を参照のこと。

千葉醫科大學腐敗研究所

Summary

A *Streptomyces* sp., No. 406, isolated by the authors, is similar to *Streptomyces lavendulae* but the antibiotic produced by this strain has high toxicity. From its antibacterial spectrum and chemical behavior, it is presumed to be similar to streptothricin.

100. 宮本高明, 相磯和嘉, 林 誠: 放線状菌の産生する抗菌性物質の研究 (第2報)

Komei Miyaki, Kazuyoshi Aiso and Makoto Hayashi :

Antibiotics Produced by *Streptomyces* sp. II.

(The Institute for Putrefactive Microbiology, Chiba Medical University)

第一報に於て述べた如く我々が採集した抗菌性を有する放線状菌は四型に分類されたが、その IV 型に屬し、葡萄状球菌と大腸菌に對する抗菌力の比が 2:1 という接近した値をもち、No.406 株に比較して葡萄状球菌寺島株に餘り強く作用しない株が昭和 22 年 9 月分離されていた。この株は一應 No. 8049 株と名づけられ、相磯、新井の分類の檢索により *Streptomyces griseus* と決定された¹⁾。又この菌株の産生する有効物質を鹽酸鹽として分離し、その抗菌スペクトルをメルク製 Streptomycin 鹽酸鹽と比較した所、極めて類似している事を見出し、ここに No. 8049 株の抗菌性物質の研究に着手した次第である。この株の生物性状、培養條件、抗菌スペクトル等に關しては既に相磯、柳澤、新井により報告されている²⁾。本報は No. 8049 株の産生する抗菌性物質の分離とその若干の化學的性質に就いて、今日までに得た所を報告するものである。

培養液よりの分離方法は第一報の No. 406 株の場合と同じ炭末吸着法に依つた。この方法により大體 300~500 U/mg の鹽液鹽が得られる。この際、pH 2 に於ける炭末溶出に用いるメタノールの含水量に就いて吟味し、又この含水量が最後にアセトンで沈澱させて得らるる有効物質の純度に影響する事を知つた。

本法により分離した物質は pH 4 附近が熱に對し安定な條件である事を知つたので、減壓濃縮操作には pH 4.0~5.0, 60° 以下を嚴守し收量低下を防いだ。

化學性状は實驗の部に示す如く、採用した反應の限りでは、全く streptomycin のそれに一致している。従來わが國では streptomycin 型物質の確認方法の一つとして、呈色反應では坂口反應のみに依つてゐるが、我々の行つた maltol 反應, Elson-Morgan の glucosamine 反應, *p*-phenyldiamine の過酸化水素による酸化を促進する反應は同時に行われる必要がある。不純物を考慮した場合はもちろん、放線状菌よりの鹽基性抗菌性物質一般を扱う場合、これ等の定性反應は生物學的性状や抗菌性状と相まつて簡易に抗菌性物質の型の分類、比較に役立つものと考えられる。Elson-Morgan 反應は acetylacetone を縮合せしめ pyrrol 環を作りこれを *p*-dimethyl-amino-benzaldehyde, HCl により呈色せしめるのであるが、入手し易い acetacetic ester を acetylacetone の代りに使用して見た所、差支えないようである³⁾。*p*-phenyldiamine—H₂O₂ 反應はアルデヒド基の微量檢出法であるが⁴⁾これを我々は應用して見た所、No. 406 株の産生する streptothricin 型と思われる物質と差別するに便なることが判つた。又この反應は peroxidase 式のもので streptomycin 型物質の抗菌機構に關連して興味ある點と思う。

次に No. 8049 株の抗菌性物質は水溶液より reineckate として沈澱できる。水より再結晶して分解點 164~165° の微小板狀晶が得られる。この分解點は急激に分解縮少し微かに金屬様の殘留物を殘す點である。不純物があると發泡し毛管内に上昇固化するような分解點を溫度不定に示すものである事を知つた。この reineckate の分解點は文獻の streptomycin のそれと一致する。又メルク製 streptomycin より reineckate を作つた所、分解點 164° である。分解點なる故混融の意味は少いが念のため我々の得たものと混融せしめた所分解點 164~5° を示した。

- 1) 相磯、新井: *S. griseus* に關する研究。日本細菌學雜誌(未刊)。
- 2) 相磯: 綜合醫學, 5, No. 19, 6[昭23]。
- 3) Science 104, 486~487 [1946], なお glucosamine 呈色反應の acetoacetic ester 法の吟味の詳細は別に發表する。
- 4) Feigl: "Qualitat. Anal. mit Hilfe von Tüpfel. Reactionen" [1938]。

この他 picrate, helianthate 等を沈澱せしめるが精製が困難で一定した性状を得るに至っていない。

なお我々は paper strip, chromatogram による研究で No. 8049 株の抗菌性物質が極めて streptomycin に近似している事を確かめたが、第3報以降にゆずる。

第1表

	Merck	No. 8049
大腸菌	1:100,000	1:80,000
デフス菌	1:50,000	1:50,000
志賀菌	1:100,000	1:100,000
葡萄状球菌(寺島)	1:200,000	1:200,000
同 Heatley	1:200,000	1:200,000
枯草菌	1:100,000	1:100,000
馬鈴薯菌	1:200,000	1:200,000
靈菌	1:50,000	1:50,000
鳥型結核菌	1:800,000	1:800,000

本物質を稀釋法によりメルク製 streptomycin 鹽酸鹽と比較した抗菌スペクトルは第I表の如く、又毒性は約 15~20 g のマウスに於て靜脈内に 300U/mg の製品を注射しても斃死例がない。以上の生物性状、抗菌スペクトル、毒性、更に化學性状より見ると、No. 8049 株の産生する抗菌性物質は極めて streptomycin に類似している。streptomycin と斷定すべき根據は今後の研究に依らねばならぬが、少くも streptomycin 型物質なる事は明らかである。今日まで我が國でも他に streptomycin の分離の報告はあるも特に化學的検討の十分ならざるため斷定は難いと考える。本研究に當つて maltol 反應の御教示を得た武田藥工研

究所中澤氏及び種々御支援を與えられた和光堂研究所に厚く謝意を表する。

實 験 の 部

I. 分離に関するデータ (i) 炭末溶出時のメタノール含水量の影響、培養原液を pH 4.0 で濾過し濾液を pH 6.2 に修正し、各 100cc に就て炭末 2g を以て吸着を行つた。濾取した炭末に各 % のメタノールを 10cc づつ加え、それぞれ HCl で pH 2.2~2.4 とし 18 時間の溶出を行い、濾過、濾液を 10cc に補正し檢定した。その結果は第2表に示される。但し吸着後の炭末含水量は考慮していない。

第2表

メタノール%	100	80	60	40	20	10	0	原液
溶出液力價U/cc	240	348	240	204	78	69	18	41
收 量 %	58	84	58	50	19	16	4	

(ii) 熱に對する安定度 60°C, 30 分の加熱に對し pH が與える影響を調べた。檢定は枯草菌によるカツプ法による。第3表を参照。

第3表

pH	U/cc
2	72
4	104
6	70
8	72
對照	120

II. 化學的性状 本物質鹽酸鹽は水、酸性メタノールに可溶、エタノールに僅に溶けるも他の有機溶劑には不溶である。本物質は又 N を檢出し得るも、S は檢出し得ない。(i) 鹽酸鹽水溶液 (600 U/cc) をメルク製 Streptomycin 鹽酸鹽水溶液 (700 U/cc) とを呈色反應にて比較した結果は第4表に示す通りである。

第4表

	Merck	No.8049	
Sakaguchi	橙 赤	橙 赤	
Molisch	界面 黄 褐	黄 褐	
Biuret	混 和 黄 褐	黄 褐	
Ninhydrin	淡 紫 青	淡 紫 青	
Pauly	—	—	
Maltol	紫 赤	紫 赤	
Elson-Morgan	紫 赤	紫 赤	對 照
p-Phenylene-diamine	酸 性 黄	黄	黄
—H ₂ O ₂ *	中 性 紫 褐	紫 褐	淡 褐
	アルカリ 橙	橙	黄

* 15分後の呈色を比較した。

(ii) Reineckate. 本物質の濃水溶液に Reinecke 鹽水溶液を加え、生ずる沈澱を水洗後、浴温 60°C にて水か

ら再結晶する。水浴々温がこれより高いと、水に難溶性の無晶型物質が副生して精製を困難ならしめる。この reineckate は微小板状晶、紫赤色、d.p. 164~165°。メタノールに可溶である。

千葉醫科大學腐敗研究所。

Summary

A *Streptomyces* sp., No. 8049, isolated by the authors, is assumed to be *Streptomyces griseus*. The antibiotic produced by this strain has low toxicity and is assumed to be similar to streptomycin from its antibacterial spectrum and chemical behavior.

101. 岩田和夫, 吉岡一郎: *Aspergillus terreus* の産生する抗菌性物質(豫報)

Kazuo Iwata and Ichiro Yosioka: An Antibacterial Substance Produced by *Aspergillus terreus*. (Preliminary Report).

(Bacteriological and Physiographical Natural Science Research Institutes, University of Tokyo).

Aspergillus terreus の代謝産物に關しては 1935 年 Raistrick, Smith¹⁾ はその培養濾液より組成 $C_8H_{10}O_8$ の結晶を分離し Terrein と命名し 1935 年 Clutterbuck, Raistrick, Reuter²⁾ は Terrein が 4-Propenyl-2-hydroxy-3,5-dioxo-cyclopentane-1-one であることを決定している。又更に Raistrick, Smith³⁾ は *Aspergillus terreus* の多くの株を集めその代謝産物を調べその中の一株より Picrinin を證明し、又他の株よりは Geodin, Erdin と命名された結晶を分離しその組成を各 $C_{17}H_{12}O_7Cl_2$, $C_{16}H_{10}O_7Cl_2$ と決定し、Clutterbuck, Koerber, Raistrick⁴⁾ 及び Calam, Clutterbuck, Oxford, Raistrick⁵⁾ は Geodin 及び Erdin をそれぞれ還元して得たデヒドロ誘導體がベンゾフェノン誘導體であることを合成により證明し、又 Dihydro-Geodin は Dihydro-Erdin のメチルエステルであることを決定した。然し以上の報告では抗菌性に就いては觸れていない。

我々は静岡縣の島の土壤より *Aspergillus terreus* の一株を分離しその培養濾液に抗菌性があることを知り、これより抗菌性を有する物質を結晶状にとり出し文献記載の物質とも比較したが、いづれとも異なるのでこれを Terracin と命名した。

菌の培養はペプトン 1% を含んだ Czapek-Dox 液を pH 7.0 に調整して用ひ温度 30°C で 10 日間培養した。pH は一度下り 10 日目には約 7.4 位に上昇する。培養液より菌體を濾別した濾液はグラム陽性菌に對し阻止力を有し *Staphylococcus aureus* に對し約 200 倍稀釋で抗菌性を示す。グラム陰性菌の大腸菌、チフス菌には全く効果がない。毒性はマウスに一日量 2.0cc を四回に分け四時間毎に皮下注射したが異常を認めなかつた。

有効物質の抽出は圖のやうにして行なつた。

先づ培養濾液を pH 6.0 に調整し吸着炭を加へ有効物質を吸着し次に炭の約 10 倍量のアセトンを加へ 2 回溶出しアセトン溶液を蒸發濃縮すれば沈澱が析出する。この沈澱を濾取し乾燥後エーテルに溶解し次にエーテルを蒸發すれば結晶性の残渣が得られる。

この結晶性残渣は稀アセトン及びベンゼンより再結晶し淡黄色柱狀の結晶を得た。m.p. 219°~220°。この物質は Beilstein 反應陽性で鹽素を含み、そのアルコール溶液に鹽化鐵を加へると黒綠色を呈し、又炭酸ソーダ、苛性ソーダ溶液に黄色に溶解し、これに酸を加へれば再び沈澱する。重曹溶液には溶解しない。水に不溶、ベンゼン難

- 1) H. Raistrick, G. Smith : Biochem. J. 29, 606 [1935].
- 2) P.W. Clutterbuck, H. Raistrick, F. Reuter : Biochem. J. 31, 987 [1937].
- 3) H. Raistrick, G. Smith : Biochem. J. 30, 1315 [1936].
- 4) P.W. Clutterbuck, W. Koerber, H. Raistrick : Biochem. J. 31, 1089 [1937].
- 5) C. T. Calam, P.W. Clutterbuck, A. E. Oxford, H. Raistrick : Biochem. J. 33, 579 [1939].