抗菌素

Kangjunsu

（二）

一九七八年

科学技术文献出版社重庆分社

抗　菌　素

—生产、科研与临床—

（二）

1978年

抗菌素（二）

全国石油化工系统抗菌素科技情报协作组
四川抗菌素工业研究所编辑
中国科学技术情报研究所重庆分所

科学技术文献出版社重庆分社　出版
重庆市市中区胜利路91号

四川省新华书店重庆发行所　发行

陕西省宝鸡市人民印刷厂　印刷

开本：787×1092毫米1/16　印张：14字数：35万
1978年11月第1版　1978年11月第1次印刷
印数：14800

书号：14176·24　定价：1.45元

抗 菌 素

（二） 1978年

目 录

科研报告及技术革新

耐消沫剂低流量高效价土霉菌菌种选育……华北制药厂土霉菌选育小组（1）
甲哌力复霉素生产工艺改革……四川抗菌素工业研究所半合成抗菌素研究室（7）
三氯化铁在力复霉素提炼中的应用……四川省长征制药厂七〇一车间（12）
井冈霉素发酵补料工艺的试验研究（初报）……广东省肇庆地区微生物药厂 华南农学院微生物学教研组 广东省微生物研究所农抗组（14）
板栅式搅拌器在土霉素发酵中的应用……南京兽医生物药品厂 唐志强（18）
应用四种光谱确定黑刺菌素的化学结构……上海药物研究所 方积年（20）
土霉素碱的水份用烘箱法及卡氏法测定的比较……四川省长征制药厂质检科（22）

综述及译文

新抗菌素研究

芽孢杆菌产生的多肽类抗菌素：化学、生源和可能有的功能……（26）
1976年日本发酵工业的研究动向：抗菌素……（33）

抗菌素生产

抗菌素产生菌增加抗菌素产量的突变……（38）
青霉素发酵中玉米浆的代用……（43）
借控制产生菌生长来调节四环素的生物合成……（45）
抗菌素的分离方法……（48）
艮他霉素成份的分离与测定（综述）……（60）
氨基糖甙类抗菌素的离子交换色谱……（65）

抗菌素分析及测定

汞量法测定青霉素……（72）

四环素商品中杂质测定方法……（75）

各类抗菌素

头孢菌素及其它β-内酰胺抗菌素……（77）
蒽环族抗肿瘤抗菌素及其半合成衍生物……（89）
吡咯并(1,4)苯并二氮杂䓬类抗肿瘤抗菌素（摘编）……（96）
博莱霉素研究近况……（101）
磷霉素（综述）……（110）
缬霉素（综述）……（116）
新抗菌素：紫苏霉素及甲氧噻吩头孢菌素……（125）

抗菌素药理及临床

抗菌素的作用机制……（129）
抗菌素的血浆蛋白结合（综述）……（135）
抗菌素药物的付作用……（162）

农用抗菌素

抗菌素在农业上的应用……（172）

文　摘

新抗菌素研究……（184）
抗菌素生产……（190）
抗菌素分析及测定……（202）
抗菌素药理及临床……（207）
关于本集中抗菌素名称的说明……（220）

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

科研报告及
技术革新

耐消沫剂低流易高效价土霉菌菌种选育

华北制药厂土霉菌选育小组　姜靖美　整理

1971年土霉素发酵工艺采用合成消沫剂代替部份食用消沫油，油耗从1969年的100%下降到1971年的56.3%，为国家节约了大量的食油。加入消沫剂以后，发酵液浓度变稀，有空气利用好、耗糖多、放罐体积大、罐批产量高及过滤速度快等优点，但是消沫剂对土霉菌的生长存在一定的毒性作用，使发酵单位下降。为了使合成消沫剂能全代消沫油并在代油工艺上大幅度提高发酵单位，我们在伟大领袖毛主席的哲学思想指导下，总结和分析了选育工作与发酵工艺之间的内在联系和相互矛盾，进行了一系列的工作，选育得到*16、*49、*6等耐消沫剂的高效价菌株，油耗量从1971年的56.3%进一步下降到5.95%，甚至达到可以完全不用油，消沫剂的用量则在0.015%—0.02%左右，发酵效价比1971年提高20%，放罐体积增大15%左右。

现将我们的工作简介于后。

选育前的准备工作

准备工作就是调查研究的过程，采取一切必要的手段对筛选抗消沫剂突变基因的土霉菌作一系列的技术准备工作是很有必要的。选育中不能主观随意地使用出发菌种和诱变因子，更不能脱离实际条件确定筛选方法，必须紧紧围绕着抗消沫剂突变基因获得和其表现条件的确定为中心开展工作，因此，我们的准备工作从三方面进行：

一、筛选条件的确定：

菌种选育过程中，诱变是不定向的，而筛选却是定向的，要将不定向变异的菌株在定向的条件下筛选，条件的确定就成为很重要的一环。要获得抗合成消沫剂的突变株，首先要确定该突变基因的表现条件，否则诱变后有无这样的变株就无从知道。因此变异后的所有菌株均要有与合成消沫剂接触的机会。在培养基内加入适当的合成消沫剂代油，以鉴别变株对消沫剂的耐受能力与产单位的关系，同时调整其他营养条件以找到其生长与生产的最好环境。

在试验中用合成消沫剂0.02%代2.5%的油，并把糊精相应调整作成5种配比，用210*生产菌种作为试验菌种，以每24小时的发酵单位，糖、氮消耗，pH及菌丝生长情况作为考查指标，其结果说明了三个问题：

1.加油的培养基与五种加消沫剂培养基相比，糖、氮的消耗与效价的增长均有明显的差别，加消沫剂的培养基前期代谢快，效价高。72小时耗糖是加油培养基的2.5倍到3倍，发酵单位是其150～160%，耗氮多40mg，但随发酵时间的推移，加消沫剂的培养基中的糖、氮消耗的速度减慢，甚至停滞不前，而加油培养基中的糖、氮、效价则正常消耗及增长，在5种加消沫剂培养基中的效价以70～84%的比例低于加油培养基。

2.菌丝生长及pH变动方面，五种加消

沫剂的培养中菌丝生长初期就不整齐，染色浅，与正常加油配比相比相当于Ⅳ阶段，菌丝的阶段性不明确，这就说明210*菌株在加合成消沫剂的条件下对其生理要求不适应，菌丝不能舒展开，生长不正常，因此效价增长速度受到明显的影响。

3.加消沫剂的五种配比中，淀粉加量不同，虽然其菌丝及pH没有太大变化，但在效价方面却有差异，淀粉多的效价高，淀粉增加2%，效价却增长15.8%，淀粉增加3%，效价增加21.5%。因此，筛选的条件以加0.02%的合成消沫剂，淀粉增加2%的配比为基础，并与加油的培养条件同时筛选，进行比较。

二、出发菌种的选择：

菌种是内因，选择出发菌种首先要注意到菌种的内在因素有否可能在合成消沫剂的培养条件下生存，并合成抗菌素。根据210*菌株试验的结果表明，该菌株在消沫剂存在的情况下，代谢是可以进行的，就是合成抗菌素的能力差一些，因此把实验室现有的高效价菌株均在加消沫剂的培养基中进行特性考察，以便挑选更合适的出发菌种。为此挑取了与210*菌株不相上下的高效价菌株7株，在加消沫剂的培养基中进行效价比较，见表2。

表1　在加消沫剂培养基中各菌种效价比较

诱变因子	菌种名称	效价%
紫外光	73—1—8	104%
	72—2—15	101.6%
N-甲基-N′-硝基	72—14—179	115.9%
-N-亚硝基胍	72—15—195	108%
链霉素	71—15—195	101.6%
自然分离	84—14	105.5%
Co^{60}	71—16—210	100%

从表2中看出，这些菌株在加消沫剂培养基中以亚硝基胍诱变的72—14—179菌株效价最高，而且它与其他菌株的不同之点是单菌落为白色孢子其中心点带灰色，气生菌丝与营养菌丝的交界圈由粉状小颗粒组成。这样的菌落在土霉菌系谱中是很少见的，同时要说明的是，诱变系谱中N-甲基-N′-硝基-N-亚硝基胍NTG也是第一次使用，由于超诱变剂的应用，灰菌落的出现，消沫剂培养基中效价较好等因素，确定以72—14—179菌株为出发菌种，同时亦挑选了紫外光处理过的73—1—8菌株作出发菌种。

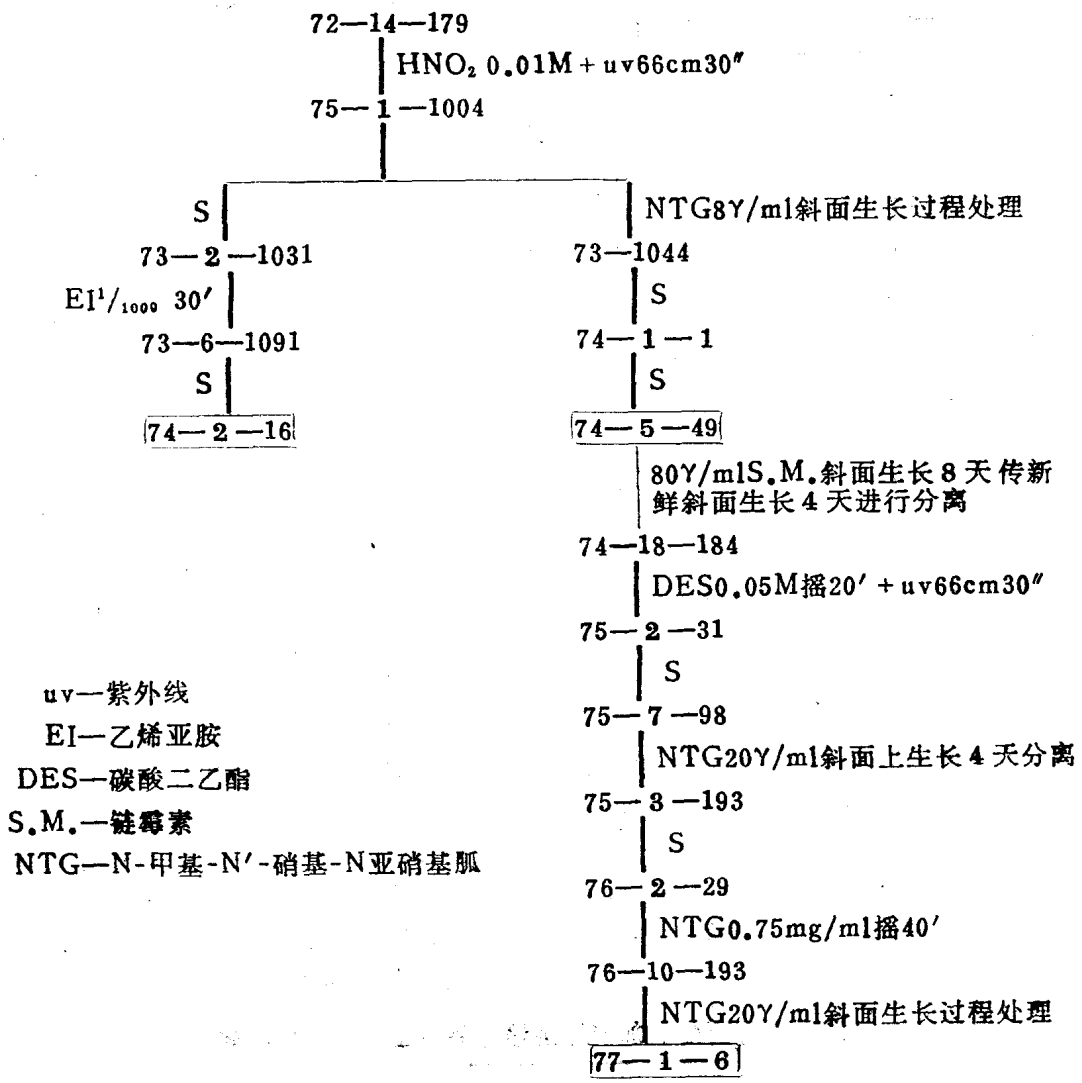
三、诱变剂的选择：

对于挑选出发菌种、诱变因子、处理方法及筛选方法等几方面的工作都要进行统一考虑，对于诱变因素的选择要根据出发菌种的特点、人们对突变基因的需要及诱变剂的作用原理等来确定。现在希望诱发一株抗消沫剂的突变株，就要求在菌种的内因上起较大的变异以改变其一部份代谢途径，那么就采用本系谱中不常用的而诱变效果很好的诱变剂比较合适。

根据菌种本身的特点来讲，灰菌落的出现对耐消沫剂的能力强一些，而灰菌落与NTG的使用是分不开的，NTG的诱变作用往往是对DNA正在进行复制的部位最有效，而DNA的复制时又必须有足够的所需的氨基酸的存在，因此，NTG的应用最好在菌种生长过程中进行，NTG被选为必用之诱变剂，另外对于紫外光及亚硝酸亦选作应用的诱变剂，因为紫外光的作用点是在DNA上的相邻两个胸腺嘧啶上使其成为二聚胸腺嘧啶因而引起修复和复制过程中的错误而产生变异，亚硝酸却作用在DNA的嘌呤碱基对上而引起变异，因此紫外光与亚硝酸复合处理就会引起较大范围的变异。从以后的结果中证明，以179*菌株出发经过一系列的诱变和纯化，这三个诱变剂起了非常重要的作用。变异后的一系列菌株形态很杂，效价波动很大，往往使人眼花缭乱，必须从中仔细分析，认清有利因素和不利因素。对于这些比较复杂的菌株，就不宜再用特强诱变剂诱变，采用比较缓和的因子或进行自然分离较为恰当。

16* 、49* 、6* 菌株的获得及其特性考文

从179*菌株出发经过亚硝酸、紫外光和亚硝基胍的诱变，通过特定的培养条件，终于获得16*、49*、6*等耐消沫剂高效价菌株，其诱变系谱如下：



uv—紫外线
EI—乙烯亚胺
DES—碳酸二乙酯
S.M.—链霉素
NTG—N-甲基-N′-硝基-N亚硝基胍

179*用紫外光及亚硝酸复合诱变后得1004*菌株，在加消沫剂培养基中筛选后，其效价水平并不是最高的，但在菌落特征上出现二种情况，一种是179*原来的灰色车轮型菌落，另一种却是白色的车轮型菌落，由于这二种菌落类型的不同，采取二种处理方法，一种是仍用诱变得到179*菌株的NTG进行诱变，使其灰孢子车轮型菌落继续增加比例。一是1004*进行自然分离，挑选白色车轮型孢子进行筛选。在二条线上分别得16*、49*、6*耐消沫剂的菌种，这三菌株在效价方面均比210*高，在生理特点方面亦有很大差异，尤其是6*菌株对消沫剂的耐性更稳定，在不改变空气流量的情况下体积又有增大，单位显著上升。现分别叙述如下：

(一) 16*菌株的生理特性

1.效价方面：用加油配方与加消沫剂配方同时进行筛选，用当时的生产菌种210*作对照，加油培养基中16*比210*高11.93%，12.1%和4.56%。加消沫剂培养基中16*比

210*高13.1%、18.4%、13.7%。

在此二种配比中16*比210*的效价都高，尤其在消沫剂代油中提高的幅度更大。

2.糖—氮代谢：同样在上述二种配方中进行。见表2。

表2　　16* 及 210* 菌株的糖氮代谢比较

培养基	菌种 \ 发酵周期 / 残糖、氮	72		96		120		144		168		192	
		C	N	C	N	C	N	C	N	C	N	C	N
加油	16	8.52	0.159	6.93	0.072	5.65	0.069	4.53	0.022	3.85	0.022	3.5	0.022
	210	8.96	0.162	7.3	0.128	6.29	0.088	3.93	0.053	2.55	0.024	2.42	0.024
加消沫剂*	16	9.72	0.084	8.07	0.048	6.83	0.027	6.1	0.011	4.8	0.022	3.77	0.022
	210	8.72	0.12	7.06	0.079	6.13	0.067	4.8	0.04	3.97	0.028	3.85	0.04

*此培养基中的糖配比高2%

表2表明，无论在那种培养基中，16*的耗氮能力强，发酵至144小时氮源基本用完，到168、192小时没有回升现象，菌丝自溶不明显，而210*菌株前中期耗氮慢，到168小时才用完，而在加消沫剂培养基中氨氮回升快，菌丝自溶早因此效价低。

根据上述结果，16*菌株在培养基中增加硫酸铵进行了效价考察，结果说明16*菌株在培养基中增加氮源其效价增长2%～18%。

3.菌落形态的突变；十多年来土霉菌的菌落类型有几次较大的改变，菌落类型与诱变剂的选择，效价的提高及培养基的改进均有着密切的内在联系。如使用紫外光，梅花型菌落出现，效价比龟裂型有提高。使用氯化锂，小颗粒状馒头型菌落出现，对糖、氮的代谢速度加快，在浓培养基中效价有大幅度提高。现在应用亚硝基类化合物等诱变得到的三株菌种在菌落形态上又出现新的车轮型菌落，其上为白色或灰色孢子，对氨氮利用快，在合成消沫剂培养基上效价有显著提高，16*菌株的车轮型菌落的纯度很大，几乎达99.99%。将车轮型菌落20个与颗粒状馒头型小菌落20只，在加消沫剂条件下进摇瓶测定效价，其结果见表3（以馒头型菌落的最低效价为100%计）。

表3　　两种不同菌落在加消沫剂培养基中生产能力的比较

菌落类型	最高效价		最低效价		20个菌落的平均效价	
车轮型	142.4%	＞+15.8%	126.4%	＞+26.4%	137%	＞+19.7%
馒头型	126.6%		100%		117.03%	

表3说明车轮型菌落在消沫剂代油的培养条件下比正常的馒头型菌落提高18%～26%，20个菌落平均提高17%。16*菌株，49*菌株与6*菌株均是车轮型菌落组成，而210*菌株却是由正常的馒头型组成，由此16*、49*菌株比210*菌株的效价提高18—20%左右。

车轮型菌落是诱变后获得的，但要强调的是如何鉴别新型菌落的优越性。该菌落在第一次用链霉素进行处理时得到的71—195*菌株中已经出现，由于它在加油的配方中效价总是不如馒头型菌落，而处在被淘汰的地

位。在改变了筛选条件以后，却显示出较大的优越性。

（二）49*菌株的特点与16*菌株的差异

49*菌株与16*菌株的共同点是在加消沫剂的培养条件下，都具有抗消沫剂的毒性作用而有较高的效价，但其从形态到生理生化特征上均较原出发菌种有着较大的差异。

1.菌落形态与产孢子能力方面：

16*菌落营养菌丝浅棕气生菌丝和孢子白色，其间车轮型占整个菌株的99.9%。49*菌株的气生菌丝及孢子为灰色半透明，车轮圈表面不明显，占整个菌株的98.9%。

16*菌株与49*菌株的产孢子能力均比210*强很多倍，210*菌株一个茄子瓶的活孢子数仅为0.3～3亿，而16*的活孢子数为60～80亿。49*菌株的活孢子数为80～160亿。孢子个体亦比16*小。

2.生化特点和效价的关系：

49*与16*相比，在加消沫剂的培养条件下，49*菌株氮源代谢比16*更快。见表4。

表4　　49*与16*菌株的糖、氮代谢情况比较

菌种 \ 周期 残C N	72		90		120		144		168		192	
	C	N	C	N	C	N	C	N	C	N	C	N
49	10.78	0.22	9.18	0.154	7.2	0.114	5.76	0.072	4.28	0.05	3.19	0.044
16	10.82	0.22	9.34	0.188	7.94	0.12	6.16	0.094	4.8	0.057	3.77	0.045

49*菌株在发酵过程中空气量要求不高，在装量增加的情况下49*菌株效价无明显下降，总产量高，而16*菌株发酵单位明显下降。说明49*菌株在装量少的情况下并不比16*有优越性，而在装量多的情况下49*比16*提高15.9%，49*菌株能在大体积中提高发酵单位。

（三）6*菌株的生理特点和效价的提高

1.摇瓶效价考察：6*菌株是继49*菌株巩固、稳定、提高的过程，其耐消沫剂的能力更强，效价比49*菌株平均提高15%左右。

2.糖、氮代谢及PH考察：49*的氨氮利用速度比16*快，而6*菌种的糖，氮的代谢比49*又快一些，效价在大体积、不增加空气流量的情况下大有提高，其代谢情况与49*相比见表5。

表5　6*与49*菌株的糖氮代谢比较表

小时	菌种	77—1—6	49
72	C	9.56	10.2
	N	0.156	0.176
96	C	6.32	8.92
	N	0.112	0.138
120	C	6.67	7.37
	N	0.074	0.094
144	C	5.94	6.3
	N	0.021	0.082
168	C	4.48	5.67
	N	0.04	0.073
192	C	4.1	4.03
	N	0.028	0.032
216	C	3.64	3.62
	N	0.027	0.023
240	C	2.9	2.85
	N	0.028	0.028
264	C	2.7	2.4
	N	0.026	0.028

从表中看出在168小时以前6*菌株糖、氮利用比49*菌株都快，6*菌株氨氮在168小时为最低点，而49*却要在216小时出现最低点，6*菌株到264小时没有氨氮回升的现象，说明菌丝自溶不明显，对含消沫剂的培养基的适应能力较强。糖的利用也是一开始就快，因此表现在发酵单位方面也是6*菌株比

49*菌株自始至终保持高出5～15%，全过程中6*菌株的PH很稳定，自始至终为6.0～6.17间，差为0.17，而49*菌株是5.92～6.28间，差为0.36。

由于16*与49*菌株在糖、氮、PH及效价方面均有差距，试验中把糖的配比降下来，观察这几方面的内在联系和相互关系。结果由于糖的配比低下来后，6*菌种的发酵水平下降，氨氮利用方面在168小时到192小时维持最低水平，但在216小时就有回升现象，240小时更上升。49*菌株也出现相同情况。在PH方面波动亦比较大，间距为5.85～6.6，差0.75，49*菌株为6.1～7.3差1.2。这表明，在糖低的情况下，菌丝容易发生自溶，在发酵单位的增长上出现了144小时以前在糖低的培养基甚至比糖高的培养基中还高一些，到了144小时以后，糖，氮均已耗完，发酵单位停滞不前。

3. 6*菌种对磷的敏感性考察：6*菌株对糖、氮消耗快，生长旺盛，对磷量的要求比49*低。经考察在正常培养基配比中即KH_2PO_4为0.01%时，6*菌种效价最高是49*菌种的118.4%，而在KH_2PO_4逐渐增加时，效价却逐渐降低，增至0.025%时效价降至107%，而49*菌株却相反。

总之，6*与49*菌株的生理特点有很大差异，因此对于外界条件的配合上就有不同要求，6*菌种要求基础糖、氮的比例高，前期维持残糖、残氮的高水平，后期可以少补糖，磷量因此相应减少。而49*生长速度慢，整个过程中无机磷需量有所增加。

新菌株在生产上的推广及效果

耐消沫剂高效价的三个菌株推广生产以后，效果十分可喜，首先在发酵单位方面，年平均效价提高23%。尤其是6*菌株推广以后效价提高幅度更大。且6*菌株在试验缸上的效价为生产缸上水平的144.4%。新菌种的生产潜力还很大。其次是合成消沫剂全面代油，每年为国家节约食油1000吨左右，粮耗大幅度下降。同时由于基础料中加消沫剂，发酵全过程起泡少，发酵液的放罐体积增大，土霉素总产量有大幅度的提高。

通过总结有以下几点体会：

1.在科学实验过程中，要用伟大领袖毛主席的哲学思想来分析问题，应用唯物辨证的观点对待菌种选育的全过程，并进行认真的分析，在具体工作中要把敢想敢干与科学态度结合起来，既实事求是又灵活机动，切不可死搬框框，对生产的历史和菌种选育史要作详细的了解，使用必要的方法，进行必要的准备工作。

2.要学会辨证的方法来对待菌种与发酵关系，对待菌种选育过程中的每一个联结点。使菌种本身在一定的条件下发生变异，在变化的情况下，用合适的条件来表现它，这才能多、快、好、省地选育高产菌种。

3.诱变因子、菌落类型和生理生化特点之间有密切的内在联系。例如用紫外线处理菌种总是得到白色的梅花型菌落，效价比原始的龟裂型菌落高，而梅花型菌落的效价的增长有一定的范围，要突破这一范围向更高的水平进军是在用氯化锂诱变后，菌落变成小颗粒状的馒头型后才出现的。而馒头型菌落糖、氮代谢快，在原梅花型的培养基内效价提高不明显，当糖、氮比例增加以后，尤其是生产工艺上通氨补料新措施上马成功，效价大幅度提高。当用亚硝基类的化学物质诱变菌株后出现的车轮型菌落，其生理特点是除有抗消沫剂毒性的能力外，对糖氮代谢速度更快，并能进一步加强其合成抗菌素的能力。这些都是变化比较大的有明显特征的菌落，其所使用的诱变剂以及其表现的生理生化特点都与原菌落不同，关于这方面的理论根据还不太清楚，但它们之间的内在联系可以说是十分密切的，注意它们的关系对菌种选育工作有很大帮助。

4.内因与外因的有机结合是菌种选育和发酵试验工作的主要关键，选育工作者不能

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

只重视诱变而忽视突变基因的表现条件。菌种变异后，往往其突变基因在原培养条件中反映不出来，必须改换相适应的条件，才能表现其特性。但确定条件的方向又与大生产发展的各方面条件密切相关。因为突变是不定向的，往往会出现各种不同的突变基因，就必须根据所需的突变基因的条件来创造条件，这一条在育种工作中是非常值得注意的一环。

5.不能只重视发酵条件的改进而忽视菌种的特性，发酵条件的改进要根据菌种的需要来进行。例如6*菌种的发酵条件改进了基础配比，降低了磷量，前期控制糖、氮的高水平，就创出了优异成积。因此，菌种工作者要根据大生产的需要来选育菌种，而发酵工作者又必须根据菌种特性来创造条件，只有这样抗菌素的生产水平才会产生新的飞跃。

总之，在阶级斗争、生产斗争、科学实验三大革命运动中，事物总是不断向前发展的，要认真地探索其中某些规律，必须以毛主席的伟大哲学思想作指导，亲身参加到革命实践中去，既实事求是，又灵活机动，对具体问题进行具体分析，只有这样，我们的工作才能有所发现，有所发明，有所创造，有所前进。

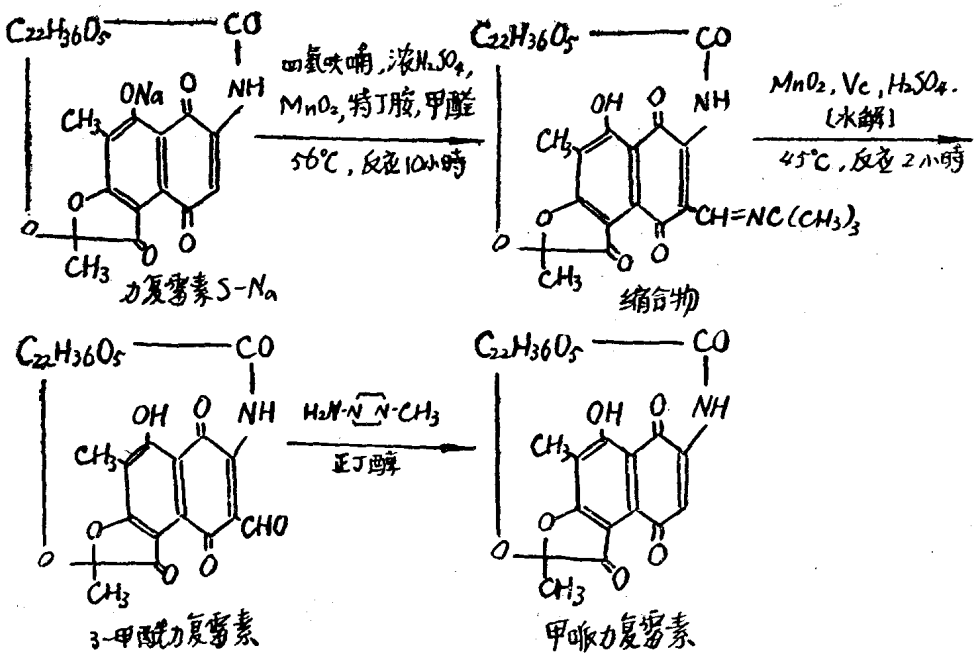
（本刊有删改）

甲哌力复霉素生产工艺改革

四川抗菌素工业研究所半合成抗菌素研究室

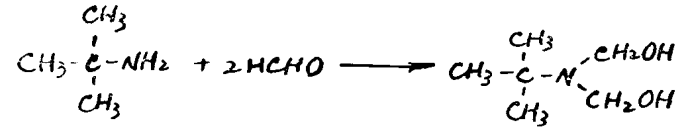
甲哌力复霉素（力复平、利福平）是近几年来国内外评价较高的新的抗结核药物，它具有疗效显著、毒付作用小、服用方便等优点。我国于1972年研制成功，1974年正式投产。

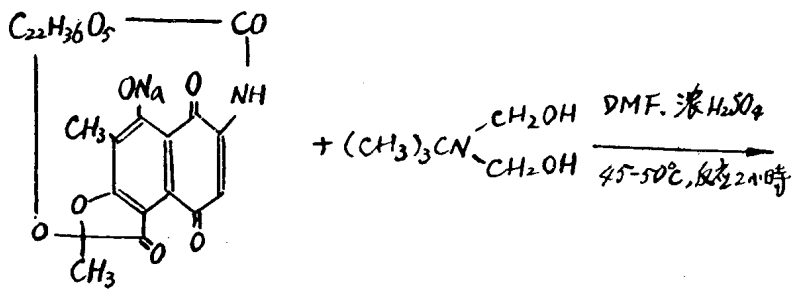
几年来其合成路线是以力复霉素S—Na为原料在四氢呋喃或醋酸乙酯等溶媒中与甲醛、特丁胺缩合、水解制得3—甲酰力复霉

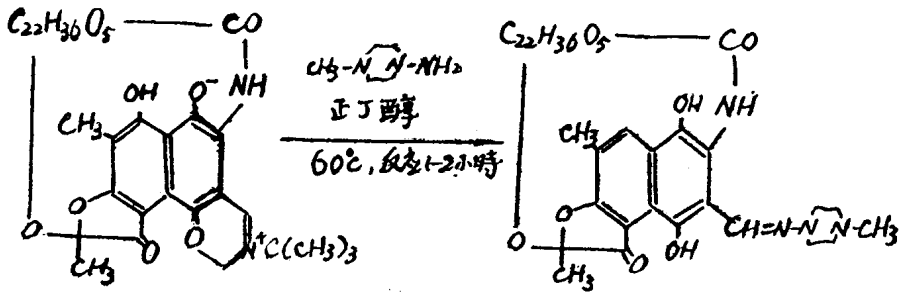


素，然后与氨基甲基哌嗪缩合制得[1,2]：

该工艺在生产上存在四氢呋喃、MnO_2、维生素C等来源困难、毒性较大等缺点，使用醋酸乙酯为溶媒较用四氢呋喃为溶媒其成品收率低而不稳定，成本较高。为此我们对该工艺进行了改革。改革后的工艺是先把特丁胺与甲醛进行加成反应生成羟甲基特丁胺，然后以力复霉素S—Na为原料在DMF溶剂中与羟甲基特丁胺进行环合反应，再与甲基氨基哌嗪进行缩合制得甲哌力复霉素：







改革后的工艺具有下列优点：

（1）合成收率提高10%以上；

（2）成本降低30%以上；

（3）成品甲哌力复霉素经丁醇或丙醇重结晶后可得晶形，质量好，稳定性高；

（4）节省了二氧化锰、维生素C等原材料，劳动条件也有所改善；

（5）缩短了生产周期，减少了操作工序。

现将工艺及结果简介如下。

一、实验部份

1.羟甲基特丁胺的制备

先以1克分子的特丁胺与2克分子的甲醛溶液进行加成反应，然后分去水相，油状液进行蒸馏（常压或减压），由于没有明确的沸点，不同温度下收集的馏份经折光测定变化也不大，所以产品的确切沸点及折光数据无法确定，只能将所得的不同馏份与力复霉素S游离酸反应进行鉴别，发现有的馏份反应液为兰色，在正丁醇中接侧链即能析出甲哌力复霉素，有些馏份的反应液为墨绿色，就析不出结晶，薄板层析检查，墨绿色反应液黄色斑点多，杂质多，可以影响甲哌力复霉素结晶。

从蒸馏结果看出，中间馏份质量较好，开始的馏份质量较差。考虑到蒸馏的油浴温度高，可能引起产品破坏，甲醛发生聚合，所以沸点不断上升，蒸馏又给生产带来麻

烦，即改变羟甲基特丁胺的合成条件，革除蒸馏，考查特丁胺与甲醛的不同克分子配比，不同的反应温度，不同的反应时间，选择特丁胺与甲醛的克分子比为1：2.5，在25℃以下反应3小时，静置，分去水相，油状液以无水碳酸钾[3]脱水，无色透明液待用，收率68.8%。

2.力复恶嗪的制备

有专利介绍[4]本反应以力复霉素S-游离酸作原料，在DMF溶剂中反应，经实验证明用力复霉素S-Na可代替力复霉素S游离酸投料，然后滴加浓硫酸反应液由紫色变为黄色，加二羟甲基特丁胺，至反应液由黄色成为暗红色，于60℃水浴中反应1小时，倾入冰醋酸水溶液，过滤后得兰色固体。用DMF作溶剂溶解快，反应时间短，杂质少，其他溶媒如醋酸乙酯、正丁醇、甲醇、丙酮、95%乙醇均能生成力复恶嗪，但反应时间长，杂质多。考查了N，N—二羟甲基特丁胺的用量，以1克力复霉素S-Na用0.35毫升为最适宜，还考查了重结晶的溶剂及其含水量的影响，以无水乙醇为溶剂时重结晶收率一般在68%，薄板层析几乎只有一点。

3.甲哌力复霉素的制备：

根据法国专利[4]报导，本反应将二羟甲基特丁胺与力复霉素S游离酸反应液倾入醋酸水溶液中，以氯仿提取，提取液中加入四氢吡咯及侧链，在30℃搅拌40分钟，反应液以醋酸酸化的水洗至pH5.0，再以水洗后加无水Na_2SO_4脱水，过滤，浓缩至干，加丙酮溶解，得层析纯的甲哌力复霉素。但以上工艺操作较烦，氯仿毒性较大，四氢吡咯来源也较困难，我们改为将兰色湿恶嗪加三倍量正丁醇及0.26倍侧链，在60℃水浴中反应1小时，点板检查，反应完后加6倍量水，并以冰醋酸调pH，搅拌结晶，用正丁醇洗涤，烘干得甲哌力复霉素粗品，也可用0.26倍六水哌嗪[5]及0.22倍侧链进行反应，制甲哌力复霉素粗品。

考察了冰醋酸用量对甲哌力复霉素合成收率及成品pH的影响，冰醋酸的加量为侧链的0.6倍时，甲哌力复霉素收率最高。

4.甲哌力复霉素重结晶

可将湿甲哌力复霉素加到4.5倍45℃热丙酮或3倍60℃热丁醇中，搅拌后降温并间歇搅拌，冷冻结晶。

二、放大试验收率及全项分析结果

以20至30公斤力复霉素S-Na投料，分

重结晶方法	丁	醇	丙		酮		
批号	1	2	3	4	5	6	7
S-Na/折纯（kg）	20/15.04	20/12.64	20/15.4	20/15.4	32.5/23.9	35/26.5	32/23.7
得量 kg	11.9	11.3	11.3	11.6	19.3	19	19.5
重量收率%	59.5	56.5	56.5	58	59.38	54.29	60.93
薄板分光含量%	93.35	92.37	92.15	94.19	95.06	96.01	95.72
干燥失重%	0.67	0.52	1.3	0.7	/	/	/
灰份%	合格	合格	合格	合格	/	/	/
熔点（分解点）℃	241	242	186	186	/	/	/
最大吸水量%（饱和水汽五天）	6.319	5.611	5.21	5.51	/	/	/
加速破坏（70℃放量14天）	3.03	4.17	3.95	5.47	/	/	/

别以丁醇或丙酮重结晶方法，列收率及各项分析结果如前页表：

从表看出，以丁醇法及丙酮法重结晶，本工艺平均重量收率分别为58%及57.8%。

三、成品仪器分析结果

1.x-衍射测定：

（1）丁醇重结晶法所得的甲哌力复霉素与意大利报导的利福平Ⅰ号晶型一致（图1）

（2）丙酮重结晶法所得的甲哌力复霉素与意大利报导的利福平Ⅱ号晶型一致（图2）

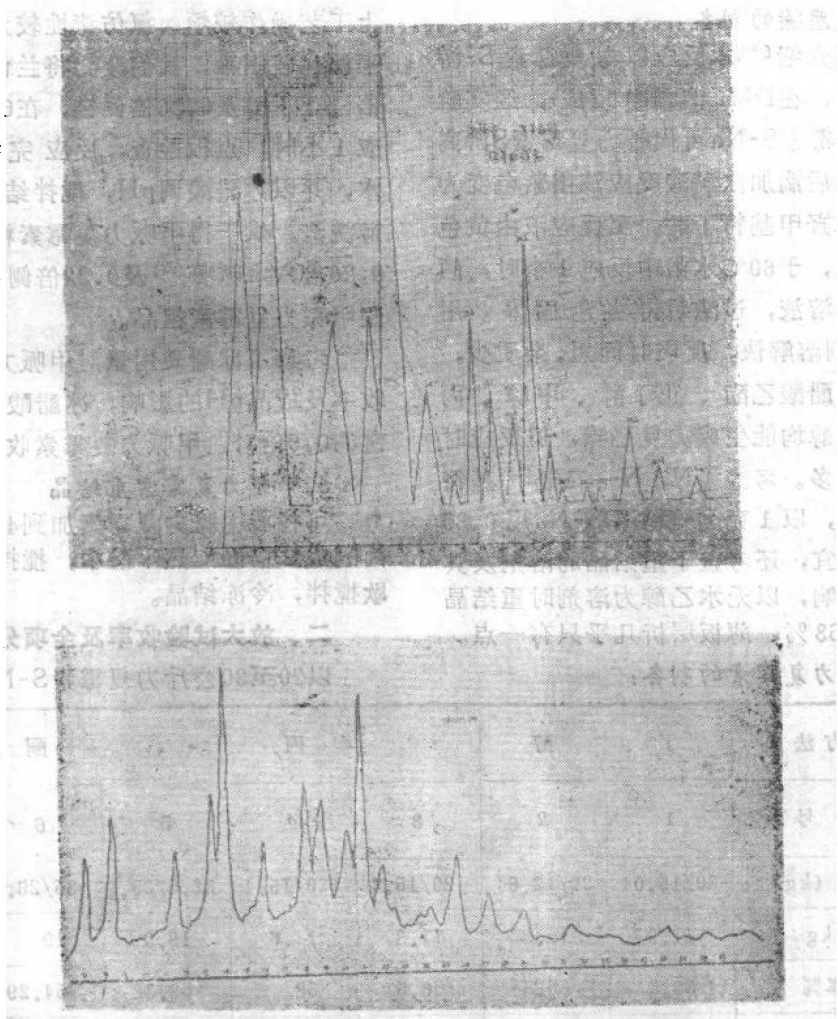


图1　丁醇重结晶法甲哌力复霉素（下）及国外报导利福平（上）的x-衍射测定图谱（国外报导利福平根据数据绘制）

2.热失重及差热分析：

丁醇法重结晶所得成品的差热曲线与意大利报导的利福平Ⅰ号晶型一致，热失重在240℃时有一个突变过程。丙酮法重结晶所得成品的差热曲线与意大利报导的利福平Ⅱ号晶型一致，热失重在200℃有一个突变过程（见图3）。

3.红外分析：

丁醇法重结晶成品的红外图谱与意大利报导的Ⅰ号晶型一致，而丙酮重结晶成品的红外图谱与Ⅱ号晶型不完全一致，可能与成品的纯度有关。（图4）

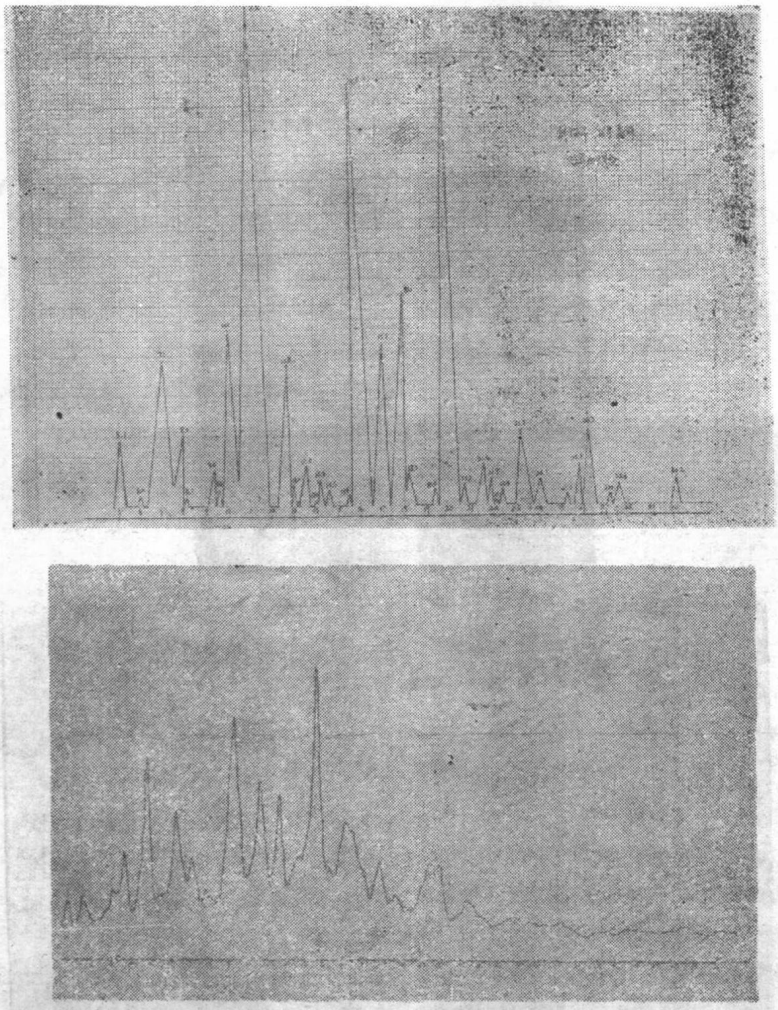


图 2　丙酮重结晶法甲哌力复霉素（下）及国外报导利福平（上）的x-衍射测定图谱（国外报导利福平根据数据绘制）

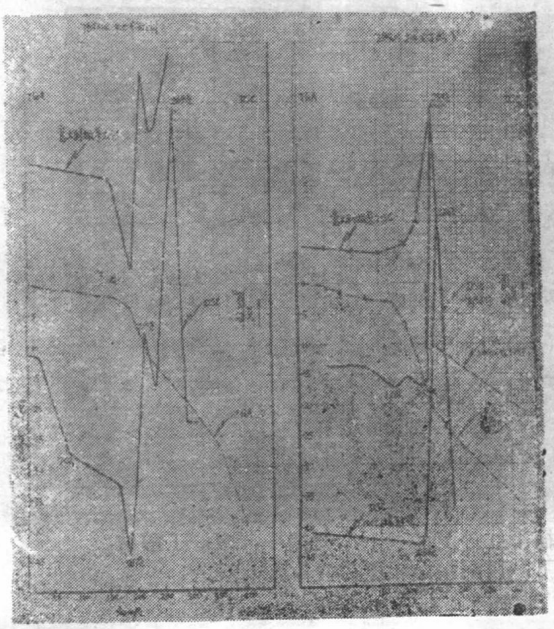
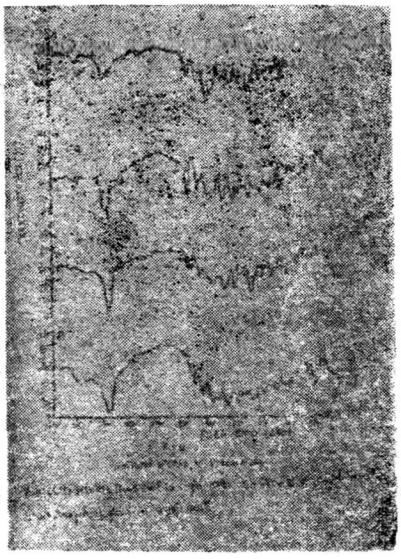


图 3　甲哌力复霉素与利福平差热分析曲线图



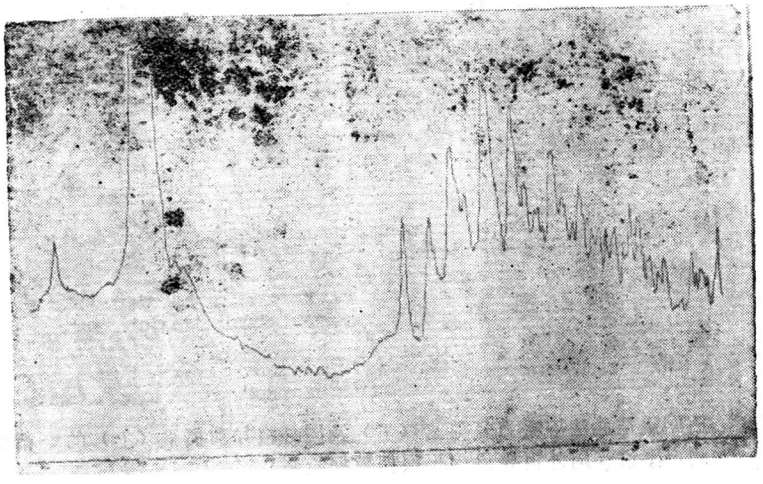


图 4　甲哌力复霉素与利福平红外图谱（上：利福平，中：丁醇结晶甲哌力复霉素，下：丙酮结晶甲哌力复霉素）

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com