

链霉菌 AC-57 及其产生的阿克拉霉素 A 的研究*

张海澜 王定恩 徐少华 叶蕴芬 陈佩君

(中国科学院上海药物研究所, 上海)

阿克拉霉素 A (Aclacinomycin A) 是一种新型的蒽环类抗生素, 它的主要优点是对心脏的毒

性远比其他蒽环类抗生素低得多, 因此被认为是一种有前途的抗肿瘤化疗药物。

1983 年, 我们从崇明岛土壤中分到一株编号为 AC-57 的链霉菌, 其发酵液和菌丝的丙酮浸出液经化学初筛提示该菌产生多种蒽环类化合物, 并具有抗阳性菌作用。经粗提和纯化后该化合物的水溶液与浓碱反应呈红紫色, 紫外光谱在 430nm 处有一中等强度吸收峰, 证明该菌株产生二羟基蒽环类化合物。进一步化学研究证实它产生阿克拉霉素 A^[1-3], 其结构式如图 1。

材 料 和 方 法

(一) 菌种

从我国崇明岛土壤中分离并鉴定, 其编号为链霉菌 AC-57。

(二) 产物的鉴别

通过菌种发酵, 提取纯化和各种理化数据的测定进行鉴别。

结 果 与 讨 论

(一) 产生菌的形态特征

孢子丝为松螺旋, 孢子表面光滑, 孢子呈长

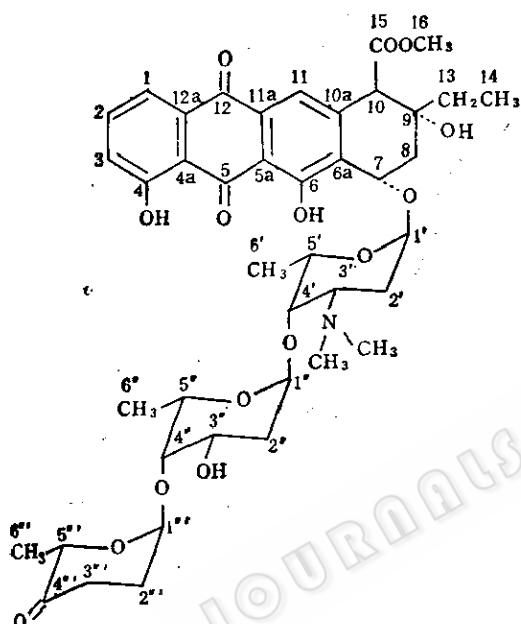


图 1 阿克拉霉素 A 结构式

表 1 链霉菌 AC-57 的培养特征

培养基	气生菌丝	基内菌丝	可溶色素
淀粉琼脂	秃	淡黄色, 粉红	无
葡萄糖天门冬琼脂	鸥灰, 苍鼠灰	苍黄橙, 杏黄	微黄
甘油天门冬素琼脂	橙粉, 淡黄色	淡黄色	无
酵母麦芽汁琼脂	苍鸥灰带黄褐灰	羚羊皮色	黄柠檬色
无机盐淀粉琼脂	少, 苍鼠灰	奶油色	无
苹果酸钙琼脂	无, 秃	淡黄	无
燕麦片琼脂	薄, 苍鼠灰	奶油黄色	淡羚羊皮色
土豆汁琼脂	少, 淡褐色	凯撒棕	德累斯顿棕
营养琼脂	无	铈黄, 鼠李棕	古老棕
土豆块	少, 苍鸥灰	豆沙棕	鼠李棕

按照 Ridgway, R. Color Standards and Nomenclature, 1912。

本文于 1989 年 5 月 19 日收到。

* 菌种鉴定蒙张国伟和阎逊初先生指导, 特此致谢。

圆,圆柱状,基丝不断裂,无横隔。它的培养和生理特征见表 1 和表 2。

该菌能利用葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、果糖、鼠李糖、蔗糖、棉子糖和肌醇,不能利用甘露醇。它的细胞壁含 LL-二氨基庚二酸和甘氨酸,不含阿拉伯糖、木糖及半乳糖。

菌种经鉴定为加利利链霉菌 (*Streptomyces galilaus*), 编号为链霉菌 AC-57。

表 2 链霉菌 AC-57 的生理特征

明胶液化	—	纤维素利用	—
牛奶酪化	+	硝酸盐还原	—
牛奶凝固	—	硫化氢产生	+++
淀粉水解	—		

(二) 提取与分离

发酵用培养基为黄豆粉 20g, 淀粉 10g, 葡萄糖 30g, 硫酸胺 2g, 硫酸铜 0.07g, 碳酸钙 6g, 蛋白胨 2g, 硫酸镁 1g, 氯化锰 0.008g, 氯化钴 0.008g, 水 1L。发酵周期 72 小时, 取菌丝体用丙酮浸提三次, 丙酮液稍加浓缩后用甲苯萃取, 而后用 pH3.5 的乙酸缓冲液提取。酸水经石油醚洗涤后将 pH 调至 5.5—6.0, 加 1% 的硫酸铜适量, 滤去沉淀, 再用甲苯提取, 浓缩, 加 10 倍量正己烷, 即得金黄色粉末。

将上述粉末, 进行硅胶柱层析(青岛硅胶 H), 以甲苯-甲醇(100:2)洗脱, 硅胶 TLC 检测展开

剂为 $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-HAC-H}_2\text{O}$ (15:1:0.1:1)。经柱层析纯化分得抗生素 AC-57A 的单体。

(三) 理化性质和鉴别

抗生素 AC-57A 为金黄色粉末, 极易溶于氯仿、乙醚、甲醇和丙酮等溶剂, 全部理化数据见表 3。其中的比旋度与阿克拉霉素 A 的同分异构体 MA144G₁ 有明显区别^[4]。其核磁共振谱(FX-90Q 22.5MHz, 溶剂 CDCl_3 , 六甲基二硅醚内标)数据见表 4。各碳化学位移值均与阿克拉霉素 A 的相同^[5], 但由于测试条件的差异, AC-57A 的全部化学位移值均相应约小 2.0ppm。

为了进一步证明抗生素 AC-57A 与阿克拉霉素 A 等同, 我们将两者在同等条件下进行水解试验。即各取样品 30mg, 加 3ml 0.1mol/L 盐酸, 封管后在 85° 水浴上水解 45 分钟。析出的貳元用水洗涤至水溶液呈中性, 用甲醇结晶, 在甲苯中重结晶。

AC-57A 貳元为橙色结晶, 其理化和光谱分析数据见表 5。氢核磁共振谱在 JEOL SP-100 上测定, 四甲基硅醚为内标。表 5 数据证明 AC-57A 貳元与阿克拉霉素 A 貳元相同, 即阿克拉酮。

AC-57A 分子中糖的鉴定: 将水解反应后分去貳元的水溶液加碳酸银至 pH 中性, 过滤, 滤液用氯仿抽提二次, 水层再过滤一次, 将含糖滤液进行硅胶薄板层析, 并与标准品的水解含糖液点在

表 3 抗生素 AC-57A 和阿克拉霉素A理化性质比较

项 目	阿克拉霉素 A	抗生素 AC-57A
熔 点	151—153°C	150—152°C
比旋度 $[\alpha]_D^{25}$	-11.5(C 1.0, CHCl_3)	-11.1(C 1.0, CHCl_3)
紫外光谱 (nm) λ_{\max} ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)	229.5(550), 259(326) 289.5(135), 431(161) (90% MeOH)	229(542), 257(324) 288(136), 430(163) (MeOH)
红外光谱 (cm^{-1}) KBr 压片	3450, 2980, 2945, 2820, 2760, 1735, 1675, 1600, 1010.	3460, 2980, 2940, 2820, 2765, 1735, 1677, 1625, 1010
质谱 (FD)	*m/e 813($\text{M}^+ + 1$)	m/e 813($\text{M}^+ + 1$)
元素分析	C62.35 H6.67 N1.82	C61.52 H6.47 N1.58
	C62.14 H6.58 N1.73 (计算值)	
分 子 式	$\text{C}_{42}\text{H}_{53}\text{NO}_{15}$	$\text{C}_{41}\text{H}_{53}\text{NO}_{15}$

* 用对照样品

表 4 抗生素 AC-57A 和阿克拉霉素 A 的碳谱比较

碳原子	阿克拉 A	AC-57A	碳原子	阿克拉 A	AC-57A
5	192.7	190.7	14	6.7	4.7
12	181.3	179.3	1'	101.6	99.7
15	171.3	169.3	2'	29.3	27.3
4	162.6	160.6	3'	61.6	59.6
6	162.2	160.2	4'	74.1	72.2
10a	142.7	140.7	5'	66.8	64.9
2	137.3	135.3	6'	17.0	15.0
12a	133.5	131.5	NMe2	43.3	41.3
6a	132.9	130.9	1"	100.2	98.2
11a	131.5	129.5	2"	34.4	32.4
3	124.8	122.8	3"	65.4	63.5
11	120.9	118.9	4"	83.0	81.0
1	120.1	118.2	5"	68.4	66.5
4a	115.9	113.9	6"	147.9	15.9
5a	114.7	112.7	1'''	99.4	97.5
9	71.7	69.9	2'''	27.7	25.7
7	70.6	68.7	3'''	33.5	31.5
10	57.2	55.3	4'''	210.0	208.0
16	52.5	50.5	5'''	71.8	69.8
8	33.8	31.9	6'''	14.8	12.8
13	32.2	30.3			

表 5 抗生素 AC-57A 和阿克拉霉素 A 理化性质比较

项 目	阿克拉霉素 A 甙元 ^[9]	抗生素 AC-57A 甙元
熔 点	167—170℃	167—168℃
紫外光谱 (nm) $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}(\epsilon)$	229(40129), 259(24720), 290(9476), 431(11866)	229(46000), 258(27500), 289(11000), 431(13750)
红外光谱 (cm ⁻¹) KBr 压片	1730, 1620	1735, 1622
质谱 (EI)	m/e 412	m/e 412
氢核磁共振	1.11(3H, t, J = 7, H-14) 1.62(2H, q, J = 7, H-13) 2.24(1H, dd, J = 2.15, H _B -8) 2.52(1H, dd, J = 5.15, H _A -8) 3.7 (3H, s, OMe) 4.08(1H, s, H-10) 5.32(1H, dd, J = 2.5, H-7) 7.22(1H; dd, J = 3.7, H-3) 7.54(1H, s, H-11) 7.6(1H, t, J = 5.7, H -2) 7.68(1H, dd, J = 3.5, H-1) 羟基信号未注明	1.11(3H, t, J = 7, H-14) 1.62(2H, q, J = 7, H-13) 2.24(1H, dd, J = 2, H _B -8) 2.52(1H, dd, J = 5, H _A -8) 3.7(3H, s, OMe) 4.08(1H, s, H-10) 5.32(1H, dd, J = 2, H-7) 7.22(1H, dd, J = 3, H-3) 7.54(1H, s, H -11) 7.6(1H, t, H-2) 7.68(1H, m, H-1) 3.45, 3.95, 11.80, 12.56 的羟基信号用重水交换

表 6 抗生素 AC-57A 和阿克拉霉素 A 的薄层析比较

糖	阿克拉霉素 A		抗生素 AC-57A	
	R _f	颜色	R _f	颜色
紫红霉素	0.55	天兰	0.55	天兰
2-去氧岩藻糖	0.77	兰灰	0.77	兰灰
烬灰红霉素	0.85	兰绿	0.85	兰绿

同一板上层析比较,其结果见表 6。以上实验说明 AC-57A 分子中含有和阿克拉霉素 A 相同的三个糖。

根据以上结果,证明我们分离到的加利利链霉菌产生的抗生素 AC-57A 与阿克拉霉素 A 完全相同。

参 考 文 献

[1] Oki, T. et al.: *J. Antibiotics* (ser. A), 28

(10): 830—834, 1975.

[2] Oki, T. et al.: *Ibid.*, 30(8):683—686, 1977.

[3] Yoshimoto, A. et al.: *Ibid.*, 32(5): 472—480, 1979.

[4] Oki, T. et al.: *Ibid.*, 32(8): 791—800, 1979.

[5] Oki, T. et al.: *Ibid.*, 32(8): 801—819, 1979.

STUDIES ON THE ANTITUMOR ANTIBIOTIC ACLACINOMYCIN A

Zhang Hailan Wang Dingen Xu Shaohua

Ye Yunfen Chen Peijun

(Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica, Shanghai)

During the course of screening for new antitumor antibiotics, a new anthracycline antibiotic—aclacinomycin A was separated from the broth and mycelium of *Streptomyces* AC-57.

The strain AC-57 was isolated from the soil collected in the Shanghai suburbs. According to its culture and physiological characteristics the producer was identified as *Str. galilaeus* AC-57.

The broth and mycelium were extracted and treated with solvents as usual way. The aclacinomycin A was separated by silica-gel

column chromatography eluted with chloroform-methanol.

Aclacinomycin A, its aglycone and sugar components were identified by comparison of their physico-chemical and spectral data (MS, UV, IR, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR) with authentic compound, purified from the market sample.

Key words

Streptomyces galilaeus; Aclacinomycin