

美登素抗菌作用的研究*

武济民 陈佩君 徐少华 吴 艳 陈兆华

(中国科学院上海药物研究所)

美登素 (Maytansine) 是从植物中分离得到的大环内酯类化合物^[1-3]。由于它对实验肿瘤的抗瘤谱广,活性高,故在七十年代引起了中外有关学者的兴趣和重视。在化学、药理及临床等方面进行了广泛而深入的研究^[4,5]。1974 年

Hanka 等曾指出美登素对真核微生物具有生长抑制作用^[6]。为进一步探讨美登素的抗菌活性,我们对国产美登素的抗菌作用及其生物活

* 戴金凤同志参加部分技术工作,特此致谢。

性进行了研究,现将结果报告如下。

材料和方法

1.样品:美登素 M-1 结晶为标准品,白色结晶,生物效价为 100%。由本所植化室提供。样品溶于甲醇成为每毫升含 1000 μg 的原液,再用无水乙醇稀释成所需浓度。用微量注射器定量滴注于试验纸片。

2.试验菌:细菌、酵母菌及一般丝状真菌为本实验室保存菌种。植物病原真菌由上海农科院植保所及上海市农药所提供。皮肤病原真菌是上海华山医院和上海瑞金医院皮肤科提供。

3.培养基:细菌用牛肉膏琼脂,植物病原真菌用土豆汁琼脂,酵母菌及其它真菌用 Sabouraud 琼脂。

4.敏感性最低抑菌浓度(MIC)的测定方法:油菜菌核病菌、水稻纹枯病菌、棉花立枯病菌等用改良的点接种法^[7]。其它菌都用纸片平板扩散法^[8]敏感性测定所用纸片各含美登素 0.3 μg , MIC 测定中美登素浓度为 0.4—200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

5.植物内吸抗菌试验:用新鲜大白菜离体叶片切成 4 平方厘米小块,以无菌水洗净后备用。如图 1 所示,在载玻片上滴药液约 0.05ml,将叶片小块正面贴放在药液上,使叶背面向上不与药液直接接触,在其上接种长有油菜菌核病菌的琼脂块,使其感染发病,保温培养于 25—28 $^{\circ}\text{C}$,两天后检查结果。



图 1 大白菜离体叶片对美登素的内吸试验图解

结果与讨论

一、各种微生物对美登素的敏感性

通过对 44 株不同菌株的敏感性试验,结果表明美登素对 7 种细菌及 4 种皮肤病原真菌无拮抗作用。在被测定的 7 种酵母菌中,只有新型隐球酵母较敏感。而 10 种植物病原真菌中,除

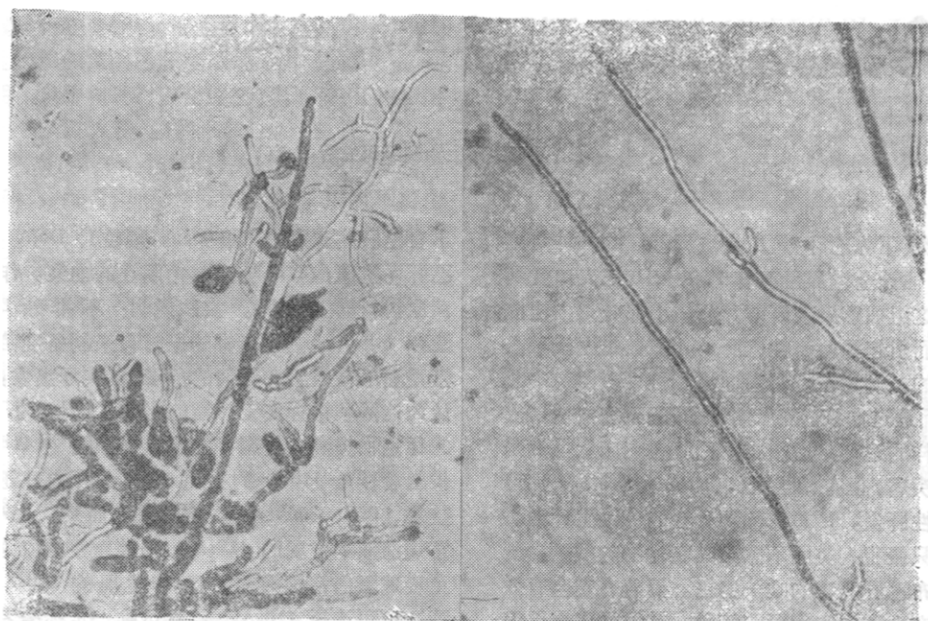
表 1 美登素的抗菌谱

编号	菌 种	最低抑菌浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	枯草杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> 6633	>200
2	藤黄色八选球菌 <i>Sarcina lutea</i>	>200
3	金黄色葡萄球菌 209 P <i>Staphylococcus aureus</i>	>200
4	金黄色葡萄球菌 2 (耐 EM, SM, TeM) <i>Staph. aureus</i> 2	>200
5	金黄色葡萄球菌 205 (临床青霉素耐药菌) <i>Staph. aureus</i> 205	>200
6	大肠杆菌 50 <i>Escherichia coli</i> 50	>200
7	大肠杆菌 Rc85 (F ⁻ 标准菌株) <i>E. coli</i> Rc85	>200
8	大肠杆菌 R ₂ (耐 NM, KM) <i>E. coli</i> R4	>200
9	铜绿假单胞菌 2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2	>200
10	铜绿假单胞菌 25 <i>Pseudo. aeruginosa</i> 25	>200
11	耻垢分枝杆菌 607 <i>Mycobacterium smegmatis</i> 607	>200
12	白色假丝酵母 50 <i>Candida albicans</i> 50	>200
13	清酒酵母 <i>Sacchromyces sake</i>	>200
14	圆酵母 <i>Torula</i> sp.	>200
15	克柔氏假丝酵母 <i>Candida krusei</i>	>200
16	新型隐球菌 <i>Cryptococcus neoformans</i>	25.0
17	黑根霉 6633 <i>Rhizopus nigricans</i> 6633	>200
18	黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	>200
19	烟曲霉 <i>Aspergillus fumigatus</i>	>200
20	棉花炭疽病菌 <i>Glomerella gossypii</i>	>200
21	赭色青霉菌 3.698 <i>Penicillium avelaneum</i> 3.698	12.5
22	石膏状小孢子菌 <i>Microsporium gypseum</i>	>200
23	石膏状发癣菌 <i>Trichophyton gypseum</i>	>200
24	油菜菌核病菌 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0.8
25	水稻纹枯病菌 <i>Pellicularia sasakii</i>	1.56

棉花炭疽菌不敏感外,其它 9 种都有不同程度的敏感性^[8]。还测定 16 株丝状真菌,结果只有青霉菌 3.698 有较强的敏感性,棒状青霉菌和青霉菌 138 也有一定的敏感性,其余菌株均不敏感。

二、美登素的抗菌谱

美登素对各类代表菌的 MIC 测定结果见表 1,此结果表明与敏感性的测定相一致。其中油菜菌核病菌的 MIC 为 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$,其它各菌的 MIC 依次为:水稻纹枯病菌为 1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$,赭色



被抑制生长的菌丝

正常生长的菌丝

图2 美登素对水稻纹枯病菌菌丝生长的影响

青霉菌 3.698 为 $12.5\mu\text{g/ml}$ ，新型隐球酵母为 $25.0\mu\text{g/ml}$ 。其余各真菌和细菌的 MIC 都大于 $200\mu\text{g/ml}$ 。镜检发现被抑制生长的水稻纹枯病菌和油菜菌核病菌的菌丝，均发生畸形扭曲，细胞分裂与伸长皆受到阻碍。

三、敏感菌株的比较和应用

美登素对油菜菌核病菌、水稻纹枯病菌和赭色青霉菌都有很强的抑制作用，用纸片平板扩散法进一步比较了它们对美登素的最小敏感剂量，结果分别为 $0.005\mu\text{g/片}$ ， $0.02\mu\text{g/片}$ 和 $0.2\mu\text{g/片}$ 。前二者对美登素的敏感性比赭色青霉菌高 10—20 倍。赭色青霉菌 3.698 培养方便，易产生大量分生孢子，我们用它作指示菌建立了微量生物检定法^[9]，其标准曲线范围是 $0.2—1.0\mu\text{g/片}$ ，比 Hanka 更为简便和敏感^[6]。油菜菌核病菌和水稻纹枯病菌也能用于美登素类化合物的定性测定，在 $25—28^{\circ}\text{C}$ 培养 8—10 小时，便可检查结果。将其用于美登素类化合物的纸层析与薄层层析的生物显影更加快速、方便。

四、植物对美登素的内吸抗菌作用

用大白菜离体叶片测定其对美登素的内吸抗菌作用，以药剂对病斑的百分抑制率表示防

治效果。结果见表 2。当美登素浓度增高时，药剂防治效果相应提高，说明美登素能被大白菜病叶内吸而发挥抗菌作用。

表 2 大白菜叶片对美登素的内吸抗菌作用

美登素浓度 ($\mu\text{g/ml}$)		2.5	5	12.5	对照
用药量 (ml/片)		0.05	0.05	0.05	0.05 净水
感染二天后叶片上病斑大小	病斑直径 (mm)	21	17.5	13.5	25
	病斑扩散抑制率 %	16	30	46	0

* 病斑扩散抑制率 (%) =

$$\frac{\text{对照病斑直径} - \text{处理组病斑直径}}{\text{对照病斑直径}} \times 100$$

(表示美登素被叶片内吸之后，发挥抗菌作用，而抑制病斑扩大。)

在研究国产美登素的抗菌作用及其有关的生物学特性中，我们也证明美登素对原核生物无拮抗性，对真核生物具有生长抑制作用。同时我们发现美登素对一些植物病原真菌具有体外活性，而且能被离体的大白菜叶片内吸，并有抗菌防病效果。这些现象未见报道。上海市农药研究所药效室用美登素 $1.0—12.5\mu\text{g/ml}$ 的药液做盆栽试验，初步结果表明美登素对水稻纹枯病、稻瘟病及油菜菌核病的保护治疗效果分别为 76.7—95.5%、51.1—60.1% 及 75—80%。

(下转第 294 页)

(上接第 279 页)

相当于井冈霉

素、四氯苯酞及多菌灵的效果。美登素的生物活性,也为植物内源性活性物质在植物体内的生理活性提供了值得进一步探讨的新线索。它对许多重要的植病真菌具有体内外的抗菌活性,也值得农用杀菌剂研究工作者注意。

参 考 文 献

[1] Kupchan, S. M. et al.: *J. Drg. Chem.* 42: 2349, 1977.

- [2] Wani, M. C. et al.: *J. Chem. Commun.*: 390, 1973.
- [3] 中国科学院上海药物所、中国科学院云南热带植物研究所: 云南美登木茎中美登素和美登普林分离鉴别, 科学通报, 25(9)427—429, 1980.
- [4] Brian, F. I. et al.: *Cancer Treatment Reviews*, 5: 199, 1978.
- [5] 周韵丽等: 云南美登木中活性成分的研究, 化学学报 (待发表)。
- [6] Hanka, L. J. et al.: *Antimicrobiol Agents and Chemotherapy* 6: 651, 1974.
- [7] 岩佐: 武田研究所报, 37: 307—352, 1978.
- [8] 武济民等: 美登素的微生物检定法的研究, 抗生素, 5(6): 26—29, 1980.