

合霉素作用机制的研究

II. 合霉素对痢疾杆菌含碳化合物代谢的影响

陈 知 本

(南京药学院)

导师 张宽厚教授

(中国医科大学微生物教研组)

关于氯霉素的作用机制,许多学者进行了不少工作。在它对于细菌蛋白质合成具有抑制作用这一方面,获得比较一致的结果^[1-9]。并已于一些研究工作中作为蛋白质合成的抑制剂应用^[10]。但是它对于含碳化合物代谢方面的影响,只有一些学者进行了一些工作,如 Smith 氏^[11]研究了对磷酸化的影响, Kushner 氏^[12]研究了对三羧酸循环的影响,近年来 Коротяев 氏^[13, 14]又观察了对丙酮酸代谢的影响;而且有些结果亦不一致。因而我们对于合霉素对痢疾杆菌的菌体多糖含量、糖的利用、上清中丙酮酸与乳酸含量的变化以及醛缩合酶和一些脱氢酶的活性等的影响,进行了比较观察。

一、实验材料与方法

菌种 与报告 I^[9]相同。

抗菌素 与报告 I 相同。

培养基 以肉膏-酵母膏培养基(成分与报告 I 相同)供菌体成分、上清成分以及酶活性的测定。应用营养琼脂作为测定细菌呼吸之用。

菌体及上清的制备 与报告 I 相同。

无细胞酶液的制备 与报告 I 相同。

合霉素对呼吸的影响 应用 Warburg 氏技术^[15],用 0.05M 葡萄糖做基质。

化学测定 总氮测定应用凯氏(Kjeldahl)微量定氮法^[16];多糖以蒽酮法^[17]测定;丙酮酸应用 Friedman 氏法^[18]测定;乳酸用 Barker 氏法^[19]测定;还原糖以 Schaffer-Haemmann-Somogyi 氏法^[20]测定;醛缩合酶以 Friedman 氏法^[21]测定;脱氢酶的活性应用 TTC (Triphenyl tetrazolium chloride) 法^[22-24]测定。

二、实验结果

合霉素对于痢疾杆菌菌体及上清中的含碳化合物的影响 为了研究合霉素对含碳化合物代谢的影响,我们选择了菌体多糖以及上清中的还原糖、丙酮酸和乳酸作为观察对象,观察加入合霉素后它们含量的变化。结果列于表 1。

从表 1 可以看出,菌体多糖在加入合霉素后含量增加。而上清中还原糖无论是敏感菌株或耐药菌株,在加药后与不加药者无显著的区别。丙酮酸的含量均较原来培养基者

表 1 合霉素对菌体及上清中含碳化合物的影响

菌株号	合霉素量 (微克/毫升)	菌体多糖 (微克)	上 清		
			还原糖(毫克)	丙酮酸(微克)	乳酸(微克)
培养基	—	—	0.208	16.19	159.0
26558	—	568	0.160	18.78	27.0
	0.8	750	0.157	21.26	31.5
28401	—	467	0.166	23.75	36.4
	100	560	0.173	18.21	50.4

注: 1. 菌体多糖含量按每毫克菌体总氮计算。

2. 上清中成分的含量按每毫克上清总氮计算。

为多;在敏感菌株加合霉素后含量较未加药者为多,而耐药菌株加入合霉素后含量较未加药者为少。乳酸的含量均较原来培养基者为少;从减少的情况来看,对敏感菌株,加药与否均没有显著的区别,而耐药菌株加药以后含量减少的程度较未加合霉素者为少。

合霉素对有关糖代谢的几种酶的活性的影响 我们为了研究对有关糖代谢的酶的活性的影响,选择了醛缩合酶、乳酸脱氢酶、丙酮酸脱氢酶等进行了观察,其结果见表 2。

表 2 合霉素对有关糖代谢的几种酶的活性的影响

菌株号	合霉素量 (微克/毫升)	醛缩合酶 (二羟丙酮毫克数)	乳酸脱氢酶 (Formazan 微克数)	丙酮酸脱氢酶 (Formazan 微克数)
26558	—	3.42	56.07	42.06
	2	4.56	40.48	34.26
28401	—	7.86	44.12	35.29
	400	2.67	40.40	31.31

注: 醛缩合酶的活性以产生的二羟丙酮毫克数表示(按每毫克酶液蛋白质计算)。乳酸脱氢酶与丙酮酸脱氢酶以生成的 Formazan 的微克数表示(按每毫克菌体蛋白质计算)。

从表 2 可知,合霉素对脱氢酶具有抑制作用;而对于醛缩合酶来说,敏感菌株有加强作用,而耐药菌株则有抑制作用。

合霉素对葡萄糖氧化的影响 应用 Warburg 氏技术观察合霉素对痢疾杆菌氧化葡萄糖的能力的影响,结果见表 3。

表 3 合霉素对葡萄糖氧化的影响

菌株号	合霉素量 (微克/毫升)	耗 氧 量 (微升)				
		30 分钟	60 分钟	90 分钟	120 分钟	QO ₂ (N)
26558	—	157.10	340.92	494.41	584.45	759.04
	500	194.74	430.90	643.31	764.69	993.12
28401	—	149.74	333.77	488.08	615.53	854.92
	500	185.47	357.99	537.99	683.05	948.69

注: QO₂(N) 表示每毫克菌体总氮每小时所消耗的氧气的微升数。

由表 3 的材料看来,无论敏感菌株或耐药菌株,在加入合霉素后,葡萄糖的耗氧量均增加,因而合霉素对于痢疾杆菌氧化葡萄糖的能力有刺激作用。

三、討 論

合霉素对葡萄糖的氧化无抑制作用,并呈輕度刺激作用。Gale 等氏^[13]报告氯霉素不影响細菌对葡萄糖的发酵以及呼吸。Smith 氏^[14]亦发现氯霉素不抑制細菌的呼吸。我們的实验結果也証明了这一点。

菌体多糖在加合霉素后含量增多,然而上清中还原糖的含量在加合霉素或不加合霉素后沒有显著变化。因而菌体多糖在加药后含量的增加可能是由于細菌繁殖受到抑制,使多糖在菌体中发生积聚。

上清中丙酮酸量在敏感菌株加药后增加,同时醛縮合酶的活性亦增強。而且加药后丙酮酸脫氫酶的活性減弱。因此,丙酮酸的含量增加是由于醛縮合酶的活性增強,促使己糖变为丙酮酸;同时由于丙酮酸脫氫酶活性降低,因而丙酮酸的消耗量減少。在耐药菌株加入合霉素后,上清中丙酮酸的含量減少,同时醛縮合酶的活性显著減弱;因此,丙酮酸的含量減少可能是由于丙酮酸的形成受到抑制所致。

此外,我們亦曾用 TTC 技术測定对醋酸钠、枸橼酸钠、琥珀酸钠、苹果酸等的脫氫作用,但未見有脫氫作用,这一点与潘士芬等氏^[25]的結果不相同,可能由于所用菌株及方法不同所致。对丙酮酸和乳酸的脫氫作用在加入合霉素后均受抑制;同时耐药菌株的丙酮酸脫氫酶和乳酸脫氫酶的活性均較敏感菌株为低。Padron 等氏^[26]亦曾报告耐氯霉素的葡萄球菌对丙酮酸的氧化能力丧失。此外,Коротяев 氏^[13-15]亦发现氯霉素抑制丙酮酸的同化作用。因此,可以认为合霉素对于丙酮酸代謝有一定的影响。

至于上清中乳酸的含量于細菌生长后有显著的減少;可能由于轉变成其他中間代謝物,如丙酮酸等,而为細菌所利用。

四、摘 要

1. 本文对从临床分离所得的对于合霉素耐药及敏感的福氏痢疾杆菌 IIa 型各一株的糖代謝,以及合霉素对它的影响,进行了初步的比較研究。
2. 加入合霉素后,無論敏感或耐药菌株的菌体多糖均有增多現象。
3. 敏感菌株丙酮酸的含量于加入合霉素以后发现增加,而在耐药菌株則含量減少;表明这两个菌株的丙酮酸代謝是不同的。
4. 合霉素对于痢疾杆菌对葡萄糖的氧化有輕度刺激作用。
5. 丙酮酸及乳酸的脫氫作用在加入合霉素后均稍降低。

参 考 文 献

- [1] Gale, E. F., & Paine, T. F.: *Biochem. J.*, 47:xxvi, 1950.
- [2] Gale, E. F. & Paine, T. F.: *ibid.*, 48:298, 1951.
- [3] Gale, E. F. & Folkers, J. P.: *ibid.*, 53: 493, 1953.
- [4] Wisseman, C. L., Jr., et al.: *Bact. Proc.*, 94, 1952.
- [5] Wisseman, C. L., Jr., et al.: *J. Bact.*, 67:662, 1954.
- [6] Maxwell, R. E., & Nickel, V. S.: *Antib. & Chemoth.*, 4:289, 1954.
- [7] Bernlohr, R. W., & Webster, G. C.: *J. Bact.*, 76: 233, 1958.
- [8] Harrington, M. G.: *J. Gen. Microbiol.* 18:767, 1958.
- [9] 陈知本: 合霉素作用机制的研究 I. 合霉素对痢疾杆菌含氮、磷化合物代謝的影响, 微生物学报, 9(1):88—93,

- 1963.
- [10] Prestidge, L. S., and Pardee, A. B.: *J. Bact.*, 74:48, 1957.
- [11] Smith, G. N., et al.: *J. Bact.*, 58:803, 1949.
- [12] Kushner, D. G.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 58:332, 1955.
- [13] Коротяев, А. И.: *Микробиол.*, 28:697, 1959.
- [14] Коротяев, А. И.: *Микробиол.*, 28:851, 1959.
- [15] Umbreit, W. W., et al.: *Manometric techniques*, Burgess Publishing Co., 1957.
- [16] Ma, T. S., & Zuazaza, J.: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 14:280, 1942.
- [17] Gary, N. D., et al.: *J. Bact.*, 73:632, 1957.
- [18] Friedman, T. E.: *Methods in Enzymology*, vol. III., Academic Press, New York, 1957, p. 414.
- [19] Backer, S. B., & Summerson, W. H.: *J. Biol. Chem.*, 138:535, 1943.
- [20] Somogyi, M.: *J. Biol. Chem.*, 70:599, 1926.
- [21] Friedman, M. M., & Lapan, B.: *J. Lab. & Clin. Med.*, 51:745, 1958.
- [22] Smith, F. E.: *Science*, 113:751, 1951.
- [23] Kun, E., & Abood, L. G.: *Science*, 109:144, 1949.
- [24] Hugo, W. B.: *J. App. Bact.*, 17:31, 1954.
- [25] Pan, S. F., et al.: *J. Bact.*, 73:402, 1957.
- [26] Padron, J. L., et al.: *Proc. Soc. Expt. Biol. & Med.*, 87:477, 1954.

STUDIES ON THE MODE OF ACTION OF SYNTOMYCIN

II. EFFECT OF SYNTOMYCIN ON CARBON COMPOUND METABOLISM IN *SH. FLEXNERI*

CHEN CHI-PEN*

(Nanking College of Pharmacy)

1. Preliminary comparative studies on the carbon metabolism of syntomycin-sensitive and resistant strains of *Sh. flexneri* type IIa in the presence or absence of the antibiotic have been made.

2. After syntomycin has been added the culture medium, an increase in the polysaccharide content was found in both strains of the organisms.

3. The addition of syntomycin to the sensitive strains resulted in greater amount of pyruvic acid production, whereas it caused a decrease in the resistant organism. This is taken to indicate that the drug-sensitive and resistant strains metabolized pyruvic acid in a different way.

4. Syntomycin could stimulate slightly the uptake of oxygen, but inhibit weakly the dehydrogenation of pyruvic acid and lactic acid by the strains tested.

* Under the direction of Prof. Chang Kuang-hou, the Medical College of China, Peking.