

荧光霉素分离及结构确定*

李丽燕 王永金 侯振荣 张磊

(沈阳药学院)

曾广然 杨石璋 韩素梅

(吉林省农科院植保所)

荧光霉素是从不吸水链霉菌公主岭新变种 (*Streptomyces ahygroscopicus gongzhulingensis* n. val, Ruan et zhang) 的固体发酵物中分离获得的抗真菌抗生素。经中国医科院抗生素所的抗生素生物理化特性数据库 ADMS 检索证明是一个新抗生素。

1971年吉林省农科院植保所曾广然等曾用不吸水链霉菌公主岭新变种的固体发酵物水浸液处理禾谷类种子, 经大面积推广证明对黑穗病有良好的防治效果, 是一种高效低毒的生物农药^[1], 荣获国家二等发明奖。我们又在该菌种的固体发酵物中分离获得了一个新的抗真菌抗生素, 其结晶在紫外灯 (3650Å, 2537Å) 照射下产生绿色荧光, 故称荧光霉素。

试验部分

用70%乙醇水溶液浸泡该菌种的固体发酵物, 将滤液浓缩至1/10体积, 分别用苯、乙酸乙酯提取数次, 将提取液真空浓缩至粘稠上硅胶柱。依次用石油醚、石油醚—苯 (8:2)、苯及乙酸乙酯洗脱, 收集紫外灯照射呈绿色荧光流分, 将其真空浓缩至粘稠用少量石油醚—苯 (8:2) 溶解, 用离心薄层层析仪分离收集在紫外灯照射呈绿色荧光流分真空浓缩得粗品, 将其升华得白色针状结晶, 即荧光霉素。

结 果

物理化学特性: 白色针状结晶紫外灯照射呈绿色荧光。熔点115℃。有升华性。易溶于苯、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、甲醇等, 微溶于石油醚、水。

呈色反应: 对高锰酸钾呈阳性, 对三氯化铁、茚三酮、品红试剂呈阴性。

ms. Mol wt 192.0353. $C_8H_8N_2OS$

碎片峰 164.0411 $C_8H_8N_2S$

m/e: 192.0 (100.0) (M^+), 193.0 (140.0) ($m+1$), 194.0 (59.4) ($m+2$), 72.0 (38.10), 164.0 (279.3), 71.0 (250.2), 39.0 (144.4), 45.0 (96.1), 93.0 (63.2), 121.0 (60.2), 73.0 (47.2)。

^1H-NMR ($CDCl_3$) ppm: δ 2.46 (双峰 3H, $J=1.8Hz$), 6.95 (四重峰 1H, $J=1.8Hz$), 7.0~7.5 (二个四重峰, 2H, $J_1=8Hz$, $J_2=4Hz$, $J_3=2Hz$), 8.1~

*: 中国医科院抗生素研究所庄锡亮副研究员利用ADMS检索给予支持。沈阳药学院张生同志绘图, 特此致谢。

8.2 (一个四重峰, 1H, $J_2 = 4\text{ Hz}$, $J_3 = 2\text{ Hz}$ (11.5) 宽峰 1Hz)。

^{13}C -NMR (CDCL₃) ppm. δ 169 C, 135 C, 153 C 152 C, 125 CH, 124 CH, 140 CH, 114 CH, 16.8 CH₃。

IR (KBr) cm.⁻¹ 3450, 3060, 2950, 2920, 2840, 1930, 1730, 1600, 1580, 1570, 1550, 1520, 1490, 1460, 1450, 1010, 855, 790, 770, 725, 640, 555, 540, 490。

UV 95% EtOH 359.2nm 强吸收, 257nm 弱吸收, 203nm 强吸收
紫外光谱各峰加氢氧化钠、盐酸峰位皆不移动。

元素分析:

N% = 12.1451, 12.1050, 11.08958,

C% = 61.7384, 61.745, 61.7018,

H% = 6.0187, 5.9521, 5.9637,

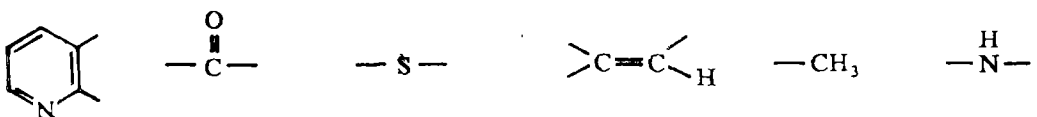
抗菌活性:

Test organisms	M. I. C (μg/mL)
Mucor racemosus RF223	50
Candida albicans (Robin) Berkhout	50
Sphacelotheca cruenta (Kuhn) potter	100.

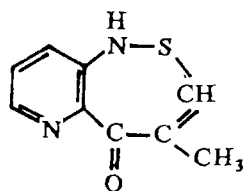
结构确定

本品质谱的分子离子峰是192, 高分辨质谱测得分子量为192.035, 分子式为C₈H₈N₂OS
由于m+2峰的强度是5.94~5.40%, 说明分子中含有一个硫。m/e 164碎片离子的高分辨测定为164.0411是由分子离子失去羰基(>C=O)而形成C₈H₈N₂S, 红外光谱的1730cm⁻¹为ν_{C=O}可为酯、醛或酮的羰基, 但分子中只含一个氧不可能是酯, ¹H NMR没有醛氢¹³C谱δ169ppm峰是羰基碳, 因此, 只能是酮基。正常酮ν_{C=O}在红外光谱1720~1710cm⁻¹有峰, 可此酮ν_{C=O}峰是1730cm⁻¹高出10cm⁻¹, 说明有诱导效应基团与羰基相连。1500~1480cm⁻¹, 1610~1590cm⁻¹峰说明有芳香环, 3450cm⁻¹为ν_{NH}峰是芳香仲胺。¹H NMR δ11.55ppm宽峰是与芳环相连的-NH质子峰, 由于分子中只含有一个氧不可能再有-OH或-COOH的质子。¹H NMR δ7.0~7.5ppm和8.1~8.2ppm峰可分析为ABX系统, 分子中含N可为2, 3-二取代吡啶($J_1 = 8\text{ Hz}$, $J_2 = 4\text{ Hz}$, $J_3 = 2\text{ Hz}$)与¹³C谱对应峰是140, 125, 124ppm(CH) 153, 152ppm(C)峰。紫外谱在359.2nm有强吸收峰说明吡啶取代基与其共轭。¹H NMR δ4.6ppm为3H和¹³C谱δ168ppmCH₃峰说明有-CH₃且与双键相连。¹H NMR δ6.9ppm是烯氢质子峰>C=C[′], 相应的¹³C谱峰是114ppm峰。

综上所述, 分子中有如下基团:

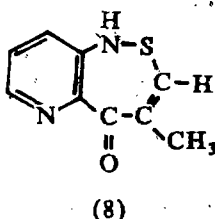
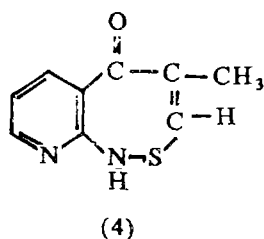


由于分子离子峰是最强的基峰，说明该抗生素结构比较稳定，不含较长链或支链结构，具有芳香环。根据 $C_9H_8N_2OS$ 计算不饱和度为7，上述基团不饱和度之和是6，必定再形成一个环。因此，荧光霉素结构为：



讨 论

1. 根据SM, 1H NMR, ^{13}C NMR, IR, UV等数据综合分析可能的结构有12种，实测烯氢质子的化学位移是6.95ppm，根据烯氢质子化学位移计算，只有〔4〕和〔8〕两种结构的化学位移为6.79ppm实测接近，其他各种结构与实测相差较大，且有反、顺两种形式存在。



根据吡啶的 ^{13}C 谱线 C_2 δ 150.6ppm, $C\delta_3$ 124.5ppm, 两者相差较大。在结构〔4〕和〔8〕中-N-S的电负性大于 $-C-C=$ 的电负性，因此，前者对C化学位移的影响比后者大。如果〔4〕结构， C_2 的化学位移应比 C_3 化学位移更大，实测 C_2 和 C_3 化学位移分别为152, 153ppm很接近，因此结构不是〔4〕。如果按〔8〕结构

其中 $-C-$ 处在结构交叉共轭位置对 C_2 影响小，则-N-S-与 C_3 相联使 C_3 的电子密度减少，使 C_2 与 C_3 电子密度接近，故化学位移相近与实测相符，所以结构应为〔8〕。

2. 质谱解析验证：质谱解析的主要8种碎片离子峰在质谱图上都出现。所以结构为〔8〕是正确的。

