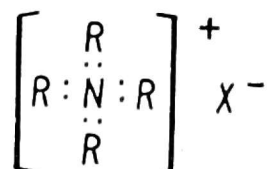


KAZIMIERZ BLAIM

CZWARTORZĘDOWE ZWIĄZKI AMONOWE I ICH ZNACZENIE BIOLOGICZNE

1. Ogólna charakterystyka

Pod pojęciem czwartorzędowych związków amonowych rozumieć należy połączenia azotowe o ogólnym wzorze $(R_4N)^+X^-$, w którym cztery atomy węgla są bezpośrednio połączone z atomem azotu wiązaniem kowalencyjnym, zaś anion związany jest z azotem poprzez wiązanie elektrowalencyjne (jonowe):



Tak całkowicie podstawione związki organiczne należą do kategorii połączeń chemicznych znanych pod ogólną nazwą związków oniowych. Atom azotu w tych połączeniach jest czterowiązalny. Heterocykliczne połączenia, w których azot związany jest z jednym z atomów węgla wiązaniem podwójnym, określa się również jako czwartorzędowe związki amonowe. Tak więc omawiane połączenia można podzielić najogólniej na dwie podstawowe grupy: alifatyczne i heterocykliczne. Wśród tych ostatnich połączeń wyróżnia się połączenia alicykliczne (np. stachydryna) i aromatyczne. Spotykane w naturze aromatyczne czwartorzędowe związki amonowe mają w swych drobinach układ tiazolowy (tiamina) lub układ pirydyniowy (trygonelina).

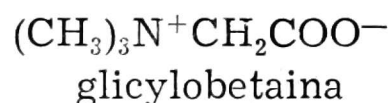
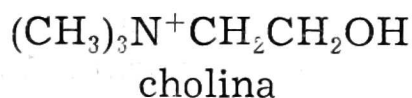
Odrębną i bardzo charakterystyczną grupą omawianych połączeń są tzw. betainy. Związki te zawierają dodatnią czwartorzędową grupę amonową oraz grupę ujemną w tym samym łańcuchu węglowym, jako $R_3N^+CH_2COO^-$. Betainy należą więc do połączeń obojnaczych (zwitterionne). Wśród betain spotykamy prawie wszystkie wyliczone poprzednio rodzaje czwartorzędowych związków amonowych. Znane są więc zarówno betainy alifatyczne (jak np. glicylobetaina), betainy alicykliczne (np. stachydryna), jak i betainy aromatyczne (np. trygonelina).

Najczęściej spotykanymi rodnikami alkilowymi u czwartorzędowych związków amonowych jest grupa metylowa. Spotykane w naturze czwar-

torzędowe związki amonowe występują najczęściej w postaci soli łatwo rozpuszczalnych w wodzie oraz polarnych rozpuszczalnikach organicznych. Są one natomiast nierozpuszczalne w rozpuszczalnikach apolarnych. Czwartorzędowe związki amonowe są niewątpliwie najliczniejszą i najbardziej urozmaiconą klasą połączeń spośród czwartorzędowych związków azotowych występujących w naturze.

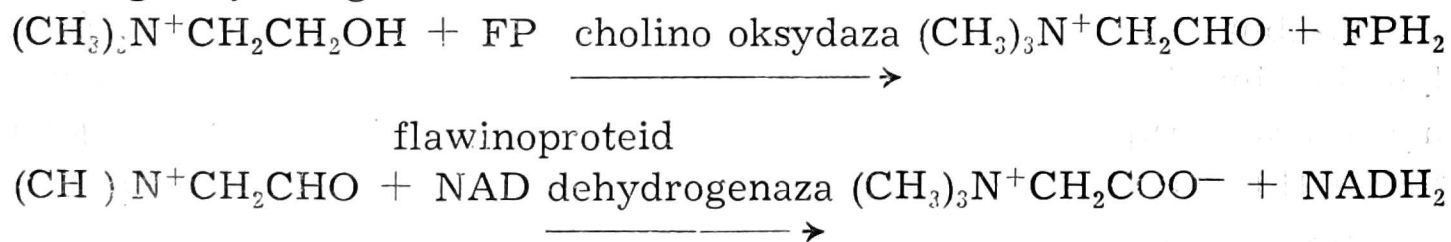
2. Występowanie w naturze

Czwartorzędowe związki amonowe są szeroko, ale nierównomiernie rozpowszechnione w przyrodzie. Najliczniejszą grupę stanowią połączenia alifatyczne. Do tej grupy połączeń należą najczęściej spotykane czwartorzędowe związki amonowe: cholina i glicylobetaina:



Cholina należy przypuszczalnie do najbardziej rozpowszechnionych w naturze połączeń oniowych. Jest ona obecna we wszystkich żywych komórkach, przede wszystkim w połączeniu z frakcją fosfolipidową. Pod względem znaczenia ilościowego cholina jako składnik takich fosfolipidów, jak lecytyna i sfingozyna, przesłania prawie całkowicie inne możliwe frakcje choliny. Z punktu widzenia jednak znaczenia jakościowego, występujące w niewielkich tylko ilościach estry kwasu octowego choliny odgrywają podstawową rolę w neurofizjologii.

Glicylobetaina jest szeroko rozpowszechniona w różnych tkankach roślinnych i występuje w stosunkowo dużych koncentracjach w gatunkach *Leguminosae* i *Graminaceae* oraz u roślin wiecznie zielonych. U tych roślin wspomniana substancja spotykana jest we wszystkich tkankach ale najwięcej jest jej w liściach. Szczególnie duże ilości glicylobetainy zawiera liście buraka (*Beta vulgaris* L.). Między choliną i glicylobetainą zachodzi ściśle powiązanie biogenetyczne. Glicylobetaina powstaje prawdopodobnie z choliny w wyniku oksydacyjnych procesów enzymatycznych według załączonego schematu:



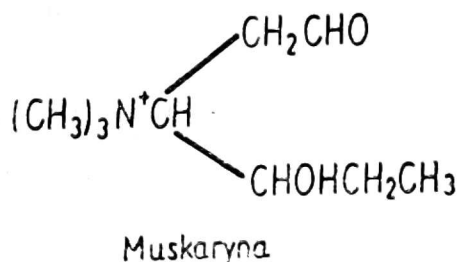
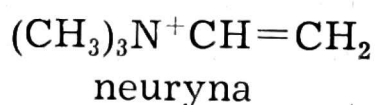
Wśród innych alifatycznych czwartorzędowych związków amonowych, występujących w naturze, zasługuje jeszcze na baczniejszą uwagę karnityna (β -hydroksybutrylobetaina). Związek ten wykryty został po raz pierwszy przed z górą 50 laty, ale na jego znaczenie biologiczne zwrócono dopiero uwagę w 1952 r. Karnityna wydaje się być związkiem wystę-

pującym powszechnie. Stosunkowo duże jej ilości występują w mięśniach szkieletowych oraz w jajach kurzych przed rozwojem zarodka.



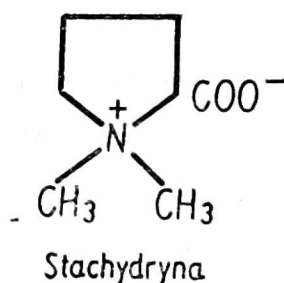
Warto również wymienić tutaj także takie połączenia jak neuryna i muskaryna.

karnityna



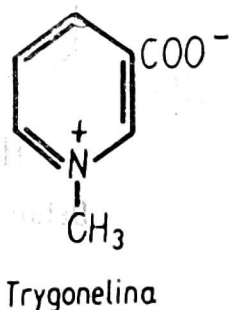
Oba wymienione ostatnio związki należą do substancji silnie toksycznych i jak się wydaje występują one jedynie u niektórych organizmów niższych.

Do najbardziej znanych heterocyklicznych czwartorzędowych związków amonowych z grupy połączeń alicyklicznych należy stachydryna.



Stachydryna została znaleziona w różnorodnym materiale roślinnym, często w dużych ilościach, jak np. w liściach drzew pomarańczy (13 μmoli na gram suchej masy). Występuje ona najczęściej w towarzystwie swojego homologa homostachydryny.

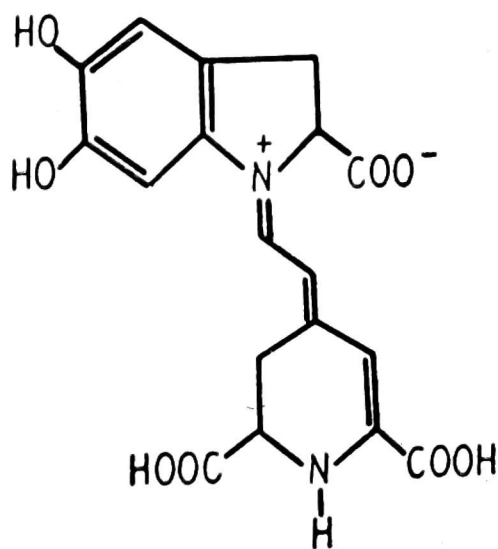
Spośród aromatycznych czwartorzędowych związków amonowych występujących w naturze na największą uwagę z punktu widzenia ilościowego zasługuje niewątpliwie trygonelina.



Związek ten w świecie roślinnym występuje przypuszczalnie powszechnie. Do najzasobniejszych pod tym względem zawartości trygoneliny należą przede wszystkim rośliny z rodziny *Papilionaceae*, *Gramineae*, *Compositae*, *Labiatae*, *Solanaceae* i *Rubiaceae*. Trygonelina spotykana jest w różnych częściach roślin. Najpowszechniej i w największych ilościach występuje jednak w nasionach. Do najbogatszych pod względem zawartości tego składnika należą nasiona kawy i niektórych roślin motylkowych, jak np. nostrzyków i kozieradki.

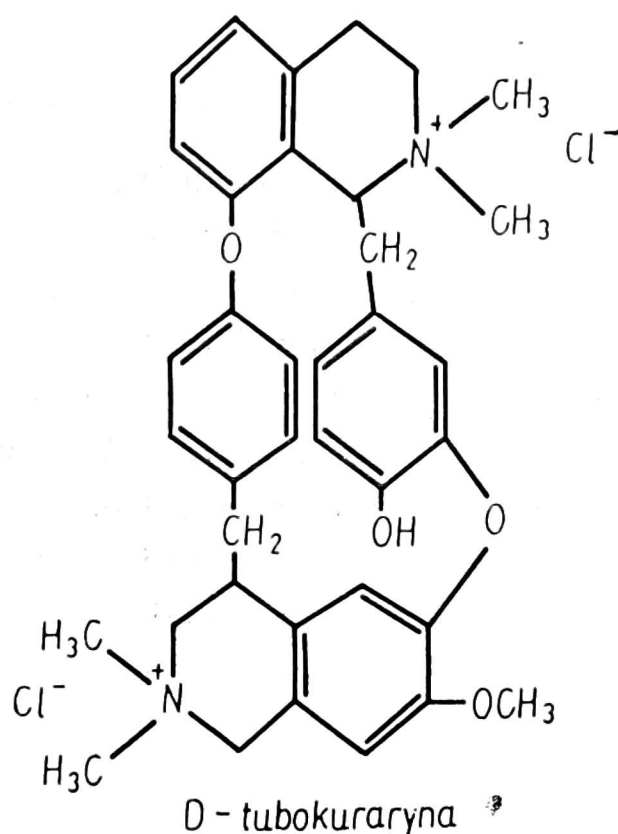
Zawartość trygoneliny w roślinach ulega dużym wahaniom w ciągu okresu wegetacyjnego. Według danych wielu autorów ilość trygoneliny zmienia się już w okresie kiełkowania nasion. Zaobserwowano również zmiany zawartości trygoneliny w czasie dojrzewania nasion.

Obok trygoneliny do połączeń pirydyniowych należą dwunukleotyd nikotynoamido-adeninowy (NAD) oraz jego fosforan (NADP). Wymienione związki zaliczają się do podstawowych koenzymów wchodzących w skład łańcucha oddechowego i występują one we wszystkich komórkach żywych. Stosunkowo niedawno wyjaśniona została budowa azotowych barwników roślin należących do rzędu *Centrospermae*, którym dawniej przypisywano strukturę zbliżoną do antocyjanów. Prawdopodobnie wszystkie tego typu barwniki są zbliżone do budowy betanidyny, będącej głównym pigmentem buraków czerwonych (*Beta vulgaris v. rubra*). Betanidyna reprezentuje nieznaną dotychczas wśród barwników naturalnych budowę, którą można jednakże zaliczyć do czwartorzędowych związków amonowych.



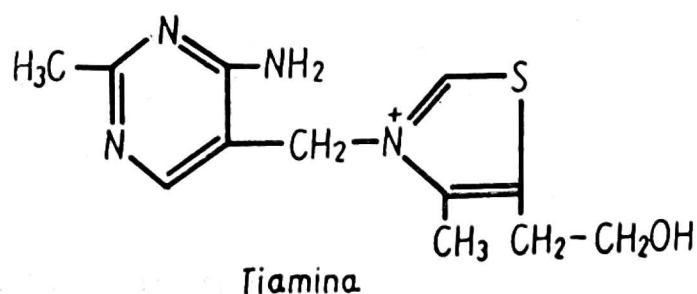
Betanidyna

Do kategorii omawianych połączeń należą także alkaloidy kurary. Budowa np. D-tubokuraryny wygląda następująco:



Także i inne alkaloidy, np. morfina czy strychnina, nabierają właściwości kurarowych po przeprowadzeniu ich w połączenia czwartorzędowe.

Do czwartorzędowych związków amonowych aromatycznych o układzie tiazolowym należy jedna z najlepiej poznanych witamin, a mianowicie tiamina (witamina B₁):



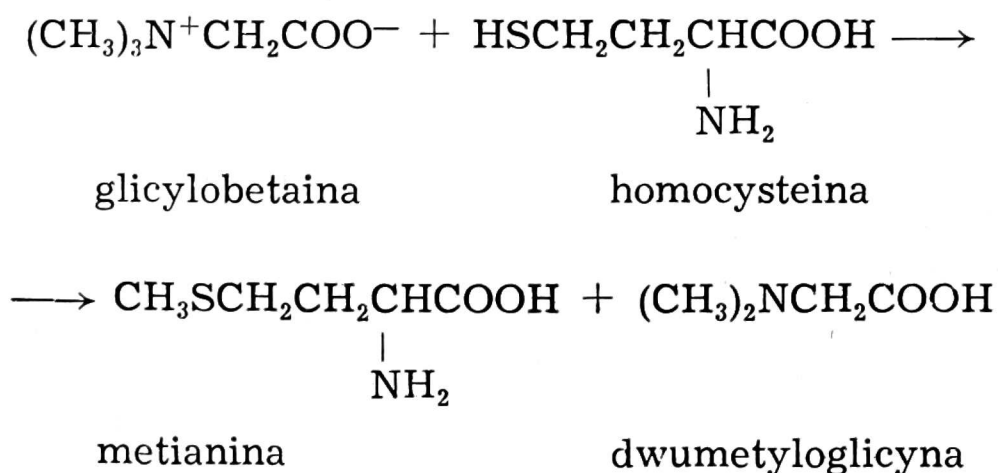
Witamina B₁ jest szeroko rozpowszechniona w przyrodzie. Najbogatszym jej źródłem są drożdże, zarodki roślin, łuski ziarn, orzechy. W częściach zielonych roślin tiamina znajduje się w ilościach od 0,5 do 1,5 μg w stosunku do 1 g świeżej masy. Występuje ona częściowo w postaci wolnej, częściowo zaś w postaci dwufosfo-tiamino-proteidu. Dwufosfotiamina znana jest pod nazwą kokarboksylazy i jest koenzymem enzymu karboksylazy.

3. Rola czwartorzędowych związków amonowych w procesach metylacji i transmetylacji

Procesy metylacji i transmetylacji stanowią, obok procesów transformacji, integralną część ogólnego podstawowego mechanizmu przemian komórkowych, jakim jest przenoszenie jednostek jednowęglowych.

Procesy transmetylacji zachodzą niezależnie od układu transformującego — pod wpływem działania odpowiednich enzymów, tzw. transmetylaz. Zjawisko transmetylacji łączy się z zagadnieniem występowania labilnych grup metylowych. Transmetylacja wiąże się z szeregiem nie rozwiązanych jeszcze problemów. Przede wszystkim nie wiadomo, jaki jest mechanizm tych procesów, w jaki sposób rozluźnione zostaje wiązanie grupy metylowej z jej nośnikiem i dlaczego pewne układy strukturalne umożliwiają te reakcje a inne nie. Wiadomo tylko, że w procesach transmetylacji zachodzi bezpośrednie przenoszenie grup metylowych z odpowiednich donatorów na akceptory bez uprzedniego utlenienia do połączeń formylowych.

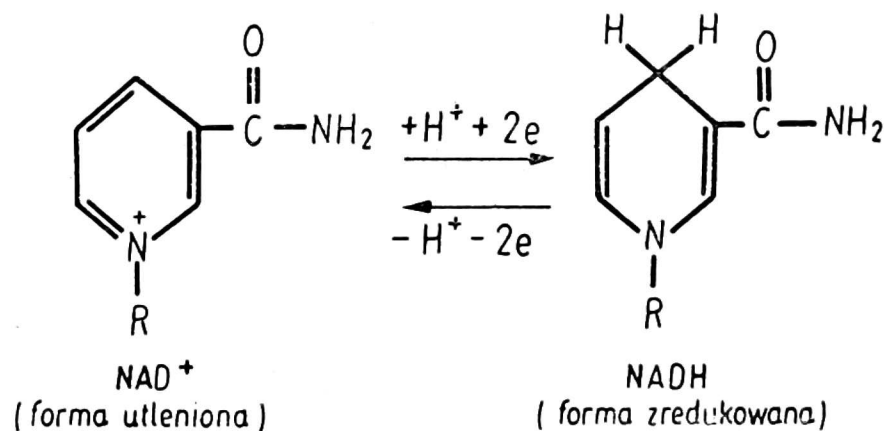
Reakcje transmetylacji można przeprowadzić *in vitro*, ale tylko przy udziale nietkniętych komórek, a więc ze skrawkami tkanek. Zniszczenie struktury komórkowej rozbija całość złożonego układu enzymatycznego, biorącego udział w przenoszeniu grup metylowych. Jako donatory grup metylowych czynne są tylko te związki azotowe lub siarkowe, które cechuje struktura oniowa (amoniowa lub sulfoniowa). Nie wszystkie jednak połączenia oniowe są *a priori* donatorem grup metylowych. Do donatorów grup $-\text{CH}_3$, należących do omawianych przez nas połączeń, należy glicylobetaina i cholina. Jednakże ta ostatnia nie może bezpośrednio przenosić grup metylowych. Musi być uprzednio utleniona poprzez aldehyd do glicylobetainy. Do jednych z podstawowych procesów, w których bierze udział wymieniona betaina jako donator grup metylowych, należy powstawanie metioniny z homocysteiny:



4. Udział czwartorzędowych związków amonowych w procesach oksydacyjnoredukcyjnych

System przenoszenia elektronów w tzw. łańcuchu oddechowym jest w zasadzie bardzo podobny u wszystkich organizmów i składa się z czterech podstawowych elementów: 1) enzymów zawierających nukleotydy dwufosfopirydynowe; 2) flawoproteiny; 3) koenzymu Q; 4) cytochromy.

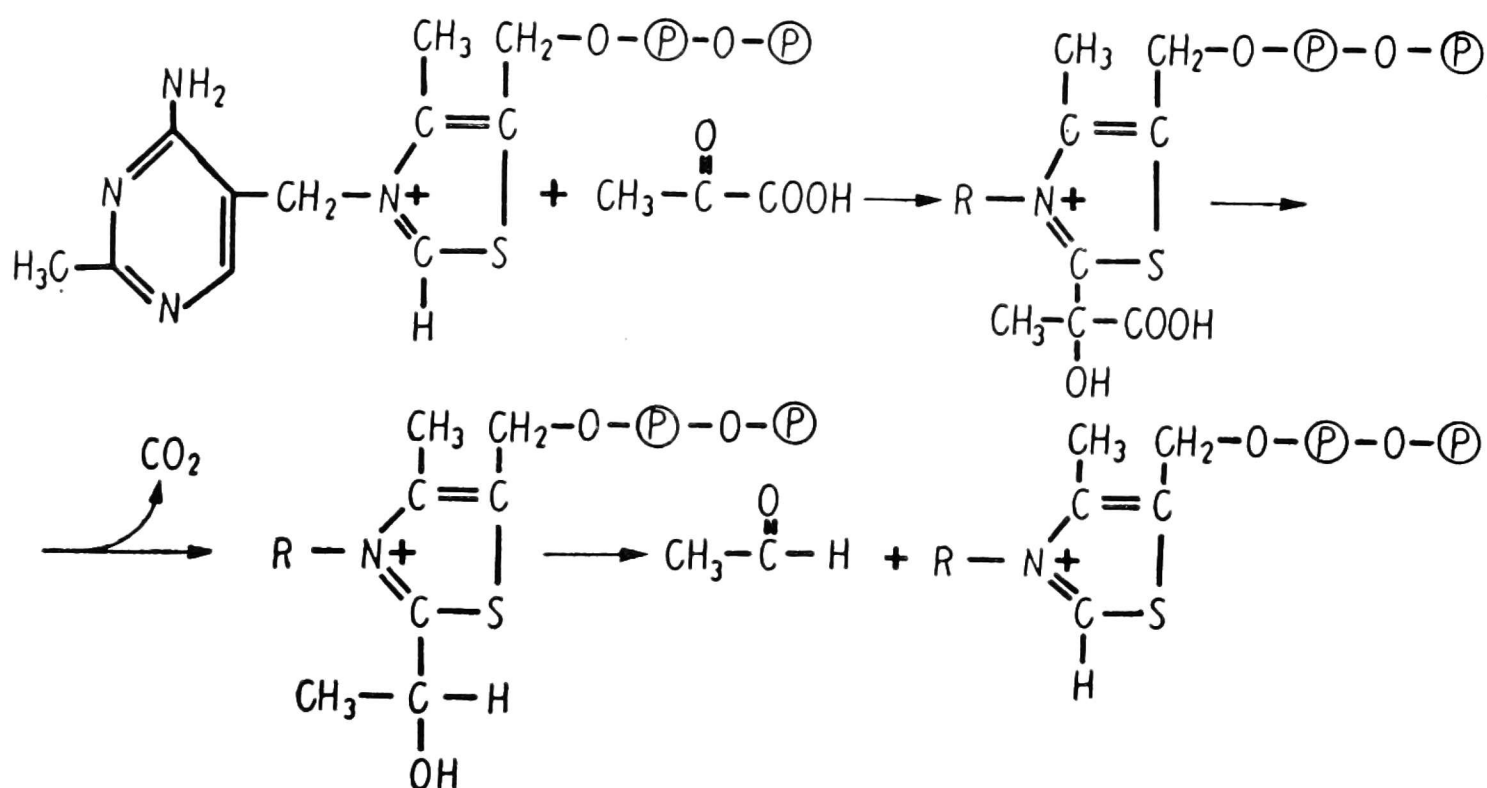
Jak już wspominaliśmy, nukleotydy dwufosfopirydynowe NAD i NADP, a właściwie ich formy utlenione, należą do połączeń pirydynowych. Zarówno NAD jak i NADP są koenzymami dehydrogenaz, a więc enzymów katalizujących odszczepienie wodorów od substratów. Akceptorami odszczepionych wodorów są nukleotydy dwufosfopirydynowe. Proces ten przebiega według załączonego schematu:



Zredukowane koenzymy NAD względnie NADP oddają następnie przyłączone wodory koenzymom flawinowym FAD lub FMN (dwunukleotyd flawinoadeninowy i mononukleotyd flawinowy). Znanych jest tylko niewiele procesów oksydacyjnoredukcyjnych przebiegających w komórkach ustrojów żywych bez udziału NAD i NADP.

5. Czwartorzędowe związki amonowe jako witaminy

Wśród grupy witamin rozpuszczalnych w wodzie trzy z nich należą do kategorii omawianych czwartorzędowych związków amonowych. Do najlepiej poznanych zalicza się niewątpliwie tiamina (witamina B₁). Znaczenie tiaminy polega na tym, że w postaci pirofosforanu, jako koenzym karboksylazy, uczestniczy w pierwszej fazie przebiegu dekarboksylacji. Proces ten biegnie przypuszczalnie według następującego schematu:



Wszystkie znane procesy dekarboksylacji przebiegają w organizmach żywych przy udziale koenzymu kokarboksylazy.

Znaczenie choliny jako witaminy dla człowieka i zwierząt polega przypuszczalnie z jednej strony na jej udziale w procesach metylacji, z drugiej strony na jej udziale w budowie ważnego składnika komórek — lecytyny. Należy również pamiętać, że ester choliny i kwasu octowego — acetylocholina występuje w ustroju jako przenośnik stanu czynnego z układu nerwowego na mięśnie prądkowane, a poza tym spotykamy ją w całym układzie cholinoergicznym, wszystkich zwojach autonomicznych oraz w części przedzwojowej układu adrenoergicznego.

Stosunkowo najmniej poznaną witaminą z grupy czwartorzędowych związków amonowych jest karnityna. Chociaż związek ten znany był już dawniej, to jednak jej znaczenie biologiczne poznane zostało dopiero z chwilą, kiedy to zidentyfikowano ją z witaminą B_T — jako czynnik wzrostowy niektórych owadów.

W 1963 r. Bremer wykazał, że karnityna bierze udział w przemianie kwasów tłuszczowych. Estry karnityny i wyższych kwasów tłuszczowych powstają na drodze enzymatycznej z odpowiednich estrów koenzymu A. Te estry karnityny aktywniej utleniają się przy udziale izolowanych mitochondrii w porównaniu do wolnych kwasów tłuszczowych; przypuszczalnie estry karnityny są transportową formą, w postaci której kwasy tłuszczowe przenikają do mitochondrii.

6. Czwartorzędowe związki amonowe jako regulatory procesów wzrostowych roślin

W ostatnich latach zwrócono uwagę, że szereg tzw. regulatorów procesów wzrostowych roślin należy do kategorii czwartorzędowych związków amonowych. Do najlepiej pod tym względem poznanych połączeń należą niektóre pochodne choliny a przede wszystkim chlorek chlorocholiny, znany w skrócie jako preparat CCC.



Związek ten działa na niektóre rośliny w ten sposób, że rośliny poddziałane tą substancją mają w porównaniu do roślin kontrolnych zahamowany wzrost na długość, międzywęzła pozostają krótsze a często równocześnie grubsze. Liście barwią się intensywniej na zielono i są grubsze. Te zmiany morfologiczne są bardzo zbliżone do działania intensywnego światła. Zahamowanie wzrostu nie prowadzi najczęściej do pomniejszenia ilości świeżej i suchej masy, o ile substancja nie jest użyta w zbyt dużej koncentracji. Ten ogólny obraz reakcji rośliny na działanie CCC jest w zasadzie jednakowy zarówno u roślin jedno- jak i dwuliściennych.

Prócz pochodnych choliny, z grupy czwartorzędowych związków amonowych, pewne własności o charakterze substancji wzrostowych stwierdzono u dwu betain: glicylobetainy i trygoneliny.

W 1962 r. Wheeler wykazał, że glicylobetaina hamuje wzrost młodych liści buraków i fasoli. Na podstawie swych wyników i danych dotyczących zmian w zawartości betainy w czasie wzrostu buraków wspomniany autor wysuwa przypuszczenie, że glicylobetaina kontroluje procesy wzrostu liści badanych roślin.

W badaniach nad trygoneliną stwierdzono, że związek ten hamuje wzrost siewek niektórych roślin i jest substancją wzrostową izolowanych korzeni. W 1966 r. Karsten wykazał u trygoneliny pewne własności w działaniu zbliżone do działania kinin.

7. Zagadnienie występowania wiązań wysokoenergetycznych w czwartorzędowych związkach amonowych

W toku badań nad procesami energetycznymi przebiegającymi u organizmów żywych stwierdzono, że istnieją pewne typy związków przenoszących wyzwoloną energię w egzoergonicznych procesach katabolitycznych na endoergoniczne procesy anabolietyczne. Związki tego typu, z których najważniejszy jest adenozynotrójfosforan (ATP), opisywane są często jako „wysokoenergetyczne” lub jako związki „bogate w energię”. Mówi się również często, że połączenia tego typu mają „wiązania

wysokoenergetyczne”, wyrażając w ten sposób myśl, że wiązania pirofosforanowe są bardzo aktywną częścią drobiny. Lepszym wyrażeniem jest stwierdzenie, że ATP ma „wysoki potencjał przenoszenia grupy fosforanowej”, dla zaznaczenia, że grupa fosforanowa może łatwo być przenoszona w procesach chemicznych na inne związki. Większość poznanych dotychczas połączeń tego typu należy do związków fosforanowych. W latach 1952 i 1953, Cantoni oraz Wooley wysunęli sugestię, że niektóre związki oniowe należałoby również zaliczyć do połączeń wysokoenergetycznych, przede wszystkim zaś połączenia metyl-sulfoniowe. Natomiast czwartorzędowe związki amonowe wykazują na ogół zdolność przenoszenia grup metylowych na poziomie „niskoenergetycznym”. Zwłaszcza dotyczy to połączeń alifatycznych. Pozycja czwartorzędowych związków amonowych aromatycznych nie jest jeszcze pod tym względem dokładnie ustalona. Według Cantoniego, można jednakże przypuszczać, że te ostatnio wymienione połączenia zajmują pośrednie miejsce pomiędzy związkami sulfoniowymi a czwartorzędowymi związkami amonowymi alifatycznymi; przypuszczalnie jednak są one bardziej zbliżone do tych pierwszych.

Z przeprowadzonych badań dotyczących własności trygoneliny jako substancji wzrostowych korzeni zaobserwowano, że izolowane korzenie rosnące na pożywce z trygoneliną wykazują lepszy wzrost w porównaniu do korzeni rosnących w obecności kwasu nikotynowego. W innych badaniach stwierdzono, że trygonelina w sposób wyraźny wpływa na wzrost temperatury kiełkowania nasion machorki.

Wyniki przytoczonych tutaj prac zdają się wskazywać na możliwość istnienia wysokiego potencjału przenoszenia grupy metylowej w trygonelinie. Innymi więc słowy nie jest wykluczone, że w wymienionym związku wiązanie grupy metylowej przy azocie jest, z punktu widzenia energetycznego, zbliżone swym charakterem do pirofosforanowych wiązań w ATP.

LITERATURA

1. Blaim K.: *Naturwiss.*, 14, 332, 1960.
2. Blaim K., Wanner H.: *Naturwiss.*, 14, 331, 1960.
3. Blaim K.: *Roczn. Nauk Roln.*, 85-A, 307, 1961.
4. Blaim K.: *Roczn. Nauk Roln.*, 86-A, 527, 1962.
5. Blaim K., Gawroński E.: *Bull. de L'Acad. Polon. Sc. biol.*, 11, 389, 1963.
6. Blaim K., Gawroński E.: *Bull. de L'Acad. Polon. Sc. biol.* 14, 1, 1966.
7. Blaim K.: *Swoiste substancje roślin uprawnych*. PWRiL, Warszawa, 1965.
8. Blaim K.: *Barwniki roślinne*, PWRiL, Warszawa, 1967.
9. Bregoff H. M., Delwiche C. C.: *J. Biol. Chem.*, 217, 819, 1955.
10. Bremer J.: *J. Biol. Chem.*, 237, 3628, 1963.
11. Bremer J.: *J. Biol. Chem.*, 238, 2774, 1963.

12. Byerrum R. U., Wing R. E.: *J. Biol. Chem.*, 205, 637, 1953.
13. Cantoni G. L.: w „*Phosphorus Metabolism*” (W.D. Mc Elroy and B. Glass, eds.), vol. 2., 129, Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, Maeyland, 1952.
14. Cantoni G. L.: *Comparative Biochemistry*, vol. 1, 181, 1960.
15. Christensen F., Tolbert B. M.: *The Synthesis of Choline Chloride and Acetylcholine Chloride Labeled in the Methyl Group with ¹⁴C*. Atomic Energy Chommision, Unclassified Report 373, 1949.
16. Crowell B. T., Rennie S. D.: *Biochem. J.*, 58. 318, 1954.
17. Ferger S., du Vigneaud V.: *J. Biol. Chem.*, 185, 53, 1950.
18. Fagner J.: *Vitamine*, Bd. I, VEB. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1964.
19. Guggenheim M.: *Die Biogenesen Amine*. Karger. Basel, 1951.
20. Harwood H. J., Cella J. A.: *Quaternary Amonium Compounds*. w „*Encyclopedia of Chemical Technology*”, vol. 11., 375. The Interscience Encyclopedia, Inc. New York 1953.
21. Karsten U.: *Naturwiss.*, 53. 232, 1966.
22. Leh H. O.: *Angew. Bot.*, 37, 312, 1964.
23. Sribney M., Kirkwood S.: *Cand. J. Chem.*, 32, 918, 1954.
24. West E., Todd H.: *Textbook of Biochemistry*. The Macmillan Company. New York, 1963.
25. Wheeler A. W.: *J. Exp. Botany* 14, 265, 1963.
26. Wooley D. W.: *Nature* 171, 323, 1953.