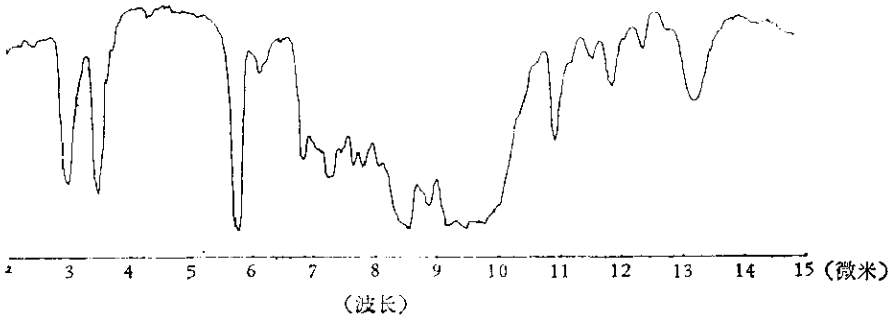


图 3 抗菌素 1748 的红外吸收光谱(KBr)

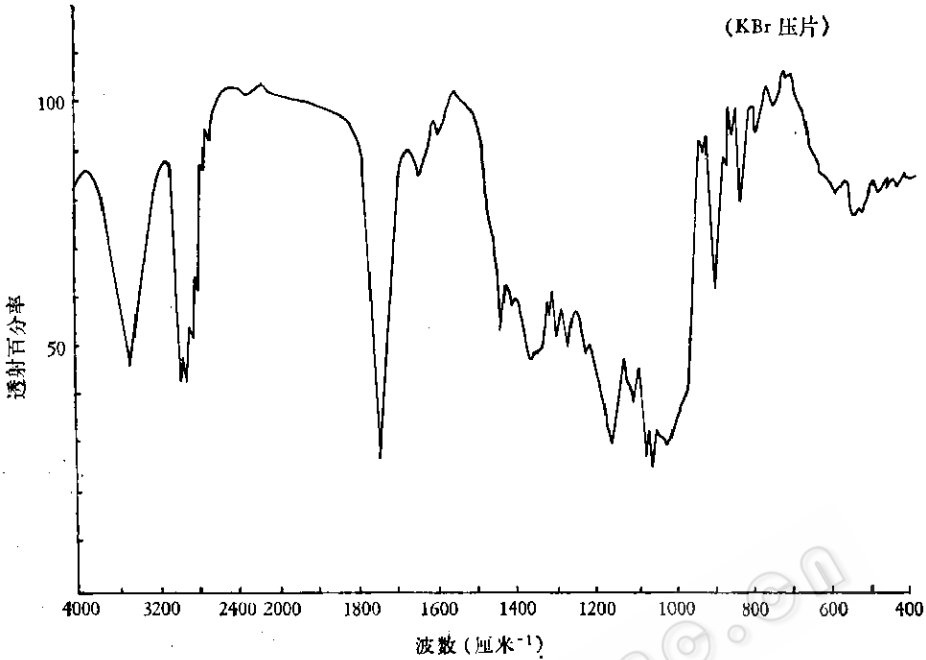


图 4 抗菌素 74-10204 的红外吸收光谱(KBr)

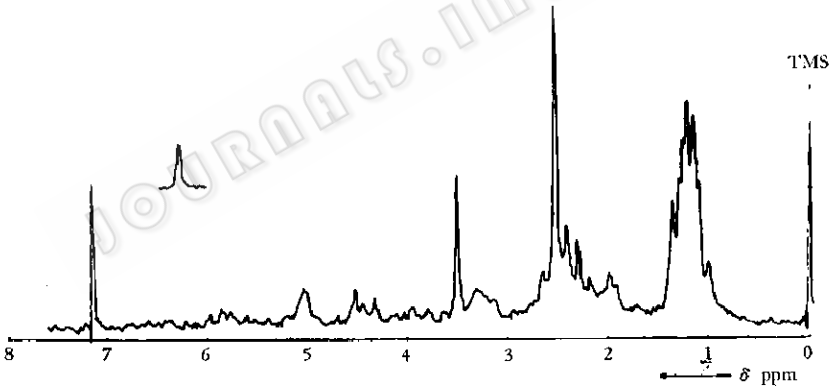


图 5 抗菌素 1748 的核磁共振波谱
(60MHz, CDCl₃, TMS 为内标)

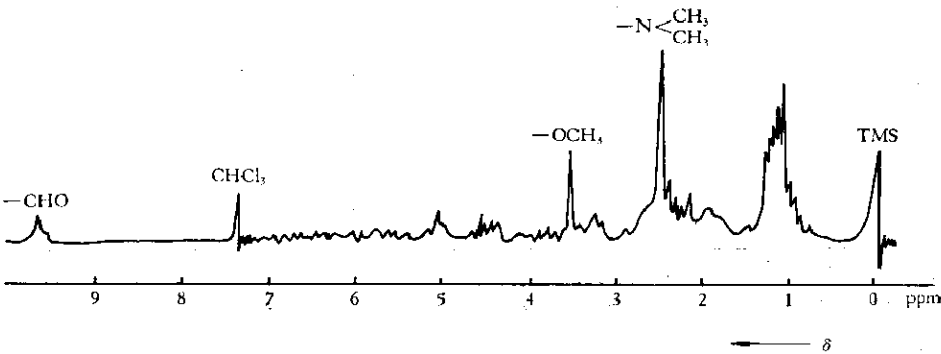


图 6 抗菌素 74-10204 的核磁共振波谱
(100MHz, CDCl₃, TMS 为内标)

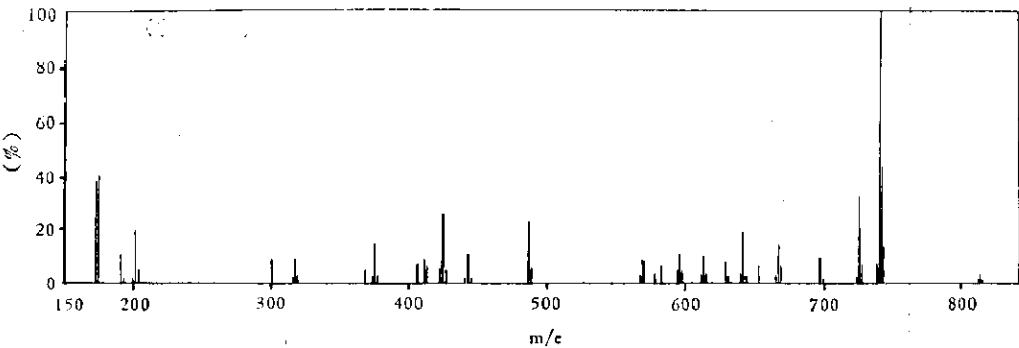


图 7 抗菌素 1748 在 160℃ 时的质谱

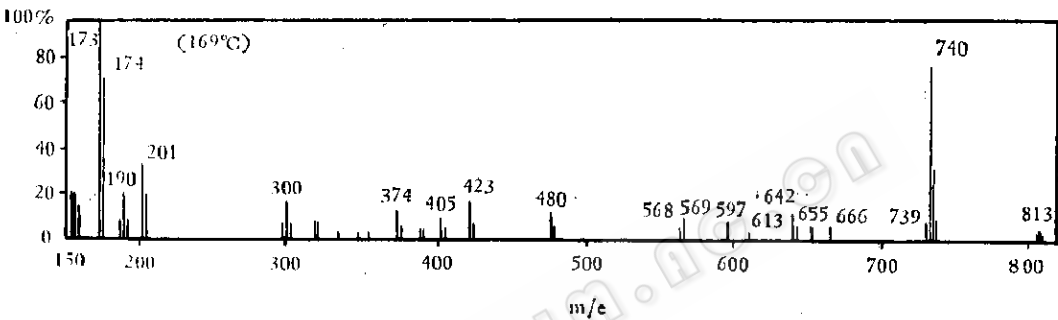


图 8 抗菌素 74-10204 在 169℃ 时的质谱

表 6 抗菌素 1748、74-10204 与麦迪霉素的质谱峰比较^[3-7](质核比: m/e)

抗菌素 1748	抗菌素 74-10204	麦迪霉素	结 构 排 布
813	813	813	分子离子
740	740	740	分子离子-丙酰氧基
666	666	666	分子离子-丙酰氧基-丙酸
655	655	655	碳霉氨糖基丙酰内酯 + C ₂ H ₂ O
642	642	642	碳霉氨糖基丙酰内酯 + CHO
613	613	613	碳霉氨糖基丙酰内酯
597	597	597	脱氧碳霉氨糖基丙酰内酯
569	569	569	脱氧碳霉氨糖基丙酰内酯 - CO
486	486	486	脱氧碳霉氨糖基丙酰内酯 - C ₇ H ₁₁ O
423	423	423	丙酰脱氧内酯
405	405	405	丙酰脱氧内酯 - H ₂ O
374	374	374	丙酰碳霉糖基脱氧碳霉氨糖
300	300	300	脱氧碳霉糖基脱氧碳霉氨糖
201	201	201	丙酰脱氧碳霉糖
190	190	190	碳霉氨糖 + 1
174	174	174	脱氧碳霉氨糖 + 1
173	173	173	脱氧碳霉氨糖

注：由于在质谱中未看到亚稳离子，表中所列碎片离子的结构，是根据碱性 16 元环大环内酯的质谱裂解规律和与麦迪霉素的比较推论出来的。

质谱 见图 7—8。抗菌素 1748、74-10204 与麦迪霉素的质谱峰比较，见表 6。

元素分析与分子量，见表 7。
化学反应：抗菌素 1748、74-10204 和

表 7 抗菌素 1748、74-10204 和麦迪霉素的元素分析结果

含量 (%)		元素	C	H	N	O	分子量
样品							
抗菌素 1748			59.17	8.14	1.88	30.81	813*
抗菌素 74-10204			59.92	8.36	2.00	29.72	813*
麦迪 霉素	实验值		59.44	8.06	1.96	30.54	813*
	文献值 ^[1]		60.78	8.35	1.65	29.62	813
	理论值		60.52	8.24	1.72	29.39	813

* 用质谱法测定。

麦迪霉素都能使溴水、高锰酸钾水溶液退色；浓硫酸反应呈红褐色；红霉素试验、碳霉素试验、Molisch、Fehling 反应阳性；氯化高铁、茚三酮反应阴性。

抗菌素 1748、74-10204，用醋酐-吡啶进行乙酰化反应后，都可得到二乙酰衍生物，而且它们的二乙酰衍生物与麦迪霉素二乙酰衍生物的理化性质基本一致。

以上结果表明，抗菌素 1748 和 74-10204 与麦迪霉素的理化性质完全相同。

参 考 资 料

- [1] Tsuruoka, T. et al.: *J. Antibiotics*, **24**: 452—459, 1971.
- [2] 阮继生：放线菌分类基础，第 144 页，科学出版社，1977。
- [3] Inouye, S. et al.: *J. Antibiotics*, **24**: 460—475, 1971.
- [4] 铃木真言：有机合成化学协会志，**30**: 784—800, 1972。
- [5] Inouye, S.: *Science Reports of Meiji Seika Kaisha*, No. 14:28—78, 1974.
- [6] Suzuki, M. et al.: *Tetrahedron Lett.*, 1971: 435—438.
- [7] Kinumaki, A. et al.: *J. Antibiotics*, **27**: 107, 1974.

TWO STRAINS OF MIDECAMYCIN-PRODUCING STREPTOMYCES

Antibiotics Research Laboratory, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences
(Beijing)

New Antibiotics Research Laboratory, Sichuan Institute of Antibiotic Industry
(Chengdu)

Two strains (74-10204 and 1748) of midecamycin-producing *streptomyces* has been isolated from the soil samples collected from Sichuan and Guangdong Provinces respectively. Strain 74-10204 was similar to *S. mycarofaciens* but different from in some morphological and cultural characteristics and its ability to utilize mannitol. Therefore it was named as *S. mycarofaciens* var. *Sichuanensis* Yan. Strain 1748 was identified as *S. mycaro-*

faciens.

The antibiotic produced by both strains was identical with midecamycin by its physico-chemical properties such as solubility in different solvents, melting point, specific rotation, chemical reactivity, infrared and ultraviolet absorption spectra, nuclear magnetic resonance spectrum, elementary analysis, mass spectrum and molecular weight.