

IGNACY GRUNDLAND

## STRUKTURA CHEMICZNA A DZIAŁANIE ANTYBIOTYKÓW

Antybiotyki są szeroko stosowane, a literatura naukowa dotycząca tych substancji jest bardzo obszerna. Jednak mało jest danych dotyczących współzależności między strukturą chemiczną, a działaniem antybiotyków. Z istniejącego piśmiennictwa wynika, że lepiej znany jest sposób stosowania antybiotyków, aniżeli powody ich działania; jest to niewątpliwie zasadnicza luka w opanowaniu zagadnienia antybiotyków.

Początkowo zresztą trudno nawet było cośkolwiek powiedzieć na ten temat. Antybiotyki, związki naturalne o właściwościach przeciwbakteryjnych, wytwarzane przeważnie przez drobnoustroje roślinne, uważane były początkowo za substancje o strukturze nieokreślonej. Z biegiem czasu jednak okazało się, że substancje te odpowiadają związkom o strukturze określonej. Jest rzeczą zrozumiałą, że powstał również problem powodów działania tych struktur czynnych. A problem ten narzucał się szczególnie, ponieważ racjonalne założenia syntezy chemicznej mogącej ewent. prowadzić do wytwarzania nowych związków czynnych o właściwościach antybiotycznych zależą od poznania mechanizmu działania antybiotyków już uzyskanych.

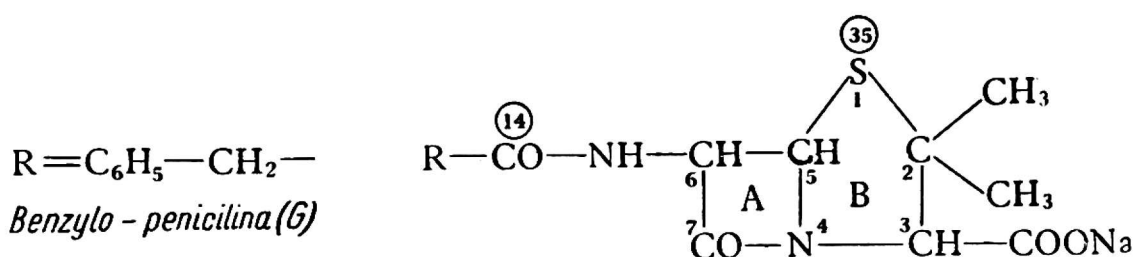
W niniejszym zarysie postaram się potraktować ten problem w świetle uzyskanych danych — będzie to jednak w obecnym stanie rzeczy raczej zestawienie strzępów rozmaitych dostępnych aspektów tego zagadnienia.

Niewątpliwie antybiotyki wpływają w rozmaity sposób na przemianę materii drobnoustrojów czy też zakażonego organizmu. Zgodnie z tym powstały hipotezy dotyczące mechanizmu działania antybiotyków. Jednak związek pomiędzy wpływem na przemianę materii a strukturą chemiczną antybiotyków jeszcze nie został dokładnie pojęty. Tak więc rozpatrywane tu będą głównie te fakty, które ściśle dotyczą struktury oraz mechanizmu oddziaływania na otoczenie, pod kątem zachodzącej reakcji chemicznej.

Z grubsza problem współzależności między strukturą chemiczną a działaniem antybiotyków można rozbić na następujące punkty: a) skład substancji czynnej, b) skład bakterii lub środowiska przy zetknięciu się substancji drobnoustroju z substancją zakażonego organizmu, c) na jakiej zasadzie występuje czynne oddziaływanie antybiotyków. Z konieczności

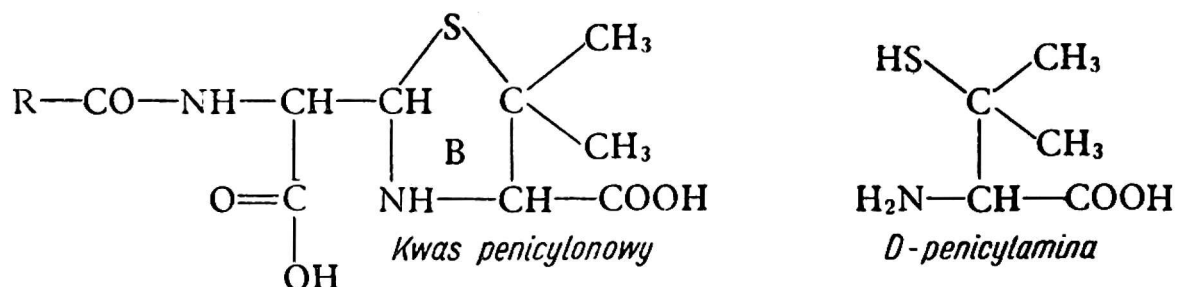
ograniczymy rozpatrywanie zagadnienia współzależności między działaniem a strukturą chemiczną antybiotyków do najbardziej znanych i będących w powszechnym użytku, zatem do tych, dookoła których najczęściej nagromadziło się pracy badawczej. Są to: penicylina, streptomycyna, tetracyklinowe antybiotyki, chloromycetyna oraz dekapeptydowe zasadowe antybiotyki. Struktury tych związków czynnych zostały dokładnie określone, a działanie wspomnianych antybiotyków wydaje się związane z właściwą strukturą, ponieważ odtworzenie na drodze syntezy chemicznej analogicznych związków prowadzi do związków biologicznie podobnie czynnych jak i substancje naturalne.

Penicylinie odpowiada struktura następująca (1940—1945):



Jest to związek tiazolowy o charakterze kwasu, dający z zasadami sole nierozpuszczalne (sól prokainowa), lub rozpuszczalne w wodzie (sól sodowa, potasowa). Obok nasyconego pierścienia pięciocłonowego (B) tiazolidyny, występuje pierścień czterocłonowy (A) powstały wskutek wiązania  $\beta$ -laktamowego między grupą karboksylową a grupą iminową znajdującą się wobec poprzedniej w pozycji  $\beta$ . W pozycji 3 pierścienia tiazolidynowego znajduje się grupa karboksylowa nadająca cząsteczce penicyliny właściwości dość silnego nietrwałego kwasu tworzącego sole. W pozycji 2 pierścienia tiazolidyny występują podstawione dwie grupy metylowe. Przy węglu 6 pierścienia laktamowego znajduje się acylowana grupa aminowa, przy czym rodniki kwasowe są różne dla poszczególnych rodzajów penicyliny.

Wskutek hydrolizy wiązania laktamowego pod wpływem działania zasad powstaje z cząsteczki penicyliny nieaktywny kwas penicylinodwukarbonowy (kwas penicylonowy), w którym dalsza hydroliza rozbija pierścień tiazolidynowy prowadząc do D-penicylaminy oraz aldehydów penicylinowych.



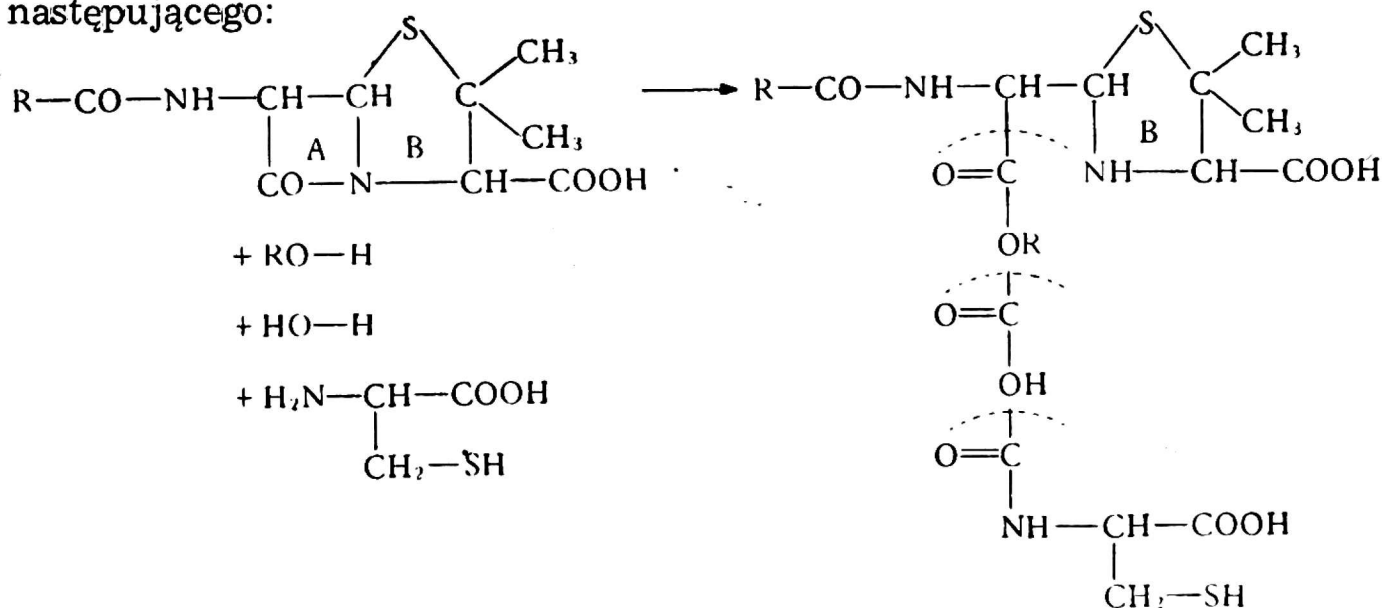
Rozpatrując znaczenie składników danej struktury penicyliny dla zachowania właściwości antybiotycznych można stwierdzić, że:

a) rodzaj podstawnika R jest właściwie bez znaczenia, może on ulegać zmianie bez straty właściwości biologicznych, (1)

b) grupa karboksylowa, a więc ładunek ujemny cząsteczki czynnej, nie jest niezbędna ponieważ amid penicylinowy zachowuje działanie antybiotyczne, (2)

c) zachowanie nienaruszonych pierścieni  $\beta$ -laktamowych oraz tiazolidyny warunkuje działanie biologiczne. Ponieważ pierścień tiazolidynowy nie jest chemicznie czynny, przeto wydaje się, że to pierścień  $\beta$ -laktamowy czynnie występuje w oddziaływaniu biologicznym, najpewniej poprzez acylowanie receptora biologicznego. Pierścień tiazolidyny byłby jedynie powodem uaktywnienia systemu  $\beta$ -laktamowego, jak również powodem wybiórczego jego działania.

Acylacja receptorów biologicznych zachodzi wobec ugrupowań —OH, —SH, —NH<sub>2</sub> za otwarciem pierścienia  $\beta$ -laktamowego według schematu następującego:



Uprzednie oddziaływanie śladów bezwodnika octowego lub chlorku acetylu w silnie buforowanym środowisku na komórkę bakteryjną uniemożliwia pobranie penicyliny drogą acylacji przez substancję bakteryjną (3).

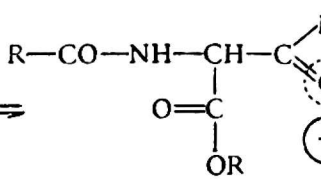
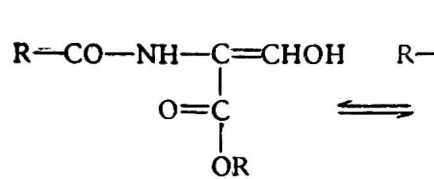
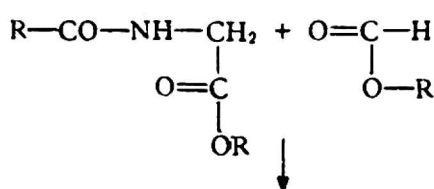
Wiązanie penicyliny z receptorem biologicznym wydaje się nieodwracalne, a najbardziej wyraźnie występuje w pH nieco niższym niż 7; wydaje się ono występować wobec warstwy kompleksu lipido-poliglicero-fosforowo-białkowego, znajdującej się tuż poniżej powierzchni bakterii. Wiązanie to powstaje (4) bardzo szybko (w ciągu 2 do 3 min.), a działanie bakteriobójcze występuje dopiero po 30 min.

Wprowadzone w skład penicyliny izotopy S<sup>35</sup> oraz C<sup>14</sup> wykazują, że wiązanie penicyliny z receptorem biologicznym jest trwałe i nieodwracalne (5, 6). Zachowanie proporcji izotopów C<sup>14</sup> oraz S<sup>35</sup> w penicylinie osiadłej na receptorze biologicznym świadczy, iż przy oddziaływaniu biologicznym nie zachodzi rozbitcie cząsteczki czynnej pomiędzy S i C.

Ilość znacznej penicyliny osiadłej na substancji komórki bakteryjnej jest znikoma i wynosi około 1000 cząsteczek na komórkę przy użyciu 0,1 jedn/ml (przeciętnie od 200—750 cząsteczek na komórkę) (7, 8). Wskazywałoby to na odpowiednią ilość ugrupowań w komórce bakteryjnej, mogących wejść w reakcję (być acylowanymi) z cząsteczką penicyliny. Oddziaływanie penicyliny na drobnoustroje prowadzi po pewnym czasie do lizy bakteryjnej.

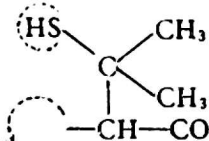
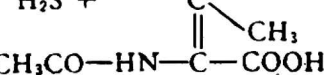
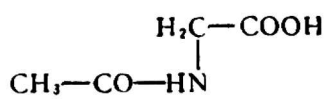
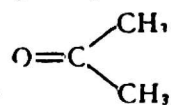
Wyodrębnienie ośrodka czynnego w strukturze penicyliny pozwoliło na przystąpienie do racjonalnej syntezy tego związku. Prace nad syntezą penicyliny były już przedsięwzięte w latach 1945—1954, jednak opierały się na błędnym określeniu struktury czynnej i nie dały rezultatów. Dopiero ostatnio udało się Sheehanowi (9) i jego współpracownikom z Massachusetts Institute of Technology oraz z pracowni badawczych Mercka uzyskać na drodze syntezy chemicznej odtworzenie wzoru penicyliny i otrzymać w ten sposób związek syntetyczny o właściwościach antybiotyku. Największą trudność na drodze syntezy penicyliny stanowił fakt, iż odtworzenie pierścienia tiazolidyny oraz cyklizacja kwasów penicylonowych prowadziły do przegrupowania w kierunku powstania pierścienia oksazolowego oraz otwarcia pierścienia tiazolidynowego:

*Synteza aldehydów penicylinowych*



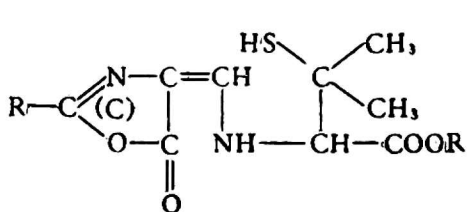
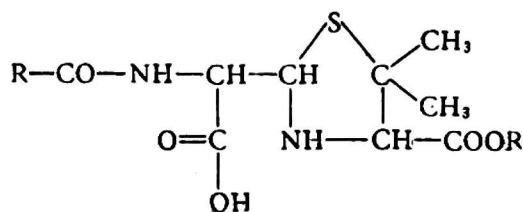
*Aldehyd penicylinowy*

*Synteza D-penicylaminy*

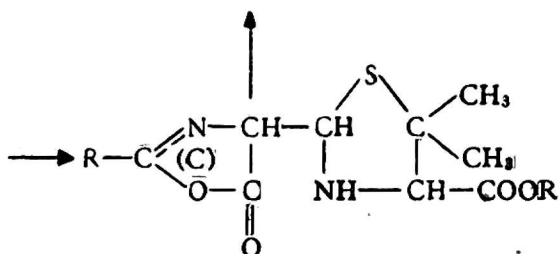
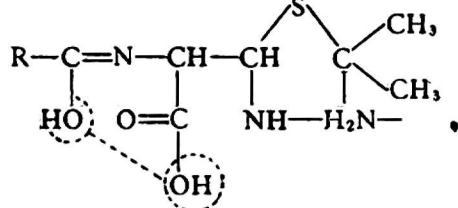


*D-penicylamina*

*Odtworzenie pierścienia tiazolidyny w układzie kwasu penicylonowego*



*Niewłaściwa cyklizacja oksazolowa*





Monoalkilowanie azotu amidowego nie wykluczało wspomnianej ewentualności. Dopiero wtrącenie grupy ftalimidowej zabezpieczało przed niekorzystnym przegrupowaniem cząsteczki (10, 11).

Pozostała sprawa odtworzenia pierścienia  $\beta$ -laktamowego przez cyklizację wewnątrzcząsteczkową kwasu penicylonowego, uzyskanego na drodze syntetycznej. Pierwsze próby tego rodzaju cyklizacji odbyły się przy użyciu chlorku tionylu i doprowadziły do syntezy benzylo-6-benzylo-sulfamidopenicylonianu o pewnych właściwościach antybiotycznych (12). Okazało się jednak, że użycie dla cyklizacji  $\beta$ -laktamowej alifatycznych karbodwuimidów było bardziej dogodnie dla uzyskania wiązania amidowego między aminą, a karboksylem — odbywa się bowiem już w temperaturze pokojowej w fazie wodnej. Dzięki użyciu tej ostatniej metody udało się uzyskać na drodze całkowitej syntezy odpowiednik naturalnej penicyliny, tj. fenoksymetylopenicylinę, trwałą w środowisku kwaśnym (9).

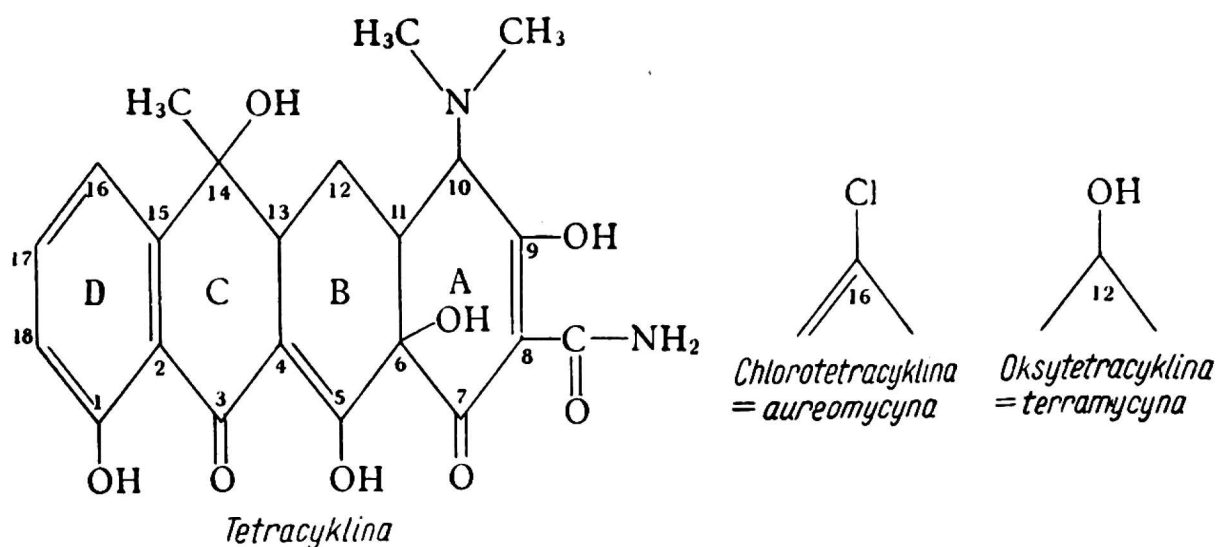
Oto etapy tej syntezy (tab. na str. 12):

Tak więc w przypadku penicyliny substancja czynna, wyodrębniona z ekstraktu naturalnego wytwarzanego przez drobnoustroje roślinne, prowadzi do ustalenia wzoru cząsteczki. Analiza składników struktury chemicznej podkreśla znaczenie sprzężonych pierścieni tiazolidyny oraz  $\beta$ -laktamu, wskazując na ewentualny mechanizm chemicznego oddziaływania tego związku na substancję receptorów biologicznych. Całkowita synteza chemiczna tego związku posługuje się skutecznie analizą wartości składników strukturalnych, odtwarza identyczny związek odpowiadający penicylinie naturalnej V; wytyczną syntezy chemicznej staje się prostszy w budowie chemicznej związek acylujący, nie powodujący uczuleń (w rodzaju allilomerkapto-penicyloiny = 0<sup>10</sup>), odporny na szkodliwe działanie penicylinazy (jak cefalosporyna N, penicylinowa pochodna kwasu L-aminodipinowego), a także o szerszym zakresie przeciwbakteryjnym. To zaś, co wydaje się najważniejsze z nawarstwienia wysiłku twórczego, jest fakt coraz to mocniejszego ugruntowywania się pojęcia reakcji chemicznej zachodzącej pomiędzy związkiem o strukturze ściśle określonej, a grupami czynnymi substancji receptora biologicznego. Oczywiście pozostaje wiele niedomówień jeśli chodzi o ujęcie chemiczne oraz podstawę oddziaływania chemicznego — niemniej znany jest obecnie przebieg reaktywności cząsteczki penicyliny, a to jest już pół drogi do rozwiązania problemu współzależności między strukturą chemiczną a działaniem tego antybiotyku.

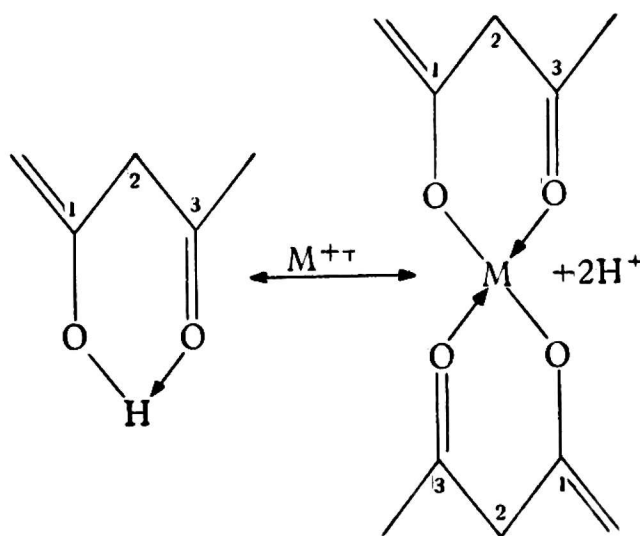
Roztwory soli potasowej penicyliny benzyłowej są najbardziej trwałe w pH około 6—7. W temperaturze 0° i w pH 5 spadek ich aktywności do połowy pierwotnej wartości stwierdza się po około 8 dniach, podczas gdy roztwory silnie kwaśne, a zwłaszcza alkaliczne (nawet słabo alkaliczne) inaktywują się bardzo szybko.



Antybiotyki tetracyklinowe (1948—1952) zawierają cztero-pierścieniowy układ zwany tetracykliną. Jest to układ częściowo nasyconego naftacenu z kilkoma podstawnikami. Strukturalny wzór antybiotyków tej grupy, mianowicie aureomycyny, terramycyny oraz tetracyliny osiągnięty został w 1952 r. na skutek szeregu prac (12, 13, 14, 15, 16).



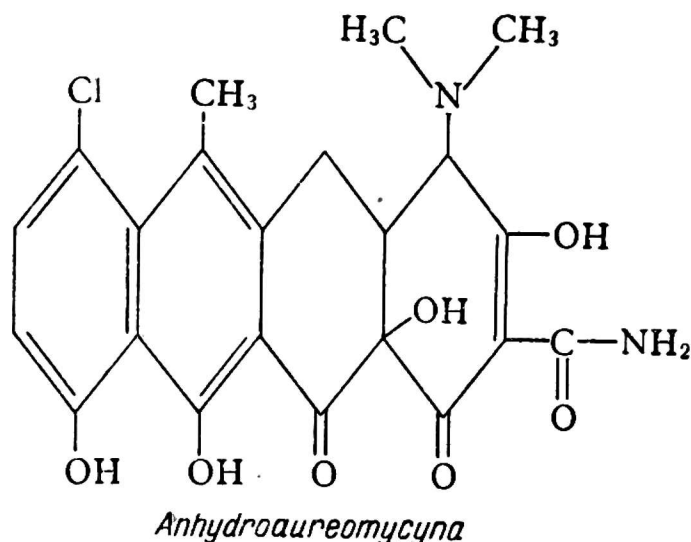
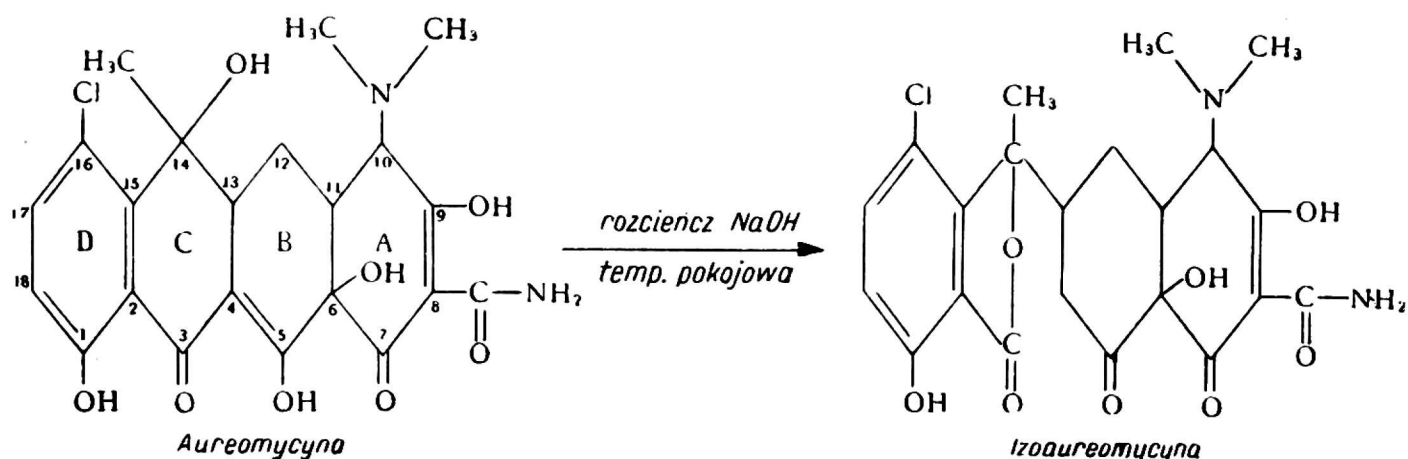
Aromatyczny jest w zasadzie pierścień D, trzy pozostałe są hydroaromatyczne. Każdy z pierścieni posiada co najmniej jedną grupę hydroksylową. Grupy fenolowe nadają tym związkom charakter kwasów. Występująca w pozycji C<sup>10</sup> grupa dwumetyloaminowa nadaje antybiotynom tym z kolei charakter zasadowy. W pozycji C<sup>8</sup> znajduje się grupa karboksamidowa. Związki te są amfoteryczne — tworzą sole z kwasami i zasadami. W strukturach tych zasługuje na podkreślenie podwójny układ dwuketonów 1,3 wzdłuż łańcucha C<sub>1</sub> do C<sub>7</sub>, z których to grup ketonowych dwie mają formę enolową. Mogą się one wiązać z kationami pochodzącymi ze środowiska według schematu:



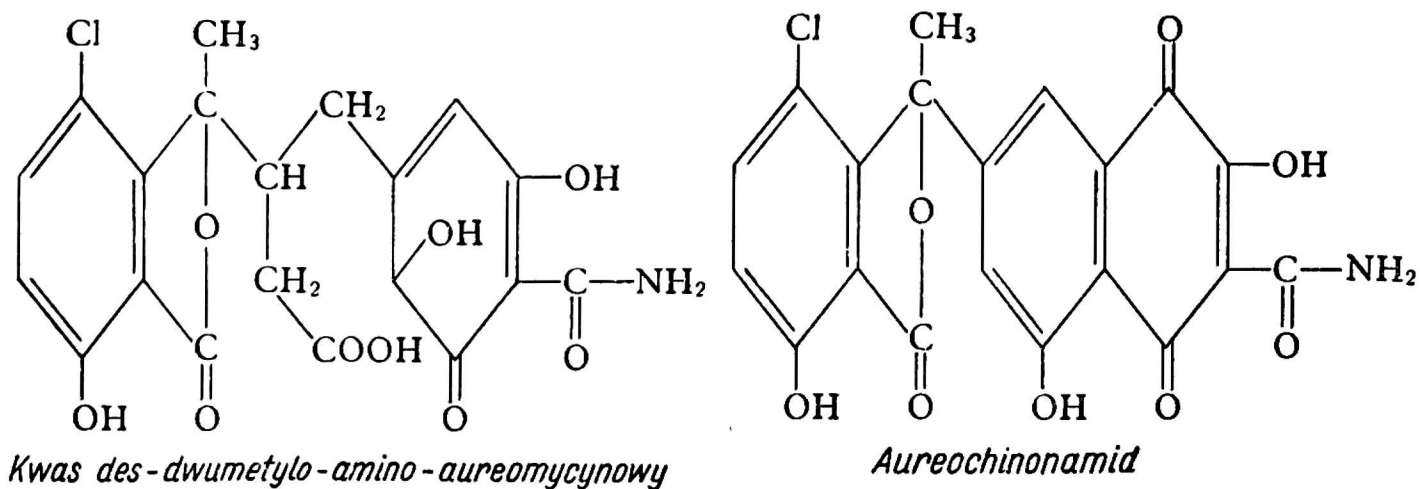
Aureomycyna (*Streptomyces aureofaciens* Duggar 1948) już w temperaturze pokojowej na skutek działania rozcieńczonego roztworu NaOH

ulega przegrupowaniu cząsteczki przechodząc w biologicznie nieaktywny izomer izoaureomycynę, w której pierścień C jest otwarty, przy czym powstaje wewnętrzne wiązanie laktonowe:

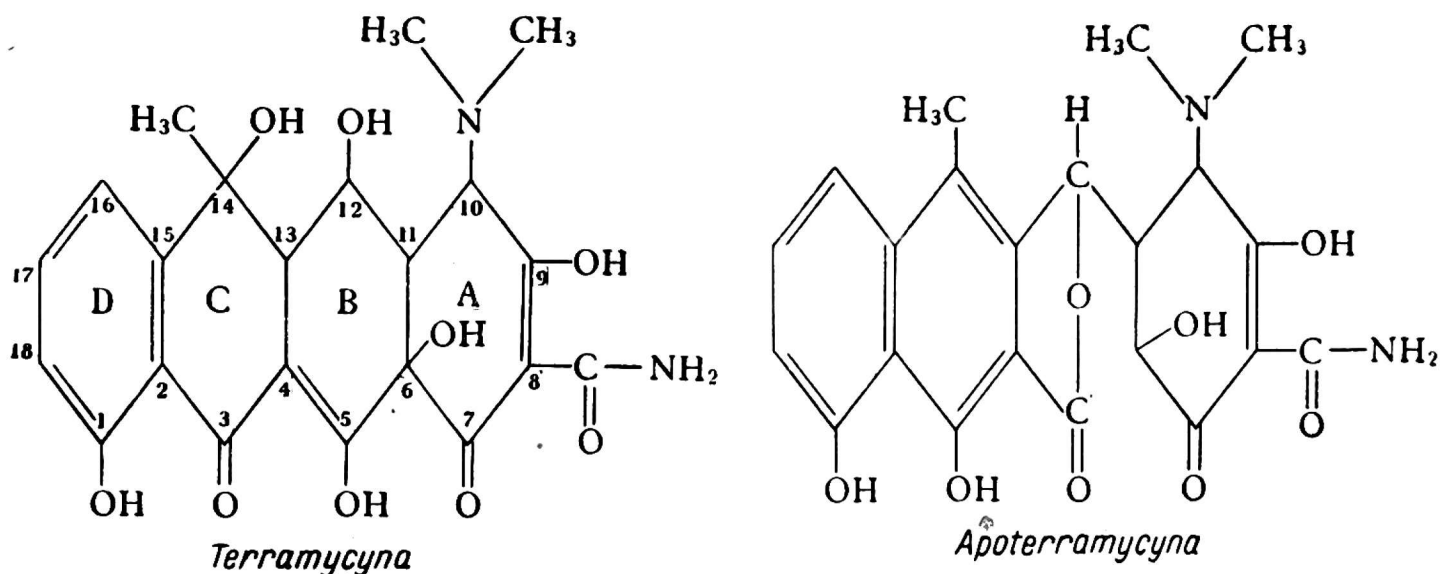
Aromatyzacja pierścienia C prowadzi do związku biologicznie nieczynnego — anhydroaureomycyny:



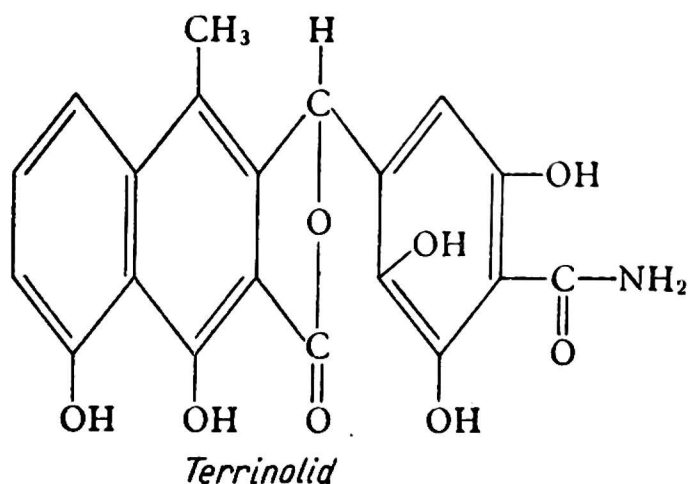
Działaniem 5n NaOH na aureomycynę można odszczepić grupę dwumetyloaminową otrzymując kwas des-dwumetyloamino-aureomycynowy, który z kolei po cyklizacji przez odwodnienie oraz po utlenieniu tlenem powietrza przechodzi w aureochinonamid:



Działaniem kwasów, mianowicie 1,5 n roztworu HCl przy 60° na terramycynę otrzymuje się apoterramycynę  $\alpha$  i  $\beta$ , w której otwarty pierścień B wytworzył wiązanie laktonowe, natomiast pierścień C uległ aromatyzacji.



Ogrzewanie terramycyny z rozcieńczonym kwasem solnym powoduje odszczepienie grupy dwumetyloaminowej i otwarcie pierścienia B z jednoczesną laktonizacją między C<sub>5</sub> i C<sub>12</sub>, tworząc związek zwany terrinolidem. Nietrwały ten związek ulega łatwo utlenieniu tlenem powietrza z powodu obecności w cząsteczce pierścienia oksyhydrochinowego.

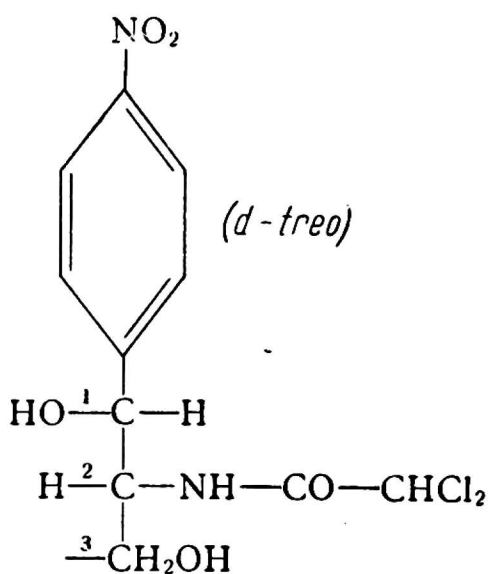


Terramycyna w kwaśnych roztworach jest trwała, a w alkalicznych znacznie mniej trwała, jednak trwalsza w tych warunkach aniżeli roztwory streptomycyny czy też aureomycyny. Tetracykliny przeszkadzałyby procesom fosforylacji w komórce bakteryjnej. Jak widać z powyższych danych, układ tetracyklinowy jest nietrwały, a produkty rozbicia powstałe na skutek otwarcia środkowych pierścieni nie przedstawiają form chemicznie wielce aktywnych — zatem można przypuszczać, że tak znamienne antybiotyczne działanie tych związków występuje przed ich



rozbiciem. W niezmienionej strukturze czynny wobec otoczenia wydaje się wyżej wzmiankowany podwójny układ dwuketonowy wzdłuż C<sub>1</sub> do C<sub>7</sub>. Na zasadzie rozpatrywania struktury czynnej, mimo wydatnych właściwości biologicznych tych związków antybiotycznych, trudno na razie pojąć mechanizm ich działania. Wiązania wodorowe wytwarzające się w obrębie cząsteczki o strukturze tetracyklinowej w podwójnym układzie dwuketonów 1,3 wzdłuż łańcucha C<sub>1</sub> do C<sub>7</sub> mogłyby być powodem reaktywności wobec środowiska antybiotyków opartych na tej strukturze (np. wobec białek, nukleoproteidów).

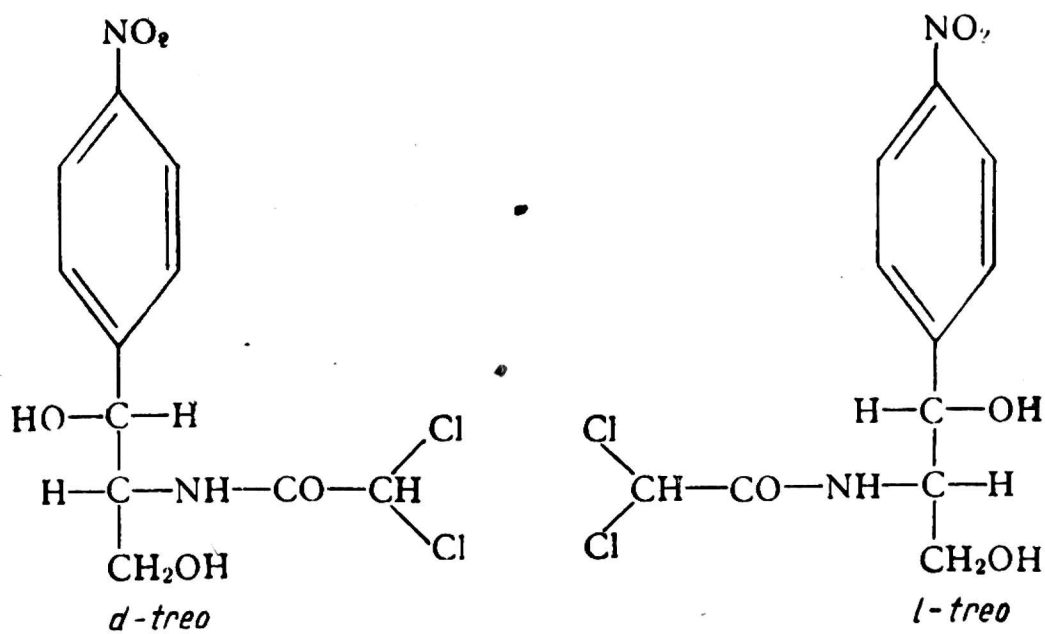
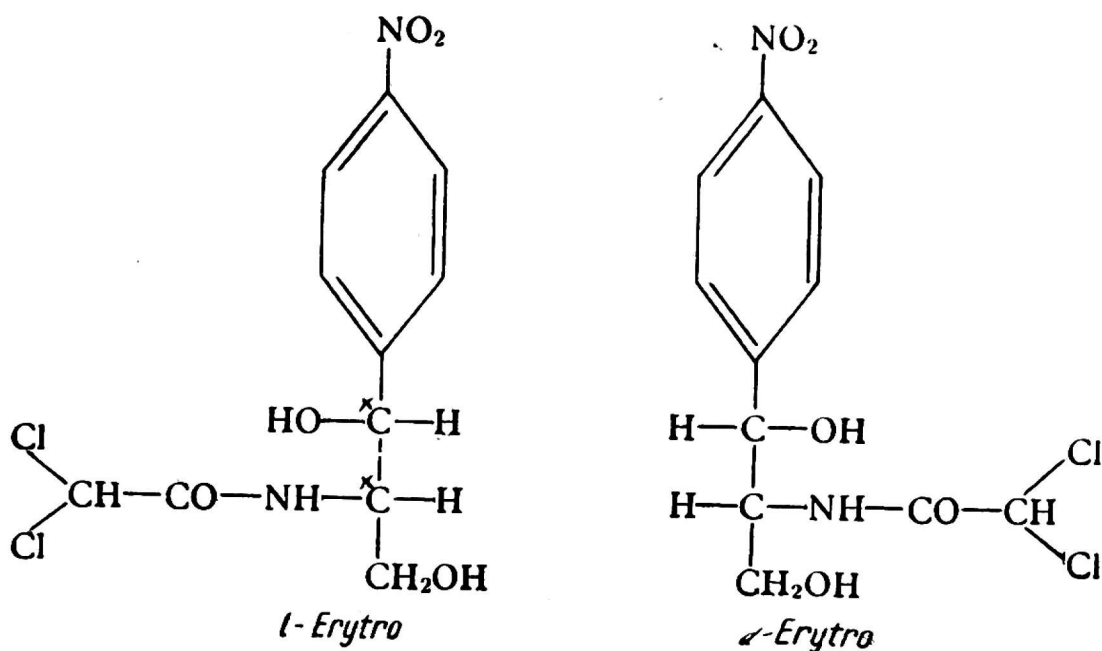
Chloramfenikol = chloromycetyna (Bruckholder — 1947), naturalny produkt przemiany materii *Streptomyces Venezuelae*, jest antybiotykiem najwcześniej otrzymanym na drodze syntezy (17, 18). Jest to związek naturalny, organiczny, zawierający silnie związane (kowalencyjnie) dwa atomy chloru, wchodzące w skład reszty kwasu dwuchlorooctowego związanego w cząsteczce wiązaniem amidowym, oraz grupę nitrofenylową, rzadko spotykaną w związkach naturalnych wytwarzanych przez ustroje żywe.

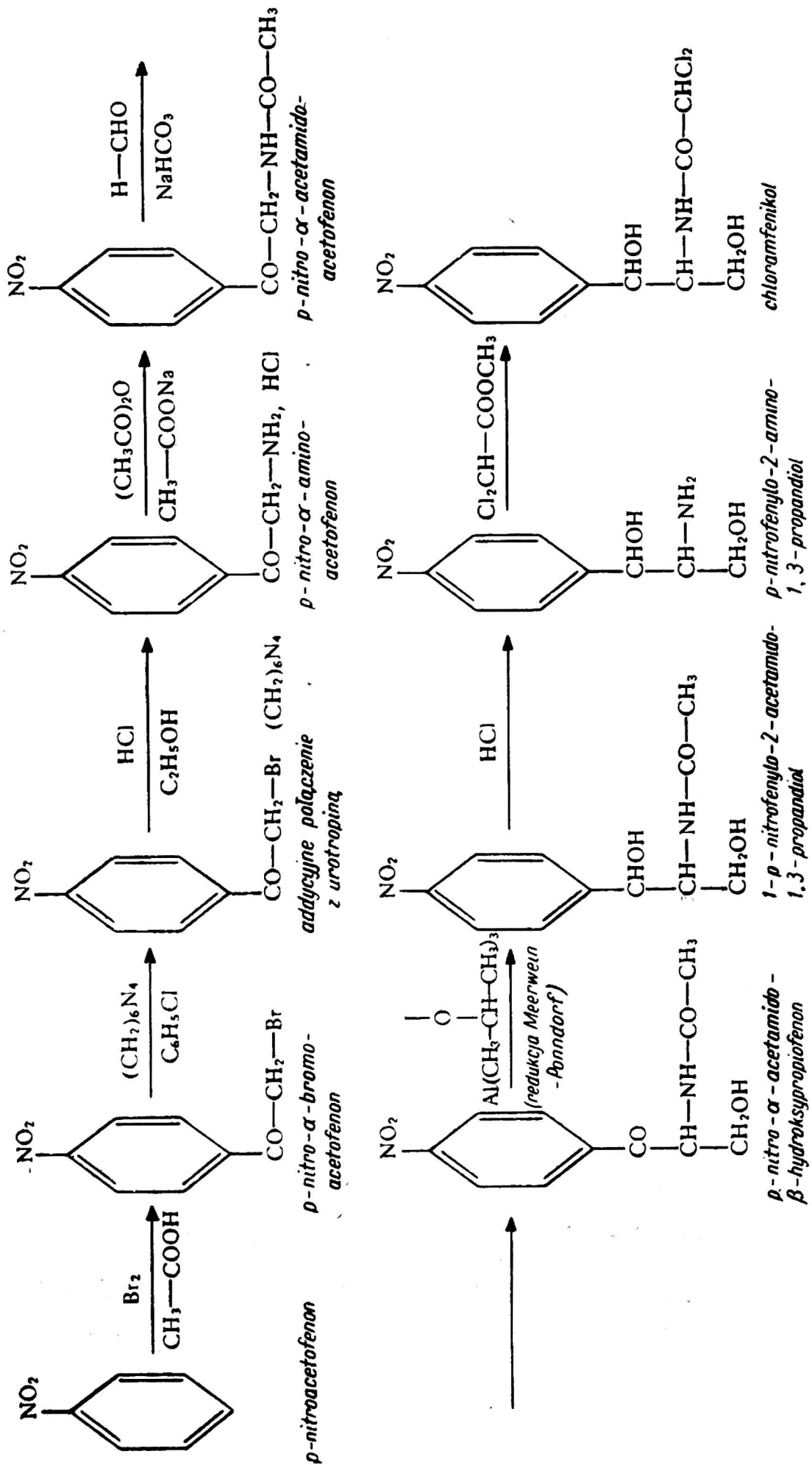


W cząsteczce tej występuje trójwęglowy łańcuch o dwóch wolnych grupach hydroksylowych. Związek ten można rozpatrywać jako pochodną trójmetylenoglikolu (1—3 propandiolu) z grupą nitrofenylową podstawioną w C<sub>1</sub>, oraz grupą dwuchloroacetamidową podstawioną w C<sub>2</sub>. Dwa węgle tego trójwęglowego łańcucha są asymetryczne. Obecność dwóch węgli asymetrycznych stwarza możliwość istnienia czterech struktur izometrycznych, z których tylko jedna odmiana, a mianowicie *d-treo*-1-*p*-nitrofenylo-2-dwuchloroacetamido-1-3-propandiol jest czynna biologicznie.

Uzyskana wieloma drogami synteza tego antybiotyku ułatwiła zrealizowanie stopniowych odmian strukturalnych. Zmiany w części aromatycznej cząsteczki nie wpływały na jej właściwości biologiczne, natomiast jakakolwiek zmiana części alifatycznej wpływa szkodliwie na oddziaływanie biologiczne.

## Izomery chloromycetyny (chloramfenikolu)

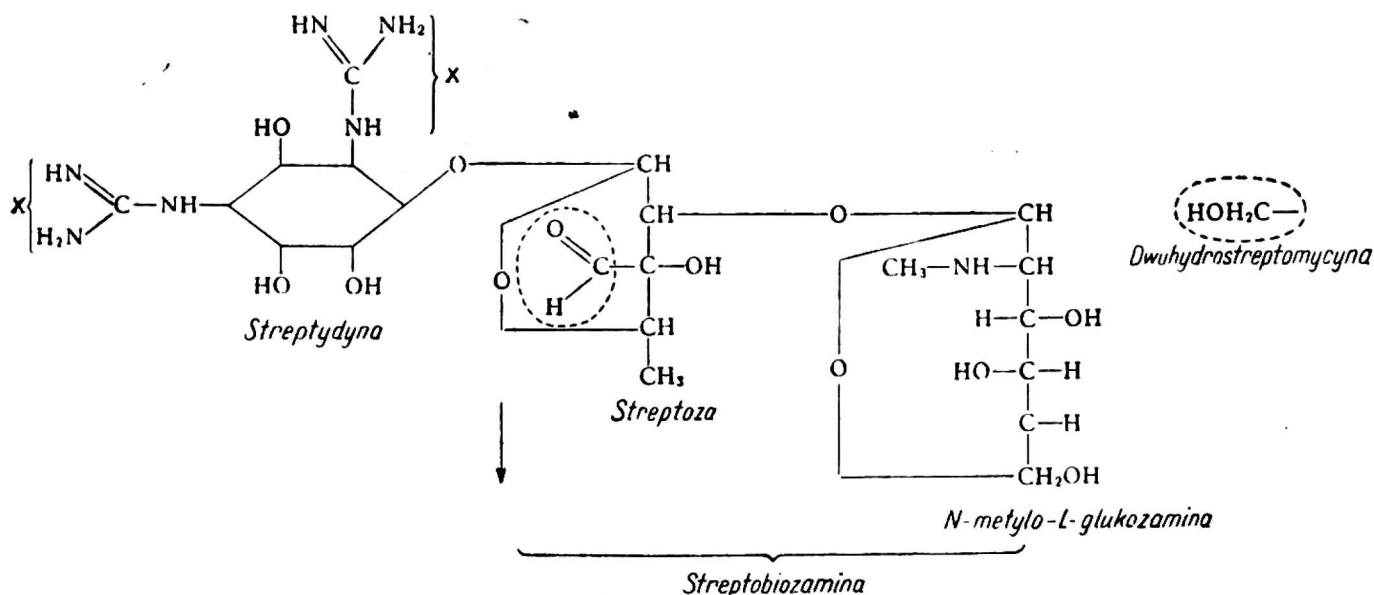




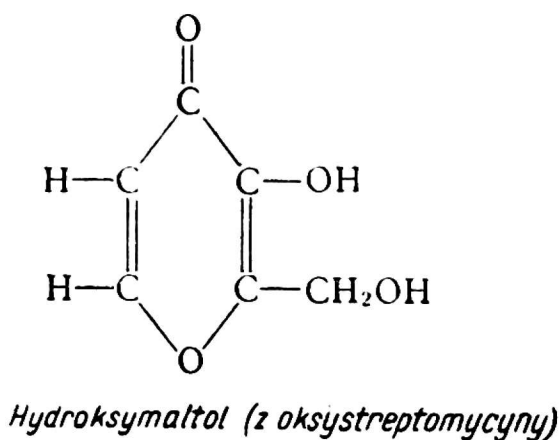
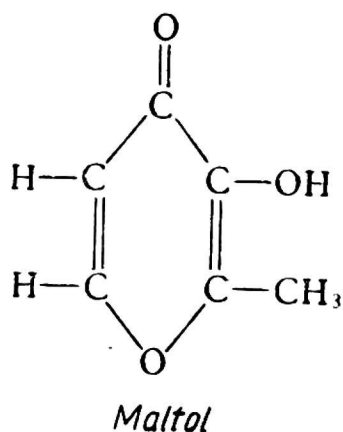
## Synteza chloramfenikolu

Chloramfenikol, słabo rozpuszczalny w wodzie, rozpuszcza się lepiej w roztworze wodnym glikolu propylenowego; roztwory chloramfenikolu są trwałe w granicach pH od 2 do 6, znosząc przez jedną godzinę temperaturę wrzenia. Zasadowa lub kwaśna hydroliza odszczepia kwas dwuchlorooctowy. Radiogram bromamfenikolu wykazał, iż atomy tlenu grup hydroksylowych znajdują się w pobliżu azotu grupy iminowej, co wskazuje na możliwość połączeń wiązaniami wodorowymi oraz wytworzenia pewnego rodzaju pierścienia sześcioczłonowego. Tego rodzaju układ wskazywałby na reaktywność wobec środowiska tej części struktury antybiotyku (np. wobec białek, nukleoproteidów) gdyby utrzymywała się tego rodzaju konfiguracja również i w roztworach (19).

Streptomycyna, związek naturalny, wytwarzany przez pleśniaki w rodzaju *Streptomyces griseus*, odkryty został przez Waksmana i współpracowników w 1944 r. (20, 21, 22, 23). Jest to glikozyd zbudowany ze streptydyny (dwuguanidino-czterohydroksy-cykloheksanu), streptozy i N-metylo-L-glikozaminy, będący trójwartościową wysokopolarną zasadą o niewielkiej toksyczności.

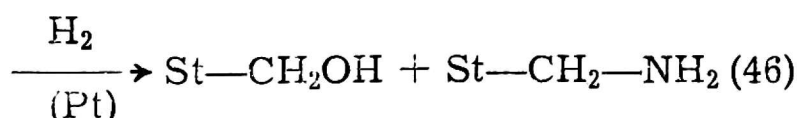
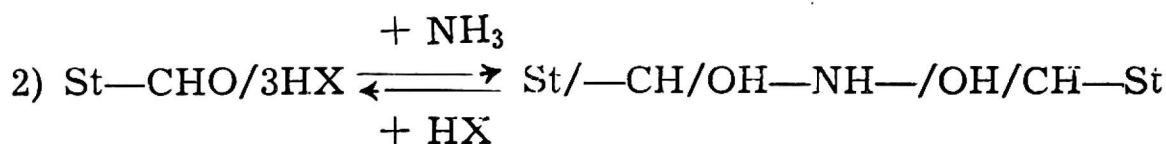


Streptydyna jest dwuguanidynową pochodną mezo-inozytolu. Ze streptydyną związana jest glikozydowo L-streptoza, rodzaj rozgałęzionej dwualdehydodezoksyheksozy, która z kolei jest związana z C<sub>1</sub> pochodnej metyloaminowej L-glikozy. Tak więc w skład struktury czynnej wchodzi grupa: guanidynowe będące w pierścieniu inozytolowym, wolna grupa aldehydowa L-streptozy, grupa metyloaminowa L-glikozaminy, 7 grup hydroksylowych wolnych oraz końcowa grupa — CH<sub>3</sub> w streptozie. Część streptozowa streptomycyny jest najmniej stabilna. W środowisku alkalicznym rozkład streptomycyny prowadzi do otrzymania związku zwanego maltolem, który pochodzi z części streptozowej streptomycyny i powstaje tylko wtedy, gdy grupa aldehydowa przy C<sub>1</sub> jest związana glikozydowo (44).



Wiązanie glikozydowe między streptydyną i streptożą jest znacznie słabsze niż wiązanie między streptożą i N-metylo—L-glikozaminą, toteż streptomycyna jest zdolna do rozpadu na streptydynę oraz resztę streptozo-glikozaminową. Ta ostatnia będąc dwusacharydem nazwana została streptobiozaminą (działanie rozcieńczonego kwasu na streptomycynę prowadzi do rozpadu na streptydynę oraz streptobiozaminę) (45).

Bis- ( $\alpha$  hydroksystreptomycylo) -amina powstaje przez ogrzewanie stężonego roztworu chlorowodoru streptomycyny z amoniakiem:

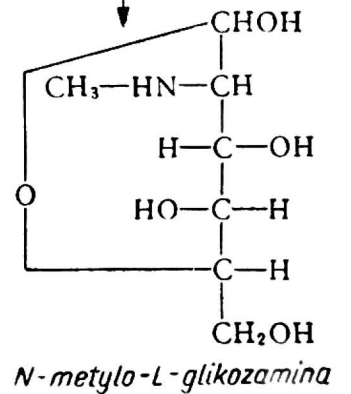
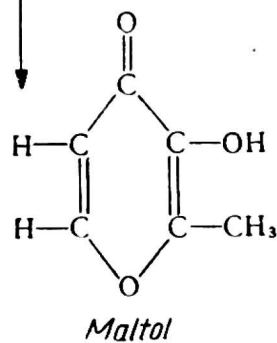
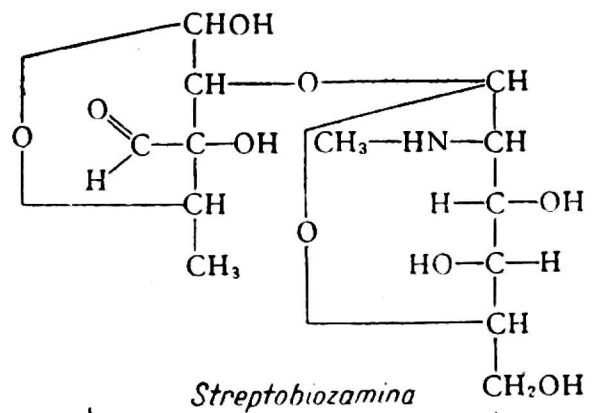
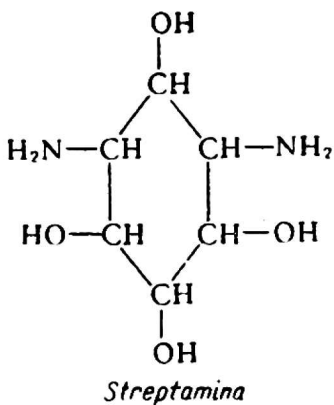
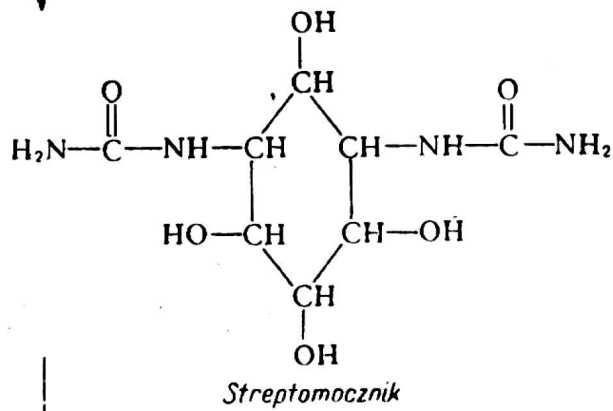
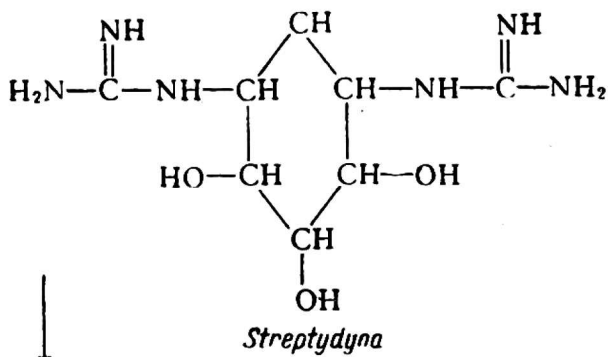


(—CHO z cząsteczki streptozy; St — streptomycyna)

Trójwartościowość streptomycyny (zasadowa) wpływa z obecności dwóch grup guanidynowych o dużej aktywności chemicznej oraz grupy metyloaminowej. Tak więc radioaktywny  $\text{CO}_2$  wprowadzony do hodowli *Streptomyces griseus* wchodzi w skład streptomycyny wyodrębnionej po zakończeniu fermentacji, będąc wyłącznie umiejscowiony w węglu grup guanidynowych streptydyny; stopień radioaktywności tych węgli wykazuje, że pochodzą one wyłącznie z dodanego dwutlenku węgla, nie są bowiem prawie zupełnie rozcieńczone nieradioaktywnym węglem znajdującym się w innych związkach (47, 48).

Grupy zasadowe są powodem osadzania się antybiotyku na substancjach bakteryjnych. Tak więc można wzmóc pobranie streptomycyny przez komórki bakteryjne wzbogacając je w grupy karboksylowe (24); streptomycyna zubożnia ładunek ujemny komórek bakteryjnych proporcjonalnie do użytego stężenia antybiotyku (25); gdy grup kwasowych na powierzchni komórki bakteryjnej jest mniej i gęstość ładunku na jednostkę powierzchni jest mniejsza, wówczas mniej osiada strepto-





mycyny na komórce bakteryjnej — gorzej się ona wiąże, a bakterie są odporne na z konieczności niedostateczne działanie antybiotyku (26).

Według zarysów strukturalnych cząsteczki czynnej wydaje się, że poprzez grupy zasadowe zachodzi wejście w reakcję antybiotyku z substancją receptora biologicznego, zaś hydroksyle streptomycyny stanowią nabytą powłokę polarną (42).

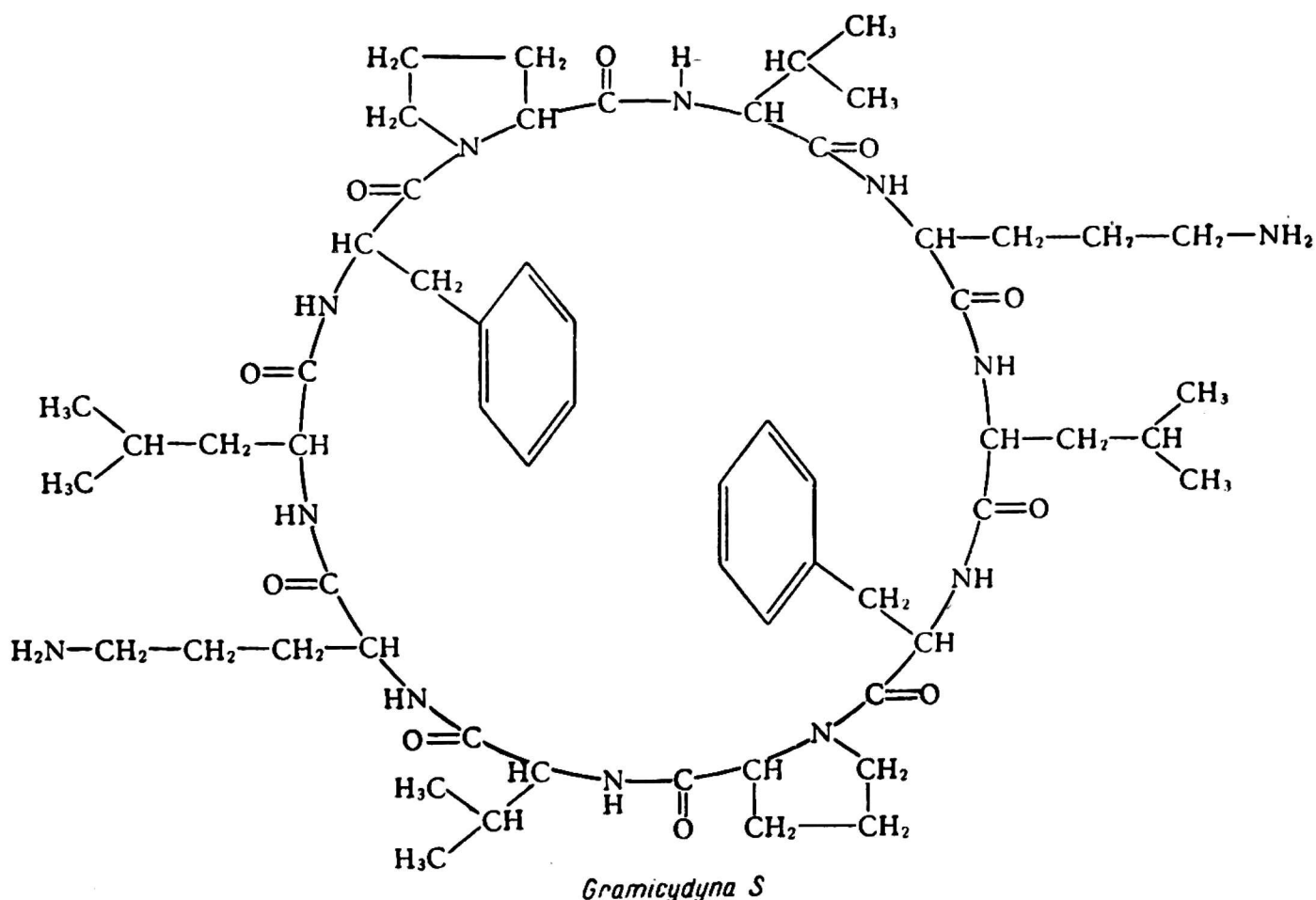
Roztwory streptomycyny w temp. 28° i granicach pH 3,0 do 7,0 są trwałe i nie tracą swej aktywności na przeciąg dwóch miesięcy. Pod wpływem zasad streptomycyna ulega inaktywacji, różniąc się pod tym względem od bardziej trwałej dwuhydrostreptomycyny.

Cykliczne dekapeptydowe antybiotyki — (1940—1953) są to powierzchniowocynne, zasadowe, cykliczne dekapeptydy o średnim ciężarze cząsteczkowym 1250 (27), w skład których wchodzi 5 rodzajów aminokwasów, ułożonych w dwóch powtarzających się grupach. Dla gramicydyny-S: l-walina, l-ornitina, l-leucyna, d-fenylalanina, l-prolina. W składzie tyrocydyny-A połowa cząsteczki jest identyczna z połową

cząsteczki gramicydyny-S pod względem aminokwasów oraz kolejności ich występowania, druga zaś połowa tego dekapeptydu różni się już od gramicydyny-S (28).

W cząsteczkach tej grupy antybiotyków peptydowych nie stwierdzono istnienia wolnych grup karboksylowych, co byłoby dowodem cyklicznej ich budowy. Cykliczna budowa tych antybiotyków nadaje strukturze większą zwartość i sztywność, ułatwiając wiązanie i adsorpcję na powierzchni bakterii poprzez grupy aminowe wolne, rozmieszczone na płaszczyznach pierścienia. Tak więc łańcuch niecykliczny odtwarzający identyczną kolejność aminokwasów jest znacznie mniej biologicznie czynny (29).

Synteza gramicydyny S osiągnięta została ostatnio w wyniku prac Schwyzera i współpracowników (1955—1957). Produkt syntetyczny odtwarzający strukturę chemiczną antybiotyku pochodzenia naturalnego posiada identyczne działanie antybiotyczne wobec drobnoustrojów. (50), (51.)

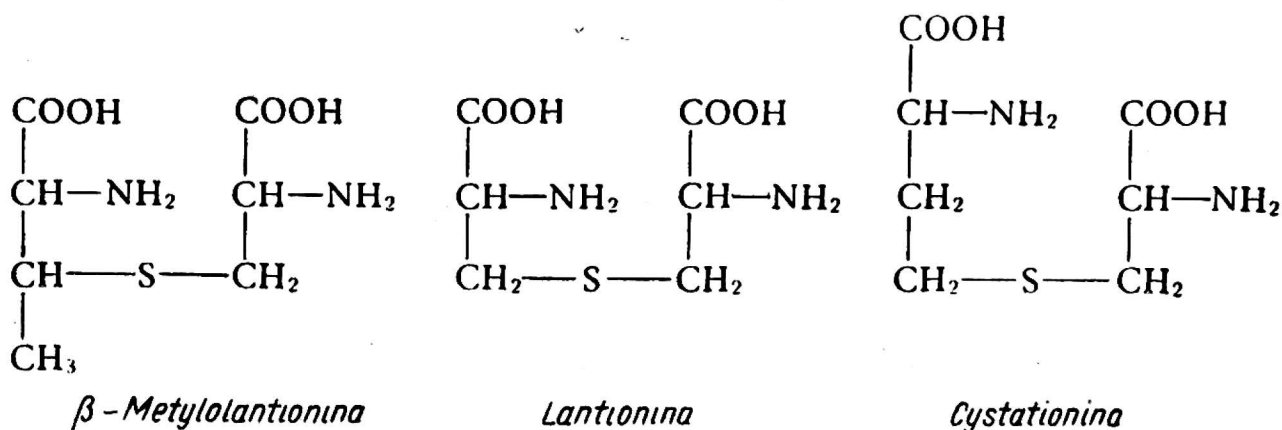


W skład tych dekapeptydów cyklicznych wchodzi wolne grupy aminowe (1, 2 lub 4). Grupy aminowe wolne pochodzą z ornityny w wypadku tyrocydyny lub gramicydyny-S, oraz z reszt kwasu  $\gamma$ -dwuaminomasłowego w serii polimyksin, lub cyrkulin. Istnienie wolnych grup aminowych warunkuje działanie biologiczne, ponieważ np. zacetylowana tyrocydyna jest pozbawiona właściwości bakteriobójczych (30), zaś substancje pobie-

rające antybiotyki poprzez ich reszty kwasowe, jak kwasy nukleinowe lub fosfolipidy, przeciwdziałają właściwościom bakteriobójczym antybiotyków (31, 32).

Najprawdopodobniej zasadowe dekapeptydowe antybiotyki oddziałują na składniki lipidowe otoczki bakteryjnej na drodze elektrostatycznego oddziaływania wolnych grup aminowych dekapeptydu na grupy fosforowe frakcji lipidowej otoczki bakteryjnej (33, 34).

Polipeptydowymi antybiotykami są również subtylina (Humfeld i Feustel z *Bacillus subtilis* — 1943) jak i nizyna (Mattick i Hirsch z *Streptococcus lactis* — 1944). Rozpuszczają się one w wodzie przy pH kwaśnym, a ze wzrostem pH rozpuszczalność ich maleje. Formaldehyd inaktywuje subtylinę. Ciężar cząsteczkowy subtyliny wynosi 3300—3420. Ilość wolnych grup karboksylowych i aminowych jest mniejsza w przypadku subtyliny, niż przewiduje budowa łańcucha otwartego — przypuszcza się więc, że w cząsteczce subtyliny występują ugrupowania pierścieniowe złożone z kilku pierścieni. Aminokwasy wchodzące w skład tych antybiotyków są szeregu naturalnego. Występujące wolne grupy aminowe w przypadku subtyliny należą w  $\frac{2}{3}$  do  $\epsilon$ -lizyny oraz  $\frac{1}{3}$  do dwóch siarkowych kwasów dwuamino-dwukarboksylowych: lantioniny i  $\beta$ -metylolantioniny. Te ostatnie odnajdują się również w składzie polipeptydów nizyn, przy czym stosunek ilości  $\beta$ -metylolantioniny (będącej izomerem cystationiny) do ilości lantioniny wynosi 4 : 1.



Antybiotyki te działają głównie na drobnoustroje Gram — dodatnie. Mechanizm działania tych antybiotyków podobny jest do mechanizmu działania tyrocydyny i polega na takim wpływie, jaki wywierają bakteriobójcze substancje powierzchniowoczynne. Stwierdzono, że pod wpływem działania tych antybiotyków drobnoustroje tracą znaczną część związków azotowych i fosforanowych, które z wnętrza komórek przechodzą do środowiska. Antybiotyki te działają najintensywniej w pH 2,2.

Subtylina stosowana była do konserwacji środków spożywczych. Hamuje ona rozwój zarodników *Clostridium botulinum* — jednak zarodniki

te nie tracą żywotności i rozwijają się normalnie po usunięciu subtyliny ze środowiska. Nizyna, na której działanie przeciwbakteryjne nie wpływa antagonistycznie obecność surowicy, czy krwi lub mleka, najbardziej czynna jest wobec grupy *Streptococcus pyogenes*. Nizyna używana była przy fabrykacji sera dla uniknięcia niepożądanych drobnoustrojów Gram — dodatnich. Notatyna, actynomycyna to chromoproteidy toksyczne. Notatyna, odwodarniając D-glikozę w obecności tlenu atmosferycznego wytwarza nadtlenek wodoru, który jest powodem zaobserwowanego działania przeciwbakteryjnego. Actynomycyna zawiera w części chromoforowej pochodną antrachinonu o właściwościach cytostatycznych. Jest ona jednak toksyczna.

Tyle jeśli chodzi o strukturę antybiotyków jako związków o strukturze chemicznej określonej, a oddziaływających na środowisko za pośrednictwem poznanej struktury.

Antybiotyki posiadają dużą rozpiętość działania wobec drobnoustrojów, zatem należałoby doszukiwać się w substancji bakteryjnej poddanej działaniu antybiotyków przede wszystkim wspólnych dla wielu drobnoustrojów cech, odnośnie ich zachowania wobec antybiotyków. Ponieważ w analizie antybiotyków uwzględniane były głównie możliwości czynnej struktury chemicznej, to i wobec drobnoustrojów poddanych działaniu antybiotyków postaramy się położyć nacisk na substancję receptora oraz na momenty reakcji chemicznej zachodzącej podczas spotkania antybiotyku z receptorem.

Tak więc wydaje się, że zachodzi reakcja chemiczna pomiędzy antybiotykami a receptorem ponieważ: a) oddziaływanie biologiczne jest uzależnione od możliwości reakcji chemicznej, b) oddziaływanie ma charakter odwracalny, c) ponieważ zachodzą zmiany w równowadze rozłożenia w zależności od stężenia substancji czynnej lub ilości drobnoustrojów, d) ponieważ wrażliwość lub oporność na antybiotyki drobnoustrojów posiada określone podłoże chemiczne.

a) Oddziaływanie biologiczne jest uzależnione od możliwości reakcji chemicznej

Oto garść faktów uzasadniających to spostrzeżenie. Bakterie wrażliwe na antybiotyki pobierają znacznie więcej substancji czynnej aniżeli odporne, czyli oddziaływanie antybiotyków jest związane ze stężeniem pobranego, zatem wchodzącego w reakcję z substancją bakteryjną, antybiotyku.

Maksymalne ilości polimyksyny adsorbowane przez bakterie w ciągu 20 minut przy 25° i wrażliwość tych bakterii na antybiotyki (35).

Tabela 1

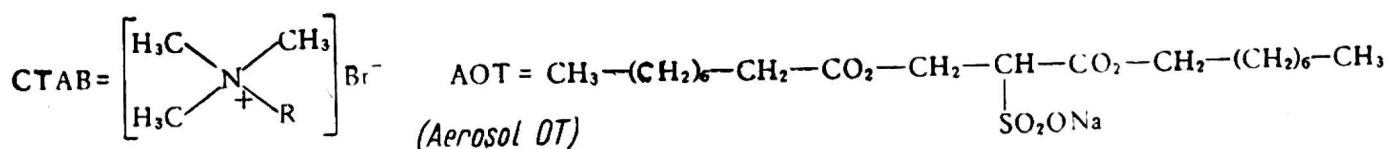
Drobnoustroje	Wrażliwość wobec polimyksyny	Ilość polimyksyny adsorbowanej w $\mu\text{g}/\text{mg}$ suchej wagi bakterii
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	wrażliwe	350
<i>Micrococcus lysodeicticus</i>	wrażliwe	375
<i>Bacterium coli</i>	wrażliwe	220
<i>Bacillus subtilis</i>	wrażliwe	310
<i>Streptococcus faecalis</i>	oporne	71
<i>Staphylococcus aureus</i>	oporne	84
<i>Proteus vulgaris</i>	oporne	82

Zasadniczo bakterie z uwagi na ich ładunek ujemny (Bechtold) pobierają łatwiej substancje czynne kationowe aniżeli anionowe. Interesujące jest pod tym względem zachowanie drobnoustrojów wobec substancji powierzchniowoczynnych kationowych lub anionowych, które jakkolwiek nie są antybiotykami, posiadają właściwości przeciwbakteryjne. Otóż pobranie przez substancję bakteryjną detergentu kationowego (CTAB), bardziej czynnego biologicznie, znacznie przewyższa odpowiednie pobranie detergentu anionowego (AOT) (36).

Tabela 2

Maksymalne stężenie CTAB lub AOT adsorbowanego przez komórkę bakteryjną lub wyszczególnioną otoczkę bakteryjną (36)

Drobnoustroje	Adsorpcja w $\mu\text{g}/\text{mg}$ suchej wagi bakterii	
	drobnoustroje w całości	otoczka bakteryjna
<i>Staph. aureus</i> + CTAB	320	150
„ „ + AOT	40	30
<i>Strep. faecalis</i> + CTAB	430	350
<i>Esch. coli</i> + CTAB	420	385



Anionowe detergenty są pobierane przez komórkę bakteryjną na zasadzie wiązań typu van der Waalsa pomiędzy łańcuchem hydrofobowym detergentu anionowego, a frakcją tłuszczową komórki bakteryjnej. Pobranie detergentu anionowego można wzmocnić poprzez wzbogacenie komórki bakteryjnej w tłuszcz (43).

Wiązanie typu van der Waalsa obok wiązania elektrostatycznego warunkuje również oddziaływanie detergentów kationowych (37). Zaobser-



wowane w przypadku użycia detergentów oddziaływanie substancji czynnej na substancję bakteryjną drogą wiązania elektrostatycznego, chemicznego, spotyka się również w działaniu antybiotyków. Na przykład w przypadku działania na *Escherichia coli* streptomycyny, antybiotyku zasadowego, zachodzi wyraźnie zubożenie ładunku ujemnego bakterii, proporcjonalnie do użytego stężenia antybiotyku (25).

Tabela 3

Ładunek oraz ruchliwość *Escherichia coli* w polu elektroforetycznym — działanie streptomycyny (25)

Streptomycyna jednostki/ml	Ruchliwość $\mu$ /sek na Volt/cm	Ładunek elektron/ $\mu^2$
0	2,39	47,000
10	2,19	42,000
25	2,01	38,000
50	1,68	32,000
75	1,42	36,000
100	1,25	23,000

Wydaje się, że wiązanie elektrostatyczne substancji czynnej zasadowej z grupami czynnymi kwasowymi substancji bakteryjnej odbywa się głównie raczej z grupami kwasowymi karboksylowymi otoczki bakteryjnej, aniżeli z grupami fosforowymi. *Escherichia coli* np. posiada powierzchnię o  $pK = 2,9$ ;  $pK$  to zbliża się do wartości  $pK$  wielocukrów = 2,95 — jest to dowodem istnienia na otoczce bakteryjnej raczej grup karboksylowych, aniżeli fosforowych, których  $pK = 1,8$  (38, 39).

b) Oddziaływanie antybiotyku na substancję bakteryjną ma niekiedy charakter odwracalny

Charakter odwracalny oddziaływania na substancję komórek bakteryjnych mają niektóre antybiotyki, szczególnie wtedy kiedy zachodząca reakcja chemiczna między substancją czynną a receptorem jest na to podatna. Nie występuje to w przypadku działania penicyliny, gdzie przypuszcza się powstanie trwałego wiązania pomiędzy substancją czynną a receptorem — na zasadzie acylacji ugrupowań — OH, — SH, — lub NH, będących w substancji bakteryjnej (przez otwarcie pierścienia  $\beta$ -laktamowego penicyliny).

Natomiast odwracalny charakter ma działanie biologiczne streptomycyny, ponieważ odwirowane osady hodowli prątków Kocha, poddane uprzednio (przez 30 dni) działaniu hamującemu streptomycyny, przepłukane następnie wodą, stają się zakaźne dla świnek morskich. Odwracalność biologicznego działania streptomycyny na substancję bakteryjną

znajduje również swój odpowiednik w odwracalności nabytych zmian substancji bakteryjnej, zmian powstałych na skutek działania streptomycyny. Tak więc np. ruchliwość elektroforetyczna bakterii *Escherichia coli* poddanych działaniu 100 jednostek streptomycyny zmniejsza się znacznie (o ok. 47%), czemu odpowiada zmniejszenie gęstości ładunku na jednostkę powierzchni bakterii; te same bakterie poddane działaniu 100 jednostek streptomycyny, a przepłukane następnie wodą, powracają do wartości wyjściowej ruchliwości elektroforetycznej (ulega ona zmniejszeniu o zaledwie 5%) (25).

c) Tenże autor stwierdza również równomierne rozłożenie antybiotyku na potraktowane antybiotykiem komórki bakteryjne. Stwierdza on również zmianę rozkładu antybiotyku w kierunku nowej równowagi, gdy do potraktowanych już antybiotykiem komórek bakteryjnych dorzuca się nietknięte bakterie. Można fakt ten uważać za dowód zachodzącej podczas oddziaływania antybiotyku na biologiczne receptory odwracalnej reakcji chemicznej.

d) Wreszcie wrażliwość lub oporność bakterii na antybiotyki jest wyrazem istniejącej możliwości wiązania chemicznego pomiędzy antybiotykiem a substancją bakteryjną. Tak więc oporność niektórych bakterii Kocha na streptomycynę może znaleźć swe wytłumaczenie w mniejszej ilości kwasowych grup czynnych występujących w drobnoustrojach opornych, na co wskazują pomiary gęstości ładunku na jednostkę powierzchni bakterii opornych w porównaniu do bakterii wrażliwych (26).

Skoro kwasowość grup czynnych wolnych, znajdujących się w substancji bakteryjnej, podlega zobojętnieniu np. poprzez <sup>\*)</sup> działanie zasadowych ugrupowań w rodzaju <sup>\*)</sup> będących w bezpośrednim sąsiedztwie reszt kwasowych, fosforowych — wówczas pobranie antybiotyków zasadowych, np. dekapeptydowych, zmniejsza się znacznie i równocześnie występuje oporność drobnoustrojów wobec tych antybiotyków (34).

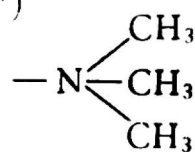


Tabela 4

Skład chemiczny otoczki bakteryjnej a wrażliwość lub oporność drobnoustrojów wobec zasadowych antybiotyków dekapeptydowych z serii polimyksin (34)

Tłuszcze w such. wag.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P15 wrażliwe	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Mc Allea oporne	<i>Staphylococcus aureus</i> oporne
Tłuszcze — % such. wag.	11,9	10,7	22,3
P frakcji tłuszcz. % tł.	3,8	2,7	1,8
N frakcji tł. — % tł.	1,0	1,8	0,8
Proporcja P/N frakcji tłuszczowej	3,8	1,5	2,2

Zatem zachodzi reakcja chemiczna pomiędzy substancją receptora biologicznego, drobnoustroju, a substancją czynną, antybiotykiem. Analiza poszczególnych struktur czynnych wyodrębniła elementy strukturalne, które mogą czynnie występować podczas wstępnej reakcji zachodzącej w czasie zetknięcia się substancji czynnej z substancją receptora biologicznego. Struktury te są jednak odmienne, różne też są powody zachodzącej reakcji chemicznej — przy tym samym działaniu antybiotycznym. Niektórzy autorzy są zdania, że antybiotyki, przywierając do substancji drobnoustrojów, dezorganizują układ otoczki bakteryjnej. Autorzy ci (49, 36) stwierdzili przeciekanie nukleoproteinowych składników substancji bakteryjnej do środowiska. Wynikałoby to z wspomnianej dezorganizacji układu otoczki bakteryjnej. Wydaje się, że jest to niezmiernie ważne spostrzeżenie, które może rzucić snop światła na wspólny mimo wszystko mechanizm działania antybiotyków o tak odmiennych strukturach chemicznych. Zachodząca reakcja chemiczna, różna dla każdej struktury, ale występująca w każdym przypadku, mogłaby prowadzić do przerwania procesu narastania polimerów nukleoproteinowych poprzez odgrodenie substancją antybiotyku łańcucha już wytworzonego polimeru nukleinowego w substancji bakteryjnej od dalszych monomerów (nukleotydowych). Można przypuszczać, że wówczas w narastającej substancji bakteryjnej pojawiłyby się krótkie łańcuchy polimerów, pomiędzy którymi kohezja byłaby słaba, na skutek mniejszego prawdopodobieństwa zaistnienia wiązań wodorowych pomiędzy zwojami polimerów. Tłumaczyłoby to zaobserwowaną utratę substancji bakteryjnej przenikającej do otoczenia oraz do pewnego stopnia również zjawisko lizy bakteryjnej. Hipoteza ta, starająca się podciągnąć pod jeden mianownik działanie różnorodnych struktur antybiotyków, wymaga jednak udowodnienia.

Tak więc z przeglądu występujących momentów reakcji chemicznej w procesie oddziaływania określonej struktury chemicznej antybiotyków na pewne chemiczne ugrupowania substancji bakteryjnej wynika, że reakcja chemiczna zachodzi i powoduje zaobserwowane działanie biologiczne. Niemniej pełno jest jeszcze niedomówień i luk w zrozumieniu całokształtu zagadnienia antybiotyków. Osiągnięta ostatnio na drodze całkowitej syntezy budowa penicyliny, o właściwościach antybiotyku pochodzenia naturalnego, jest oczywistym dowodem, że racjonalne tendencje, które przyświecały w rozpatrywaniu tego zagadnienia tak licznej rzeszy naukowców, są słuszne.

#### LITERATURA

1. Abraham E P. i in.: Nature 1953, t. 17, str. 343.
2. Cooper D. E., Binkley S. B.: Jour. Amer. Chem. Soc. 1948, t. 70, s. 3966.
3. Rowley D. i in.: Biochem. J. 1950, t. 46, s. 157.

4. Mitchell P., Moyle J.: *J. Gen. Microbiol.* 1954, t. 10, s. 533.
5. Maass E. A., Johnson J.: *J. Bacteriol.* 1949, t. 57, s. 415.
6. Cooper P. D.: *Bioch. Biophys. Acta* 1954, t. 13, s. 433.
7. Fasinsky A., Kastoskaya T.: *Biochimja* 1947, t. 12, s. 465.
8. Cooper P. D. i in.: *J. Gen. Microbiol.* 1954, t. 10, s. 246.
9. Sheehan J. C., Henery Logan R. K.: *J. Amer. Chem. Soc.* 1957, t. 79, s. 1262.
10. Sheehan J. C., Cruickshank P. A.: *Jour. Amer. Chem. Soc.* 1956, t. 78, s. 3677, 3683.
11. Sheehan J. C., Johnson D. A.: *J. Amer. Chem. Soc.* 1954, t. 76, s. 158.
12. Hutchings, Waller i in.: — *J. Amer. Chem. Soc.* 1952, t. 74, s. 3710, 4980, 4978, 4979, 4981.
13. Pasternak i in. — *J. Amer. Chem. Soc.* 1951, t. 73, s. 2400; 1952, t. 74, s. 1926, 1928.
14. Stephens i in. — *J. Amer. Chem. Soc.* 1952, t. 74, s. 4976.
15. Regna — *J. Amer. Chem. Soc.* 1951, t. 73, s. 4211.
16. Conover — *J. Amer. Chem. Soc.* 1953, t. 75, s. 4017.
17. Long L. M., Troutman H. D. — *J. Amer. Chem. Soc.* 1949, t. 71, s. 2469 i 2473.
18. Huebner C. F., Scholz C. R. — *J. Amer. Chem. Soc.* 1951, t. 73, s. 2089
19. Dunnitz J. D. — *J. Amer. Chem. Soc.* 1952, t. 74, s. 995.
20. Waksman i in. — *Froc. Soc. Exper. Biol. Med.* 1954, t. 55, s. 66.
21. Folkers i in. — *J. Amer. Chem. Soc.* 1947, t. 69, s. 3032; 1946, t. 68, s. 2096, 1945, t. 67, s. 1866, również *Science* 1945, t. 102, s. 506.
22. Fried J., Wintersteiner O. — *Science* 1946, t. 104, s. 273.
23. Hopper L. R. i in. — *J. Amer. Chem. Soc.* 1947, t. 69, s. 1052.
24. Bailey J. H., Cavallito Ch. J. — *J. of Bacteriology* 1950, t. 60, s. 269.
25. Quillen K. Mc. — *Bioch. Biophys. Acta* 1951, t. 7, s. 54.
26. Grundland I., Kwiek S., Krzywicka H. — *Bull. Acad. Pol. Sc. cl. II.* 1956, t. 4, s. 415.
27. Few A. V., Schulman J. H. — *Biochem. J.* 1953, t. 54, s. 171.
28. Bell P. H. i in. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1949, t. 51, s. 897.
29. Erlanger-Goods — *Nature* 1950, t. 174, s. 840.
30. Hotchkiss — *Advance Enzymol.* 1946, t. 4, s. 153.
31. Bliss E. A. i in. — *N. Y. Acad. Sci.* 1949, t. 51, s. 944.
32. Latterrade E., Macheboeuf M. — *Ann. Inst. Past.* 1950, t. 78, s. 753.
33. Few A. V. — *Bioch. Biophys. Acta* 1955, t. 16, s. 137.
34. Newton — *Bact. Rev.* 1956, t. 20, s. 14.
35. Few A. V., Schulman — *J. Gen. Microbiol.* 1953, t. 9, s. 454.
36. Salton M. R. J. — *Proc. sec. intern. Congress of surface activity Butterworth sc. publ. London, 1957, t. 2, s. FJ 278.*
37. Valko E. J., du Bois A. S. — *J. of Bacteriology* 1945, t. 50, s. 482.
38. Davies i in. — *Proc. Roy. Soc. B.* 1956, t. 145, s. 375.
39. Saric, Schofield — *Proc. Roy. Soc. A.* 1946, t. 185, s. 431.
40. Few A. V. — *Proc. sec. Intern. Congress of surface activity. Butterworths sc. publ. London, 1957, t. 2, s. CZ 172.*

41. Calvin M., Wilson K. W. — J. Amer. Chem. Soc. 1949, t. 67, s. 2003.
42. Grundland I. i in. — *Experientia* 1953, t. 9, s. 313.
43. Dyar M. T., Ordal E. J. — J. of. Bacteriol. 1943, t. 51, s. 149.
44. Fried J., Titus E. — J. Amer. Chem. Soc. 1948, t. 70, s. 3615.
45. Brink N. G. i in. — *Science* 1945, t. 102, s. 506.
46. Solomons J., Regna D. — J. Amer. Chem. Soc. 1950, t. 72, s. 2974.
47. Huntner G. i in. — *Bioch. J.* 1954, t. 58, s. 249.
48. Numerof i in. — J. Amer. Chem. Soc. 1954, t. 76, s. 1341.
49. Salton M. R. J. — J. Gen. Microbiol. 1951, t. 6, s. 391.
50. Schwyzer R., Feurer M., Iselin B. — *Helv.* 1955. t. 38, s. 83.
51. Schwyzer R., Sieber P. — *Helv.* 1957, t. 40, s. 614.