

权 利 要 求 书

1、一株剑叶龙血树内生链霉菌 (*Streptomyces* sp.) S011, 其特征在于, 分离自云南西双版纳剑叶龙血树茎组织, 于 2018 年 6 月 6 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC), 保藏号为: CGMCC No.15910~~—~~; 该剑叶龙血树内生链霉菌 (*Streptomyces* sp.) S011 应用于生产放线菌素; 所述的放线菌素为放线菌素类化合物。

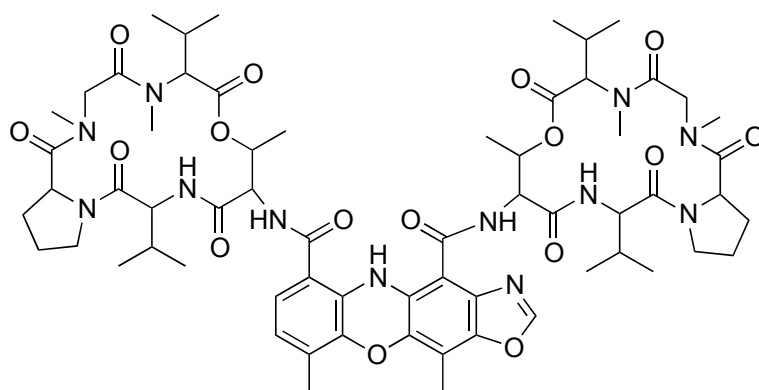
2、权利要求 1 所述剑叶龙血树内生链霉菌 S011 在生产放线菌素中的应用~~—~~;

~~3、根据权利要求 2 所述的应用, 其特征在于, 所述的放线菌素为放线菌素类化合物。~~

~~43、一种放线菌素类化合物的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤:~~

步骤 1、菌株发酵: 将权利要求 1 所述的链霉菌 S011 的孢子接种于增菌培养基上, 28°C 恒温培养 3-5 天, 即得菌种; 将灭菌后的 PDA 培养基趁热倒入灭菌后的培养皿中, 25 mL/平板, 凝固后倒置备用; 用灭菌的竹签挑取菌体, 接种到 PDA 培养基上发酵, 28°C 下恒温培养 11 天;

步骤 2、分离纯化: 发酵 11 天后, 将琼脂切块于玻璃容器中, 用乙酸乙酯、甲醇和冰乙酸的混合液浸泡过夜后超声提取, 过滤后提取液减压浓缩回收溶剂, 室温吹干至无酸味, 称取质量, 样品备用; 样品用等体积含 10% 甲醇的乙酸乙酯和水萃取多次直至乙酸乙酯相基本无色, 分离乙酸乙酯相, 经无水硫酸钠干燥后减压浓缩回收溶剂, 得菌株 EA 提取物, EA 经 95% 甲醇-石油醚分配法脱脂, 得 M 相和 PE 相; 将 M 相样品浓缩后经葡聚糖凝胶柱层析, 将所得第一个组分进行反相硅胶柱层析, 以甲醇: 水(V: V)= 10: 90~100: 0 梯度洗脱, 60: 40-80: 20 组分经 HPLC 制备, 40%乙腈 - 水洗脱得放线菌素类化合物, 该化合物为去甲基放线菌素 B, 命名为: L-缬氨酸-N,N'-[(9,11-二甲基-5H-恶唑并[4,5-b]-吩恶嗪-4,6-双取代) 二羰基] 二[L-苏氨酰-D-缬氨酰-L-脯氨酰-N-甲基甘氨酰-N-甲基]内酯; 其化学结构式如 (I) :



(I)

步骤 2 中 M 相采用葡聚糖凝胶 *Sephadex* LH-20 柱层析，洗脱液为甲醇，20 秒/滴；

5 步骤 2 中第一个组分采用反相硅胶 RP-18 柱层析。

54、根据权利要求 43 所述的制备方法，其特征在于，所述的增菌培养基的组分如下：麦芽提取物 5 g，酵母提取物 4 g，葡萄糖 4 g，微量盐溶液 1 mL，复合维生素微量，琼脂 15 g，水 1000 mL，pH7.2；发酵用的 PDA 培养基组分如下：土豆 200 g，葡萄糖 20 g，琼脂 15 g，水补至 1000 mL，pH 自然，其中，土豆需要去皮切块煮沸 30 min，取滤液用。

65、根据权利要求 43 所述的制备方法，其特征在于，乙酸乙酯、甲醇和冰乙酸的混合液中的乙酸乙酯：甲醇：冰乙酸的体积比为 80:15:5。

76、权利要求 43-65 任一权利要求所述的制备方法制备得到的放线菌素类化合物在制备抗肿瘤和抑制耐药菌药物中的应用。

15