

链霉菌 1043 及其产生的壮观放线菌素

于其伟 王南金 田 洁 阎桂华

明秀英 金莲舫 李 茜 张家美

(中国医学科学院药物研究所抗菌素研究室, 北京)

链霉菌 1043 是从杭州土壤中分离到的。它的形态、培养特征、生理生化特性与壮观链霉菌 *S. spectabilis* 相近似。

从链霉菌 1043 的发酵液中, 分离得到二个抗菌素, 根据其理化性质的鉴别, 一个是碱性水溶性抗菌素, 与壮观放线菌素相同, 另一个经初步鉴别, 与曲张霉素 (Streptovaricin) 相近似。

壮观放线菌素是广谱抗菌素, 对小鼠腹腔感染肺炎双球菌、流行性感冒杆菌、大肠杆菌、肺炎杆菌均有较好的疗效。

在新抗菌素筛选时, 从杭州土壤中分离出一株链霉菌 1043, 它可产生二个抗菌素: 一个是硷性水溶性抗菌素, 与壮观放线菌素 (Actinospectacin) 相同, 另一个是酸性酯溶性抗菌素, 与曲张霉素 (streptovaricin) 相似。

壮观放线菌素是一广谱抗菌素, 国外用于治疗淋球菌和鸡的支原体感染。本文着重报道链霉菌 1043 的生物学性质及其产生的抗菌素, 主要是壮观放线菌素的理化性质和体内外抗菌活性。

链霉菌 1043 的生物学特性

(一) 形态与培养特征

链霉菌 1043 的孢子丝是直的, 孢子呈柱形, 表面光滑 (图 1)。在各种培养基上 28℃ 培养 14 天, 一般气生菌丝体呈粉红色至橙色, 基内菌丝体呈橙至橙红色。几乎不产生可溶性色素, 未见到色素颗粒。链霉菌 1043 与已报道过的产生壮观放线菌素和曲张霉素的壮观链霉菌 (*S. Spectabilis*)^[1]

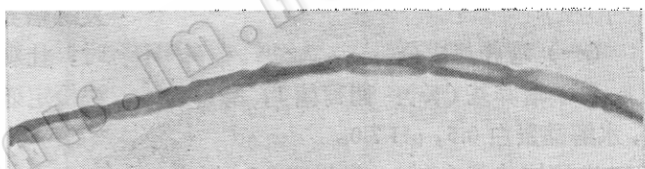


图1 链霉菌 1043 的孢子 (9000 ×)

较近似, 故将链霉菌 1043 与壮观链霉菌文献记载的培养特征进行了比较, 结果列于表 1。

(二) 生理生化特性及碳源利用

链霉菌 1043 能使明胶液化, 牛奶凝固并胨化, 淀粉水解。不能还原硝酸盐, 不产生黑色素。碳源的利用与壮观链霉菌基本一致, (阿拉伯糖、乳糖例外。)

链霉菌 1043 与壮观链霉菌形态培养特征基本相似, 并且产生的抗菌素相同, 它们之间的差别是: 壮观链霉菌在气生菌丝和营养菌丝中有色素颗粒, 而链霉菌 1043 在培养过程中未观察到。壮观链霉菌不凝固和胨化牛奶, 而链霉菌 1043 能凝固和胨

本文于 1978 年 1 月 9 日收到。

表 1 链霉菌 1043 与壮观链霉菌的培养特征

培养基	气 生 菌 丝		基 内 菌 丝		可 溶 性 色 素	
	1043	壮观链霉菌	1043	壮观链霉菌	1043	壮观链霉菌
蔗糖硝酸盐琼脂	薄,絮状橙色	絮状橙色	深橙色	橙 色	无至微染	
葡萄糖天门冬素琼脂	橙 色	深粉红色	橙 红	粉 橙	无至微染	无至微染
苹果酸钙琼脂	絮状橙至深橙	少,絮状粉橙色	橙 红	橙 色	微 染	
贝氏琼脂 (Bennett's)	微粉状深橙色	茂密絮状,橙色	深橙到褐红	红橙色	微 染	
营养淀粉琼脂	薄,少,粉红至橙色	淡桃红色	橙 红	橙 色	无	

化牛奶。壮观链霉菌不能利用阿拉伯糖、乳糖,而链霉菌 1043 能利用这两种糖。我们认为,链霉菌 1043 属壮观链霉菌,称为壮观链霉菌 1043 (*S. Spectabilis* 1043)。

链霉菌 1043 的发酵

(一) 培养基成分

种子培养基(%)：葡萄糖 1，酵母粉 1，水解酪蛋白 0.5，pH 7.0。

发酵培养基(%)：葡萄糖 1.5，淀粉 2.5，酒糟液 1.5，玉米浆 2，酵母粉 1，碳酸钙 0.2，氯化钠 0.2，pH 7.0。

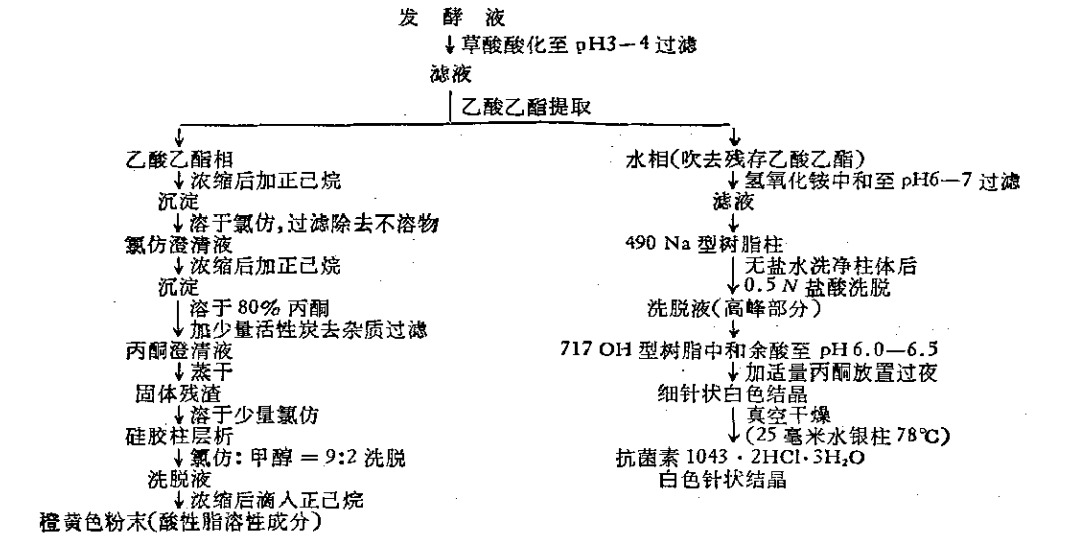
检定培养基(%)：蛋白胨 0.6，酵母膏 0.2，肉膏 0.2，葡萄糖 0.3，pH 8.0。

(二) 发酵方法

链霉菌 1043 在高氏合成一号琼脂斜面上，28℃ 培养七天，孢子生长良好，用挖块法将孢子接入种子培养基，于 32℃ 旋转摇床培养 28 小时；按 10% 的接种量接入发酵培养基，继续经 32℃ 培养 72 至 96 小时，壮观链霉素产量即达到高峰。以杯碟法检定效价，试验菌为肺炎杆菌 7。

抗菌素的分离与精制

链霉菌 1043 产生两种抗菌素，一为硷性水溶性称抗菌素 1043，另一为酸性脂溶性成分，它们的分离与精制流程如下：



抗菌素的性质与鉴别

抗菌素 1043 的理化性质列入表 2, 并与壮观放线菌素 (Actinospectacin) 作了比较, 说明二者相同^[2,3]。

(一) 抗菌素 1043

表 2 抗菌素 1043 的理化性质及其与壮观放线菌素的比较

项 目	1043·2HCl·3H ₂ O	壮观放线菌素*	备 注
外 观	白色细长针状结晶(图 2)	白 色 粉 末	国外资料其盐酸盐为白色细长针状结晶
熔 点	205—210℃(分解)	205—210℃(分解)	国外资料 210℃(分解)
旋光光谱	平滑型正性曲线	平滑型正性曲线	图 3
纸电泳	向阴极移动 2 厘米	向阴极移动 2 厘米	条件 1%KHPO ₄ 450 伏 5 毫安 4 小时
紫外光谱	200—400 毫微米无吸收峰	200—400 毫微米无吸收峰	
红外光谱	图 4 ^[1] (KBr)	图 4 ^[2] (KBr)	
核磁共振谱	图 5(60 兆周 D ₂ O)	图 6(60 兆周 D ₂ O)	
液解度	易溶于水, 二甲基亚砷	易溶于水, 二甲基亚砷	
溶解度	溶于甲醇 不溶于乙醇, 丙酮, 乙酸乙酯, 苯, 氯仿	溶于甲醇 不溶于乙醇, 丙酮, 乙酸乙酯, 苯, 氯仿	
稳定性	中性, 酸性稳定 碱性不太稳定		国外资料中性酸性稳定, 碱性不太稳定。
纸层析	** 溶剂系统 R _f 1 0.05 2 0.25 3 0.37 4 0.2 5 0.93 6 0.86 7 0.0 8 0.6	溶剂系统 R _f 1 0.05 2 0.25 3 0.37 4 0.2 5 0.93 6 0.86 7 0.0 8 0.6	将 1043·2HCl·3H ₂ O 和 壮观放线菌素二者混合点样 和分别点样进行纸层析, 其 R _f 值完全相同。
功能基试验	蒽酮试验阳性 Benedict's 样品加试剂煮沸 3 分钟为 蓝绿色, 冷却后有些灰黄色 沉淀。Molish 黄色环带微紫 Maltol 阴性 Ninhydrin 阴性	蒽酮试验阳性 同 左 同 左 同 左	国外资料为负至微阳性 国外资料为可疑阳性
元素分析 (%)	C 36.47 H 7.42 N 6.26 Cl 16.32 O 33.53	C 33.89 H 7.47 N 5.77 Cl 14.45 O 38.42	
分子式	C ₁₄ H ₂₀ O ₇ N ₂ ·2HCl·3H ₂ O	C ₁₄ H ₂₀ O ₇ N ₂ ·2HCl·5H ₂ O	
其 他	与 CS ₂ 和 CuCl ₂ 试剂作 用产物提入有机溶剂在可见 光区 470 毫微米附近有最大 吸收峰	470 毫微米附近有最大吸 收峰	

* 用于鉴别试验的对照样品为美国 Upjohn 公司制造的 Actinospectacin, 商品名为 Trobicin, 中译名为壮观放线菌素。

** 纸层析溶剂系统: 1. 水饱和的正丁醇。 2. 水饱和的正丁醇, 内含 2% 对甲苯磺酸。 3. 丁醇: 醋酸: 水 (2:1:1)。 4. 水饱和的正丁醇, 内含 2% 六氢吡啶。 5. 0.5M, pH7.0 磷酸缓冲液(用正丁醇饱和)。 6. 正丁醇饱和的水, 内含 2% 对甲苯磺酸。 7. 苯: 甲醇 (4:1) 滤纸预先用 0.5 M 磷酸缓冲液处理。 8. 75% 甲醇, 25% 水 (内含 3% NaCl) 滤纸预先用 5% 硫酸钠处理。

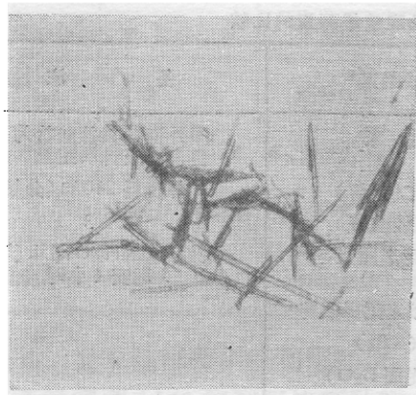


图2 抗菌素 1043
盐酸盐结晶

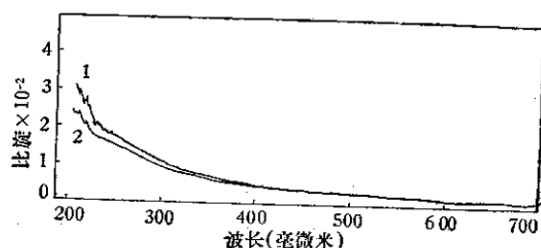


图3 抗菌素 1043 的旋光光谱 (1) (Cl 008 H₂O)
Trobicin (商品) 的旋光光谱 (2) (Cl 012 H₂O)

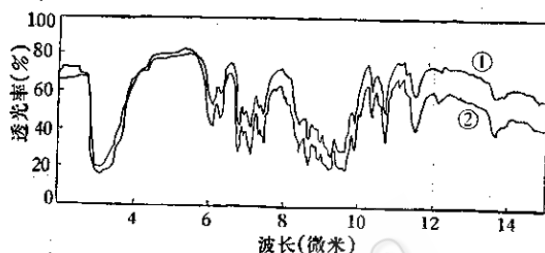


图4 ① 抗菌素 1043 的红外光谱 (KBr)
② Trobicin (商品) 的红外光谱 (KBr)

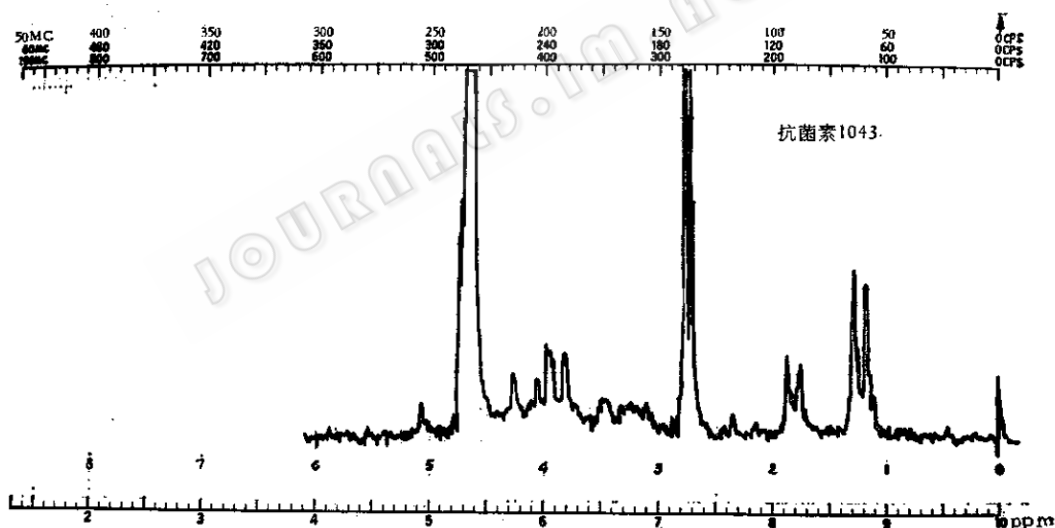


图5 抗菌素 1043 的核磁共振谱 (60 兆周 D₂O)

放线菌素作了比较,说明二者相同^[2,3]。

(二) 酸性脂溶性成分

酸性脂溶性成分,是一复合物,橙黄色粉末,水溶液硷性时橙色,酸性时黄色,对利福霉素耐药的金黄色葡萄球菌呈交叉耐药,对枯草杆菌噬菌体有作用。从已有的初步结果表明,链霉菌 1043 所产生的酸性

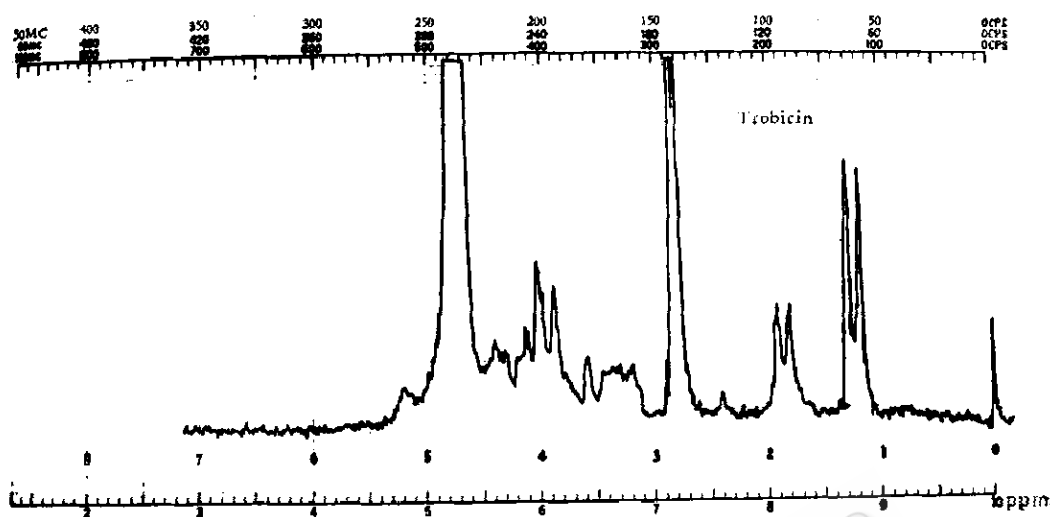
酯溶性成分与曲张霉素复合物^[3]本质上尚未见到相异之处。

1. 纸层析:

溶剂系统与条件:

a) 3% 氯化铵 + 1% 维生素 C, 上行 14 厘米。

b) 正丁醇饱和的水内含 2% 对甲苯

图6 壮观放线菌素核磁共振(60兆周 D₂O)

磺酸, 上行 14 厘米。

c) 苯: 甲醇: 水 (1:1:2) 下行 22 厘米。

层析罐预先平衡 16 小时。

结果: (枯草杆菌生物显迹)

a) Rf: 0.75

b) Rf: 0.93

c) Rf: 0.25, 0.55, 0.72

2. 硅胶薄板层析(干法铺板)

溶剂系统: 氯仿: 甲醇 = 100:5

Rf 0.23 (黄色斑点), Rf 0.01 (粉红色斑点)

3. 功能基反应:

三氧化铁反应: 阳性

茚三酮, 板口, 2, 4-二硝基苯肼, 硝酸银, Molish, 高锰酸钾反应均为阴性。

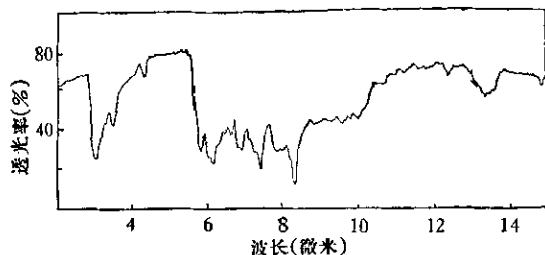


图7 链霉菌 1043 脂溶性成分的红外光谱 (KBr 片)

4. 紫外吸收光谱:

λ_{max} 245, 430 毫微米

加一滴 1 N NaOH 430 毫微米处吸收峰消失。

5. 红外吸收光谱:

如图 7:

抗菌素 1043 的体内外抗菌活性

(一) 抗菌谱

以抗菌素 1043 的纯制品与国外进口的壮观放线菌素进行体外抗菌活性比较^[1]。

体外抗菌试验采用二倍稀释法。对 14 种革兰氏染色阳性、阴性细菌进行最低抑菌浓度的测定, 结果见表 3。

流行性感菌杆菌, 肺炎双球菌, 伤寒杆菌, 肺炎杆菌对抗菌素 1043 最敏感, 最低抑菌浓度为 3.1—7.8 微克/毫升; 对八叠球菌、大肠杆菌、变形杆菌, 产气杆菌、痢疾杆菌和甲、乙类链球菌最低抑菌浓度为 15.6—31.2 微克/毫升; 而粪链球菌和绿脓杆菌则比较不敏感。结果与壮观放线菌素抗菌作用基本相近。

表 3 抗菌素 1043 的体外抗菌活性

试 验 菌	最低抑菌浓度(微克/毫升)	
	抗菌素 1043	壮观放线菌素
甲类链球菌 10	31.2	31.2
乙类链球菌 A ₁₂	31.2	31.2
粪链球菌 4	125.0	125.0
肺炎双球菌 3	7.8	7.8
金黄色葡萄球菌 15	31.2	31.2
八叠球菌	15.6	7.8
流行性感胃杆菌 58530	3.1	未作
福氏痢疾杆菌 II ₄	31.2	15.6
大肠杆菌 1515	15.6	15.6
产气杆菌 1	31.2	31.2
绿脓杆菌 29	125.0	125.0
变形杆菌 1267	15.6	15.6
伤寒杆菌 2	7.8	7.8
肺炎杆菌	7.8	7.8

(二) 对临床分离的 39 株

细菌的抗菌作用

以试管二倍稀释法测定了 39 株临床分离的细菌的体外抗菌作用。结果见表 4。

(三) 小鼠体内实验疗效

小鼠腹腔感染致死量(约为一个最小致死量)的肺炎双球菌, 流行性感胃杆菌, 大肠杆菌和变形杆菌后, 于感染后 30 分钟, 6 小时分别于皮下给药各一次, 观察其死亡情况, 以瑞氏法计算其半数有效量, 结果见表 5。

结果表明, 抗菌素 1043 对小鼠腹腔感染肺炎双球菌、流行性感胃杆菌、大肠和变形杆菌皆有较好的疗效。

表 4 抗菌素 1043 对临床分离的 39 株细菌的抗菌作用

抗 菌 素	试 验 菌	株数	最低抑菌浓度微克/毫升(株数)							范 围 (微克/毫升)
			>100	100	50	25	12.5	6.25	3.12	
1043	克勒伯菌属	10	5			1	2	2		> 100—6.25
	变形杆菌	10	1	1	2	6				> 100—25
	大肠杆菌	10	5	1			2	2		> 100—6.25
	肺炎双球菌	6				5	1			25—12.5
	流行性感胃杆菌	3						2	1	6.25—3.12

表 5 抗菌素 1043 对感小鼠的实验疗效

试 验 菌	半数有效量毫克/公斤
肺炎双球菌 3	14.44
流行性感胃杆菌 58530	9.56
大肠杆菌 1515	10.14
变形杆菌 9	43.00

参 考 文 献

- [1] Mason, D. J. et al.: *Antibiot. & Chemoth.*, 11(2):118—122, 1961.
- [2] Bergy, M. E.: *Antibiot. & Chemoth.*, 11(10):661, 1961.
- [3] Oliver, T. J. et al.: *Antimicrob. Agents & Chemoth.*, 495—502, 1961.
- [4] Yamazaki, H.: *J. Antibiot.*, 21(13):204, 1968.

STREPTOMYCES STRAIN 1043 AND ACTINOSPECTACIN PRODUCED BY IT

Yu Qi-wei, Wang Nan-jin, Tian Jie,
Yan Gui-hua, Ming Xiu-ying, Jin Lian-fang,
Li Qian and Zhang Jia-mei

(Antibiotics Research Laboratory, Institute of Materia Medica,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

Streptomyces strain 1043 was isolated from a soil sample collected in Hangzhou. Its morphological, cultural and physiological characteristics were found to resemble closely those of *St. spectabilis*.

Two antibiotics were isolated from the fermentation broth of *Streptomyces* 1043. Based on their physicochemical properties, one was identified as Strepto-

viricin and the other as Actinospectacin, a water soluble basic antibiotic.

Actinospectacin is a broad spectrum antimicrobial agent. It was more effective against *Diplococcus pneumoniae*, *Bacillus influenzae*, *Escherichia coli*, *Bacillus pneumoniae* in mice, which were infected intraperitoneally.