

橘 黴 素*

汪 猷

(中國科學院生理生化研究所)

一. 引 言

在近二百種左右抗異生素中, 橘黴素 (citrinin) 比較是少有人注意。從最初發現到現在已二十年, 它的化學構造才完全搞清, 醫療用途與制菌作用等也知道了一些。

橘黴素是由英人雷斯屈氏^[1]和他的共同工作者在1931年從橘黴菌 (*Penicillium citrinum*) 的培養液裏分離而得的一種黃色有機酸。後來陸續從加拿大麩菌 (*Aspergillus candidus*)^[2] 和別種黴菌^[3,4,5] 的代謝產物中以及澳洲野百合 (*Crotalaria crispata*)^[6] 葉內得到。雷斯屈氏等當時祇注意化學方面, 他和羅賓生氏等^[7] 曾經擬過一個分子構造式。這一構造式直到1946年沒有人加以批評。但從1939年以後因為抗異生素研究領域迅速廣泛地拓展, 橘黴素自然又成為研究對象之一。在1946年就有羅奧夫氏等^[8] 和范卡塔拉曼氏等^[9] 對於舊構造式有了懷疑。1948年克蘭氏^[10] 也根據橘黴素降解物 (degradation products) 綜合的成功, 批判了雷斯屈和勞賓生氏等的橘黴素酸解物雷斯屈酚的構造式, 而加以修正。范卡塔拉曼等^[11] 又根據克蘭氏的結果提出了新的橘黴素構造式。但是同年和翌年英人勞勃忒生氏等^[12,13,14] 又根據他們用臭氧分解和橘黴素半合成的結果修正了克蘭氏和范卡塔拉曼氏等的構造式。1950年勞勃忒生氏等^[15] 又發表了酸解物無旋雷斯屈酚的二甲醚的全合成。至此橘黴素構造化學大體已經解決, 餘下尚未解決的重要問題係屬於立體化學: 如何證明橘黴素確實有二個不對稱碳原子。這個問題又可以分為 (1) 如何拆分無旋雷斯屈酚為左旋及右旋體; (2) 如何尋覓或合成橘黴素的其他三個立體異構物。

* 1951年9月26日收到

橘黴素的抗異生作用到 1942 年^[16]方受人注意，以後雖經過許多人^[17,18,19,20]試驗，但大多數祇限於細菌生長抑制的工作。作者^[21]開始從事橘黴素的研究在 1945 年的初春。初期研究的經過已經有綜合性的報告^[21,22]，近年來仍單獨繼續或和其他單位合作研究關於此種抗異生素的化學、細菌學和治療學上的許多問題。歷年陸續所得到的結果，部分已經在各專門雜誌發表，部分正在排印中，還有一部分尙待發表。今將我們單獨或集體研究所得的重要結果作下列綜合性的報道。

二. 橘黴素的化學

(一) 橘黴素醌醇構造的證明

根據以前雷斯屈氏等^[1,7]和最近克蘭氏^[10]及勞勃忒生氏等^[12,13,14]的研究，橘黴素分子構造式應如公式(I)^[12]，它是一種醌體異咯嚨有機酸(isochromanquinone carboxylic acid)。雷斯屈氏等^[1]曾用鋅和醋酸將醌體還原而得無色高融點的一種二氫化合物。這種氫化物在空氣裏很易變黃，還變為橘黴素。雷斯屈氏等因無法得到純粹的氫化物，祇得將它變成一種乙酸酯。僅根據乙醯值的測定，他們決定所得的氫化物是‘二氫橘黴素’。但是二氫橘黴素二乙酸酯 $C_{34}H_{38}O_{14}$ 的碳氫成分應為碳 60.69，氫 6.69；而實際的碳為 60.05，氫為 6.09%。所以理論的碳氫值與實際的相差超過一般允許的分析誤差。我們^[23,24]重複他們的實驗也得到同樣高融點不安定的還原物。我們能使它結晶（融點 $241.5-2.5^\circ$ ；比旋 $[\alpha]_D^{25} + 36.4^\circ$ (丙酮)；吸收峯

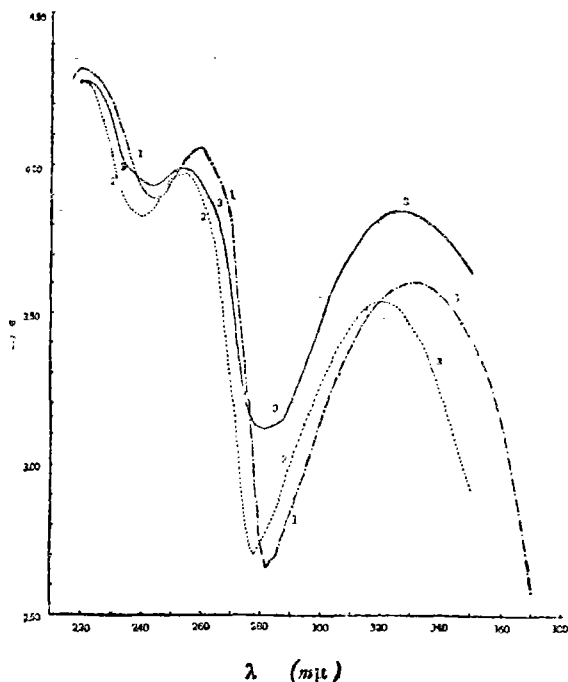
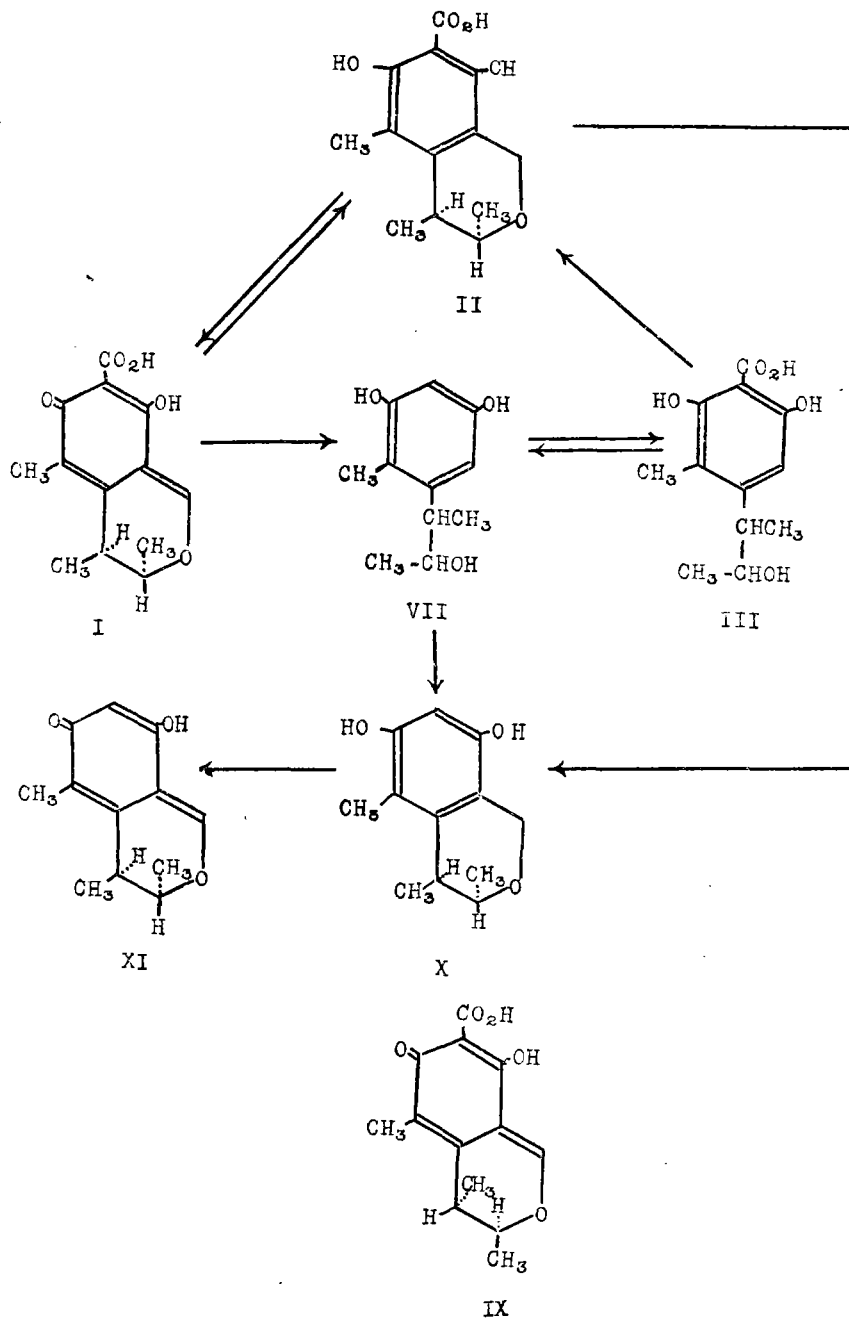


圖 1. 橘黴素及二種還原物的紫外光吸收譜
 1. - - - 橘黴素醌醇
 2. ····· 二氫橘黴素
 3. ——— 橘黴素



220, 259.5, 331—333 μ ; 消光係數對數 4.32, 4.06, 3.60) (圖 1, 曲線 1)。它和重氫甲烷作用成一種甲酯(融點 155—8°)。

在 1947 年我們^[25]曾因為試驗橘黴素的各種衍化物的抗異生作用, 用二氧化鉑和氫還原橘黴素, 得到另一種無色較安定的二氫橘黴素, 融點較低(171.3°)。它和橘黴素一樣, 是左旋性的(比旋 $[\alpha]_D^{25}$ -19.8°; 吸收峯 220, 254, 320—1 μ ; 消光係數對數 4.28, 3.97, 3.54) (圖 1, 曲線 2)。按分析的結果它是二氫橘黴素。這種還原物許文克氏等^[26]也曾用別的接觸還原法得到。高融點與低融點二種‘二氫橘黴素’有什麼構造上的區別? 倘若橘黴素的分子構造式(I)是不錯, 這二種還原物又都是二氫橘黴素, 它們的分別祇當在於三個共軛雙鍵排列的地位不同^[24]。倘若二種氫化物之一不是二氫橘黴素, 它究竟是什麼?

從紫外吸收光譜察看, 橘黴素和它的二種還原物都有三處吸收峯。二種還原物的吸收峯波長已見上述。橘黴素的吸收峯是介於二者之間, 波長為 222, 254, 327 μ ; 消光係數對數 4.25,

3.29, 3.85 (圖 1, 曲線 3)。低融點氫化物的吸收光譜很與雷斯屈酚甲酸(III)的吸收光譜相合, 和 $[\gamma]$ 苯間二酚甲酸的吸收光譜相似而接近(圖 2)。橘黴素的吸收峯較近有色光部而高融點的還原物更近。從比較安定, 和吸收峯與雷斯屈酚甲酸及 $[\gamma]$ 苯間二酚甲酸的符合或近似等幾點推想, 低融點的還原物是苯型的二氫橘黴素(II)。而高融點的還原物既容易氧化而且吸收峯又長於橘黴素, 若是二氫化物, 它的三個共軛雙鍵必非苯型。我們^[24]有一時期也認為高融點還原物是二氫化物, 從理論上推想出

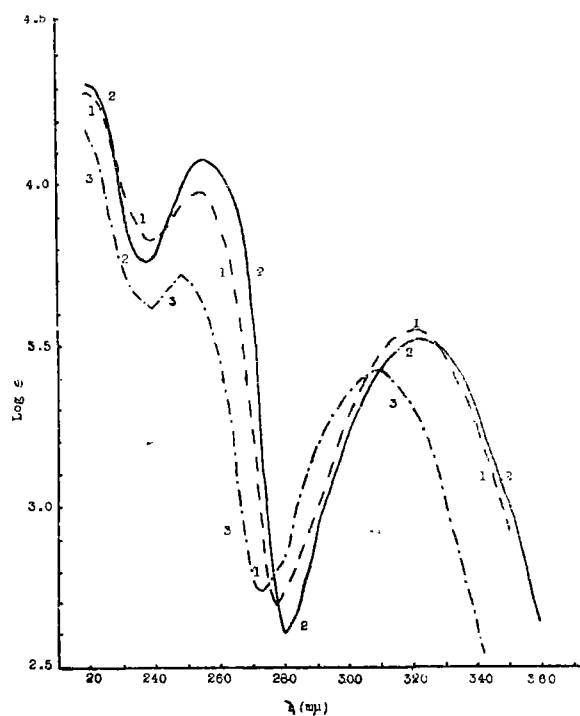


圖 2. 二氫橘黴素, 雷斯屈酚甲酸及 $[\gamma]$ 苯間二酚甲酸的紫外光吸收譜
1. - - - 二氫橘黴素
2. ——— 雷斯屈酚甲酸
3. - · - · - $[\gamma]$ 苯間二酚甲酸

三個可能的構造式。這三種式子雖能解釋新的不對稱碳原子的形成和不安定性，但是都很勉強，因為按照那些構造式三個共軛雙鍵分列在二個稠環上，預料將是容易苯型化和容易起雙烯加合反應。可是事實上相反，我們^[25]雖將高融點化合物同溴化氫或碘作接觸劑加熱，或和氧化鉑在氫氣中作用，都不能使它變成苯型的二氫橋徽素。和丁烯二酸酐作用沒有得到雙烯加合物。所以我們想：莫非融點高不安定的還原物不是二氫橋徽素？

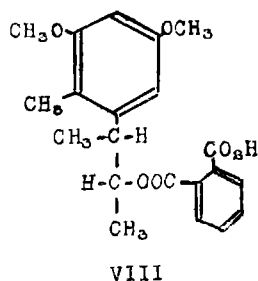
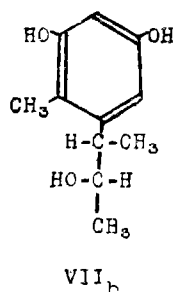
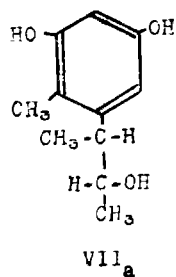
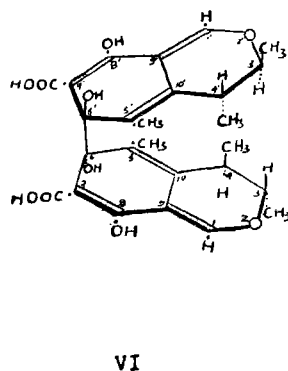
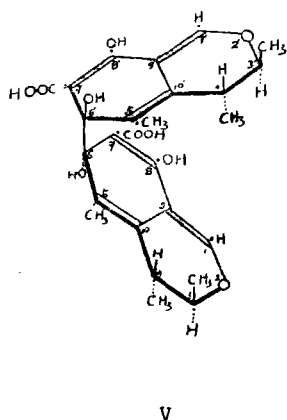
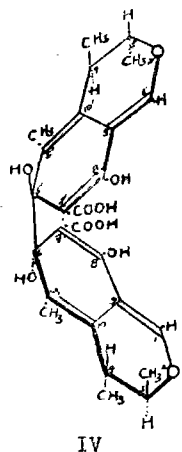
關於低融點還原物的公式(II)，由於瓦倫氏等^[27]和勞勃忒生氏等的半合成更證明它的正確性。如高融點氫化物究竟是什麼？擔任這一問題的解決是由屠傳忠和丁宏助二同志^[25]。我們記得酮類經鋅同酸或醱的還原作用，時常產生一種駢醇(pinacol)^[28,29]。我們試用醱同鋅還原亦得到同樣的高融點還原物。駢醇經常是融點很高溶解度小的，容易受空氣的氧化變成原來的酮。這幾點和高融點橋徽素氫化物的來歷和性質很有些符合。所以我們想高融點氫化物可能是一種駢醇。我們用柏萊格爾(Pregl-Roth)的分子量測定法和過碘酸氧化法來證實我們的推想。假如真是駢醇，它的分子量應比二氫橋徽素的約大一倍；而且一分子過碘酸應該能氧化一分子駢醇為二分子橋徽素。高融點氫化物在各種溶媒中溶解度太小，並且容易氧化變成橋徽素，所以我們祇能用它的甲酯溶在莪烯(camphene)內而後測定融點的降低。果然，所測得的甲酯的分子量為523，合乎駢醇二甲酯的分子式 $C_{26}H_{23}O_8(OCH_3)_2$ 所應有的分子量530，而與二氫橋徽素的甲酯 $C_{13}H_{15}O_4(OCH_3)$ 的分子量相差幾乎一倍。又用一分子過碘酸恰好祇能氧化一分子的高融點化合物，從氧化產物中可以得到1.4分子以上的橋徽素，而同樣重量的低融點二氫橋徽素却須要倍量的過碘酸，並且不能產生橋徽素。

根據以上理由，我們可以肯定地說，由鋅和酸或醱還原所生的高融點氫化物應該是由一分子氫加於二分子橋徽素所成的一種橋徽素駢醇。

二氫橋徽素和橋徽素駢醇的元素成分相差極微。所有高融點氫化物及其衍化物的元素成分與由駢醇算出來的相比較，其相差都在實驗誤差之內。就是醱衍化物，據我們研究的結果，已經知道確是四醱橋徽素駢醇而含有一分子結晶水 $(C_{13}H_{13}O_6)_2 \cdot (COCH_3)_4 \cdot H_2O$ (融點 261.5—262.5°；計算：碳 59.29，氫 5.86；實測：碳 59.27, 59.40, 59.65；氫 5.75, 5.74, 5.91)。雷斯屈氏等以前所得到的醱衍化物可能也含有結晶水，所以分析不符。

參照克蘭氏^[30]對 C-3 和 C-4 上二個甲基的構型(configuration)的立論，橋

黴素駢醇應以構造式 IV, V, VI 或它們的對映體中的一個來代表。在每一個式子中二個單氫橋黴素基被假定在二個不平行的平面中，這兩平面與 C-6—C-6' 鍵約各成 125° 角，其中當以構造式 IV 或它的對映體來代表橋黴素駢醇較為適宜，因為在該式內 C-4 和 C-4' 上的二個甲基的方向是相背的，在生成反應過程中所產生空間阻礙最小，而形成的可能性也就最大。



(二) 橋黴素的立體化學

橋黴素水解時失去一分子羧酸，一分子二氧化碳，變成一種酚 $C_{13}H_{16}O_3$ (VII)，學名 [3] ([3', 5'] 二羥 [2'] 甲苯) 丁醇 [2]。因為它由雷斯屈氏等^[17]先得到，所以名為雷斯屈酚。雷斯屈酚曾經是解決橋黴素構造化學的總鑰。根據我們^[37]和許文克氏等^[26]、克蘭氏^[38]及勞勃忒生等^[19]的研究知道：左旋橋黴素不論經酸性或鹼性水解時先變成右旋雷斯屈酚，如時間延長即得部分的或幾乎完全的無旋雷斯屈酚。就是單純的左旋雷斯屈酚和酸共熱也可以變成無旋雷斯屈酚。根據最近

克蘭氏^[30,32]的報告，他能間接證明這種變化類似駢醇倒重排 (retrapinacol rearrangement)。

雷斯屈氏等^[1]早就以為橘黴素水解產生的左旋和無旋酚是旋性異構體。勞勃忒生氏等^[15]曾經企圖證明無旋雷斯屈酚是左旋雷斯屈酚和它的右旋體的分子結合物。他們曾從無旋雷斯屈酚製無旋雷斯屈酚二甲醚的鄰苯二甲酸半酯(VIII)，再利用左旋百魯新鹼 (*l*-brucine) 或左旋番木鱈鹼 (*l*-strychnine) 分別得到二種鹽，經加酸後變成左旋雷斯屈酚二甲醚鄰苯二甲酸半酯和它的左旋體。但他們無法由此得到游離的左旋和右旋雷斯屈酚，所以他們對於無旋雷斯屈酚拆分成左旋和右旋體未能完成任務。

這項完全拆分的任務最近已在我們實驗室裏由丁宏勛和賈承武^[31]同志完成了。他們將無旋雷斯屈酚依照勞勃忒生氏等^[14]的方法，製得無旋雷斯屈酚甲酸 III。然後藉左旋百魯新鹼分離得不易溶解的右旋雷斯屈酚甲酸左旋百魯新鹽 (融點 159—160°) 和左旋酚甲酸百魯新鹽 (融點 167—8°)。從這二種鹽可以得到右旋雷斯屈酚甲酸 (融點 179—180°; $[\alpha]_D^{11} + 37^\circ$; 吸收峯 256, 322 m μ ; 消光係數對數 4.05, 3.02) 和左旋酸 (融點 179—180°; $[\alpha]_D^{12} - 36^\circ$; 吸收峯 256, 322 m μ ; 消光係數對數 4.08, 3.51)。這二種酸又藉吡啶鹽酸鹽的接觸脫羧作用，分別變成左旋和右旋的雷斯屈酚(VII a; VII b)。左旋雷斯屈酚融點 125°, $[\alpha]_D^{11} - 44^\circ$; 右旋酚融點 124—5°, $[\alpha]_D^{14} + 41$; 分析的結果也與 C₁₁H₁₆O₃ 的成份符合。二者混合後在三氯甲烷中結晶，融點 171°—2°。

橘黴素分子有二個不對稱碳原子，我們預想可以有四個空間異構體，左旋和右旋橘黴素 (I, IX) 及左旋和右旋異橘黴素。但是在不久前，我們還祇有天然的左旋橘黴素一種。我們要完全證實勞勃忒生氏等的橘黴素構造的真確，還有待於其他三種異構體的發現或合成。丁宏勛同志曾為這一步目的而努力，現在已完成了右旋橘黴素的化學合成^[33]。

我們所用的合成方法是沿用我們的脫羧橘黴素合成法^[34]，它是異咯嚨園 (isochromane) 合成法^[35]的廣大應用。在先，我們曾用左旋雷斯屈酚作原料與甲醛和氯化氫作用，或用該酚與氯化甲醚和四氯化錫作用，都得到一種左旋脫羧二氫橘黴素(X)。它經氧化很順利地變成脫羧橘黴素(XI)。這些脫羧物我們也曾從二氫橘黴素經脫羧及氧化作用得到^[34]。勞勃忒生氏等^[36]曾試驗二氫橘黴素的脫羧，但是遭遇到困難，沒有獲得純粹的脫羧物，我們應用吡啶鹽酸鹽接觸脫羧法成功了。

我們將以上二種異噁嗪環化法應用到橘黴素的合成也完全成功。用左旋雷斯屈酚甲酸作原料，得到左旋二氫橘黴素，經氧化得左旋橘黴素。應用右旋雷斯屈酚甲酸作原料，又得到右旋橘黴素。右旋橘黴素除了旋光性與左旋體完全相反外，其餘物理和化學性質和生物作用沒有分別。關於它的生物作用我們在後文還須提及。

無旋雷斯屈酚已經拆分，右旋橘黴素也已合成，現在橘黴素的立體構型化學上未解決的問題祇剩下左旋和右旋異橘黴素的合成了。

從最近到來的英國化學學會會誌看到勞勃忒生氏等^[37]在去年十一月發表的文章中報告他們從合成的無旋橘黴素用拆分方法也得到了右旋橘黴素，所以右旋橘黴素已由二個實驗室各自用不同的方法可以合成了。

三. 制菌效力

橘黴素具有相當強的制菌力^[21,22]。我們最初試過這種抗異生素對於九種細菌蕃殖的抑制作用，以後又陸續試過幾種，包括各型的結核桿菌^[37](表 1)。

表 1.

細 菌 類 別	格蘭染色	抑制蕃殖最低有效濃度 (mg/ml.)	蕃殖抑制情形	
鏈球菌	<i>Strep. viridans</i>	+	0.05	完全抑制
枯草桿菌	<i>B. subtilis</i>	+	0.05	完全抑制
蕈狀桿菌	<i>B. mycoides</i>	+	0.05—0.02	完全抑制
劇臭桿菌	<i>B. graveolens</i>	+	0.1	完全抑制
人結核桿菌 H37Rv	<i>Myc. tuberculosis</i> human H37Rv	+	0.01—0.1	66—95%
本地 49 號	" " " local 49	+	0.01—0.1	40—65%
牛結核桿菌 9384 號	<i>Myc. tuberculosis</i> bovine 9384	+	0.01—0.1	33—51%
禽結核桿菌	<i>Myc. tuberculosis</i> avian		0.01—0.4	79—91%
金色葡萄球菌 NRRL 313	<i>Staph. aureus</i> NRRL 313	+	0.4	完全抑制
本地 G	local G	+	0.4	完全抑制
本地 11a	local 11 a	+	0.4	完全抑制
本地 1a, 溶血性	local 1a hemolytic	+	0.4	完全抑制
肺炎球菌	<i>Diplococcus pneumoniae</i>	+	0.5	完全抑制
霍亂菌	<i>Vibrio cholerae</i>	-	1	完全抑制
傷寒菌	<i>B. typhosus</i>	-	1	完全抑制
痢疾桿菌	<i>B. dysenteriae</i> Flexner	-	2—4	完全抑制
大腸菌	<i>B. coli</i>	-	4	完全抑制
副傷寒菌	<i>B. paratyphosus</i>	-	8	完全抑制
綠膿菌	<i>Pseudomonas pyocyanea</i>	-	>15	半 抑 制

從表 1 可以看到橘黴素對於格蘭陽性細菌特別有效，對於格蘭陰性細菌效力小，或者沒有顯著的效力。對於各型的結核桿菌也和其他的格蘭陽性菌一樣，有強有力的抑制作用，不因它的蠟質外層而失效。

橘黴素雖沒有青黴素或鏈黴素一樣強大的抑制細菌蕃殖能力，但是它也不像後二者一樣易使細菌的抵抗力增強。我們還沒有發現橘黴素能使細菌抵抗力增強的現象；而相反地，曾見到能使細菌的抵抗力逐漸減低^[21,22]。賈承武同志曾用人工培養得一種頑性金色葡萄球菌^[39]。原來祇能耐 0.03 微克苳青黴素的敏感性菌，逐漸經苳青黴素培養訓練後能耐 3000 微克（每毫升）。再用含 10 微克橘黴素和 600 微克苳青黴素養液培養一次後，它祇能耐 6 微克的苳青黴素，而在同一情形下的對照，即用僅含 600 微克苳青黴素養液培養一次所得的頑性金葡萄球菌仍能耐 3 毫克的青黴素。橘黴素除能使對青黴素頑性的金葡萄球菌變成敏感性菌外，又能使金葡萄球菌對磺嘧啶的抵抗減低^[21]。同樣亦能使鏈球菌、傷寒菌、大腸菌、痢疾菌、副傷寒菌、蕈狀桿菌和綠膿菌的抵抗力減弱。關於橘黴素能使頑性菌變成敏感性的現象是饒有興趣的，但是我們的實驗還少，觀察不足，尙不能下結論。

以上都指着天然的左旋橘黴素，而合成的右旋體也有同等強度的制菌力。我們試過右旋體對於枯草桿菌、蕈狀桿菌、金葡萄球菌和傷寒菌等蕃殖的抑制力，所得最低有效濃度和天然的橘黴素沒有顯著的差別。

四．抑制細胞呼吸的作用

在一般情形下橘黴素不溶解紅血球，也不溶解細菌細胞。它對細菌的主要作用是抑制蕃殖。它如何能抑止細菌的蕃殖？據密楷立司氏^[41]觀察，橘黴素能抑制金葡萄球菌的吸氧，而不抑制大腸菌的呼吸。在我們同王應暉先生等^[42]合作的研究中，也有同樣的觀察。據我們用瓦堡式呼吸器所測得的結果，不論在牛肉湯、乳酸、酪蛋白水解物，或丙酮酸鹽培養液內，金葡萄球菌的呼吸總受到橘黴素的抑制。譬如在牛肉湯內，每毫升含 10 至 20 微克（即十萬分之一或二）之橘黴素時，金葡萄球菌的吸氧率比較對照低 18—23%，橘黴素量增加，呼吸抑制也大（表 2）。相反地，大腸菌就在千分之五的橘黴素溶液內，呼吸毫不受影響。

從細菌的呼吸我們連想到動物組織的呼吸，橘黴素也能影響動物組織的新陳代謝嗎？

表 2. 橘黴素對於體外細菌及各種動物組織切片呼吸的影響

細胞類別	培養液	橘黴素 (毫克/毫升)	吸氧率	抑制(-)或 刺激(+)(%)
金色葡萄球菌	肉 湯	0	316	-33
		0.02	209	
金色葡萄球菌	血 清	0	138	-33
		0.03	102	
大 腸 菌	磷 酸 鹽 緩 衝 劑	0	9.5	0
		5.0	9.4	
(大型)鼠肝切片	克 萊 伯 斯、 林 格 溶 液	0	6.7	-30
		1.0	4.8	
(大型)鼠肝切片	血 清 (18%)	0	8.3	+20
		1.0	10.5	
(大型)鼠腎切片	克、林 溶 液	0	19.3	-55
		0.2	8.7	
		1.0	4.7	
(大型)鼠腎切片	血 清 (18%)	0	32.6	-8
		1.0	30.1	
(大型)鼠腦切片	克、林 溶 液	0	4.4	-33
		0.5	2.8	
豚鼠腎切片	克、林 溶 液	0	12.3	-41
		0.3	6.9	
豚鼠腎切片	血 清 (18%)	0	11.3	+25
		0.3	14.2	

孟威廉同志^[43]曾測定在克萊伯斯、林格氏 (Krebs-Ringer) 磷酸鹽緩衝液中豚鼠和小型白鼠的肝、腦、腎切片的吸氧率，和在含橘黴素的培養液中吸氧率比較。證明橘黴素能抑制這些組織的呼吸，但是影響的大小隨動物和組織的種類不同而異。腎切片似較敏感，0.2至0.3毫克已有40%以上的抑制(41—45%)。肝切片似最強硬，需要1毫克(表2)。橘黴素除能抑制組織切片的呼吸外，並且能抑制切片的醱酵解(glycolysis)。

細菌或組織細胞對於任何種藥物的反應不能脫離環境的關係，在合成培養液裏所得結果不一定和在動物體內相同。因為以上試驗都在合成培養液中進行，所以我們進一步為使組織切片或細菌的環境更與體內條件相接近起見，用血清作培養液。在血清(18%)內金葡萄球菌對於橘黴素抑制作用的抵抗力增加二十倍，豚鼠腎切片的呼吸反因橘黴素而增加，甚至超過血清中的對照。不僅如是，血清的

作用不但能使組織切片免於受橘黴素的抑制，並且能使已受抑制的組織呼吸復原，而逐漸超過正常的對照。

血清能够刺激組織細胞的呼吸，在以前已經有人報道^[44,45]。據我們的觀察，橘黴素更增強血清對於組織細胞呼吸的刺激。這種刺激因素並不屬於血清中的蛋白質。我們曾以丙氨酸、葡萄糖、丙酮酸、醋酸、琥珀酸、蘋果酸、[1] 磷酸葡萄糖、磷酸丙酮酸、丁酸、辛酸等代謝中間產物一一代替血清，都得不到和血清相似的效果。惟有血清煮沸後除去凝固蛋白的清液仍具有同一功效。

橘黴素能抑制細胞呼吸是無可疑議的事實！但抑制的機理是怎樣？是因為直接影響細胞呼吸酶的原故嗎？

細胞中重要的呼吸酶有含硫氫羣、金屬卟啉 (metallo-porphyrin)、醌咯嗪 (flavin) 和噻啞胺 (thiamine) 等輔基的分別。我們^[34]為試驗橘黴素對於這幾類酵素的影響，選擇琥珀酸氧化酶系、右旋氨酸氧化酶、羧酶、過氧氫放氧酶 (catalase) 等為含這些輔基酶類的代表作了系統的研究。這些酵素都遭受橘黴素的抑制，雖然敏感度有些不齊。琥珀酸氧化酶系中琥珀酸脫氫酶、細胞色素氧化酶同樣遭到抑制的影響。羧酶遇到低濃度的橘黴素反受刺激而增加其活力(表 3)。橘黴素的作用是對於羧酶或羧酶和底物整體的作用，而不是單獨對於羧酶、輔基或鎂的。

除呼吸酵素外，我們又試了水解酶中的胰蛋白酶^[43]和脲酶^[46]。低濃度的橘

表 3. 橘黴素對於各種酵素作用的影響

酵 素 類 別	橘 黴 素 (微克/毫升)	抑制(-)或刺激(+)%
琥珀酸氧化酶系	30	-24
琥珀酸脫氫酶	300	-44
細胞核色素氧化酶	300	-29
右旋氨酸氧化酶	300	-25
過氧氫放氧酶	200	-14
羧酶 [1/4 飽和 (NH ₄) ₂ SO ₄ 溶液]	75	-27
羧酶 [1/4 飽和 (NH ₄) ₂ SO ₄ 溶液]	5	+30
脲酶	100	+25
脲酶	400	-30
胰蛋白酶	2000	0
胰蛋白酶	5000	-15

激素能刺激脲酶的活力，高濃度則變為抑制。對於胰蛋白酶沒有顯著的作用或效力很弱。

以上幾種酵素除脲酶及羧酶外，都普遍存在細菌和動物細胞內。它們的被抑制是足以解釋橘黴素的制菌作用和對於動物組織的毒性。但這不就是說這是橘黴素對於細菌和動物的唯一作用。假設我們的想像是對的，就有一個問題立刻發生：既然橘黴素的抗異生作用在於抑制這些酵素，尤其是呼吸酶，何以對格蘭陽性細菌作用大，對於動物組織細胞作用較小，而對於格蘭陰性的細胞就很小或根本沒有作用。我們現在還不能答覆這種複雜的問題，但是從側面我們可以推想這些區別或由於各種細胞內部的組織不同，橘黴素不容易達到某種細胞的呼吸酶所在，正如鏈黴素不容易達到組織細胞的線狀粒體中的呼吸酶一樣^[47]；或由於各種細胞膜對於橘黴素的滲透性不同；或由於各種細胞對於橘黴素的破壞力不一樣；亦可能因為動物組織細胞和格蘭陰性細菌細胞的新陳代謝過程中又徑較格蘭陽性細菌為多，所以前二者容易適應環境。

五. 橘黴素的分子構造和抗異生力的關係

上文敘述橘黴素對於細菌可能發生一些什麼作用，現在將轉向一個新問題：橘黴素的分子中各部分、各原子羣或它的整個分子對制菌和制酶作用有怎樣的關係？

研究本問題之前先須製造許多橘黴素的衍化物或類似物，然後測定它們的生物作用。我們如果審視橘黴素的構造式，立刻可以看出幾個特徵：它具有醌羣、烯醇或酚羣、羧羣、甲基羣和含氧的雜環。屠傳忠、丁宏勛二同志製備了一連串的化合物，有的從橘黴素衍化來的，有的是合成得來^[48]。由賈承武同志作體外抑制細菌蕃殖的試驗，由孟威廉同志作抑制各種酵素作用的試驗。現在將結果列在表4內，表內排列悉按照各化合物的制菌效力由強而弱的次序。

我們共選用十種橘黴素的衍化物，三種酚、二種異咯嗪化合物，測定它們對於金葡球菌生長的抑制効力。又就其中幾種化合物行枯草桿菌蕃殖抑制，腎切片呼吸抑制，以及羧酶和右旋氨基酸氧化酶的抑制等試驗。表4所示十五種化合物中，左旋和右旋橘黴素抑制効力最大。橘黴素的甲酯和橘黴素相彷彿。二氫橘黴素的効力比較差。駢醇比二氫化物更弱，沒有顯著制菌力，僅有微弱的抑制組織呼吸能力。脫羧二氫橘黴素和脫氫橘黴素的制菌力一樣，但都比二氫橘黴素小。四

表 4. 橘徽素衍化物和類似物的制菌和制酶效力

試 物	最低有效濃度 (mg/ml.)				
	金色葡萄球菌	枯草桿菌	豚鼠腎切片	莢 酶	右旋氨基酸氧化酶
左旋橘徽素	0.4	0.05	100	75	300
右旋橘徽素	0.4	0.05	100	—	—
左旋橘徽素甲酯	0.4	—	—	—	—
左旋二氫橘徽素	0.8	—	1000	90	450
左旋脫羧二氫橘徽素	4	—	—	—	—
左旋脫羧橘徽素	4	—	—	—	—
左旋四氫橘徽素	20	—	—	600	1100
苯間二酚	>15	—	<4000	—	—
苯酚	>15	—	—	—	—
右旋橘徽素醇	無效 (20 mg)	—	3000	—	—
左旋雷斯屈酚甲酸	無效 (20 mg)	—	< 62	600	1000
左旋雷斯屈酚	無效 (20 mg)	—	< 235	>1300	1200
(2)乙酯碳醯(3,5)二羥苯乙酸	無效 (20 mg)	—	—	—	—
異咯嗪	無效	—	—	—	—
異咯嗪酮(4)	無效	—	—	—	—

氫橘徽素的制菌力比脫羧橘徽素小,但和苯酚及苯間二酚相仿。左旋雷斯屈酚甲酸和左旋雷斯屈酚似沒有制菌的効力;但和四氫橘徽素相仿,有顯著的抑制莢酶及右旋氨基酸氧化酶的作用。這二種化合物抑制腎切片的呼吸作用也相當強。〔2〕乙酯碳醯〔3,5〕二羥苯乙酸(2-carbethoxy-3,5-dihydroxyphenyl acetic acid)、和異咯嗪及異咯嗪酮〔4〕(isochromanone-(4))^[49]都沒有制菌的作用。據羅奧夫氏等^[50]的報告,他們也製備了一些羥苯酚乙醯酸都沒有制菌的効力。

我們承認橘徽素的抗異生作用是由橘徽素分子整體所發揮,但是分子中每一部分對於整個作用都應有它部份的供獻,而供獻的重要性可能有區別。從上述結果,我們僅能達到一個初步結論:橘徽素及其衍化物的分子構造中,最有關制菌作用的部分是酚羣和含氧雜環的配合;羧羣和醯羣的存在僅稍增加抑制力量。氧雜環的存在似能變更酚類的生物作用的性質;氧雜環的破壞在質和量方面都影響制菌効力。

六. 毒 性^[49]

橘徽素是有相當毒性的^[18,19,20,21,51,52],大量的注射或口服可以致死。它能刺

激黏膜，發生流淚、打嚏，能降低體溫血壓。它的藥性有些類似自主神經作用的藥物 (parasympathomimetic)。關於橘黴素對於各種動物的毒性，和橘黴素或它的衍化物對於小型白鼠的劇毒性，屠傳忠同志曾作過比較。各種動物以大型白鼠忍耐量最小(表 5)。

表 5. 橘黴素對於各種動物的劇毒性

動物種類	注射方法	每公斤體重橘黴素之注射量(毫克)	死亡率 %
大型白鼠	腹腔	15	50
犬	靜脈	40	100
家兔	靜脈	40	30
家兔	靜脈	50	50
小鴨	肌肉	60—80	50
小鴨	肌肉	110	100
豚鼠	腹腔	50	0
豚鼠	腹腔	80	100
小型白鼠	腹腔	90—100	50
小型白鼠	腹腔	110	100

在各種衍化物中，二氫橘黴素和橘黴素甲酯鉀鹽毒性較小，普魯卡因鹽更小(表 6)。似乎醌羣和氧雜環都有加強毒性關係。

表 6. 橘黴素及其衍化物對於小型白鼠的劇毒性

試 物	一次劑量 (毫克/公斤體重)	死亡率 %
橘黴素醇	120	0
橘黴素普魯卡因鹽*	90	20
橘黴素甲酯鉀鹽*	95—115	40
橘黴素甲酯鉀鹽*	126	60
二氫橘黴素	80	0
二氫橘黴素	120	40
橘黴素	90—100	50
橘黴素	110	100

* 按所含橘黴素淨量計算。

七. 吸收及排泄

研究抗異生素的主要目的之一是臨床應用。因此它在動物體內吸收和排泄的情形不能忽視。在1945—46年,祝維章^[20]曾對於這問題稍有研究。他用細菌方法測定,但因不够準確不能定量,沒有測定吸收和排泄率。我們為要測定血液

中和尿內橘黴素的含量,先研究了一種比色測定法^[52]。丁宏勛同志利用三氯化鐵同含水乙醇的稀橘黴素溶液所生藍色反應以定橘黴素的含量。有四微克的含量就可以測定。此法用於測定尿內和血液內的游離橘黴素,可以得到滿意的結果^[53,54]。用我們方法,查出橘黴素在血中部分游離存在,部分和血漿結合^[54]。它決不是和血漿內的球蛋白或白蛋白相結合。

我們用兔、犬作試驗動物^[55]。測定口服或靜脈、肌肉、皮下等注射後血中游離橘黴素含量的變遷和尿內排泄量。兔口服後半小時內,血液中橘黴素已能測得,四小時達最高峯,二十四小時後量太少已不能測定(圖3)。靜脈注射在二

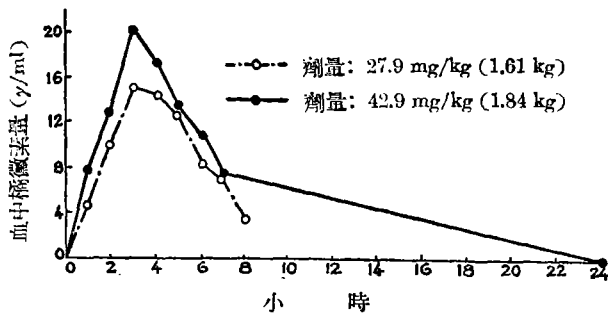


圖 3. 兔口服橘黴素一次後血中橘黴素含量

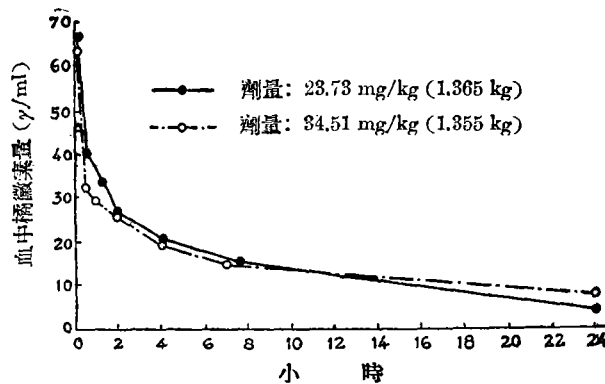


圖 4. 經一次靜脈注射後兔血中橘黴素含量

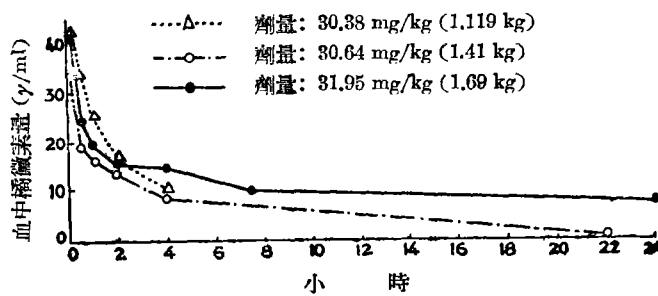


圖 5. 經一次皮下注射後兔血中橘黴素含量

十四小時後血內猶有微量存在(圖4)。皮下或肌肉注射時，五分鐘內血中含量即達最高峯，二小時終了下落至最高峯的一半，八小時後落至四分之一，此後至二十四小時間(圖7)，下跌甚緩(圖5,6)。狗經靜脈注射橘黴素後，部分在四十八小時內從尿內排泄，大約排泄量佔據注射量的22%，其中大部分發現在二十四小時內的尿中(表7)。

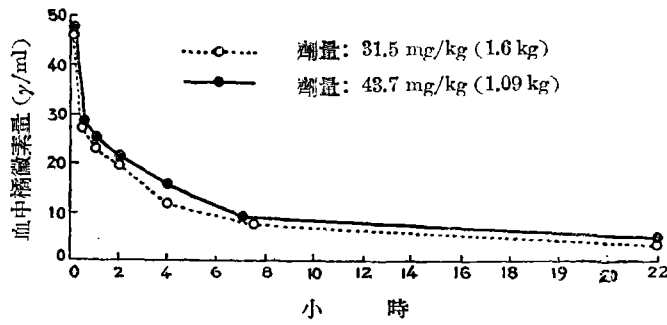


圖 6. 經一次肌肉注射後兔血中橘黴素含量

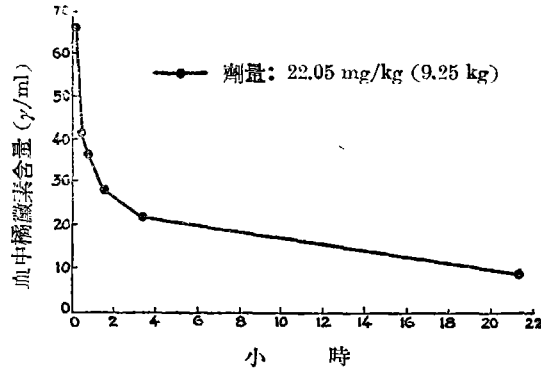


圖 7. 經一次靜脈注射後犬血中橘黴素含量

表 7. 犬經一次靜脈注射橘黴素後尿中排泄量

犬	體重	橘黴素注射量(一次)	小便收集時間	尿量	橘黴素含量			
					γ/ml	總量	可收百分率	
A	kg 6	mg 0 0 82.96	3 d. b. i.	450	0	mg 0		
			2 " " "	200	0	0		
			1 " " "	180	0	0		
			5 hr a. i.	200	42	8.4		10.1
			20 " " "	325	27.2	8.84		10.7
			23 " " "	135	2.3	0.31		0.4
			44 " " "	460	1.1	0.51		0.6
			83 " " "	380	0	0		
			92 " " "	320	0	0		
			合計			18.06		21.8
B	5.8	mg 0 0 70.14	3 d. b. i.	330	0	0		
			2 " " "	600	0	0		
			1 " " "	420	0	0		
			5 hr. a. i.	160	38	6.08		8.7
			6 " " "	110	41.8	4.60		6.6
			22 " " "	550	6.3	3.48		5.0
			29 " " "	140	6.3	0.89		1.3
			46 " " "	340	0	0		
			53 " " "	200	0	0		
合計			15.05	21.5				

d. b. i. = 注射前日數。
hr. a. i. = 注射後小時數。

八. 外傷治療

橘黴素在體外對於細菌有顯著的抑制作用，在體內也有效嗎？據祝維章^[20]的試驗，好像對於小型白鼠的肺炎是沒有預防或治療效果。我們^[21]在1946年曾在四頭家兔的人為創口上用金葡萄球菌使發炎潰爛。二頭用橘黴素治療，一頭用磺嘧啶，其餘一頭不用任何藥物醫治。結果用橘黴素醫治的二天後傷口已收。用磺嘧啶的稍有進步，但四天終了傷口猶有膿存在。對照經七天後猶未見進步。又醫治了幾個病人發炎的外瘡結果很感滿意。丁蒙寧氏^[56]和拔斯丁氏^[57]也曾有用橘黴素作外傷治療的報告，但都沒有見到詳細記錄。

表 8. 第一組用橘黴素治療化膿外傷試驗的記錄

診 斷	膿 菌	結 果
肘，腿，膝裂傷化膿	金色及白色葡萄球菌，變形桿菌	甲
去股骨後，股創化膿	白色葡萄球菌	甲
肩部中彈成肉芽膿傷	金色葡萄球菌	甲
股部表面火傷	格蘭陽性及陰性桿菌	乙
腹傷結膿管	葡萄球菌	乙
股部中彈成肉芽膿傷	金色葡萄球菌	乙
腎部膿瘡	金色葡萄球菌	乙
股骨中彈碎裂，股部流膿	化血鏈球菌	甲
股骨中彈碎裂，股部成肉芽傷	格蘭陽性桿菌	甲
股骨中彈碎裂，股部成肉芽傷	金色葡萄球菌	乙
股骨中彈碎裂，股部成肉芽傷	變形桿菌，白色葡萄球菌	乙
股骨中彈碎裂，股部成肉芽傷	格蘭陽性桿菌	乙
股部切除，創口發炎	金色葡萄球菌	乙
腿部剝除，創口化膿	金色葡萄球菌	乙
腿部切除，創口發炎	葡萄球菌	丙
股部深處膿瘡	金色葡萄球菌	甲
脾膿瘡結管	化血鏈球菌	甲
肘部施關節成形術後發炎成痛	金色葡萄球菌	乙
股部深處膿瘡結管發炎成痛	金色及白色葡萄球菌，變形桿菌	丙
股骨中彈碎裂，股部結膿管	化血鏈球菌	丙
腓骨褥瘡潰爛	金色葡萄球菌	甲
髌部大片化膿褥瘡	金色葡萄球菌	乙
髌部化膿褥瘡及髌部老潰瘍	金色及白色葡萄球菌，變形桿菌	丙
髌部化膿褥瘡	變形桿菌	丙

附註：甲=膿淨，收口，長新肉
乙=膿淨或大減，傷口減小
丙=無效

我們^[58]在1947年夏曾和前國防醫學院細菌科及附屬醫院外科俞時中醫師等合作，用橘黴素治療外傷，共二組三十四例。內中二十四例係發炎潰爛創傷，十例係骨髓炎。治療方法先用橘黴素鈉水洗滌瘡口，次用飽蘸該水的紗布覆蓋。每日換藥二次，經三至五日後，有70%以上的病例獲得瘡處收口、長新肉、膿乾或膿大減的效果。這些病人的瘡患都有很久歷史，曾經青黴素等或磺胺類等治療而未見效，經短期橘黴素敷治，即見好轉。雖然二組臨床試驗中皆無對照，但絕不能因此而淹沒此種抗異生素在外用治療上的功用（表8）。

橘黴素有相當毒性。但在這三十四個外用治療例中除一例外，一般地說，尚不見中毒現象。不良反應亦祇少數病人有局部刺痛。我們為解決這種弊病，曾合成了橘黴素普魯卡因鹽^[23]。它的毒性很小，制菌功效和橘黴素一樣，外用時沒有局部反應。在用鈉鹽治療的三十四人中，僅有一人因瘡口太大太深，注入多量的0.1%鈉鹽溶液（每日六十至八十毫升）後，體溫和血壓下降；但停止治療時，立刻復原。此種反應我們^[21]和安勃羅司氏等^[6]亦曾在白兔受大量橘黴素靜脈注射時看到^[21]。

九. 總 論

自從雷斯屈氏等發現橘黴素已經二十年，以往很少人對於他們的研究結果有所懷疑。但在最近五、六年，經過許多學者努力研究，發覺已往雷斯屈氏等的解釋和推論尚有不少錯誤，須加更正。如今橘黴素的分子構造、立體構型都已經確定；左旋和右旋體的合成法也已研究成功；二氫橘黴素和橘黴素駢醇的化學已經分別闡明；重要水解物無旋雷斯屈酚的拆分業已成功。所以在化學方面未解決的重要問題，祇剩左旋和右旋異橘黴素的發現或綜合。從我們現有的知識可以推斷這二個未知物的制菌和制酶效力是不會和天然的橘黴素有顯著的差別。

橘黴素對於格蘭陽性菌連結核菌在內有強的抑制力。一般細菌對於此種抗異生素不易發生適應，不易由敏性變成頑性，可能因為橘黴素對於多種酵素如呼吸酶、醣酵解酶等都有抑制作用。橘黴素制菌作用的基本原理雖然沒有澈底明白，但從它能够抑制幾種重要的呼吸酶和醣酵解酶作用着想，已足以解釋制菌作用，雖然我們不能說橘黴素的作用盡在於此。橘黴素對於呼吸酶和醣酵解酶等的作用也同時可以解釋它對於動物的部分毒性。

從影響脢酶活力的試驗，我們想像似乎橘黴素並不是單獨對於脢酶、輔基或激活素起了某種變化，而是對整個的酶或酶和底物一起發揮了抑制或刺激作用。橘黴素是否對於每種酶都是一樣，猶是疑問。

橘黴素和它的衍化物對於各種酵素活力的抑制作用相差較小，對於細菌蕃殖和動物組織呼吸的抑制力相差較大。可能是因為各化合物對於細胞膜的滲透性不同，或因細胞中某種物質能中和幾種衍化物的毒性，或由於細胞內尚有更主要部分，它對於橘黴素等的毒性更為敏感。

橘黴素的相當毒性，和體內血漿或血清可以部份抵消橘黴素的作用，都足使橘黴素祇宜於外傷治療用，而不適於內用。橘黴素在外用時雖然吸收很快，但少見中毒，可能是因為它被吸收後即與血漿結合，或可能與組織內部物質發生作用而失效。血清或血漿何以能剋制橘黴素的作用，現在尚未明瞭。血清中何種因素能刺激受橘黴素作用的組織呼吸，亦屬未知。但可以確定它不是一種蛋白質，也不是一種尋常的碳水化合物代謝物。

橘黴素在外傷治療應用上是有希望的，不過還須更多試用。將來試用當採取橘黴素普魯卡因鹽。雖然現在已經用的外療藥種數很多，但是一般的抗異生素製造複雜，磺胺劑不宜於膿瘡，一般化學治療劑都易招致細菌的適應變為頑性。橘黴素沒有這些缺點。所以它的外用價值究竟如何，還是值得繼續研究的。

參 考 文 獻

- [1] Heberington, A. C., and Raisrick, H., 1931: Studies in the biochemistry of microorganisms. Part XIV On the production and chemical constitution of a new colouring matter, citrinin, produced from glucose by *Penicillium citrinum*. Trans. Roy. Soc., **B 220**, 269
- [2] Timonin, M. I., 1942: Another mould with anti-bacterial ability. Science, **96**, 494.
- [3] Raisrick, H., and Smith, G., 1935: Studies in the Biochemistry of microorganisms. XLII The metabolic products of *Aspergillus terreus* Thom. A new mould metabolic product:.....terrein Biochem. J., **29**, 606.
- [4] Oxford, A. E., 1945: 見 Ann. Rev. Biochem., **14**, 757.
- [5] Pallock, A. V., 1947: Production of citrinin by five species of *Penicillium*. Nature, **160**, 531.
- [6] Ewart, A. J., 1938: The presence of citrinin in *C. alaria crispata*. Ann. Botany, **47**, 913.
- [7] Coyne, F. P., Raisrick, H., and Robinson, R., 1931: Studies in the Biochemistry of Microorganisms. Part XV. Molecular structure of citrinin. Trans. Roy. Soc., **B220**, 279.
- [8] Sprenger, R. D., and Buoff, P. M., 1946: Citrinin I. The synthesis of 2, 4-dimethoxy-3-ethylbenzoic acid and 2, 6-dimethoxy-3-methylbenzoic acid. J. Org. Chem., **11**, 189.

- [9] Gore, T. S., Panse, T. B., and Venkataraman, K., 1946: Citrinin. *Nature*, **157**, 333.
- [10] Cram, D. J., 1948: The structure of citrinin. *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 440; Mould Metabolites III, The structure of citrinin. *Ibid.*, **70**, 4244.
- [11] Gore, T. S., Panse, T. B., and Venkataraman, K., 1948: The constitution of citrinin. *Ibid.*, **70**, 2287.
- [12] Brown, J. P., Cartwright, N. J., Robertson, A., and Whalley, W. B., 1948: Structure of citrinin. *Nature*, **162**, 72.
- [13] Cartwright, N. J., Robertson, A., and Whalley, W. B., 1949: A synthesis of citrinin. *Ibid.*, **163**, 94.
- [14] _____, 1949: Chemistry of Fungi VII. Synthesis of citrinin and dihydrocitrinin. *J. Chem. Soc.*, 1563.
- [15] Brown, J. P., Cartwright, N. J., Robertson, A., and Whalley, W. B., 1949: Chemistry of Fungi IV. The constitution of the phenol $C_{11}H_{16}O_3$, from citrinin. *Ibid.*, 895.
- [16] Raisrick, H., and Smith, G., 1941: Antibacterial substances from moulds, Part I. Citrinin, a metabolic product of *Penicillium citrinum* Thom. *Chem. Ind.*, **60**, 828.
- [17] Oxford, A. E., 1942: Antibacterial substances from moulds. Part III. Some observations on the bacteriostatic powers of the mould products citrinin and penicillic acid. *Chem. Ind.*, **61**, 48.
- [18] Robison, H. J., 1943: Thesis, Rutgers Univ., 見 *Ann. Rev. Biochem.*, **14**, 757.
- [19] Ambrose, Anthony M., and DeEds, F., 1945: Acute and subacute toxicity of citrinin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **59**, 289.
- [20] Chu, W. C., 1945: Miscellaneous pharmacologic actions of citrinin. *J. Lab. Clin. Med.*, **31**, 72.
- [21] Wang, Y., Hong, F. K., Hwang, F. T., and Fan, C. S., 1947: Citrinin as an antibiotic. *Science*, **106**, 291.
- [22] 汪猷, 1947: 橘黴素的一般認識. *科學世界*, **18**, 7.
- [23] Wang, Y., Tu, C. T., and Chia, C. W., 1948: On the structure and the antibiotic activities of citrinin and its derivatives. *Science Technol. China*, **2**, 53.
- [24] Wang, Y., Tu, C. T., and Ting, H. S., 1949: The dihydrocitrinins. *Ibid.*, **2**, 83.
- [25] Wang, Y., Tu, C. T., and Ting, H. S., 1950: Citrinopinacol. *Science Rec.*, **3**, 213.
- [26] Schwenk, E., Schubert, M., and Stahl, H., 1949: New reactions of citrinin. *Arch. Biochem.*, **29**, 220.
- [27] Warren, H. H., Daugherty, G., and Wallis, E. S., 1949: The synthesis of dihydrocitrinin and citrinin. *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 559.
- [28] Linnenmann, Ed., 1865: Ueber Benzophenon und einige Derivate desselben III. Verhalten des Benzophenons gegen Schwefelsäure und Zink. *Ann. Chem.*, **133**, 26.
- [29] Baker, W., and McGowan, J. C., 1937: Pinacols derived from *O*-hydroxy acetopenones. *J. Chem. Soc.*, **2**, 559.
- [30] Cram, D. J., 1950: Mould Metabolites. V. The stereochemistry and ultraviolet absorption spectrum of citrinin. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 1001.
- [31] Wang, Y., Ting, H. S., and Chia, C. W., 1951: Resolution of Raisrick's phenol B and its derived carboxylic acid. *Science Rec.*, **4**, 261; 汪猷, 丁宏助, 賈承武, 1951: 橘黴素酸解物無旋光斯屈酚 (Raisrick's phenol B) 的拆分. *生物化學*, **4**, 1.

- [32] Cram, D. J., 1949: Studies on Stereochemistry. II. The Wagner-Meerwein rearrangement in the 2-phenyl-3-pentanol and 3-phenyl-2-pentanol systems. *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 3875.
- [33] Wang, Y., and Ting, H. S., 1951: Synthesis of *d*- and *l*-citrinins. *Science Rec.*, **4**, 269;
汪猷、丁宏助, 1951: 左旋和右旋橘黴素的合成. *生物化學*, **4**, 4
- [34] Wang, Y., Ting, H. S., and Chia, C. W., 1951: Synthesis of *l*-decarboxycitrinin and *l*-decarboxyhydrocitrinin. *Science Rec.*, **4**, 253.
- [35] Buschmann, H., and Michel, R., 1939: Verfahren zur Herstellung von Isochromanen. *Friedl.*, **22**, **1**, 343.
- [36] Brown, J. P., Robertson, A., Whalley, W. B., and Cartwright, N. J., 1949: The Chemistry of fungi. Part V. The constitution of citrinin. *J. Chem. Soc.*, 867.
- [37] Johnson, D. H., Robertson, A., and Whalley, W. B., 1950: The chemistry of fungi. Part XIII. Citrinin. *Ibid.*, 2971.
- [38] Wang, Y., Chia, C. W., and Yang, S. Y., 1949: The effect of citrinin *in vitro* on *Mycobacterium tuberculosis*. *Chin. Med. J.*, **67**, 612.
- [39] 汪猷、賈承武, 未發表.
- [40] Wang, Y., Ting, H. S., and Mann, W., 1950: Metabolism of Citrinin. I. Determination of free citrinin in blood. *Chin. J. Physiol.*, **17**, 259.
- [41] Michaelis, M., and Thatcher, F. S., 1945: The action of citrinin on some respiratory Enzymes of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Arch. Biochem.*, **8**, 177.
- [42] 孟威廉、王應來、汪猷、胡旭初、賈承武, 未發表.
- [43] 孟威廉、汪猷, 未發表.
- [44] Karzag, L., 1933: Ueber die Oxidokatalytische Wirkung der Körpersäfte auf den Gewebestoffwechsel. *Biochem. Z.*, **260**, 44.
- [45] Warren, C. O., 1947: Fractionation of serum with respect to its action in enhancing tissue respiration. *J. Biol. Chem.*, **167**, 543.
- [46] Wang, Y., and Hsu, C. C., 1949: The effect of citrinin on the activity of urease. *Science Technol. China*, **2**, 31.
- [47] Umbreit, W. W., and Tonahay, N. E., 1949: The Action of streptomycin, III. The action of streptomycin in tissue homogenates. *J. Bact.*, **53**, 769.
- [48] 汪猷、屠傳忠、賈承武、孟威廉、丁宏助, 未發表.
- [49] 汪猷、屠傳忠, 未發表.
- [50] Sprenger, B. D., Ruoff, P. M., and Frazer, A. H., 1951: Citrinin Studies. Hydroxy- and methoxy-phenylglyoxylic acids. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2874.
- [51] Ambrose, A. M., and DeEds, F., 1946: Some toxicological and pharmacological properties of citrinin. *J. Pharmacol. Exper. Therap.*, **83**, 173.
- [52] Timonin, M. I., and Bouatt, J. W., 1943: Production of citrinin by *Aspergillus* sp. of the *canadus* group. *Canadian J. Pub. Health*, **5**, 80.
- [53] Wang, Y., and Ting, H. H., 1943: Colorimetric determination of citrinin. *Science Technol. China*, **1**, 93.
- [54] Wang, Y., Ting, H. H., and Mann, W., 1950: Metabolism of citrinin. I. Determination of free citrinin in blood. *Chin. J. Physiol.*, **17**, 259.
- [55] Wang, Y., and Ting, H. H., 1950: Metabolism of citrinin. II. Absorption, reabsorption and excretion of citrinin. *Ibid.*, **17**, 271.

- [56] Timonin, M. I., 私人通訊, 見註 [20].
- [57] Basin, R., 1949: Citrinin, its production and therapeutic use. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **31**, 865.
- [58] Yu, S. J., Kiang, C. S., Denn, S. V., Tsui, H. T., and Wang, Y., 1951: A preliminary report on the topical use of citrinin. *Chin. Med. J.*, **69**, 199.
- 俞時中、江俊賢、鄧述微、蔡宏道、汪猷, 1951: 用橘黴素治療外傷的初步報告. *中華醫學雜誌*, **37**, 400.