



# (12) 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 89106081.2

[51] Int.Cl<sup>5</sup>

C12P 17/18

(43) 1990年2月28日

[22] 申请日 89.7.25

[30] 优先权

[32] 88.7.26 [33] JP [31] 88177431

[71] 申请人 藤泽药品工业株式会社

地址 日本大阪府

[72] 发明人 奥原正国 俊藤俊男 堀康宏

藤田隆 上田博嗣 重松伸治

[74] 专利代理机构 中国专利代理有限公司  
代理人 姜建成 林玉贞

A61K 31/395 // (C12P17/18, C12R1:01)

说明书页数: 20 附图页数: 3

[54] 发明名称 具有生物活性的新化合物及其制备方法

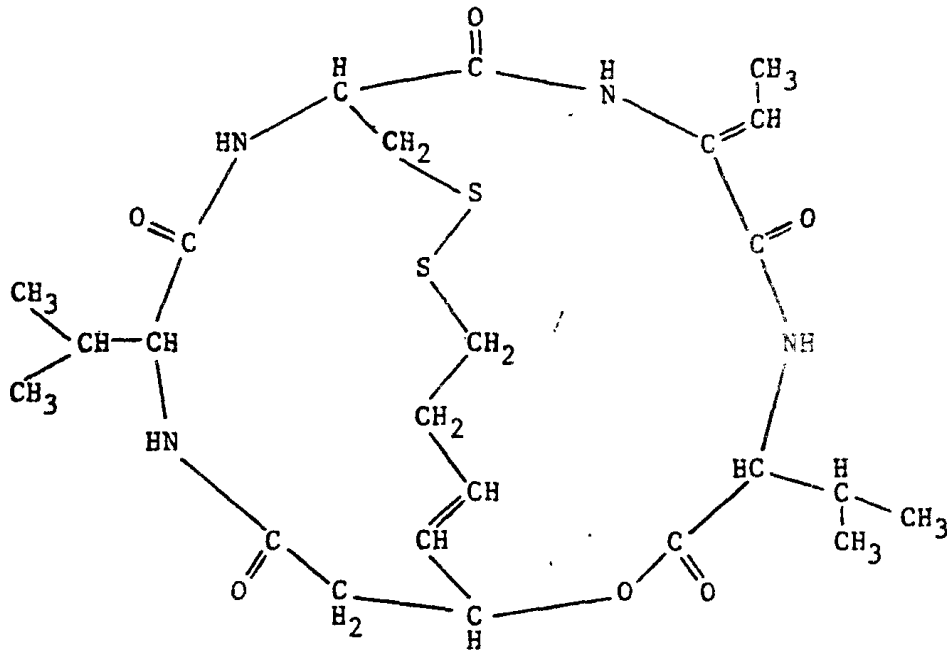
[57] 摘要

本发明涉及具有生物活性的 FR901228 物质、其制备方法及含有该物质的药用组合物。

<2>

# 权 利 要 求 书

1. 具有下式的 FR901228 物质。



2. 一种生产 FR901228 物质的方法，该方法包括，在有氧条件下，在含水营养培养基中培养能够产生 FR901228 物质的、属于色杆菌属的菌株，并回收 FR901228 物质。

3. 一种按照权利要求 2 所述的方法，其特征在于，所述色杆菌菌株是紫色色杆菌 WB968 (FERM BP-1968)。

4. 一种生物学上纯净的紫色色杆菌 WB968 (FERM BP-1968) 菌种。

5. 一种药用组合物，该组合物含有作为有效成分的 FR901228 物质和一种无毒药用载体。

具有生物活性的新化合物及其制备方法

本发明涉及具有生物活性的新化合物，以下称此化合物为FR901228物质。更具体地说，本发明涉及具有生物活性的新物质FR901228，该物质具有抗微生物和抗肿瘤活性；本发明还涉及该物质的制备方法和含有该物质的药用组合物。

本发明的FR901228物质可通过能产生FR901228物质的菌株在营养培养基中发酵而制得，该菌株属于色杆菌属(Chromobacterium)，如紫色色杆菌(Chromobacterium violaceum)WB968。

发酵方法详细说明如下：

(1)微生物：

用于生产FR901228物质的微生物的详细情况说明如下：

WB968菌株的分类研究：

WB968菌株是从日本山形县(Yamagata-ken)得到的土壤样品中分离出来的。

本分类研究主要应用《Bergey's Manual of Systematic Bacteriology》(第1卷)叙述的方法进行。

(1)形态特征

取在营养肉汤和琼脂中于30℃培养20小时的细胞用光学显微镜和电子显微镜进行WB968菌株的形态观察。

WB968菌株是一种革兰氏阴性的游动性细菌。细胞形状为杆状，大小约 $0.5-0.6 \times 1.2-1.8 \mu\text{m}$ 。

结果示于表 1。

表 1 WB968 菌株的形态特征

革兰氏染色	阴性
菌落颜色	淡橙色
细胞形状	杆状
细胞大小	$0.5-0.6 \times 1.2-1.8 \mu m$
芽孢	阴性
游动性	阳性
鞭毛	单极鞭毛

(11) 生理特征

WB968 菌株的生理特征总结于表 2。生长温度范围从 15℃ 到 40℃。

WB968 菌株是氧化酶阳性、过氧化氢酶阳性、O-F 试验发酵。酪蛋白水解、七叶苷水解为阴性。使葡萄糖、果糖和海藻糖发酵。吲哚试验为阴性。伏-普二氏试验为阴性。 $\beta$ -半乳糖苷酶试验 (ONPG 试验) 为阴性。

表 2 WB968 菌株的生理特征

条件	特征
生长温度	15-40℃
在空气中生长	阳性
在无氯化钠的胨水中生长	阳性
在 6% 氯化钠中生长	阴性
在氯化钾肉汤中生长	阳性
紫色素	阴性

表 2 (续)

条件	特征
过氧化氢酶	阳性
氧化酶	阳性
O-F 试验	发酵
由葡萄糖产气	阴性
O/129 敏感性 (10, 150 $\mu$ g)	阴性
硝酸盐反应	阳性
吐温 80 酯酶	阳性
H <sub>2</sub> S 产生 (TSI)	阴性
吲哚	阴性
MR	阴性
VP	阴性
西蒙氏柠檬酸盐	阳性
ONPG 试验	阴性
脲酶	阳性
DNA 酶	阳性
淀粉水解	阴性
明胶液化	阳性
酪蛋白水解	阳性
七叶苷水解	阴性
细胞溶素脱羧酶	阴性
鸟氨酸脱羧酶	阴性
精氨酸二水解酶(dihydrolase)	阳性

表 2 (续)

条件	特征
DNA的 G+C 含量	62.7 摩尔%
主要细胞脂肪酸	C <sub>16:1</sub>
醌型	Q-8
由糖产酸	
D- 葡萄糖	阳性
L- 阿拉伯糖	阴性
D- 甘露糖醇	阴性
D- 果糖	阳性
D- 半乳糖	阴性
D- 山梨醇	阴性
D- 海藻糖	阳性
蔗糖	阴性
乳糖	阴性
水杨苷	阴性
麦芽糖	阴性
纤维二糖	阴性

(iii) 鉴定

根据上述特征, 按照《Bergey's Manual of Systematic Bacteriology》(第1卷), WB968 菌株被鉴定为紫色色杆菌。

紫色色 杆菌 WB968 的菌种按照《布达佩斯条约》的规定于 1988 年 7 月 20 日保藏在 Fermentation Research Inst-

stitute Agency of Industrial Science and Technology (日本305茨城筑波市东1丁目1-3号), 编号为 FERM BP-1968。

在这方面, 在上述机构保藏WB968 菌株时, 该菌株曾被鉴定为气单胞菌 (*Aeromonas*), 但现在该菌株被鉴定为紫色色杆菌。

(2) FR901228 物质的生产:

生产本发明的 FR901228 物质的菌株属于色杆菌属(例如紫色色杆菌WB968)。在含有可同化的碳源和氮源的营养培养基中, 于有氧条件下(例如摇瓶培养和深层培养等)培养该菌株, 则可生产本发明的 FR901228 物质。

营养培养基中优选的碳源是碳水化合物如葡萄糖、淀粉、果糖或甘油。

优选的氮源是肉汤、酵母提取物、胨、麸质粗粉、棉子粉、大豆粗粉、玉米浆、干酵母和麦胚等, 以及无机和有机含氮化合物如铵盐(例如硝酸铵、硫酸铵、磷酸铵等)、尿素或氨基酸。

碳源和氮源合并应用是有益的, 但不必用纯品, 因为含微量生长因子和相当量无机营养素的稍不纯的物质也适用。

需要时, 可向培养基中加无机盐, 例如碳酸钠或碳酸钙、磷酸钠或磷酸钾、氯化钠或氯化钾、碘化钠或碘化钾、镁盐、铜盐或钴盐。

如必要, 特别是培养基剧烈地产生泡沫时, 可加入消泡剂如液体石蜡、脂肪油、植物油、矿物油或硅酮。

与大量生产其他生物活性物质所应用的优选方法一样, 大量生产 FR901228 物质时优选用深层有氧培养条件。

小量生产则采用摇瓶培养。

此外，在大罐中进行培养时，为了避免在生产 FR901228 物质过程中生长迟滞，最好用细菌营养细胞在生产罐中接种培养。因此，希望通过用细菌细胞接种较少量的培养基并培养接种后的培养基，首先生产细菌的营养细胞，然后将经过培养的营养细胞转移到大罐中。生产营养细胞的培养基与用于生产 FR901228 物质的培养基实质上可以相同或不同。

培养混合物的搅拌和通气可用各种方法完成。搅拌可利用螺旋桨式或类似的机械搅拌装置进行，也可通过旋转或振摇发酵罐、用各种泵装置或将消毒的空气通入培养基。通气可通过将消毒的空气通入发酵混合物来进行。

发酵通常在约  $10^{\circ}\sim 40^{\circ}\text{C}$ ，最好在  $25^{\circ}\sim 35^{\circ}\text{C}$  进行，发酵时间约为 15~50 小时，但可随发酵条件和规模而不同。

发酵完全后，用各种常用的回收和纯化生物活性物质的方法从肉汤培养基中回收 FR901228 物质，例如用适当的溶剂或某些溶剂的混合物进行溶剂提取，用适当的溶剂或某些溶剂的混合物进行层析或重结晶。

一般来说，本发明的 FR901228 物质主要存在于细菌细胞中。但滤液中也含有 FR901228 物质。因此，最好用全部肉汤培养基直接分离 FR901228 物质，例如用适当的溶剂如热水、丙酮或乙酸乙酯或这些溶剂的混合物进行提取。

提取液用常规方法处理，得到 FR901228 物质，例如通过蒸发或蒸馏使提取液浓缩到较小的量，得到含有活性物质（即 FR901228 物质）的残余物，用常规纯化方法进行纯化，例如用适当的溶剂或某些溶剂的混合物进行层析或重结晶。

FR901228 物质的理化性质:

按照上述发酵方法得到的 FR901228 物质具有如下理化性质。

外观: 无色棱柱状

性质: 中性物质

熔点: 235-245°C (分解)

旋光率:  $[\alpha]_D^{25} : +39^\circ$  (C=1.0, CHCl<sub>3</sub>)

分子式: C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>

元素分析: C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> · CH<sub>3</sub>CN,

计算值: C, 53.68; H, 6.76; N, 12.04; S, 11.02(%)

实测值: C, 53.68; H, 6.71; N, 11.80; S, 11.09(%)

分子量: 540.72

FAB-MS m/z 541 (M+H)<sup>+</sup>

溶解度:

能溶于氯仿、乙酸乙酯

微溶于甲醇、乙醇

不溶于水、己烷

颜色反应:

阳性: 硫酸铈反应、硫酸反应、碘蒸气反应

阴性: 茚三酮反应、氯化铁反应、埃尔利希反应、莫利施反应

薄层层析:

固定相	展开溶剂	R <sub>f</sub> 值
硅胶板*	二氯甲烷: 甲醇(10:1)	0.65
*硅胶板	Kieselgel 60 F <sub>254</sub> (E. Merck 生产)	

紫外吸收光谱：末端吸收（在甲醇中）

红外吸收光谱：

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  = 3360, 3320, 2950, 2910, 1740, 1690, 1660,  
1650, 1630, 1520, 1460, 1440, 1400, 1390, 1370,  
1350, 1300, 1250, 1220, 1170, 1100, 1040, 1020,  
1000, 980, 910  $\text{cm}^{-1}$ ，如附图 1 所示。

$^1\text{H}$  核磁共振谱：

[ $\text{CDCl}_3$  -  $\text{CD}_3\text{OD}$  (10:1), 400 MHz]

$\delta$ : 8.41 (1H, s, 可交换的), 8.25 (1H, d,  $J=4\text{Hz}$ ,  
可交换的), 7.80 (1H, d,  $J=6.5\text{ Hz}$ ,  
可交换的), 7.66 (1H, d,  $J=8\text{Hz}$ , 可交换的),  
6.31 (1H, q,  $J=7\text{Hz}$ ), 5.76 (1H, m), 5.70 - 5.63  
(2H, m), 4.69 (1H, m), 4.51 (1H, m), 3.97 (1H, dd,  
 $J=6$  and  $4\text{Hz}$ ), 3.20 - 3.07 (3H, m), 2.95 (1H, m),  
2.83 (1H, dd,  $J=14$  and  $1.5\text{ Hz}$ ), 2.66 (1H, dd,  $J=14$   
and  $6\text{Hz}$ ), 2.65 - 2.60 (2H, m), 2.37 (1H, m), 2.22  
(1H, m), 1.72 (3H, d,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 1.10 (3H, d,  
 $J=7\text{Hz}$ ), 1.08 (3H, d,  $J=7\text{Hz}$ ), 1.00 (3H, d,  $J=6.5\text{Hz}$ ),  
0.97 (3H, d,  $J=7\text{Hz}$ ) ppm, 如附图 2 所示。

$^{13}\text{C}$  核磁共振谱：

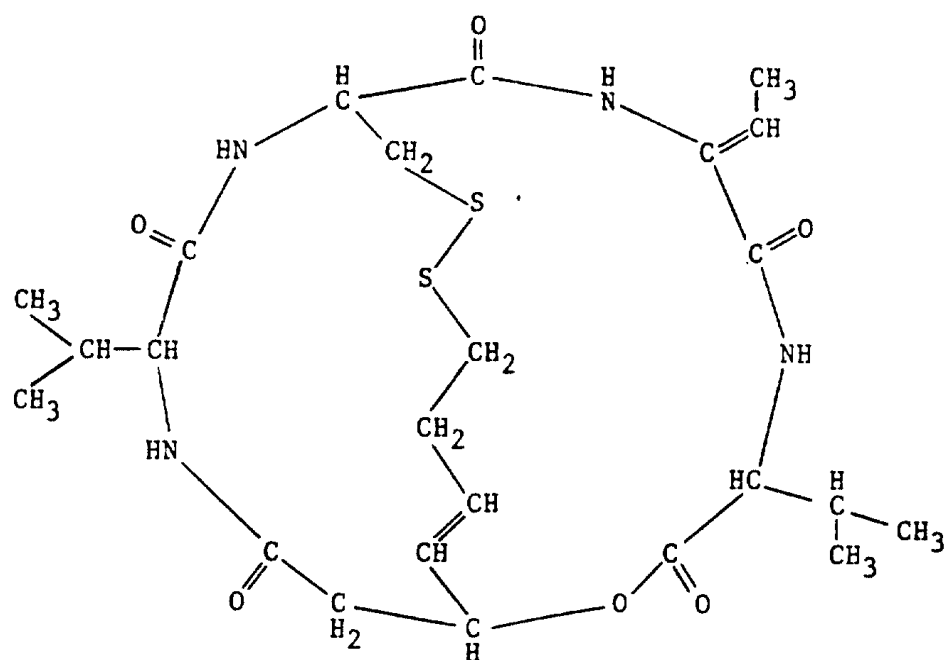
( $\text{CDCl}_3$  -  $\text{CD}_3\text{OD}$  (10:1), 100 MHz)

$\delta$ : 172.34 (s), 171.43 (s), 169.17 (s), 168.37 (s),  
165.59 (s), 130.36 (d), 129.64 (d), 129.62 (s),  
129.04 (d), 70.15 (d), 62.42 (d), 58.10 (d), 56.57  
(d), 37.75 (t), 37.56 (t), 34.46 (t), 31.65 (d),  
30.02 (t), 28.88 (d), 19.09 (q), 18.96 (q), 18.29  
(q), 18.03 (q), 13.04 (q) ppm, 如附图 3 所示。

### 氨基酸分析:

FR901228 物质 (4 mg) 用 6N 盐酸 (2 ml) 在密封管中于 110°C 水解 20 小时。混合物用自动氨基酸分析仪分析。对 FR901228 物质进行氨基酸分析的结果表明, 存在缬氨酸和氨 (缬氨酸和氨的比率为 2:1)。

由包括上述数据在内的理化性质的分析, 和从 FR901228 物质衍生的某些衍生物的化学结构, 证明 FR901228 物质具有如下化学式:



### 从 FR901228 物质衍生的衍生物:

从 FR901228 物质制备一些衍生物。

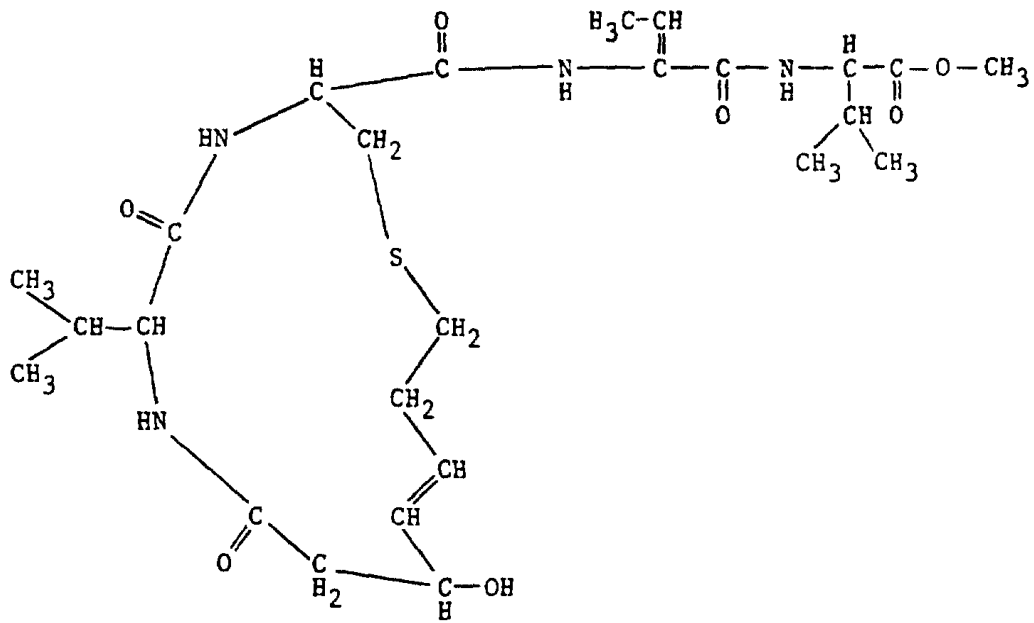
#### 制备方法 1

从 FR901228 物质衍生 FR123392 物质和 FR125441 物质。

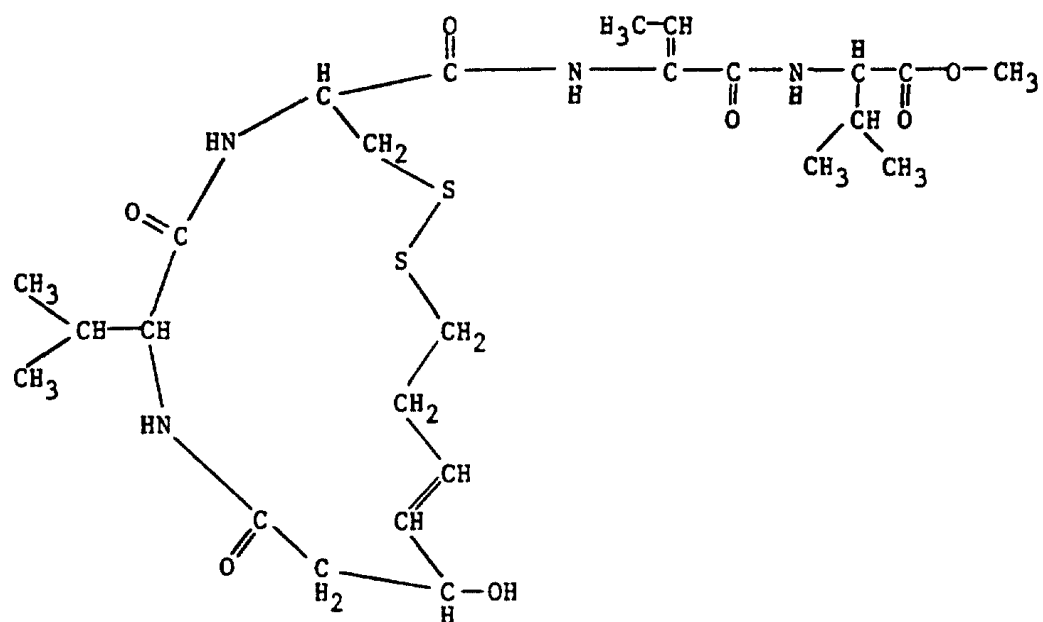
FR901228 物质

↓ 碱水解

↓ 三甲基甲硅烷基重氮甲烷



FR123392 物质



FR125441 物质

向FR901228 物质 (54 mg)的甲醇 (2ml)溶液中加入 1N 氢氧化钠水溶液 (200ml)。在室温下搅拌 12小时后,加入氯化氢水溶液调节 pH 到 1, 用乙酸乙酯提取。经硫酸镁干燥后过滤, 蒸发溶剂。将残余物溶解在甲醇中并加入三甲基甲硅烷基重氮甲烷 (1ml)。5 分钟后, 加 1 滴乙酸, 蒸除溶剂。残余物通过制备薄层层析纯化 (0.5 mm×2), 用 10% 甲醇的氯仿溶液展开, 得到FR123392 物质 (15 mg)和FR125441 物质 (10 mg)。

FR123392 物质:

### **<sup>1</sup>H核磁共振谱:**

[CDCl<sub>3</sub> - CD<sub>3</sub>OD (10:1), 200 MHz]

δ: 0.98(12H, m), 1.75(3H, d, J=7Hz), 2.0 - 2.9(10H, m), 3.05(1H, dd, J=4 and 14Hz), 3.71(3H, s), 4.13(1H, d, J=8Hz), 4.37(2H, m), 4.57(1H, dd, J=5 and 10Hz), 5.6(2H, m), 6.64(1H, q, J=7Hz), 7.48(1H, d, J=10Hz)

### **红外吸收光谱:**

$\nu_{\max}^{\text{KBr}} = 3260, 2920, 2400, 1720, 1620, 1510, 1430, 1260, 1200, 1010 \text{ cm}^{-1}$

FAB-MS m/z 541 (M + H)<sup>+</sup>

### **FR125441 物质:**

#### **<sup>1</sup>H核磁共振谱:**

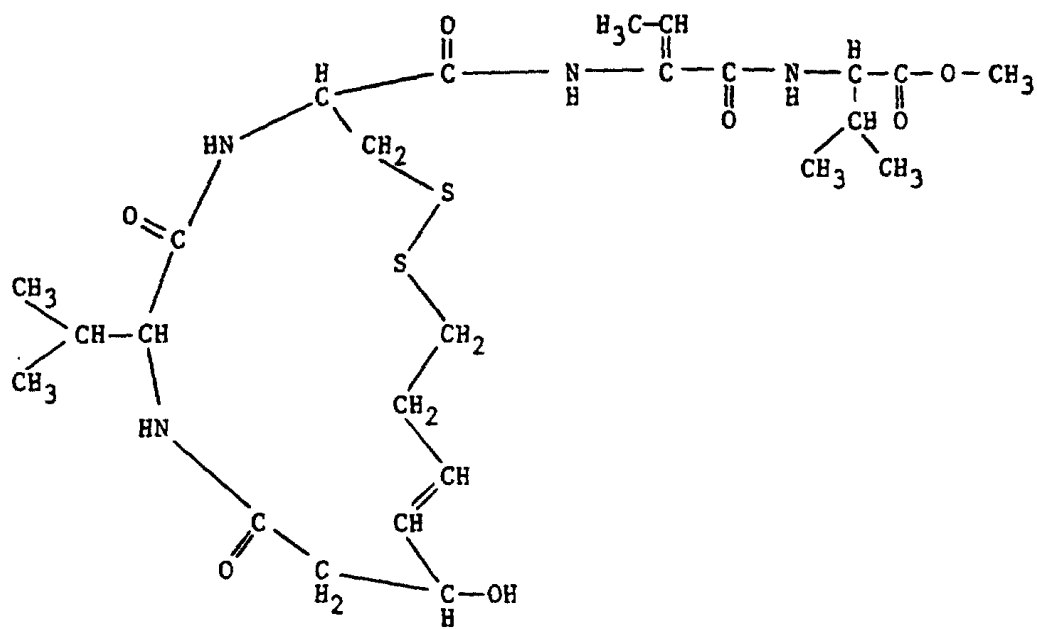
[CDCl<sub>3</sub> - CD<sub>3</sub>OD (10:1), 400 MHz]

δ: 0.95(12H, m), 1.76(3H, d, J=7Hz), 2.20(1H, m), 2.35(3H, m), 2.7(4H, m), 2.98(1H, dd, J=13 and 8Hz), 3.08(1H, dd, J=13 and 4.5Hz), 3.72(3H, s), 4.14(1H, d, J=6Hz), 4.35(1H, d, J=7Hz), 4.43(2H, m), 5.67(1H, dd, J=6 and 15Hz), 5.78(1H, dt, J=15 and 6Hz), 6.70(1H, q, J=7Hz)

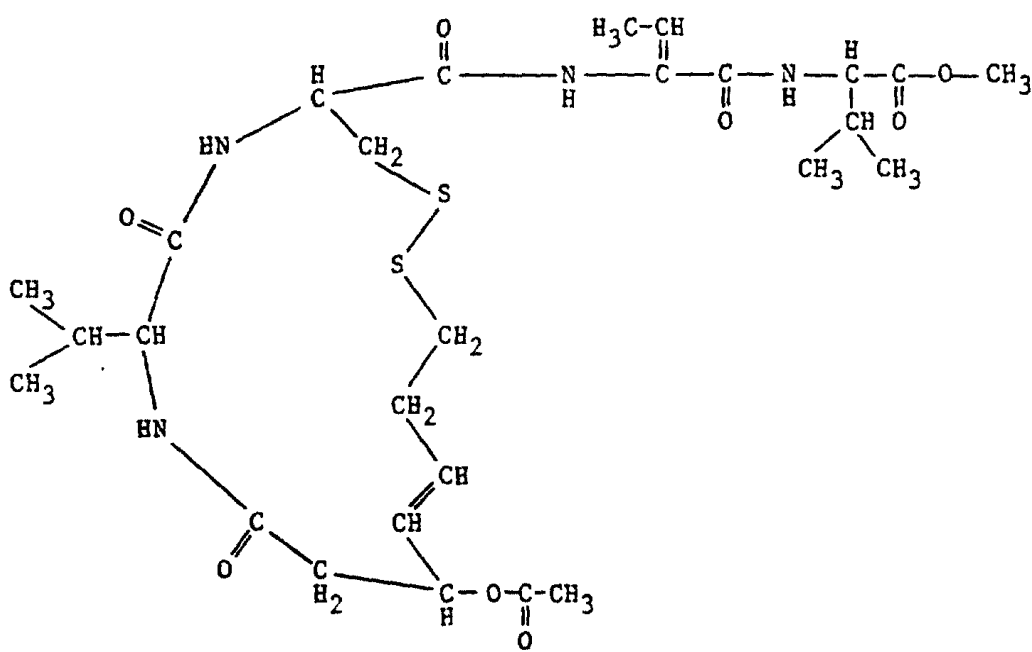
FAB-MS m/z 573 (M + H)<sup>+</sup>

### **制备方法2**

从FR125441物质衍生FR123393物质。



乙酸酐



向FR125441物质(10mg)的吡啶(0.8ml)溶液中加入乙酸酐(0.4ml)。在室温下搅拌12小时后,蒸除溶剂。残余物进行制备薄层层析(0.5mm×1),用5%甲醇的氯仿溶液展开,得到FR123393物质(10mg)。

FR123393物质:

<sup>1</sup>H核磁共振谱:

[CDCl<sub>3</sub> - CD<sub>3</sub>OD (10:1), 200 MHz]

δ: 1.0(12H, m), 1.75(3H, d, J=7Hz), 2.05(3H, s), 1.9  
- 3.3(10H, m), 3.70(3H, s), 4.20(1H, d, J=8Hz),  
4.34(1H, d, J=7Hz), 4.84(1H, m), 5.5(2H, m),  
5.84(1H, dt, J=15 and 7Hz), 6.65(1H, q, J=7Hz)

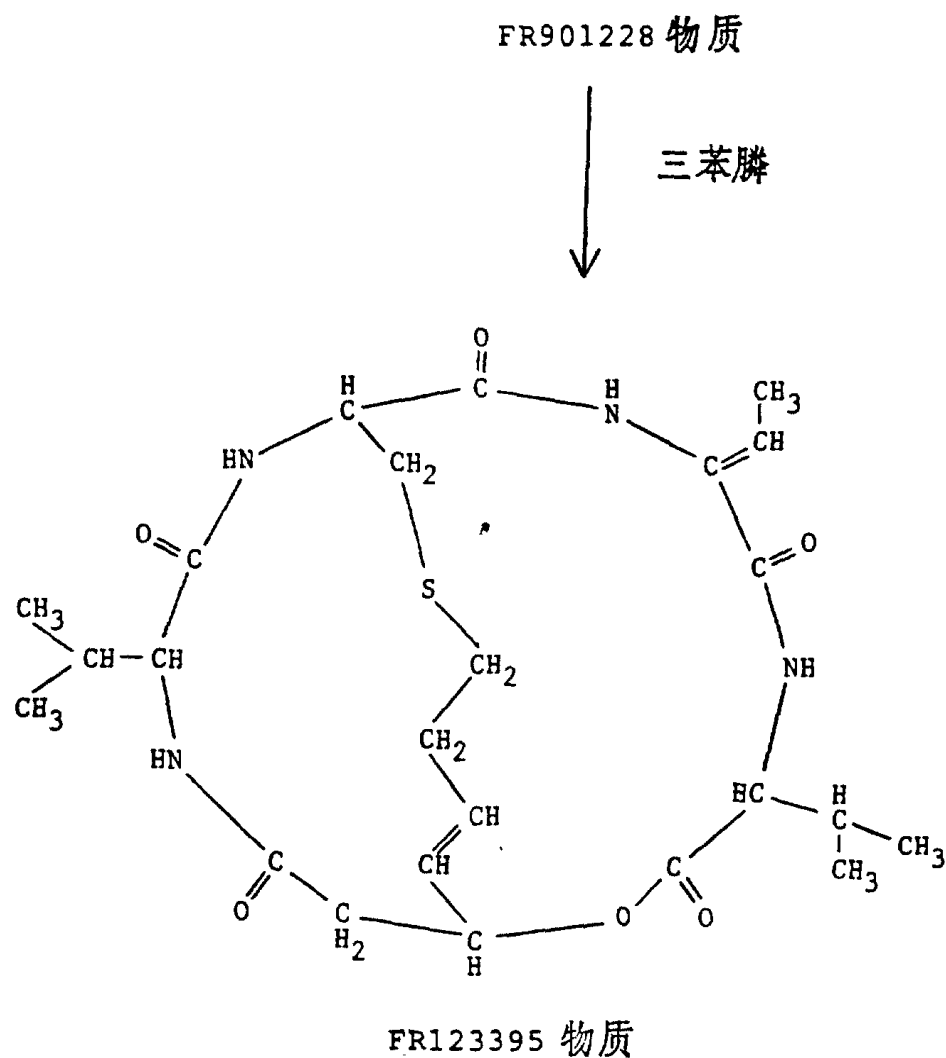
红外吸收光谱:

$\nu_{\max}^{\text{KBr}} = 3280, 2950, 2430, 1720, 1630, 1500, 1425,$   
 $1360, 1225, 1010, 960 \text{ cm}^{-1}$

FAB-MS m/z 615 (M + H)<sup>+</sup>

制备方法3

从FR901228物质衍生FR123395物质。



向 FR901228 物质 (54 mg) 的二噁烷 (2 ml) 溶液中加入三苯膦 (55 mg)。在室温下搅拌 72 小时后真空除去溶剂。残余物进行制备薄层层析 (0.5 mm × 2)，用 2% 甲醇的氯仿溶液展开，得到 FR123395 物质 (10 mg)。

FR123395 物质：

<sup>1</sup>H 核磁共振谱：

[CDCl<sub>3</sub> - CD<sub>3</sub>OD (10:1), 200 MHz]

δ: 1.0 (12H, m), 1.5 (1H, m), 1.85 (3H, d, J=7Hz), 2.1

- 3.1 (9H, m), 3.90 (1H, d, J=8Hz), 4.45 (1H, d, J=7Hz), 5.65 - 6.0 (4H, m), 6.24 (1H, q, J=7Hz)

### 红外吸收光谱:

$\nu_{\max}^{\text{KBr}} = 3300, 2920, 2470, 1730, 1640, 1500, 1420 \text{ cm}^{-1}$

### FR901228 物质的生物学性质

以下给出一些生物实验数据, 以举例证明 FR901228 物质的生物活性。

#### 试验 1

#### FR901228 的抗微生物活性

FR901228 的抗微生物活性试验以琼脂稀释法在萨布罗氏培养基中进行。

在 25℃ 培养 48 小时后的最小抑制浓度 (MIC) 以  $\mu\text{g/ml}$  表示。结果示于表 3。

表 3 FR901228 物质的抗微生物活性

微生物	最小抑制浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )
粟酒裂殖酵母	10
出芽短梗霉 IFO4466	10
黑曲霉	100

#### 试验 2

#### 在体外 FR901228 物质对人肿瘤细胞生长的抑制作用

细胞毒性试验在微量滴定板中进行, 每孔含  $3 \times 10^3$  个肿瘤细胞, 培养基为  $100 \mu\text{l}$  添加了 10% 胎牛血清、青霉素 ( $50$  单位/ $\text{ml}$ ) 和链霉素 ( $50 \mu\text{g/ml}$ ) 的 Dulbecco 氏基本必需培养基。细胞在 37℃ 下培

养4天,按照Mosmann所述的方法(J.Immunol.Methods, 65:55-63, 1983)进行MTT[3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑溴化物,由Sigma生产]比色试验。MTT以5mg/ml溶解在磷酸盐缓冲液(PBS)中,过滤灭菌,除去少量不溶的残渣。人肿瘤细胞培养结束后,将此MTT溶液(每100 $\mu$ l培养基加10 $\mu$ l)加到每个试验孔中,微量滴定板在37 $^{\circ}$ C下再培养4小时。将酸-异丙醇(100 $\mu$ l 0.04N HCl的异丙醇溶液)加到所有的孔中,充分混合使深蓝色结晶溶解。待所有结晶都溶解后,用双波长微量滴定板光度计(MTP-22型;Corona Electric Co., Ltd, Katsuta, Japan)在550nm处进行测量,参考波长为660nm。将本发明的目的化合物溶解在甲醇中,以Dulbecco氏基本必需培养液稀释,并加到培养物中使终浓度为1 $\mu$ g/ml或更低。结果示于表4。

表4 在体外FR901228物质对人肿瘤细胞生长的抑制作用

人肿瘤细胞系	IC <sub>50</sub> (ng/ml)
A549 (肺癌)	0.82
MCF-7 (乳房癌)	0.99
SW480 (结肠癌)	0.57

### 试验3

#### FR901228物质对P388鼠白血病的抗肿瘤活性

在鼠肿瘤系统中测定FR901228物质的抗肿瘤活性。将P388白血病患者细胞( $1 \times 10^6$ 个)经腹膜内移入B6D<sub>1</sub>小鼠(雌性,8周龄)体内。接种肿瘤细胞24小时后,将FR901228物质经腹膜内给予小鼠。再经腹膜内给予FR901228物质3天,每天1次。FR901228物

质是悬浮在 0.9% 盐水中。对照组小鼠经腹膜内给予 0.9% 盐水。

结果示于表 5。抗肿瘤活性以各组的平均存活时间表示，也可以

用  $T/O\%$  ( $\frac{\text{治疗组平均存活时间}}{\text{对照组平均存活时间}} \times 100$ ) 表示。

表 5 FR901228 物质对 P388 鼠白血病的抗肿瘤活性

剂量 (mg/kg/天)	n	平均存活时间 (天)	T/O (%)
对照	4	9.0	100
1.0	4	15.25	169.4
0.32	4	14.25	158.3

#### 试验 4

FR901228 物质的急性毒性

BDF<sub>1</sub> 小鼠经腹膜内注射 FR901228 物质的急性毒性为 5.6 mg/kg。

以上试验结果表明，FR901228 物质具有生物活性。

本发明的药用组合物可按药物制剂的形式（例如固体、半固体或液体）应用，药用组合物含有 FR901228 物质（作为有效成分）与适于外用、口服或肠胃外应用的有机或无机载体或赋形剂的混合物。例如，有效成分可以与通常无毒的、药学上可接受的载体混合制成片剂、丸剂、胶囊剂、栓剂、溶液剂、乳剂、混悬剂以及任何其他适于应用的形式。另外，如果必要，可以应用辅料、稳定剂、增稠剂、着色剂及香精。FR901228 物质可以按足够的量加在药用组合物中，以便对不同病程和病情产生所希望的抗肿瘤效果。

组合物应用于人时，最好是静脉给药、肌肉给药或口服给药。

FR901228 物质在治疗上的有效剂量取决于各个需治疗的患者的病情和年龄，但用于治疗肿瘤时，静脉给予FR901228物质的日剂量为0.1-100mg/kg体重；肌肉给予FR901228物质的日剂量为0.1-100mg/kg体重；口服给予FR901228物质的日剂量为0.1-100mg/kg体重。

从FR901228物质得到的上述衍生物也具有抗肿瘤活性。

列举下面一些实例对本发明作更详细的说明。

#### 实例1

##### 发酵

将含葡萄糖(1%)和肉汤(1%)的培养基(160ml)倒入各个500ml的锥形瓶中，120℃灭菌30分钟。将一环紫色色杆菌WB 968斜面培养物接种于每个培养基中，在旋转摇床上于30℃培养24小时。将产生的培养物接种于预先在120℃灭菌30分钟的12个30升发酵罐内的培养基(15升)中，该培养基中含有葡萄糖(1%)、肉汤(1%)和Adekanol(消泡剂，商标，Asahi Denka Kogyo公司生产)(0.05%)。在每分钟通气20升、以200rpm搅拌的条件下，于30℃下培养24小时。

##### 分离和纯化

培养结束后，每个发酵罐于120℃灭菌30分钟。这样得到的肉汤培养基用硅藻土(10kg)助滤。滤液(150升)用乙酸乙酯(150升)提取二次。提取液减压蒸发得到油状残余物。将油状残余物与500g硅胶(Kiesel Gel 60, 70-230目，E. Merck生产)混合，将混合物在甲醇中制成浆状物。蒸发除去溶剂后，将得到的干粉进行柱

层析，柱中装有同样的硅胶，用该硅胶（0.5升）与正己烷一起装柱。层析柱用正己烷（2升）、正己烷和乙酸乙酯混合物（3:1 V/V，3升；1:1 V/V，3升；1:2 V/V，3升）以及乙酸乙酯（5升）展开。收集含有目的化合物的部分，减压浓缩，得到微黄色粉状物 FR901228 物质。将此粉状物溶解在二氯甲烷和甲醇的混合物（10:1 V/V，10 ml）中。向此溶液中加入乙腈（20 ml）。室温下放置，得到纯化的 FR901228 物质（920 mg），为无色结晶。

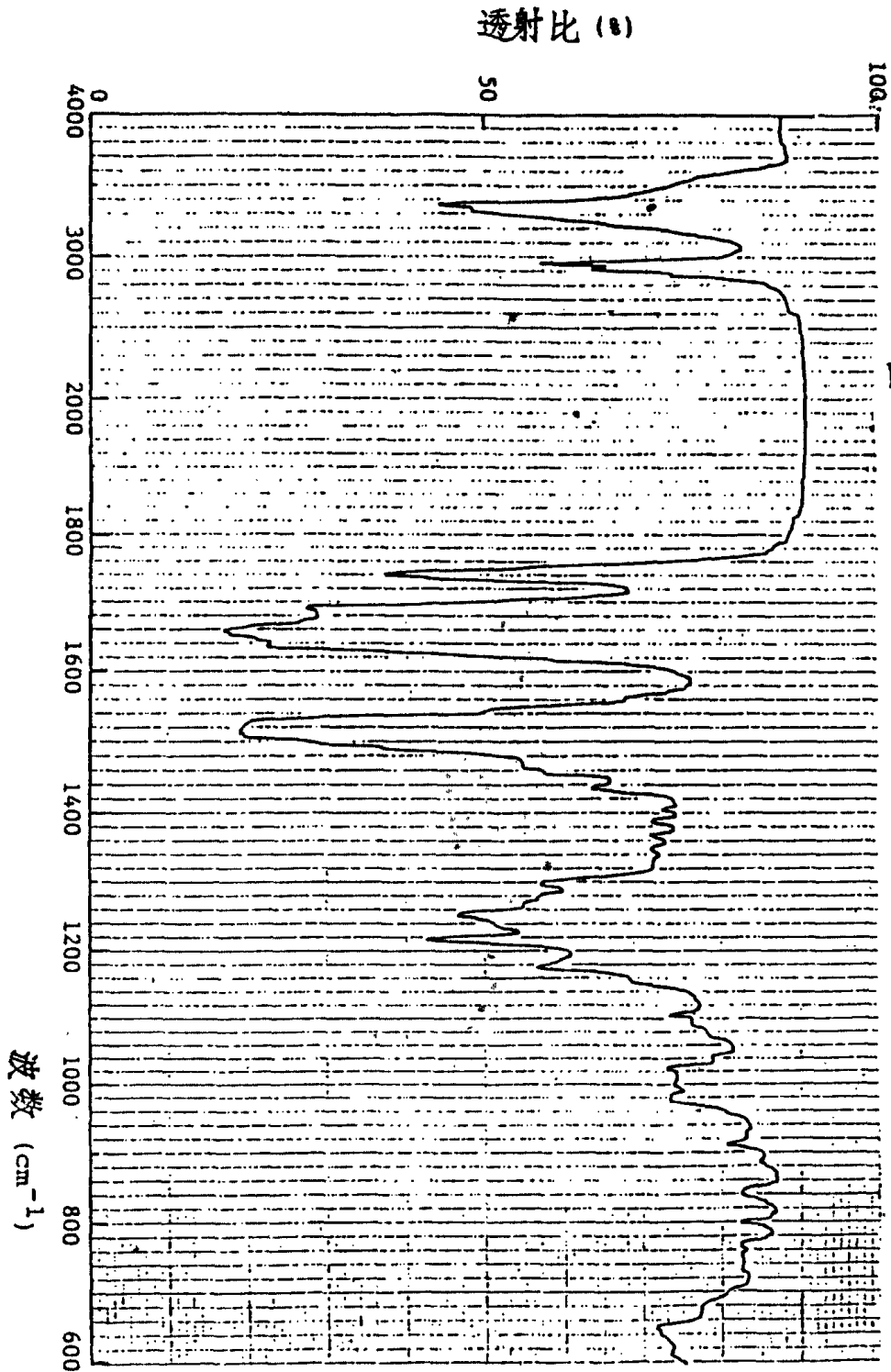


图 1 RR901228 物质的红外吸收光谱

图 2 FR901228 物质的<sup>1</sup>H核磁共振谱

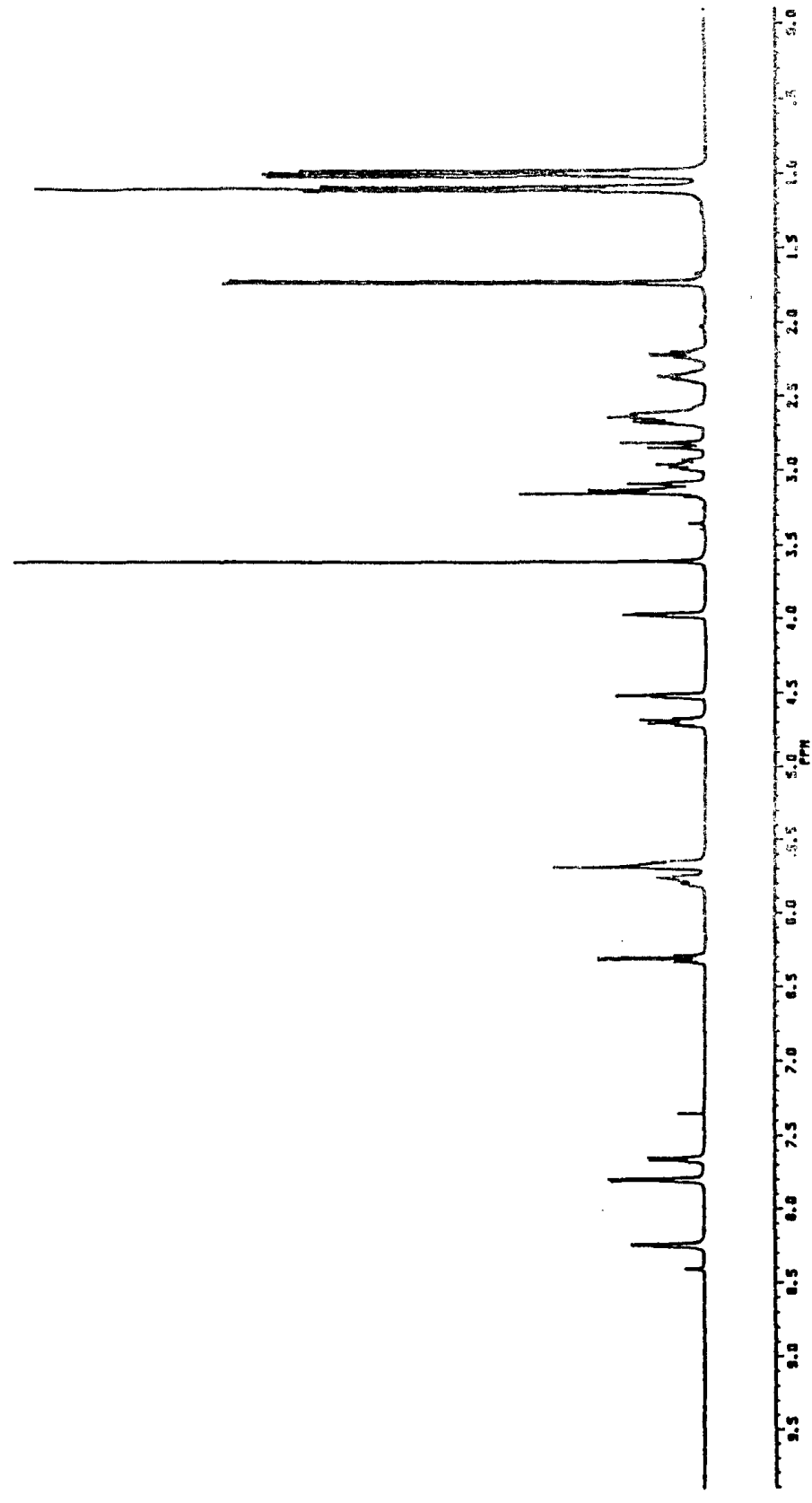


图 3 FR901228 物质的<sup>13</sup>C 核磁共振谱

