

PŮVODNÉ OZNÁMENIA**ANTIBIOTIKUM S-82 SO ŠIROKÝM SPEKTRUM ÚČINNOSTI**

P. NEMEC, V. BETINA, J. BALAN

Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy technickej
v Bratislave

Oddelenie technickej mikrobiológie Biologického ústavu Slovenskej akadémie vied
v Bratislave

V práci [1] sme referovali o izolácii a štúdiu antibiotických nižších húb z okolia Bratislavy. Izolovaných producentov antibiotík spracúvame postupne ďalej. V tejto práci podávame zprávu o izolácii antibiotika S-82 so širokým spektrom účinnosti a o niektorých jeho vlastnostiach.

Produkčný mikroorganizmus predbežne označený ako *Penicillium sp. 82* bol izolovaný z pôdnej vzorky z Botanického záhrady v Bratislave. Pri difúznom platňovom teste bola táto kultúra antibioticky účinná proti *Bacillus subtilis*. Penicilinázovým testom [2] sme zistili, že ide o antibiotikum odlišné od penicilínu.

Experimentálna časť*Fermentácia*

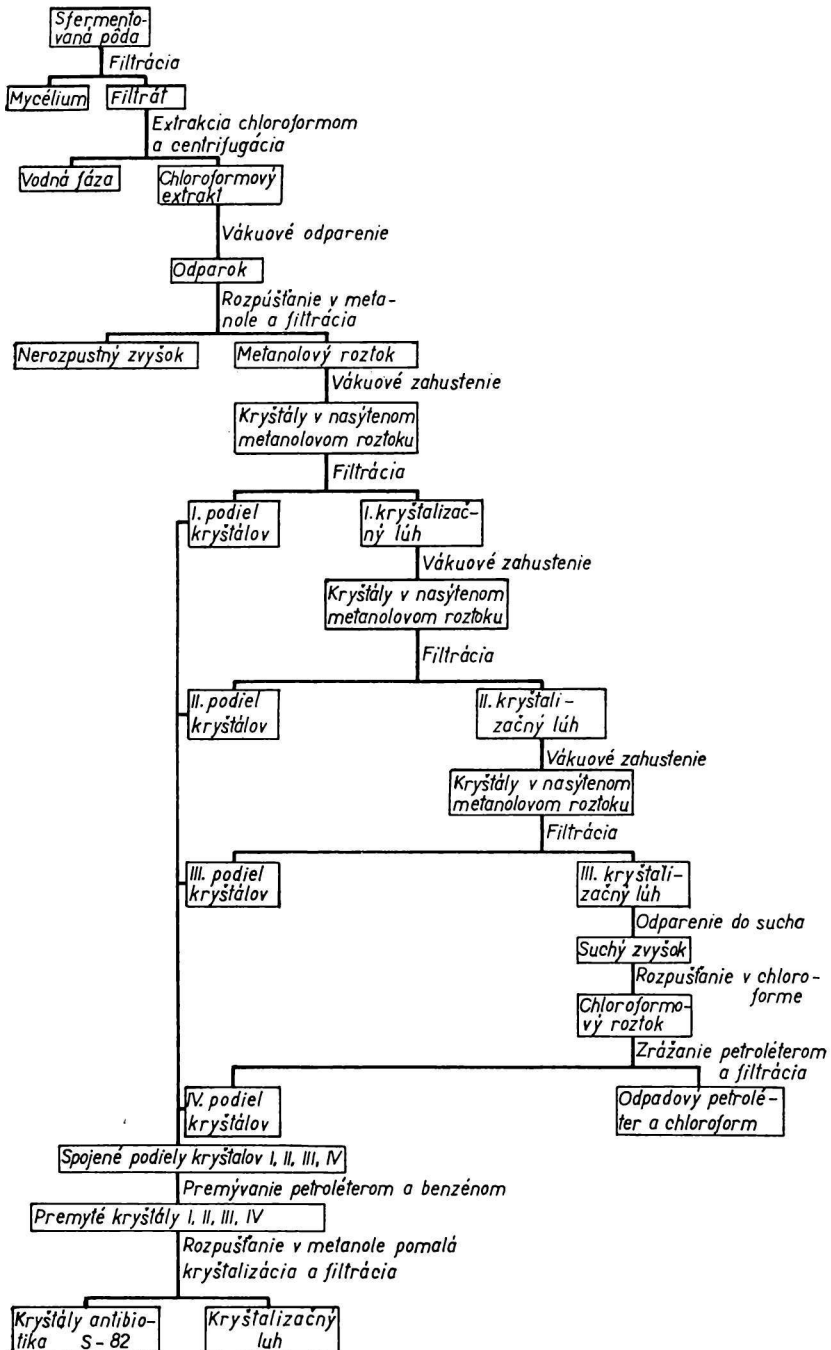
Zo spórovej konzervy *Penicillium sp. 82* sme očkovali šikmý Wickerhamov agar [3] a inkubovali sme 4 dni pri 25 °C. Z vysporulovanej kultúry sme pripravili 10 ml spórovej suspenzie, ktorou sme naočkovali 50 ml tekutej Wickerhamovej pôdy [3] pre prvú submerznú kultiváciu na reciprokej trepačke pri 25 °C. 50 ml trojdňového vegetatívneho inokula sme použili na naočkovanie 500 ml Wickerhamovej pôdy v 2000 ml bankách. Po trojdňovej kultivácii na rotačnej trepačke pri 25 °C slúžilo vegetatívne inokulum z druhej generácie na naočkovanie 7 l Wickerhamovej pôdy v 10 l banke. Banky boli upravené pre aeráciu a pre aseptický odber vzoriek.

Počas osemdňovej fermentácie pri 25 °C sme denne sledovali produkciu antibiotika a po dosiahnutí maximálnej produkcie sme pristúpili k izolácii.

Izolácia

Podkladom pre izolačný postup boli údaje súhrnného chromatogramu [4] a pH chromatogramu [5]. Podľa súhrnného chromatogramu je antibiotikum dobre rozpustné v metanole, acetóne, etylacetáte, *n*-butanole, dietyléteri a v chloroforme, menej rozpustné vo vode a nerozpustné v benzéne a petroléteri.

Podľa pH chromatogramov v etylacetáte a v chloroforme je antibiotikum látkou neutrálneho charakteru.

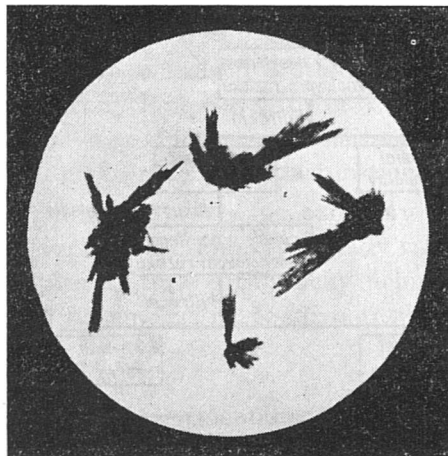


Obr. 1. Schéma izolácie antibiotika S-82.

Z 20 l filtrátu fermentačnej pôdy sme antibiotikum extrahovali 7 l chloroformu. Na zmiešanie fáz sme používali vysokoobrátkové miešadlo (4000 obr./min.) a vzniknutú emulziu sme rozdelili laboratórnou centrifúgou Sharpless (15 000 G). Vodný podiel neobsahoval dokázateľné množstvo antibiotika.

Chloroformový extrakt sme vákuove zahustili a zvyšok sme rozpustili v metanole. Po sfiltrovaní sme metanolvý roztok vákuove zahustili až do kryštalizácie. Po odfiltrovaní sme kryštály premývali petroléterom a benzénom. Podrobná schéma izolačného postupu je uvedená na obr. 1.

Mikrofotografia kryštálov antibiotika je na obr. 2.



Obr. 2. Mikrofotografia kryštálov antibiotika S-82.

Spektrum účinnosti

Účinnosť antibiotika S-82 sme orientačne zisťovali čiarovým testom na krvnom agare. Antibiotikum sme naniesli na platne v pásičkoch chromatografického papiera Whatman 3, ktoré sme predtým ponorili do nasýteného roztoku antibiotika v chloroforme a vysterilizovali parami éteru. Čiarovým testom sme zisťovali účinnosť proti zástupcom patogénnych aj nepatogénnych grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií a proti *Candida albicans*.

Antiprotozoálnu účinnosť voči *Tetrahymena geleii* sme zisťovali podľa O. Jírovca [6]. Kultúry testovacieho mikroorganizmu sme vystavili účinku 60 γ /ml a 6 γ /ml. Antiprotozoálny účinok sme sledovali po 1, 24, 48 a 72 hodinách. Vyššia koncentrácia usmrtila kultúru prvoka už v prvej hodine, pričom dochádzalo k rýchlej lýze buniek. Nižšia koncentrácia usmrtila do 24 hodín asi 80 % buniek, ich počet sa ďalej znižoval do 48 hodín, po 72 hodinách sme pozorovali opätovné zvyšovanie počtu živých buniek.

Výsledky orientačného zisťovania spektra účinnosti antibiotika sú uvedené v tab. 1.

Tabuľka 1
Spektrum účinnosti antibiotika S-82

Mikroorganizmus	Účinnosť
<i>Bacillus subtilis</i> SDPC 1 : 220 citlivý na PNC, STM, CTC, OTC, Chl, Er	++
<i>Staphylococcus albus</i> citlivý na Er, necitlivý na PNC, STM, CTC, OTC, Chl	+
<i>Staphylococcus pyogenes aureus</i> citlivý na STM, CTC, OTC, Chl, Er, necitlivý na PNC	+
<i>Staphylococcus pyogenes aureus</i> citlivý na PNC, STM, CTC, OTC, Chl, Er	+
<i>Staphylococcus pyogenes aureus</i> citlivý na STM, CTC, OTC, Chl, necitlivý na PNC	+
<i>Streptococcus hemolyticus</i> skup. A izolovaný zo zdravého jedinca	++
<i>Streptococcus hemolyticus</i> skup. A izolovaný z bacilonosiča	++
<i>Diplococcus pneumoniae</i> izolovaný zo zdravého jedinca	+++
<i>Escherichia coli</i> (Migula) zbierkový kmeň	+
<i>Salmonella typhi murium</i> izolovaná z pacienta	+
<i>Candida albicans</i> Pn 10 zbierkový kmeň	++
<i>Tetrahymena geleii</i> §	+++

PNC = penicilín

OTC = oxytetracyklín

STM = streptomycín

Chl = chloramfenikol

CTC = chlór tetracyklín

Er = erytromycín

§ koncentrácia 60 γ /ml

Súhrn

Z kultivačnej tekutiny bližšie ešte neidentifikovaného penicília sme izolovali antibiotikum predbežne označené S-82. Antibiotikum má neutrálny charakter, dobre sa rozpúšťa v metanole, acetóne, etylacetáte, *n*-butanole, dietyléteri a v chloroforme, je slabo rozpustné vo vode, nerozpustné v benzéne a v petrol-éteri. Má široké spektrum účinnosti. Ďalšie údaje o antibiotiku a o produkčnom mikroorganizme uverejníme neskoršie.

АНТИБИОТИК S-82 С ШИРОКИМ СПЕКТРОМ ДЕЙСТВИЯ

П. НЕМЕЦ, В. БЕТИНА, П. БАЛАН

Кафедра технической микробиологии и биохимии Словацкой высшей технической школы
в БратиславеОтдел технической микробиологии Биологического института Словацкой академии наук
в Братиславе

Выводы

Из культивационной жидкости пока еще неидентифицированного пенициллина, мы изолировали антибиотик предварительно названный S-82. Антибиотик имеет нейтральный характер, является хорошо растворимым в метаноле, ацетоне, этилацетате, *n*-бутаноле, диэтилэфире и в хлороформе и нерастворимым в бензоле и петролейном эфире. Имеет широкий спектр действия. Дальнейшие данные об этом антибиотике и о продуцирующем микроорганизме будут опубликованы позднее.

Поступило в редакцию 30. 5. 1959 г.

ANTIBIOTIKUM S-82 MIT EINEM BREITEN WIRKUNGSSPEKTRUM

P. NEMEC, V. BETINA, J. BALAN

Lehrstuhl für technische Mikrobiologie und Biochemie an der Slowakischen Technischen
Hochschule in BratislavaAbteilung für technische Mikrobiologie des Biologischen Instituts an der Slowakischen
Akademie der Wissenschaften in Bratislava

Zusammenfassung

Aus einer Kultivationsflüssigkeit eines noch nicht näher identifizierten *Penicillium* isolierten die Autoren ein Antibiotikum, welches vorläufig mit S-82 bezeichnet wurde. Dieses Antibiotikum weist neutralen Charakter auf, es ist gut löslich in Methanol, Aceton, Äthylacetat, *n*-Butanol, Diäthyläther und Chloroform, schwach löslich in Wasser, unlöslich in Benzol und Petroläther. Es weist ein breites Wirkungsspektrum auf. Weitere Angaben über dieses Antibiotikum und über den Mikroorganismus, welcher dieses produziert, werden später veröffentlicht werden.

In die Redaktion eingelangt den 30. 5. 1959

LITERATÚRA

1. Nemeč P., Betina V., *Antibiotické vlastnosti húb izolovaných z prírody v okolí Bratislavy*, *Biológia* 14, 135 (1959). — 2. Betina V., *Ein einfacher Beweis der Penicillinproduktion durch Schimmelpilze*, *Naturwissenschaften* 44, 378 (1957). — 3. Raper K. B., Thom Ch., *A Manual of the Penicillia*, Baltimore 1949. — 4. Ševčík V., Podojil M., Vrtišková A., *Použití papírové chromatografie při výzkumu nových antibiotik*, *Čs. mikrobiologie* 2, 175 (1957). — 5. Betina V., *A Paper Chromatography Method for the Determination of Suitable pH Values for the Extraction of Antibiotics*, *Nature* 182, 796 (1958). — 6. Jírovec O., *Das Infusorium Glaucoma piriformis als Testobjekt in Pharmakologie und Physiologie*, *Schweiz. Z. allgem. Pathol. Bakteriol.* 13, 129 (1950).

Do redakcie došlo 30. 5. 1959

Adresa autorov:

Člen korešpondent SAV Pavel Nemeč, prom. biol. inž. Vladimír Betina, inž. Jozef Balan, Bratislava, Kollárovo nám. 2, Chemický pavilón SVŠT.