

大环内酯类抗生素 X-7 的研究

II. 抗生素 X-7-III 的分离、纯化和鉴定*

叶蕴芬 徐少华 张海澜

(中国科学院上海药物研究所, 上海)

我们从一株北里轮链丝菌崇明变种 *Streptovercillium kitasatoensis* var. *chongmingense* n. var. X-7 的发酵液中, 分离纯化得到五个组分, 其中组分 III 为一白色结晶, 对革兰氏阳性细菌有作用, 系碱性大环类抗生素, 其理化性质与国外临床上广泛使用的柱晶白霉素 Leucomycin A₃^[1-4, 6] 相同。

关键词 大环内酯类抗生素

抗生素 X-7 是碱性大环类抗生素, 对革兰氏阳性细菌有较显著的作用, 对青霉素和红霉素耐药的金黄色葡萄球菌也比较敏感。本文主要报道抗生素 X-7-III 的分离、纯化、理化性质和鉴定, 并与柱晶白霉素 (Leucomycin A₃) 进行了详细的比较。

(一) 抗生素 X-7 的提取、纯化和分离

放线菌 X-7 的发酵液弃菌丝后, 调节 pH 至 8.0—8.5, 用乙酸乙酯提取抗生素。提取液减压浓缩, 然后在酸性和碱性条件下进行液-液萃取。蒸去溶剂后, 浓缩物经石油醚去油得粗粉末, 再将此粉末用酸性氧化铝干柱进一步纯化, 以苯:丙酮:氯仿:乙酸乙酯 (17:5:3:2) 作为展开溶剂, 分部收集其活性流分, 可得 I, II, III, IV, 四个抗菌活性组分及一个白色针状结晶, 经鉴别为氮霉素 Azomycin。其中组分 III 浓缩至干, 在苯-石油醚中得白色片状结晶, 即为 X-7-III 组分, 用氧化铝薄板层析进行组分纯度鉴别, 溶剂系统为苯:丙酮 (3:1), 碘蒸气和荧光显迹。

(二) 抗生素 X-7-III 的理化性质和鉴定

抗生素 X-7-III 为白色片状结晶

熔点: 121—122° (Kofler 测定)

比旋度: $[\alpha]_D^{25} - 75.0^\circ$ (Cl, 乙醇)

$[\alpha]_D^{25} - 66.3^\circ$ (Cl, 氯仿)

溶解于甲醇、乙醇、丙酮、苯、氯仿、乙酸乙酯; 不溶于石油醚和水。其茚三酮反应为阴性, 多伦反应为阳性, 并能使高锰酸钾褪色。

抗生素 X-7-III 的紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 为 232nm, ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 348$) 见图 1。 (用 Unicam sp-1800 仪器测定)。说明分子中有共轭双键存在。其红外光谱 (KBr 压片), 具有以下吸收峰 3300—3600 cm^{-1} (宽峰 OH), 2720 cm^{-1} ($-\text{C} \begin{smallmatrix} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{H} \end{smallmatrix}$), 1725, 1742 cm^{-1} (C=O), 1616 cm^{-1} (双键), 1230 cm^{-1} ($-\text{C} \begin{smallmatrix} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$) 1080 cm^{-1} (C-O-C) 见图 2。 (用 Unicam sp-100 仪器测定)。

抗生素 X-7-III 的核磁共振谱, 用 CDCl_3 作溶剂, TMS 作内标准, (用 JEOL

本文于 1982 年 6 月 22 日收到。

* 在 1981 年第四次全国抗生素学术会议上报道了论文摘要。样品元素分析用上海纺织科学研究所 C. H. N 自动分析仪分析; Leucomycin A₃ 的样品和部分资料由日本北里大学大村智教授提供, 特此致谢。

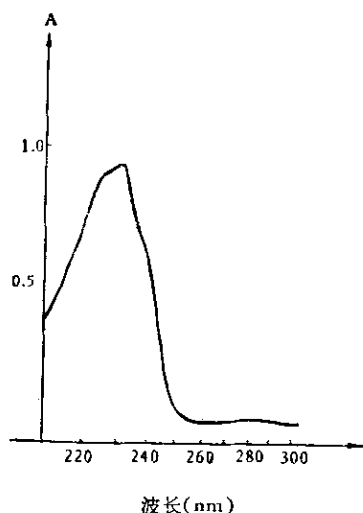


图1 抗生素 X-7-III 紫外图谱

Fig. 1 Ultraviolet absorption spectrum of Antibiotic X-7-III

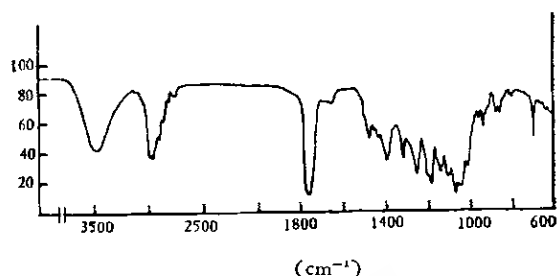


图2 抗生素 X-7-III 红外图谱

Fig. 2 Infrared absorption spectrum of Antibiotic X-7-III (KBr tablet)

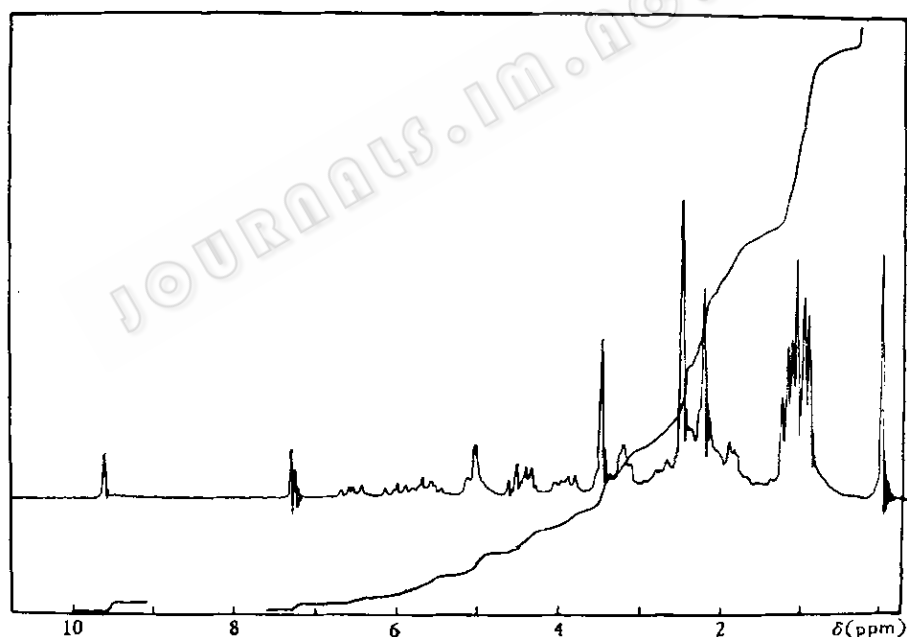


图3 抗生素 X-7-III 核磁共振图

Fig 3 nuclear magnetic resonance spectrum of Antibiotic X-7-III
(in CDCl_3 , 100MC with TMS as internal reference)

SP-100 仪器测定), 它的质子分布和比例如下: (见图 3)

$\delta 9.58$ ppm (1H, m, $-\text{CHO}$)

$\delta 5.44-6.70$ ppm (4H, m, 四个烯基)

$\delta 3.48$ ppm (3H, s, $-\text{OCH}_3$)

$\delta 2.49$ ppm (6H, s, $-\text{N} \begin{pmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{pmatrix}$)

$\delta 2.22$ ppm (3H, s, $-\text{COCH}_3$)

表 1 抗生素 X-7-III 与 Leucomycin A₃ 理化性质的比较

Table 1 Comparison of physico-chemical properties between antibiotic X-7-III and leucomycin A₃

样品 sample 项目 Item	抗生素 X-7-III	Leucomycin A ₃
熔 点 Melting point	121—122°	121—122°
比 旋 度 Optical rotation	$[\alpha]_D^{25} -66.3^\circ (\text{Cl}, \text{CHCl}_3)$	$[\alpha]_D^{25} -55.4^\circ (\text{Cl}, \text{CHCl}_3)$
溶 解 度 Solubility	溶于甲醇,乙醇,丙酮,苯, CHCl_3 , 乙酸乙酯 不溶于石油醚,水 soluble: MeOH EtOH acetone benzene CHCl_3 EtAc insoluble: petroleum H_2O	同 左 边 same as the left
呈色反应 Color reaction	茚三酮试验(-) 多伦试验(+) 高锰酸钾试验(+) Ninhydrin test (-) Tollen test (+) potassium permanganate test (+)	(-) (+) (+)
元素分析(%) Elementary analysis	计 算 值 calculated C 60.94 H 8.22 N 1.65 C 60.94 H 8.34 N 1.69	C 60.57 H 8.17 N 1.75
分 子 式 Formula	$\text{C}_{42}\text{H}_{49}\text{O}_{13}\text{N}$	$\text{C}_{41}\text{H}_{48}\text{O}_{13}\text{N}$
分子量 (M ⁺) Molecular weight	827	827
紫外光谱($\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$) UV spectrum	232 nm($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 348)	231—232 nm($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 351)
红外光谱 (KBr 压片) IR spectrum	3300—3600, 2720, 1725, 1742, 1616, 1230, 1120 cm^{-1}	3300—3600, 2725, 1728, 1746, 1616, 1230, 1120 cm^{-1}
核磁共振谱(CDCl_3 作溶剂) NMR spectrum	δ 9.58, 5.44—6.70, 3.48, 2.49, 2.22, 1.00 ppm	δ 9.56, 5.30—6.70, 3.47, 2.49, 2.22, 1.00 ppm

δ 1.00 ppm 周围 (0.92, 0.96, 1.08, 1.12, 1.18, 1.24 ppm)
说明分子中有较多的碳甲基存在。

由于抗生素 X-7-III 的核磁共振谱中, 在化学位移为 2.22 ppm 处有一乙酰基 (—COCH₃) 强峰的存在, 说明它归属于 Leucomycin A₃, A₄, A₆, A₃, U 类^[5], 其核磁

共振图谱与 Leucomycin A₃ 的谱相同。
抗生素 X-7-III 的元素分析数据:
实验值(%) C 60.94 H 8.22 N 1.65
计算值(%) C 60.94 H 8.34 N 1.69
其分子式为 $\text{C}_{42}\text{H}_{49}\text{O}_{13}\text{N}$, 分子量为 827 (质谱法), 见图 4。质谱(EI, 205°C)的分子离子峰 M⁺827。(用 MAT-711 仪器测定), 其

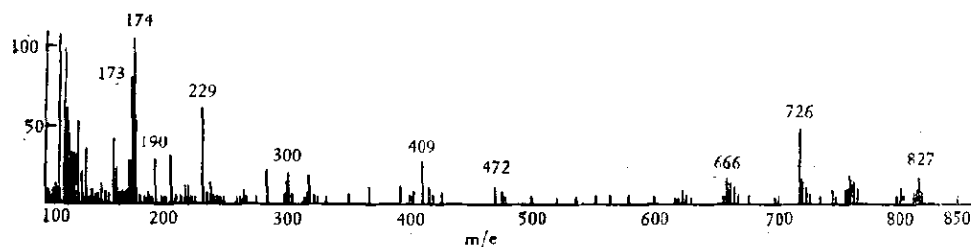
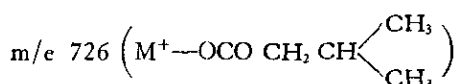


图4 抗生素 X-7-III 质谱图

Fig 4 Mass spectrum of Antibiotic X-7-III

主要碎片离子有:



666 (726 - CH₃COOH)

409 (C₂₂H₃₃O₇ 苷元)

402 (C₂₀H₃₆O₇N, 碳霉糖+碳霉胺糖)

300 (脱氧碳霉糖-脱氧碳霉胺糖)

229 (碳霉糖)

190 (碳霉胺糖+1)

174 (脱氧碳霉胺糖+1)

173 (脱氧碳霉胺糖)

以上碎片和分得标准样品 Leucomycin A₃ 质谱裂解情况相同。

抗生素 X-7-III 组分在氧化铝 GF₂₅₄ 薄板上层析与日本进口的柱晶白霉素粉针剂分得单体 Leucomycin A₃ 有相同 R_f 值, 均为 0.60, 展开溶剂为苯: 丙酮 (3:1)。抗生素 X-7-III 的组分和 Leucomycin A₃ 的混合熔点不下降, 为 121—122°。

讨 论

抗生素 X-7-III 的元素分析, 熔点, 比

旋度, 溶解度及紫外光谱, 红外光谱, 核磁共振谱, 质谱的数据均与国外临床上广泛应用的 Leucomycin A₃ 一致, 见表 1。二者的混合熔点不下降。因此, 我们认为抗生素 X-7-III 与 Leucomycin A₃ 是同一抗生素。

柱晶白霉素对青霉素、红霉素耐药的金黄色葡萄球菌及溶血性链球菌有作用, 属于非诱导耐药性型的抗生素。在金黄色葡萄球菌中不诱导耐药性。因此, 我们找到的抗生素 X-7-III 是具有临床应用和生产价值的。

参 考 文 献

- [1] Hata, T. et al.: *Antimicrob. Agents and Chemoth.*, 1966: 631—636, 1967.
- [2] Omura, S. et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, 15 (10): 1529—1533, 1967.
- [3] Omura, S. et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, 16 (7): 1181—1186, 1968.
- [4] Osono, T. et al.: *J. Antibiotic Ser. A*, 20 (3): 174—180, 1967.
- [5] Omura, S. et al.: *J. Antibiotic Ser. A*, 21 (4): 272—278, 1968.
- [6] Omura, S. et al.: *J. Antibiotic Ser. A*, 28 (6): 401—433, 1975.

STUDIES ON THE MACROLIDE ANTIBIOTIC X-7

II. ISOLATION PURIFICATION AND IDENTIFICATION OF ANTIBIOTIC X-7-III

Ye Yufen Xu Shaohua Zhang Hailan

(Institute of Materia Medica, Academia Sinica, Shanghai)

Antibiotic X-7-III has been isolated from the broth culture of *Streptovercillium kitasatoensis* var. *chongmingense* n. var. X-7. The antibiotic is a colorless crystal, which is easily soluble in methanol ethanol. acetone chlorform ethyl acetate benzene and hardly soluble in water and petroleum ether. It gives negative reaction with ninhydrin and positive reactions with Tollen's and perman-ganete reagents.

The mass spectrum of Antibiotic X-7-III shows its molecular to be 827, its molecular formula of the antibiotic $C_{42}H_{69}O_{15}N$,

m.p. 121—122°C and $[\alpha]_D^{28} - 75^\circ$ (Cl, ETOH), $[\alpha]_D^{34.5} - 66.3^\circ$ (C 1, $CHCl_3$) according to its UV spectrum. IR spectrum, as well as NMR spectrum. This substance, therefore, should contained dimethylamino methoxyl aldehyde carbonyl and $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ unsaturated alcohol radicals.

On the basis of physical and chemical studies, Antibiotic X-7-III has been identified as Leucomycin A₃

Key word

Macrolide antibiotic