

Janina OPIEŃSKA-BLAUTH

Czynniki wzrostowe dla drobnoustrojów i ich antagoniści.

Growth factors for microorganisms and their antagonists.

I. WSTĘP.

Zagadnienie czynników wzrostowych w biosferze ulega ciąglej ewolucji w miarę nowych odkryć w dziedzinie biochemii bakteryjnej, w dziedzinie poznania nowych witamin i ich roli biologicznej, a w końcu w dziedzinie nowych poglądów na mechanizmy enzymatyczne.

Historycznie, czynniki wzrostowe wywodzą się z pierwszych pojęć o biosach wprowadzonych do literatury naukowej przez Wildera na podstawie jego doświadczeń przeprowadzonych nad wzrostem drożdży w 1901 roku. Williams w swoich doświadczeniach z 1919 r. stwierdza tożsamość biosów drożdżowych z witaminami Funka.

Jeszcze i dzisiaj pogląd na rolę czynników wzrostowych nie jest jednoznacznie określony. Czy pod nazwą czynników wzrostowych należy pojmować tylko te substancje, które pobudzają do wzrostu i należą do rzędu biokatalizatorów, wobec tego czynne są już w minimalnych dawkach, czy też nazwą tą obejmujemy i te związki, które przyczyniają się same do pomnożenia masy komórkowej i stanowią dla ustroju źródło węgla i azotu.

Knight(1) w swoim referacie zbiorowym zalicza do substancji wzrostowych i te, które się zużywają w ilościach większych od katalitycznych, co wskazuje na to, że same biorą udział w pomnożeniu masy komórkowej.

Według ogólnie przyjętego poglądu zapotrzebowanie wzrostowe ustroju pozostaje zawsze w związku z jego wybiórczą zdolnością syntetyczną.

I tylko te substancje macierzyste, podstawowe muszą być wprowadzone z zewnątrz, które nie są syntetyzowane w obrębie ustroju. Zgod-

nie z tym poglądem czynniki wzrostowe należałyby do istotnych, fundamentalnych składników protoplazmy komórek.

W zespole czynników wzrostowych dla drobnoustrojów, wszystkie odgrywają istotną rolę w metabolizmie wyższych ustrojów.

Wszystkie dotychczas poznane substancje wzrostowe mieszczą się w grupie witamin, względnie aminokwasów. W zespole znanych nam dotychczas czynników wzrostowych bakteryjnych znajdują się i takie, względem których zapotrzebowanie ilościowe jest o wiele wyższe niż w stosunku do witamin. Niektóre aminokwasy zaliczane do zespołu czynników wzrostowych stanowią jedyne źródło do syntezy białek komórkowych.

Czy należy przyjąć raczej ten punkt widzenia, że czynnikami wzrostowymi niezbędnymi dla danego gatunku bakteryjnego są substancje wyjściowe, macierzyste potrzebne dla utworzenia różnorodnych struktur chemicznych, pozostających jednak w związku z istotnymi metabolizmami, czy też należy odgraniczyć wzrost od istotnych metabolizmów właściwych dla danego ustroju. Zgodnie z tym drugim poglądem każdy czynnik wzrostowy może wykazywać tylko jeden kierunek działania biologicznego, wzrostowy, albo działanie jego może być wielokierunkowe.

Mc. Ilwain w swojej pracy z 1947 roku (2), na temat zależności między procesami wzrostowymi a metabolizmami rozpatruje trzy typy procesów.

A). Procesy wyłącznie wzrostowe pozostające w związku z przyrostem substancji bakteryjnej.

B). Procesy rzędu mikromolarnego odnoszące się do zasadniczych metabolizmów komórkowych, stanowiące główne źródło energii i substancji produkowanej przez komórki. W procesach mikromolarnych ilość przemienionych substratów np. (glukoza, kwas mlekowy, glicerol) wyraża się ilością kilku mikromoli na mg. suchej pozostałości, organizmu na godzinę.

C). W końcu procesy rzędu milimikromolarnego w których biorą udział wyłącznie substancje typu katalitycznego, koenzymy i witaminy. Przemiany koenzymów dają się najlepiej obserwować w procesach szybkiego wzrostu bakteryjnego.

W procesach milimikromolarnych dokonywujące się przemiany odnoszą się do ilości rzędu milimikromolarnych na mg. suchej pozostałości drobnoustroju. Wprowadzona do badań nad bakteriami technika zatrzymywania wzrostu pozwala stwierdzić, że szereg procesów metabolicznych właściwych dla danego ustroju odbywa się bez równoczesnego wzrostu. Natomiast ograniczenie procesów milimikromolarnych może nastąpić przy pomocy techniki wymywania bakterii, który to proces odpowiada dializie i pozwala usunąć z systemu biologicznego czynne koenzymy.

Mc. Ilwain wyraża pogląd, że procesy milimikromolarne pozostają w ścisłym związku przede wszystkim z procesami mikromolarnymi. Autor przewiduje, że między substancją ulegającą zmianie w procesie mikromolarnym a ilościami przekształconych, względnie syntetyzowanych koenzymów w danym układzie biologicznym występuje ścisła zależność ilościowa wyrażana określonymi stanami równowagi. Według dotychczasowych danych, rolę czynników wzrostowych spełniają te substancje, które Williams nazwał nutrolitami. Według Williamsa nutrolity spełniają dla drożdży i świata drobnoustrojów rolę właściwą witaminom. W systematyce nutrolitów przyjęty został podział na 3 grupy. Zasada podziału nieco sztuczna pozostaje w związku z historycznym rozwojem pojęć o istocie tych związków, ich strukturze chemicznej i roli biologicznej.

1). Pierwsza grupa obejmuje związki istotne i niezbędne nie tylko dla rozwoju wzrostu drobnoustrojów lecz i dla świata wyższych roślin i zwierząt.

Do tej grupy zaliczamy: witaminę B₁ (aneurynę, tiaminę)
witaminę B₂ (laktoflawinę, ryboflawinę)
witaminę B₆ (pirodoksynę).

2). Druga grupa obejmuje te związki, które zostały wydobyte z surowców naturalnych i zdefiniowane pod względem budowy chemicznej jeszcze zanim została stwierdzona ich rola wzrostowa w świecie drobnoustrojów.

Do tej grupy należą: kwas nikotynowy i jego amid
nukleotydy pirydynowe
uracyl
cholina
kwas olejowy i szereg innych.

3). Do trzeciej grupy zaliczono te czynniki, których budowa chemiczna została zdefiniowana dopiero po stwierdzeniu ich roli biologicznej. W tej grupie wymienić należy — biotynę i kwas pantotenowy.

4). Odrębne miejsce w tym układzie zajmuje kwas p. aminobenzoesowy, którego doniosłą rolę w świecie drobnoustrojów stwierdzono na drodze pośredniej, jako tego czynnika, który hamuje działanie niektórych bakteriostryków o budowie sulfamidowej.

W sumie, rolę bakteryjnych czynników wzrostowych spełniają — tiamina, ryboflawina, pirydoksyna, kwas nikotynowy, względnie jego amid, kwas pantetonowy, biotyna, kwas pimelinowy, glutamina, zasady purynowe, i pirymidynowe, cholina, kwas olejowy i inozytol.

W zespole tym nie zostały uwzględnione przez Knighta pewne czynniki o nieznanym dotychczas budowie chemicznej jak witamina M, witamina C_c, witamina B₁₀, witamina B₁₁, witamina B_c coniugata, czynnik *Str. lactis* R, kwas folowy, znane już w literaturze pod nazwą nowych czynników antyanemicznych. Oprócz właściwej roli wzrostowej dla

drobnoustrojów związki te mają doniosłe znaczenie w tworzeniu czerwonych i białych ciałek krwi.

W końcu nieuwzględnione zostały też pewne specyficzne czynniki wzrostowe jak „Factor Sporogenes”, i związki występujące w wyciągu *Mycobacterium phlei*.

Zapotrzebowania wzrostowe świata drobnoustrojów w stosunku do tych wyżej wymienionych substancji są w wysokim stopniu zróżniczkowane: w doborze decydujące są wybiórcze zdolności syntetyczne danego gatunku bakterii. Zdolność danego gatunku bakterii do syntezy czynnika wzrostowego przesądza jego zbędność w pożywce. To zjawisko, że dany gatunek bakteryjny rozwija się, rozmnaża i rośnie pozornie bez udziału któregoś czynnika wzrostowego nie świadczy bynajmniej o jego zbędności lecz tylko o jego zdolnościach syntetycznych.

Różnorodna budowa chemiczna szeregu znanych dotychczas czynników wzrostowych świadczy, że dla wzrostu czyli pomnożenia masy komórkowej należy dostarczyć ustrojowi z zewnątrz te układy atomowe, które są właściwe dla struktur metabolitów ustrojowych.

Ze względu na budowę chemiczną czynniki wzrostowe zaliczane są do różnego typu związków. Występują one jako związki alifatyczne o długich łańcuchach węglowych, z grupami hydroksylowymi i karboksylowymi, często nienasycone, układy aromatyczne, cyklowe uwodorowane, heterocyklowe, a szczególnie te ostatnie z atomami azotu i siarki w pierścieniu.

Szczególne znaczenie jako czynnik wzrostowy posiada tiamina czyli witamina B₁ z pierścieniami sprzężonymi pirymidynowym i tiofenowym, biotyna z pierścieniem uwodorowanego tiofenu i grupą mocznikową, amid kwasu nikotynowego z czynnym układem pirydynowym i grupą karboksylową. Rolę wzrostową wykazują i układy chinonowe (pochodne witaminu K). Z układów alifatycznych ważną rolę odgrywają kwasy dwukarbonowe, prawdopodobnie w związku z łatwością przechodzenia w układy pierścieniowe. Z aminokwasów szczególnie ważną rolę odgrywa układ beta-alaniny.

Z grup podstawnikowych, czynnych wzrostowo należy wymienić przede wszystkim grupy metylowe występujące w pirydoksynie, cholinie, laktoflawinie, kwasie pantotenowym dalej grupy hydroksylowe występujące w pirydoksynie, inozytolu, kwasie pantotenowym, w końcu grupy aminowe i karboksylowe występujące między innymi i w kwasie p. aminobenzoowym.

Naogół, mechanizmy reakcji enzymatycznych syntetycznych u drobnoustrojów nie są jeszcze dokładnie poznane, prawdopodobnie będą one kilku szlakami, a przede wszystkim są wybitnie specyficzne, zależne od gatunku bakterii.

Na szeregu przykładów wykazać można, że jeden czynnik wzrostowy zawarty w pożywce może stać się substancją macierzystą dla szeregu innych czynników wzrostowych i dla wielu struktur chemicznych właściwych metabolitom. Na wielu przykładach wykazano, że pewne gatunki bakteryjne hodowane na pożywce prostej zawierającej jeden tylko z niezbędnych czynników wzrostowych pokrywają bardziej zróżniczkowane zapotrzebowania wzrostowe innych gatunków. Sądząc ze stanu dotychczasowych badań niema układu chemicznego uniwersalnego warunkującego w sposób nieograniczony czynność wzrostową.

Świat drobnoustrojów w porównaniu z organizmami wyższych roślin i zwierząt wykazuje szczególnie zróżniczkowane i wybiórcze zdolności syntetyczne w odniesieniu do wszystkich znanych dotychczas czynników wzrostowych. Wszystkie prawie, dotychczas znane czynniki wzrostowe dla drobnoustrojów stanowią substancje biologicznie ważne dla zwierząt i roślin wyższych zaliczone do grup witamin, hormonów i koenzymów. Zapotrzebowanie wzrostowe bakterii chorobotwórczych stanowi dzisiaj zagadnienie osiowe związane ściśle z podstawami chemoterapii. Stwierdzono bowiem doświadczalnie, że niewielka zmiana w strukturze chemicznej danego czynnika wzrostowego, np. wymiana grupy podstawnikowej na inną, zmianą położenia grup może wywołać osłabienie czynności biologicznej, aż do całkowitego zahamowania funkcji wzrostowej.

Punktem wyjścia dla badań prowadzonych w celu zwalczania bakterii chorobotwórczych były doświadczenia z związkami syntetycznymi zastępującymi naturalne czynniki wzrostowe. Badania te stanowiły podstawę dla zasady antagonizmu biologicznego.

Pierwsze doświadczenia tego typu przeprowadzone były przez Castla, który dokonał zahamowanie enzymatycznej reakcji oksydacji kwasu bursztynowego za pomocą kwasu jabłkowego. Obydwa te związki mają ten sam układ 4-węglowy, dwukarboksylowy, różnią się tylko obecnością jednej grupy hydroksylowej.

W związku z zasadą antagonizmu biologicznego pozostają też niezwykle interesujące doświadczenia Wooleya, który wywołał u psów awitaminozę „czarnego języka” nie niedoborem żywnościowym, ale na drodze wprowadzenia do ustroju zwierzęcia antagonisty amidu kwasu nikotynowego, kwasu pirydyno-3-sulfonowego. Oba związki mają rdzeń pirydynowy, różnica streszcza się w wprowadzeniu grupy sulfonowej na miejsce karboksylowej. Ogólnie znane są doświadczenia Wooda, który hamował bakteriostatyczne działanie sulfamidów przy pomocy związków o budowie chemicznej podobnej. Te ostatnie doświadczenia wzbogaciły naukę o jeden jeszcze czynnik wzrostowy, mianowicie kwas p. aminobenzoesowy, który jest antagonistą związków sulfamidowych.

Szereg doświadczeń wykazuje, że raczej niewielkie zmiany w układzie chemicznym danego związku czynnego biologicznie warunkują jego czynność antagonistyczną.

Z kilku hipotez usiłujących wyjaśnić mechanizm antagonizmu biologicznego pogląd, że istotną przyczyną tego zjawiska jest konkurencja obu związków o podobnej strukturze chemicznej o białka enzymatyczne budzi może największe zainteresowanie. Dyskusja na ten temat zostanie przeprowadzona w ostatniej części tego artykułu.

Specyficzność enzymów nastawionych na pewne właściwe im układy atomowe warunkuje też budowę inhibitorów. Czynniki hamujące działanie wzrostowe muszą mieć strukturę chemiczną zbliżoną do tej właściwej dla czynników wzrostowych, by mogły zwyciężyć w tej konkurencji o enzymy. Decydującą rolę w tej konkurencji odgrywa stosunek stężeń inhibitora do czynnika wzrostowego.

Zjawisko antagonizmu biologicznego wprowadza nową erę w farmakologii, stwarza nowe podstawy teoretyczne dla rozwoju chemoterapii. Zgodnie z tą teorią dla każdego gatunku bakterii chorobotwórczej należy szukać bakteriostatyków wybiórczych, analogicznych pod względem budowy chemicznej do czynników wzrostowych, niezbędnych dla danego gatunku. W każdym wypadku poszukiwanie bakteriostatyków wybiórczych musi być poprzedzone poznaniem czynników wzrostowych niezbędnych dla danego gatunku.

Doświadczenia Wooleya i White przeprowadzone na różnych szczepach bakteryjnych potwierdziły w całej rozciągłości tę zasadę. W świetle tych pojęć bezcelowe są próby stosowania bakteriostatyków wtedy gdy niezbadane są jeszcze zdolności syntetyczne danego gatunku bakterii chorobotwórczej. Teorii antagonizmu biologicznego przeciwstawia Sevag swoją koncepcję działania bakteriostatyku hamowaniem czynności enzymów oddechowych w ustrojach bakteryjnych.

Która z tych teorii zwycięży, zależy od dalszych doświadczeń z dziedziny bakteryjnych czynników wzrostowych i inhibitorów reakcji wzrostowych.

Niezależnie od tego, która z tych teorii uzyska pełne prawo obywatelstwa, poniżej podany przegląd znanych dotychczas bakteryjnych czynników wzrostowych i ich antagonistów pozwoli nam wyprowadzić pewne ogólne wnioski w sprawie zależności mechanizmów biologicznych od budowy chemicznej.

II. PRZEGLĄD CZYNNIKÓW WZROSTOWYCH I ICH ANTAGONISTÓW

1) T i a m i n a (aneuryna, witamina B₁).

Pierwsze doświadczenia nad rolą wzrostową tiaminy były przeprowadzone przez Schopfera w 1934 roku na gatunku *Phycomyces blakeanus*.

Dla tego gatunku bakteryjnego tiamina jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym. Dla wielu innych gatunków bakteryjnych tiamina nie jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym, co nie przesądza tego, że w obrębie danego ustroju jest syntetyzowana.

Wiele gatunków bakterii syntetyzuje tiaminę, całą cząsteczkę, bądź tylko jej człon pirymidynowy, względnie tiazolowy.

Sz szczególnie interesujące były w tej dziedzinie doświadczenia Robbinsa i Kavanaugh przeprowadzone na 8 szczepach *Torula*, które wykazały wybitnie zróżniczkowane zdolności tych szczepów w kierunku syntezy tiaminy.

W zasadzie te bakterie, które syntetyzują dany czynnik wzrostowy nie reagują na jego obecność w pożywce reakcją wzrostową, ale w szeregu doświadczeń przeprowadzanych z *Bact. acidi luctici*, *Bact. acidi prop.*, *Bact. pyogenes*, *Bact. subtilis*, *C. diphtheriae*, *Rhizobium trifolii*, *Phytomonas tumefaciens* wykazano, że reakcja wzrostowa występowała zupełnie wyraźnie po dodaniu do pożywki tiaminy, chociaż bakterie te syntetyzują tiaminę.

Doświadczenia na drożdżach, izolowanych korzeniach wyższych roślin potwierdziły rolę tiaminy jako czynnika wzrostowego. W związku z tymi próbami należy przypuszczać, że w korzeniach wyższych roślin występują układy enzymatyczne jak tiazolaza katalizująca reakcję tworzenia pierścienia tiazolowego i tiaminaza, która katalizuje reakcję sprzężania obu pierścieni, tiazolowego z pirymidynowym.

Szereg prac doświadczalnych poświęconych biogenezie tiaminy pozwala przypuszczać, że substancją macierzystą dla tiaminy są prawdopodobnie aminokwasy.

Rola tiaminy w metabolizmach tkankowych u wyższych zwierząt została już dawno stwierdzona. Wielostronne objawy patologiczne charakterystyczne i właściwe dla awitaminozy B₁ potwierdzają nasze poglądy na centralne stanowisko tiaminy w metabolizmach tkankowych.

Przed wszystkim procesy dysmutacji kwasu pyrogronowego, sprzężonych reakcji oksydacji, dekarboksylacji pozostają wyłącznie w zasięgu działania tiaminy, a właściwie jej dwufosforowej pochodnej, dwufosfotiaminy czyli karboksylazy, koenzymu karboksylazy.

Że w istocie rzeczy dwufosfotiamina, a nie wolna tiamina odgrywają rolę w metabolizmie bakteryjnym, na to wskazują doświadczenia Barona i współpracowników z roku 1941, którzy stwierdzili, że tylko te bakterie, które fosforylują tiaminę są czynne w procesie oksydacji kwasu pyrogronowego. Sz szczególnie ciekawe były doświadczenia przeprowadzane na izolowanych skrawkach tkanki mózgowej i bakteriach Delbrucki nad oksydacją kwasu pyrogronowego. Wprawdzie w zasadzie mechanizm oksydacji w tkankach wyższych zwierząt nie odbiega od mechanizmu drobnoustrojów, lecz w przebiegu tych procesów są pewne różnice.

Oksydacje w tkance mózgowej są doskonalsze i prowadzą do ostatecznych produktów rozpadu t. j. dwutlenku węglowego i wody, natomiast u bakterii jako produkt oksydacji kwasu pyrogronowego występuje kwas octowy. W systemie enzymatycznym oksydacyjnym tkanki mózgowej bierze udział aż 5 czynnych substancji związanych z oksydacją kwasu pyrogronowego, obok dwufosfotiaminy, kwasy C₄ dwukarbonowe, (kwas bursztynowy, kwas fumarowy), kwas adenilowy, adenozyntotrójfosforowy, w końcu jony magnezu.

Mechanizm Krebsa wprowadzający w obieg metaboliczny kwasu pyrogronowego kwasy 3-karbonowe (kwas cytrynowy, alfa-ketoglutaryny), został udowodniony w szeregu doświadczeń nietylko u wyższych zwierząt lecz i u bakterii.

W pewnych doświadczeniach wykazano, że zwierzęta pozostawione na diecie bezwitaminowej (w szczególności bez witaminy B₁) wydalają w moczu kwas cytrynowy. Natomiast pewne typy gronkowców hodowanych na pożywkach bez tiaminy były pobudzane do dysmutacji kwasu pyrogronowego według mechanizmu: kwas szczawio-octowy i kwas fumarowy. Prawdopodobnie tiamina, względnie jej ester fosforowy są czynne w przemianie węglowodanów na kwasy tłuszczowe.

Doświadczenia przeprowadzone na skrawkach tkanki mózgowej gołębia wykazały udział tiaminy w syntezie acetylocholino. Prawdopodobnie wszystkie reakcje biologiczne acetylowania pozostają w związku z dwufosfotiaminą.

W ujęciu ogólnym tiamina, a raczej dwufosfotiamina zajmuje centralne stanowisko w metabolizmach tkankowych. Brak jej w pożywieniu wyższych zwierząt wywołuje charakterystyczne awitaminozy, a deficyt u drobnoustrojów zahamowanie wzrostu, lecz tylko u tych gatunków, u których nie zachodzi synteza tiaminy. Złożona budowa chemiczna tiaminy wskazuje na wysoki stopień jej specyficzności w odniesieniu do roli biologicznej. Należy przewidzieć, że już niewielkie odchylenie od pierwotnej struktury chemicznej może wpłynąć zasadniczo na jej czynność. O ile bowiem dla pewnych gatunków bakteryjnych czynnikiem wzrostowym zastępującym tiaminę może być związek zawierający tylko pierścień pirymidynowy, a dla innych znów związek o pierścieniu tiazolowym, pewne jest, że brakujący człon jest syntetyzowany przez drobnoustrój, a obecna w tych wypadkach tiamina przeprowadza połączenie obu pierścieni egzogenego i endogenego na czynną substancję wzrostową, tiaminę. Zbędność jednego z obu członów tiaminy dla wzrostu bakteryjnego pozwala przypuszczać, że drugi człon jest napewno syntetyzowany. Z grup podstawiających, istotną rolę biologiczną mają grupy metylowe CH₃ w pierścieniu pirymidynowym przy węglu 2 i grupa aminowa przy węglu 6.

Związki syntetyczne z grupą metylową przy węglu 4 (izotiamina) albo z chlorem przy węglu 2 i grupą metylową przy węglu 4 wykazywały bardzo słabe biologiczne działanie.

Istotną zdaje się rolę odgrywa grupa metenowa będąca łącznikiem między obu pierścieniami pirymidynowym i tiazolowym. Związki syntetyczne z oddzielnymi pierścieniami i tiazolowym były biologicznie nieczynne o ile grupa CH_3 przy węglu 5 pierścienia pirymidynowego była podstawiona grupami trwałymi trudno ulegającymi wymianie. O ile więc grupy podstawnikowe np. grupy aminowa, hydroksylowa były łatwe do wymiany, synteza tiaminy odbywała się i biologiczna czynność była regenerowana. Natomiast grupy amidowe CONH_2 przy węglu 5 hamowały wzrost trwale. W pierścieniu tiazolowym zasadniczą rolę odgrywa charakter grupy przy węglu 5. W tiaminie w pierścieniu tiazolowym przy węglu 5 znajduje się grupa oksyetylowa. Podstawienie tej grupy inną, np. beta-hydroksypropionową lub gama-hydroksypropylową niszczy jej czynność biologiczną.

Grupy $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$, CH_2CH_3 wykazują niezmienną biologiczną czynność w stosunku do rodzimej grupy beta-oksyetylowej.

Warunkiem czynności biologicznej tiaminy jest zachowanie grupy metylowej przy węglu 4 w pierścieniu tiazolowym. Dodanie grupy metylowej dodatkowej do węgla 2 osłabia reakcję biologiczną o $\frac{2}{3}$ w stosunku do pierwotnej a wprowadzenie grupy aminowej przy tymże węglu niszczy całkowicie biologiczne własności tiaminy. Według doświadczeń *Langforda* dla gonokoków nie tiamina lecz jej pochodna fosforowa kokarboksylaza jest czynnikiem wzrostowym.

Pierwsze doświadczenie nad hamowaniem reakcji wzrostowej przeprowadzili *Buchmann*, *Heggard* i *Bonner* w 1940r. W swoich doświadczeniach hamowali czynność enzymatyczną karboksylazy przy pomocy pyrofosforanu tiazolu. W myśl ogólnego poglądu na antagonizm biologiczny, pyrofosforan tiazolowy konkuruje z kokarboksylazą o białko enzymatyczne. Teorię specyficznego hamowania reakcji biologicznych przy pomocy związków o podobnej strukturze chemicznej potwierdza reakcja pyritiaminy-antagonisty tiaminy. W pyritiaminie pierścień pirymidynowy jest połączony z pierścieniem piridynowym, a nie tiazolowym jak w cząsteczce tiaminy.

Niektóre drobnoustroje, w szczególności te, które syntetyzują tiaminę mogły w pewnych warunkach wykorzystywać pyritiaminę jako czynnik wzrostowy.

Doświadczenia *Woolleya* i *Whita* na grzybach, drożdżach i wielu gatunkach bakterii potwierdziły te przypuszczenia, że tylko w tych wypadkach pyritiamina hamuje reakcję wzrostową, o ile ustrój nie syntetyzuje pierścienia tiazolowego. *Woolley* wyhodował szczep *Endomycetes*

vernalis, który wykazywał całkowitą odporność na pyritiaminę. Nawet w odniesieniu do silnych stężeń pyritiaminy większych od tych, które wywołują całkowite zahamowanie reakcji wzrostowej u szczepów pokrewnych i macierzystych szczepów *Wooleya* szczep wykazywał zupełną tolerancję w stosunku do pyritiaminy.

Przy pomocy pyritiaminy udało się wywołać awitaminozę doświadczalną u myszy o objawach charakterystycznych i typowych dla deficytu tiaminowego. Leczenie awitaminozy w ten sposób wywołanej, tiaminą dało doskonałe wyniki. Doświadczenia te zapoczątkowują badania nad wywołaniem awitaminoz doświadczalnych przy pomocy związków o działaniu antagonistycznym. Metoda ta powinna znaleźć szerokie zastosowanie w metodyce badań witamin.

2) Ryboflawina. (Laktoflawina, witamina B₂)

Ryboflawina podobnie do tiaminy jest zaliczona do tej grupy nitrolitów, które odgrywają doniosłą rolę w całej biosferze.

Ryboflawina jest nie tylko czynnikiem wzrostowym dla drobnoustrojów, odgrywa istotną rolę w metabolizmach wyższych zwierząt, bierze udział w szeregu procesów enzymatycznych w charakterze koenzymu. Analogicznie do fosforowej pochodnej tiaminy kokarboksylazy, fosforowa pochodna ryboflawiny jest koenzymem dla żółtego fermentu oddechowego kierującego beztlenowymi procesami oksydacji tkankowych. Mechanizm oksydacji kierowanych przez żółty ferment oddechowy jest szczególnie ważny w metabolizmie bakterii *kwasu mlekowego, propionowego, paciorkowca hemolitycznego i szeregu innych.*

Zapotrzebowanie ryboflawiny, względnie jej ufosforylowanej pochodnej pozostaje w ścisłym związku z zdolnością ustroju do syntezy tego związku.

Dla paciorkowca hemolitycznego kałowego ryboflawina jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym, bakterie kwasu mlekowego i propionowego pobudza do szybszego wzrostu, natomiast dla bakterii dysenterii gronkowca złocistego jest zbędna, ponieważ jest przezeń syntetyzowana. Pewne gatunki grzybów, np. *Euromethium ashibyii* syntetyzują ryboflawinę; z przesączów kultur bakteryjnych udało się wyizolować witaminę w czystej postaci.

Awitaminozy spowodowane brakiem ryboflawiny w świecie wyższych zwierząt charakteryzują się nie tylko zahamowaniem wzrostu, ale i szeregiem objawów patologicznych pozostających w związku z organami pochodzenia ektodermalnego, głównie skórą i okiem. Zmiany patologiczne w rogówce i soczewce są charakterystyczne dla awitaminozy B₂. Główne jednak testy biologiczne stosowane do badań witaminy B₂

opracowane są na podstawie zahamowania wzrostu u szczurów, względnie kurcząt.

Specyficzność struktury chemicznej ryboflawiny była badana przez *Snella* i *Stronga* na drobnoustrojach *Lactobac. Casei*, *Bact. Lactis acidii*, i przy pomocy syntetycznych związków flawinowych.

Z prób tych wynika, że istotną rolę biologiczną odgrywa ryboza i węgiel nr. 9. Podstawienie rybozy arabinozą lub sorbozą, względnie całkowite usunięcie grupy węglowodanowej dało związki biologicznie nieczynne. Usunięcie grup metylowych, względnie podstawienie ich grupą etylową nie hamuje reakcji wzrostowej. Natomiast przekształcenie pierścienia układu izoalloksazynowego w pierścień 5,10-dwuhydrofenzynowy daje antagonistę ryboflawiny. Na tych przykładach zaznacza się wyraźnie zasada antagonizmu biologicznego. Niewielkie zmiany w strukturze związku chemicznego mogą przekształcić ciało czynne w inhibitor. *Pyritiamina* w porównaniu z witaminą B₁ posiada w miejscu układu pierścieniowego pięciocłonkowego heterocyklowego z azotem i siarką układ pierścieniowy sześciocłonkowy z azotem bez siarki. Antagonista ryboflawiny zawiera w miejsce tlenów w pierścieniu izoalloksazynowym grupy aminowe. Szczególnie czynne biologicznie okazały się estry ryboflawiny z kwasem bursztynowym. Jedna z grup karboksylowych była zestryfikowana, a druga tworzyła sól sodową.

Według doświadczeń *Levito* u ryboflawina ulega całkowitemu rozkładowi pod wpływem nadtlenu wodoru w obecności jonu żelazawego. Zgodnie z tą obserwacją stwierdzono i u bakterii *Clostridia*, u których w produktach fermentacji znajduje się nadtlenek wodoru zahamowaną kumulację ryboflawiny w obecności jonu Fe. Interesujące doświadczenia przeprowadzone na mutantach *Neurospora* indukowanych promieniami X wykazały wpływ temperatury na zapotrzebowanie przez nie ryboflawiny. I tak w temperaturze poniżej 25 st. ryboflawina nie była niezbędnym składnikiem pożywki, a powyżej tej temperatury obecność jej była koniecznym warunkiem dla normalnego rozwoju bakterii. Podobne doświadczenia były przeprowadzane przez *Robbinsa* i *Kawanaugh*, którzy określili wpływ temperatury przy opracowaniu warunków wzrostowych dla *Phycomyces*.

3. Pirydoksyna (2-metylo-3 hydroksy, 4, 5 hydroksymetylo pirydyna witamina B₆)

Rola biologiczna pirydoksyny w metabolizmach bakterii, grzybów, pleśni, owadów, wyższych roślin i zwierząt została potwierdzona w ostatnich latach. *Moller* poraz pierwszy w 1938 r. wykazał udział pirydoksyny jako niezbędnego czynnika wzrostowego dla bakterii *kwasu mlekowego*. Szereg czynników znanych w literaturze pod nazwą czynnika L, witaminy B₆, czynnika antyakrodynamicznego, czynnika gama zosta-

ły zdefiniowane jako jeden związek chemiczny o określonej dokładnie budowie i roli biologicznej. Badań nad rolą wzrostową pirydoksyny dla świata drobnoustrojów doprowadziły do wykrycia związków pochodnych o doniosłym znaczeniu. W wyniku badań nad metabolizmem *Str. lactis* R wykryto substancję aktywniejszą od pirydoksyny, którą nazwano pseudopirydoksyną. Substancja ta została otrzymana *in vitro* z pirydoksyny, cysteiny i glikokolu w autoklawie. Prawdopodobnie *Str. lactis* R syntetyzuje tę substancję kompleksową o istotnym znaczeniu dla metabolizmu tego organizmu.

Badania Snella z 1944 r. na bakteriach *kwasu mlekowego* doprowadziły do wykrycia dwu jeszcze różnych związków pochodnych pirydoksyny silnie aktywnych, pochodnej aldehydowej *pirydoksalu* i pochodnej aminowej *pirydoksaminy*.

Pirydoksamina (2 metylo, 3 hydroksy, 4 aminometylo, 5 hydroksymetylopirydyna).

Pirydoksal (2 metylo, 3 hydroksy, 4 formyl, 5 hydroksymetylopirydyna).

Doświadczenia przeprowadzane z pirydoksyną, pirydoksalem i pirydoksaminą wykazały duże różnice w zapotrzebowaniu tych związków przez świat drobnoustrojów.

W związku z tymi doświadczeniami przyjęto podział drobnoustrojów na 3 typy;

Typ A — do którego zalicza się te organizmy, dla których czynna jest tylko pirydoksyna. Np. *Lactobac. casei*.

Typ B — obejmujący te organizmy, dla których czynne są pirydoksal i pirydoksamina, natomiast pirydoksyna nie odgrywa dla nich żadnej roli, np. *Str. faecalis*, *Str. lactis*, *Str. zymogenes*

Typ C — obejmujący te drobnoustroje dla których wszystkie trzy substancje mają jednakowe znaczenie biologiczne np. *Saccharomyces carlsbergensis*, *Mycoderma valida*, *Ceratostomella ulmi*, szereg innych.

Prawdopodobnie organizmy te zachowują się wybiórczo w odniesieniu do następujących przekształceń;

pirydoksyna — pirydoksal — pirydoksamina

Organizmy typu A nie są zdolne do przekształceń w kierunku pirydoksyny.

Organizmy typu B nie przekształcają pirydoksyny w pirydoksal i pirydoksaminę a dla typu C obukierunkowe przekształcania są dostępne.

Przy tak przyjętym mechanizmie stanowisko centralne zajmuje pochodna aldehydowa pirydoksal.

Pirydoksal stanowi tę substancję macierzystą dla fosforanu pirydoksyny, który jest koenzymem dla transaminacji i dekarboksylacji aminokwasów. Naturalne źródła pirydoksyny stanowią mieszaninę tych trzech związków, które dadzą się oznaczyć przy pomocy testów biologicznych.

W pewnych wypadkach pirydoksyna może być syntetyzowana. Substancją macierzystą w syntezie pirydoksyny stanowią prawdopodobnie aminokwasy. Doświadczenia na *L. casei* wykazały, że aminokwas alana sama przez się nieczynna, lecz w obecności innego czynnika dodatkowego, bliżej niezdefiniowanego może zastąpić pirydoksynę.

Doświadczenia przeprowadzone na bakteriiach *kwasy mlekowego* wykazały wpływ ciśnienia cząstkowego tlenu w fazie gazowej na stężenie syntetyzowanej pirydoksyny. Im mniejsze ciśnienie tlenu, tym większe zapotrzebowanie pirydoksyny. Prawdopodobnie zależności te pozostają w związku z procesami oksydacji, w których bierze udział pirydoksyna, względnie syntezie pirydoksyny sprzyja wyższe ciśnienie cząstkowe tlenu.

Dla *paciorowca hemolitycznego* wykryto natomiast zależność zapotrzebowania pirydoksyny od ciśnienia cząstkowego dwutlenku węgłowego. Synteza pirydoksyny przy ciśnieniu cząstkowym dwutlenku węgłowego 0.4mm odbywa się w nieznacznym stopniu. Dopiero przy ciśnieniu 8mm występował wzrost, który wynosił połowę tego maksymalnego wzrostu, osiąganego przez bakterie przy obecności pirydoksyny w pożywce. Mechanizm obu tych zależności nie jest jeszcze dostatecznie wyjaśniony.

Doświadczenia Leonian i Lily z 1942 roku przeprowadzone na 10 szczepach drożdży *Saccaromyces cerevisiae* hodowanych na pożywkach syntetycznych z dodatkiem różnych witamin wykazały, że brak pirydoksyny nie hamował wzrostu u żadnego z tych szczepów. Jeden z tych szczepów wykazywał normalny wzrost na pożywce syntetycznej nie zawierającej zupełnie witamin. Drożdże te syntetyzowały więc tiaminę, ryboflawinę, pirydoksynę, kwas nikotynowy, biotynę, kwas pantotenowy, i inozytol.

Wyizolowane korzenie zielonych roślin syntetyzowały pirydoksynę. Ciekawe doświadczenie przeprowadzali Beadle i Tatum w 1942 roku na mutantach *Neurospora crassa* indukowanych przez naświetlanie promieniami Rentgena. Macierzysty organizm wyhodowany na pożywce syntetycznej składającej się z węglowodanów i soli mineralnych bez dodatku czynników wzrostowych wykazywał normalny wzrost, natomiast mutanty nie wykazały zdolności wzrostowych w tych warunkach odżywiania. Trzy mutanty nie syntetyzowały kwasu p. aminobenzoesowego, dwie tiazolu tiaminowego, jedna pirydoksyny, podczas gdy macierzysty organizm syntetyzował wszystkie trzy witaminy. Niewielkie tylko zmiany w strukturze chemicznej pirydoksyny prowadzą do nieczynnych związków. Naogół jednak osłabienie czynności biologicznej pozostaje w związku z rodzajem ustroju. Np. wymiana grupy metylowej przy węglu 6 na etylową daje związek biologicznie nieczynny dla szczurów, natomiast korzenie izolowane pomidorów rozwijają się w tych warunkach normal-

nie. Estryfikacja trzech grup hydroksylowych grupami acetylowymi daje związki czynne dla szczurów, nieczynne dla bakterii *kwasu mlekowego*.

Potężnym antagonistą pirydoksyny jest dezoksypirydoksyna (2—4 dwumetylo, 3 hydroksy, 5-hydroksy, metylopirydyna). Kurczęta, którym podawano w diecie ten preparat wykazywały objawy awitaminozy pozostające w związku z atrofią śledziony. Podawanie w diecie pirydoksyny usuwało w krótkim czasie objawy awitaminozy. Z szeregu doświadczeń przeprowadzanych przez Lichtensteina wynika, że fosforan pirydoksyny wchodzi w skład systemu enzymatycznego transaminazy, a według Umbreda, Wooda i Lymanna mechanizm syntezy tryptofanu u *Neurospora* pozostaje bezwzględnie w związku z pirydoksyną. Obecność dwutlenku węgla, pirydoksyny w pożywce redukowało całkowicie zapotrzebowanie bakterii kwasu mlekowego w stosunku do aminokwasów.

Wprawdzie badania przeprowadzone w kilku ostatnich latach przyniosły duży postęp w dziedzinie biochemii pirydoksyny, ale mechanizmy reakcji metabolicznych przebiegających z udziałem pirydoksyny są jeszcze dotychczas niezbadane.

4. G l u t a m i n a .

Wprawdzie niektóre gatunki drobnoustrojów mogą wykorzystywać mineralne źródła azotowe, np. sole amonowe, azotyny i azotany dla syntezy białek i innych organicznych związków azotowych, ale większość bakterii potrzebuje dla celów tych syntez pewnej liczby aminokwasów, które stanowią strukturalne jednostki potrzebne dla budowy rodzimych białek.

Z szeregu znanych dotychczas aminokwasów, glutamina i kwas glutaminowy odgrywają najważniejszą rolę wzrostową dla drobnoustrojów. W próbach doświadczalnych na różnych drobnoustrojach udało się zastąpić glutaminę asparaginą, mimo tego, że wolny kwas asparaginowy jest inhibitorem glutaminy. Z doświadczeń tych wynika, że grupa aminowa asparaginy, która daje się przenieść na kwas glutaminowy stanowi ten czynny biologicznie układ.

Przed wszystkim doświadczenia Pollacka i Lindnera z 1943 r. na *bakteriach kwasu mlekowego* wykazały rolę biologiczną glutaminy. Kwas glutaminowy wolny tylko wtedy może być wykorzystany, gdy istnieją warunki dla jego przemiany w glutaminę.

Doświadczenia przeprowadzone na *paciorkowcu hemolitycznym* wykazały że ustrój ten nie wykorzystuje obecnych w pożywce peptydów glutaminowych.

Według Pollacka i Lindnera znaczenie biologiczne glutaminy i kwasu glutaminowego odnosi się przede wszystkim do ich roli

w syntezie białek specyficznych dla danego ustroju. Glutamina odgrywa rolę w przenoszeniu grupy aminowej.

Dla większości drobnoustrojów sprzężone związki kwasu glutaminowego np. w peptydach są biologicznie nieczynne i nie mogą wobec tego stanowić źródeł glutaminy.

Do inhibitorów glutaminy i kwasu glutaminowego zaliczyć należy wolny kwas asparaginowy, ale w żadnym wypadku asparaginę.

Hamowaniu reakcji przez kwas asparaginowy przeciwdziała kwas glutaminowy. Zjawisko to stanowi jeszcze jeden przykład potwierdzający teorię konkurencji obu związków o enzym. Enzym ten współdziała w przenoszeniu grupy amidowej z asparaginy na kwas asparaginowy.

5. Kwas pantotenowy

Kwas pantotenowy należy do tych nielicznych czynników wzrostowych, których rola biologiczna była znana na długo jeszcze przed poznaniem budowy technicznej. Kwas pantotenowy zaliczyć można do grupy historycznych biosów wykrytych w drożdżach.

W zasięgu działania kwasu pantotenowego znajduje się prawie cała biosfera, więc czynnik wzrostowy dla bakterii *kwasu mlekowego*, dla *patyczek błonicy*, *paciorkowców hemolitycznych* czynnik wzrostowy dla kurcząt, czynnik przesączalny wątrobowy, przesączalny dla kurcząt, czynnik wzrostowy niezbędny dla wyższych roślin stanowią jeden i ten sam związek chemiczny znany dziś pod nazwą kwasu pantotenowego. Budowę chemiczną kwasu pantotenowego podał Wooley w 1939 roku.

Kwas pantotenowy stanowi peptydowe połączenie kwasu pantoinowego (kwas alfa, gama dwuhydroksy, beta dwumetylo propionowy z beta-alaniną).

Po raz pierwszy w związkach biologicznych czynnych spotykamy się z grupą aminową w położeniu beta do grupy karboksylowej. Przed poznaniem kwasu pantotenowego beta-alanina znana była jako składnik pewnych peptydów o drugorzędym znaczeniu, karnozyny i anseryny występujących w mięśniach ptaków. W kwasie pantotenowym rola biologiczna beta-alaniny wysuwa się na pierwszy plan. Mechanizm chemiczny jej działania nie jest jeszcze dostatecznie wyjaśniony. Czy odgrywa rolę w ustrojach procesach takich jak glikogenoliza, glikoliza, dekarboksylacja, oksydacje trudno dziś już o tym decydować. Mechanizm chemiczny dla czynności biologicznej kwasu pantotenowego nie stanowi wyraźnego i jasnego obrazu. U wyższych zwierząt awitaminoza wywołana brakiem kwasu pantotenowego wyraża się najczęściej w różnorodnych objawach patologicznych, z których zwykle występują: zmiany barwikowe, siwienie włosów, dermatitis, owrzodzenia w przewodzie pokarmowym, nekroza nadnerczy, zmiany w nerkach, degeneracja substancji nerwowej

i szereg innych. Badania Nelsona i Ewansa na szczurach i Mc. Valla na małpach wykazały zaburzenia w rozrodczości pozostające w związku z awitaminozą kwasu pantotenowego. Całkowita resorpcja embrionów występowała zawsze w konsekwencji deficytu kwasu pantotenowego w diecie badanych zwierząt.

W świecie drobnoustrojów istnieje w stosunku do kwasu pantotenowego specyficzna wybiórczość, podobnie zresztą jak w stosunku do innych czynników wzrostowych. Np. bakterie *kwasy mlekowego, propionowego, paciorkowiec hemolityczny, Clostridium tetani Pasteurella* rozwijają się tylko w razie obecności, nierozłożonej cząsteczki kwasu pantotenowego. Nie możemy jej zastąpić ani członem beta-alaniny, ani kwasem pantoinowym. Wśród szczepów błoniczych natomiast znane są takie, które syntetyzują kwas pantotenowy w razie obecności grupy beta-alaniny w pożywce. Odwrotnie znów, niektóre szczepy *paciorkowca hemolitycznego* i znaczna większość szczepów *Saccharomyces cerevisiae* syntetyzują beta-alaninę. Podobnie i *Acetobacter suboxydans* potrzebuje do wzrostu tylko członu alifatycznego kwasu pantotenowego.

Analiza biologicznej czynności w odniesieniu do dwu chemicznie odrębnych jednostek w kwasie pantotenowym wykazuje, że raczej beta-alanina jest tym głównym czynnikiem wzrostowym.

Podstawienie beta-alaniny, alfa-alaniną, lizyną, kwasem beta aminomasłowym daje związki biologicznie nieczynne. Zmiany w podstawnikach metylowych i hydroksylowych w kwasie pantoinowym osłabiają tylko czynność biologiczną.

Zahamowanie reakcji wzrostowej występuje po wprowadzeniu do ugrupowania beta-alaniny w miejsce grupy karboksylowej grupy sulfonowej.

Według Snella (1941), N-alfa-gama-dwuhydroksy beta-, beta dwumetylo butyrylo tauryna i pantoilotauryna według Mc. Ilwain wykazują działanie wyraźnie antagonistyczne. W stężeniach od 100 do 500 razy wyższych od kwasu pantotenowego zawarta w pożywce pantoilotauryna blokuje te enzymy, które są związane z akcją kwasu pantotenowego.

Podobnie i reakcja wzrostowa może ulec zahamowaniu po wprowadzeniu do pożywki fenilopantotenonu, kwasu tiopanowego.

Widzimy więc, że przekształcenie grupy karboksylowej, względnie jej usunięcie prowadzi zawsze do antagonistów biologicznych. Działanie bakteriostatyczne może być zahamowane po wprowadzeniu odpowiednich dawek kwasu pantotenowego.

Wymiana w pantoilotaurynie grupy karboksylowej na sulfonową przypomina wymianę analogiczną w kwasie p. aminobenzoesowym, która prowadzi do sulfamidowych związków.

Dla bakterii *Staph. aureus* i *E. coli* stwierdzono antagonistyczne działanie kwasu salicylowego. Trudno przypuścić by i w tych wypadkach

bakteriostatyczne działanie tych związków dało się wyjaśnić teorią konkurencji o enzymy. Na razie zjawisko to nie znajduje jeszcze dostatecznego teoretycznego wyjaśnienia.

6. Biotyna (witamina H, Koenzym R' Bios III).

Rozwój historyczny pojęć o biotynie przypomina nieco historię wykrycia kwasu pantotenowego. Tak samo bowiem najpierw poznano doniosłą i wszechstronną rolę biologiczną tego związku w biosferze, a dopiero później określono jego budowę chemiczną. Biotyna zalicza się do historycznych biosów wykrytych w drożdżach. Kilka niezależnych zupełnie od siebie szlaków badań poprowadziło do poznania biotyny. Jeden kierunek badań prowadzonych przez K ö g l a i T o n i s a na drożdżach doprowadził do wykrycia substancji o potężnym działaniu biologicznym nazwanej później przez badaczy biotyną. Na drugim szlaku badań przeprowadzonych przez A l l i s o n a i H o o z e r a w poszukiwaniu substancji wzrostowej dla *Rhizobium*, bakterii wiążącej azot atmosferyczny znaleziona była substancja czynna nazwana koenzymem R'. Trzeci kierunek badań obejmował badania na szczurach żywionych białkiem kurzym. Wywołana w ten sposób awitaminoza usuwana była przy pomocy podaży diety: kartfli, mleka, drożdży, wątroby. Czynniki leczniczy X nazwano witaminem H.

W szeregu doświadczeń dalszych, w których udało się pokryć zapotrzebowanie *Rhizobium* preparatami biotyny, a chorobę białkową szczurów wyleczyć wyciągami z bakterii syntetyzujących koenzym R' i preparatami K ö g l a stwierdzono identyczność witaminu H. koenzymu R' i biotyny K ö g l a.

Na cząsteczkę biotyny, której budowa chemiczna została już zdefiniowana składają się; uwodorowana cząsteczka tiofenu, ugrupowanie jednej cząsteczki mocznika i łańcuch boczny przy węglu 2 w pierścieniu tiofenowym kwasu n-walerianowego.

K ö g l i T o n i s otrzymali początkowo krystaliczne preparaty, które stanowiły ester metylowy biotyny. Po zmydleniu estru otrzymano czystą biotynę, również w postaci krystalicznej.

Badania czynności biologicznej biotyny były przeprowadzane głównie na drożdżach. Dla niektórych szczepów drożdżowych biotyna była czynnikiem wzrostowym niezbędnym i w tych wypadkach stężenie biotyny decydowało o wzroście.

Szczególnej interesujące były doświadczenia przeprowadzane przez L i l y i L e o n i a n w 1942 r. na 10 szczepach drożdżowych hodowanych na pożywkach syntetycznych z dodatkiem niektórych czynników wzrostowych, w szczególności biotyny, kwasu pantotenowego, pirydoksyny, inozytolu i tiaminy. Doświadczenia te wykazały, że żaden z tych szczepów

nie rozwijał się wyraźnie bez biotyny, a dla wszystkich szczepów koniecznym dla wzrostu czynnikiem był kwas pantotenowy. Jeden tylko szczep był zdecydowanie zależny od dopływu tiaminy. Wyniki tych doświadczeń pozwoliły wyprowadzić wniosek, że czynniki wzrostowe wzajemnie się zastępują i zapotrzebowanie specyficzne organizmu w stosunku do jednego z nich pozostaje zawsze w związku z obecnością innych.

W metabolizmach bakteryjnych biotyna odgrywa wybitną rolę. Podobnie jak i u innych czynników wzrostowych biotyna jest dla pewnych gatunków czynnikiem wzrostowym niezbędnym, natomiast przez inne jest syntetyzowana.

Dla bakterii typu *Rhizobium* rola biotyny jest wielostronna ponieważ i ich procesy oddechowe pozostają w ścisłej zależności od biotyny. Np. dla *Rhizobium trifolium* współczynnik zużycia tlenu w obecności biotyny dochodził do 1000 a dla *Azotobacter vinelandi* i wykazującej zdolności do syntezy biotyny dochodził nawet w pewnych wypadkach do 5000. Z doświadczeń Wilsona przeprowadzanych nad wzrostem różnych szczepów z gatunku *Rhizobium* wynika, że tylko niektóre z nich syntetyzują biotynę. Większość z nich wykazuje przy nieobecności biotyny rozwój bardzo nieznaczny.

Niektóre szczepy z gatunku *gronkowca złocistego* odznaczały się wyjątkową wrażliwością na minimalne dawki biotyny. Pewne szczepy hodowane na pożywkach podstawowych z dodatkiem tiaminy, amidu kwasu nikotynowego wykazywały po dodaniu 0.0005 gama/ml 7 — 8 krotne pomnożenie masy bakteryjnej w czasie 48 godzin. Z biotyny daje się wyprowadzić drogą podstawienia siarki wodorami *destbiotyna*, która dla pewnych bakterii może zastąpić biotynę. Jak przykład służyć może *Leuconostoc mesenteroides*. Natomiast dla bakterii *Lactobac. casei*, *Cera stomella pini* *destiobiotyna* jest antagonistą biotyny.

Działanie bakteriostatyczne ustępuje po dodaniu biotyny. Dla *Lactobac. arabinosus* i *Rhizobium trifolii*, *destiobiotyna* nie jest ani czynnikiem wzrostowym ani też inhibitorem. Należy przypuszczać, że te organizmy, które wykorzystują *destiobiotynę* jako czynnik wzrostowy przekształcają ją w biotynę. Przykład biosyntezy biotyny, podaje Tatum w 1945 roku na mutantach kultur *Penicilium chrysogenum*. Vigneaud przypuszcza, że substancją macierzystą biotyny jest kwas pimelinowy (kwas dwukarboonowy — 7 węglowy), który sam jako taki może być czynnikiem wzrostowym dla pewnych szczepów pałeczek błonicy. Vigneaud przypuszcza, że kwas pimelinowy stanowi jedno z ogniw w syntezie biologicznej biotyny. Jako poparcie dla swojej tezy podaje szczepy błonicy, które rozwijają się normalnie bez biotyny tylko na pożywkach zawierających kwas pimelinowy. Zgodnie z doświadczeniami przeprowadzanymi na grzybach (Tatum 1945) należy przypuszczać, że synteza biotyny

odbywa się na szlaku kwas pimelinowy, destbiotyna. Ostatnią fazę stanowi wprowadzenie siarki do pierścienia.

Czynną grupę w cząsteczce biotyny stanowi bezsprzecznie pierścień uwodorowanego tiofenu. Zastąpienie go pierścieniem benzenowym albo cykloheksanowym prowadzi do związków biologicznie nieczynnych.

Kwasy dwuaminokarbonowe otrzymywane przy rozpadzie biotyny mogą w szeregu wypadków zastępować biotyne. Przy podstawieniu siarki tlenem otrzymuje się oksybiotynę, której czynność biologiczna jest dla *L. arabinosus* taka sama jak dla biotyny, dla *L. casei* i waha się w granicach 40 — 8. Antagonistą biotyny jest białko jaja kurzego zwane awidyną. Antagonizm biologiczny białka kurzego i biotyny znany był jeszcze z historii rozwoju pojęć o biotynie, Witamin H znany był też pod nazwą „white egg injury factor”. Awidyna znana też pod nazwą antybiotyny jest białkiem typu albumin o masie cząsteczkowej około 70.000.

Związanie biotyny z białkiem prawdopodobnie w grupie mocznikowej daje kompleks biologicznie nieczynny.

Doświadczenia Gyorgyi'ego wykazują, że proces tworzenia kompleksu biotyny z białkiem odbywa się w przewodzie pokarmowym. Awidyna podana podskórnie nie wychwytuje biotyny.

Tylko w wypadkach niezdolności do syntezy biotyny awidyna działa jako czynnik hamujący wzrost. Antybiotyna tworzy kompleks tylko z biotyne dostarczoną organizmowi zewnątrz. Natomiast nie przenika do komórek w których odbywa się synteza biotyny. Gdy czynnikiem wzrostowym jest, nie biotyne lecz jego poprzednik w syntezie, kwas pimolinowy, w tych wypadkach awidyna nie hamuje wzrostu. Awidyna jest antagonistą tylko dla niezmienionej cząsteczki biotyny.

7. Kwas P. Aminobenzoesowy

Biologiczna rola kwasu p. aminobenzoesowego jako czynnika wzrostowego została stwierdzona na drodze pośredniej w wyniku badań wpływu bakteriostatycznego związków sulfamidowych. Czynniki działający antagonistycznie w stosunku do sulfamidów określany pod nazwą czynnika „P” wykryty był w wyciągach drożdżowych. (Wood 1940), w wyciągach bakteryjnych (Green 1940). W szeregu doświadczeń stwierdzono tożsamość czynnika „P” i kwasu p. aminobenzoesowego. Ansbacher (1941) zwraca uwagę na rolę kwasu p. aminowego w procesach metabolicznych bakterii i zalicza go do witamin. Kwas p. aminobenzoesowy odgrywa istotną rolę biologiczną również dla wyższych zwierząt (czynnik wzrostowy dla kurcząt i usuwający „achromotrichię” u szczurów).

Prace Wooda związane z sulfamidami zapoczątkowały rozwój chemoterapii opartej na zasadzie zwalczania bakterii chorobotwórczych przy

pomocy inhibitorów specyficznych hamujących istotne procesy metaboliczne bakterii. Inhibitory mają charakter w większości wypadków specyficzny, ich budowa chemiczna jest zbliżona do budowy odpowiadających im czynników wzrostowych. Odpowiednikiem wzrostowym dla sulfamidów jest według Wooda kwas p. aminobenzoowy. Według Wooda w konkurencji o ten sam enzym inhibitor wywiera działanie tylko wtedy gdy stosunek ilościowy stężeń ciała czynnego do inhibitora będzie mały.

Zgodnie z tą hipotezą kwas p. aminobenzoowy ma być tym istotnym i niezbędnym czynnikiem wzrostowym dla tych rodzajów bakterii, u których sulfamidowe związki blokują pewne zasadnicze procesy metaboliczne. Mechanizm biologiczny kwasu p. aminobenzoowego w drobnoustrojach nie jest jeszcze definitywnie określony. Według Saca i Bernheima w żadnym wypadku nie służy dla ustroju jako źródło węgla i energii.

Znaczenie kwasu p. aminobenzoowego jako czynnika wzrostowego zostało wykazane dla *Clostridium felsineum (butylicum)*, *Acetobacter suboxydans*, dla pewnych szczepów bakterii kwasu mlekowego, paciorkowca hemolitycznego, dla pewnych grzybów, np. *Ceratostomella piceparda*, *Neurospora crassa* i t.p.

Zapotrzebowanie ilościowe bakterii w stosunku do kwasu p. aminobenzoowego waha się w granicach 0.05—1.0 μ mg/ml.

Teoria Wooda i Fildesa w odniesieniu do sulfamidów budzi jednak pewne zastrzeżenie. Po pierwsze nasuwa się pytanie dlaczego z wszystkich badań związków o strukturze chemicznej podobnej do kwasu p. aminobenzoowego tylko związki zawierające grupę sulfamidową (SO_2NH_2) w położeniu para do grupy aminowej są bakteriostatykami. Zmiany w pierścieniu przy zachowaniu grup sulfamidowych w położeniu para nie wpływają w poważniejszym stopniu na czynność bakteriostatyczną. Sulfopirydyny, sulfotiazole, sulfodiazyny, są słabszymi bakteriostatykami od sulfamidów. Wprowadzenie do pierścienia grup dodatkowych osłabia również właściwości bakteriostatyczne. Zastąpienie grupy aminowej w położeniu para do grupy sulfamidowej hamuje całkowicie aktywność bakteriostatyczną.

Drugi słaby punkt teorii Wooda i Fildesa w odniesieniu do sulfamidowych połączeń tyczy zakresu działania sulfamidów. Działaniu sulfamidów podlegają bowiem niektóre bakterie dla których kwas p. aminobenzoowy jest czynnikiem wzrostowym niezbędnym, dostarczany z zewnątrz, bez zdolności do jego syntezy, ale i te, które syntetyzują kwas p. aminobenzoowy. Efekt bakteriostatyczny jest jednakowoż zawsze hamowany przez kwas p. aminobenzoowy.

W tej rozgrywce obu antagonistycznych w stosunku do siebie związków decydujący jest stosunek ilościowy. Dopiero przy znacznym nadmiarze sulfamidowych połączeń może być osiągnięty efekt bakteriosta-

tyczny. Sulfamidy wprowadzone w małych stężeniach stanowią w pewnych wypadkach bodziec dla syntezy kwasu p. aminobenzoowego. Wykazały to doświadczenia przeprowadzane na gronkowcach, *E. coli*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, i *Diplococcus pneumoniae*.

Z doświadczeń dotychczasowych wynika wyraźnie, że sulfamidy zajmują wyjątkowe stanowisko w grupie antybiotyków. Zasięg ich działania jest o wiele szerszy, obejmuje bowiem i te drobnoustroje, które syntetyzują kwas p. aminobenzoowy. Prawdopodobnie nie tylko kwas p. aminobenzoowy hamuje czynność bakteriostatyczną sulfamidowych połączeń, czyni to w słabszym stopniu i metionina

8) Amid kwasu nikotynowego.

Kwas nikotynowy i jego amid wchodzi w skład nukleotydów, które stanowią koenzymy dehydrogenaz ważnych dla procesów oddechowych komórek. W skład dehydrogenazy I wchodzi amid kwasu nikotynowego.

Warburg, Christian, Euler przypisują temu związkowi znaczenie w przenoszeniu wodoru w biologicznych oksydacjach.

Niezależnie od tych badań stwierdzono istotną rolę amidu kwasu nikotynowego w procesach wzrostowych bakterii. Większość bakterii może syntetyzować ten związek i tylko dla nielicznych gatunków bakteryjnych związek ten musi być dostarczany z zewnątrz.

Do tych zaliczamy: *Staph. salvarius*, *Staph. aureus*, *Str. haemoliticus*, *Staph. albus*, *Pneumococci*, *Corynebact*, *Diphtheriae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella paratyphos.*, *Brucella*, *Clostridium perfringens*, itp.

Muller wyizolował amid kwasu nikotynowego z wątroby i zastosował tę frakcję do leczenia awitaminozy psiej zwanej chorobą „czarnego języka“. Przy leczeniu pellagry ludzkiej otrzymano na tej drodze również pozytywne rezultaty.

Do najbogatszych źródeł kwasu nikotynowego należy zaliczyć wątrobę, nerki, mięśnie i drożdże.

Ponieważ bakterie wykorzystują również dobrze kwas nikotynowy wolny jak i jego amid, przypuszczano, że jeden i drugi związek jest tym czynnikiem wzrostowym i tylko te bakterie mogą wykorzystywać wolny kwas nikotynowy, które rozporządzają innymi jeszcze źródłami grupy aminowej, przytem mogą ją przenieść do grupy karboksylowej w pierścieniu pirydynowym.

Bakterie z grupy *Pasteurella* mogą zużytkować tylko amid kwasu nikotynowego, ponieważ niezdolne są do syntezy amidu z wolnego kwasu nikotynowego.

Na gatunku *Tremula cremoris* po stwierdzeniu zasady, że w pewnych warunkach ustrój może syntetyzować przy obecności jednego czy

dwu czynników wzrostowych tę resztę czynników, które jest im normalnie potrzebna do wzrostu.

Jak widzimy z przeglądu i charakterystyki poszczególnych czynników wzrostowych, wszystkie zastępują się wzajemnie, co pozostaje wyłącznie w związku ze zróżniczowanymi zdolnościami syntetycznymi różnych gatunków bakteryjnych.

W szeregu doświadczeń przeprowadzanych z różnymi gatunkami bakterii zwrócono przede wszystkim uwagę na znaczenie położenia grupy karboksylowej w pierścieniu pirydynowym. Dla większości drobnoustrojów grupa karboksylowa w położeniu 3 warunkuje rolę wzrostową związku. Wyjątek stanowi *Proteus Vulgaris*, który może wykorzystać i kwas izonikotynowy (pirydyno-4-karboksylowy) dla celów wzrostowych. Z reguły jednak tak kwas izonikotynowy jak i pikolinowy (pirydyno-2-karboksylowy) nie są czynne.

Estry metylowe i etylowe kwasu nikotynowego zachowują właściwości biologiczne charakterystyczne dla kwasu nikotynowego i jego amidu. Całkowite usunięcie grupy karboksylowej, względnie podstawienie jej rodnikami alkilowymi daje związki biologicznie nieczynne.

Antagonistą amidą kwasu nikotynowego jest kwas *pirydyno-3-sulfonowy*, względnie jego amid. Funkcja bakteriostatyczna tych związków doznaje zahamowania po dodaniu kwasu nikotynowego, względnie jego amidu. Doświadczenia na *St. aureus* wykazały działanie bakteriostatyczne kwasu pirydyno-3-sulfonowego, tylko wtedy gdy czynnikiem wzrostowym jest wolny kwas nikotynowy a nie jego amid. *E. coli* i *St. haemoliticus* rosną normalnie w obecności kwasu pirydyno-3-sulfonowego, natomiast dla *St. aureus*, który rośnie tylko na amidzie kwasu nikotynowego, kwas pirydyno-3-sulfonowy jest inhibitorem. Prawdopodobnie kwas pirydyno-3-sulfonowy wstrzymuje proces powstawania amidu z kwasu nikotynowego.

Do czynników hamujących działanie wzrostowe amidu kwasu nikotynowego należą też połączenia sulfamidowe. Nazwa „multiplex inhibitor“ dla sulfamidów wydaje się uzasadniona.

Rola fizjologiczna kwasu nikotynowego w życiu drobnoustrojów jest dwojaka; służy bowiem jako materiał budulcowy dla nukleotydów, które są ważnymi koenzymami, ponadto stanowi czynnik wzrostowy o wiele silniejszy od kozymazy jak tego dowodzą doświadczenia Dorfman na. Szereg badań przeprowadzanych nad etiologią pellagry wykazało istnienie związku genetycznego między tryptofanem a kwasem nikotynowym. Pellagrę doświadczalną wywoływano nie tylko dietą charakteryzującą się brakiem amidu kwasu nikotynowego, lecz zarówno dietą zbożową niedoborową pod względem jakości białek, żelatyną, względnie hydrolizatami białek pozbawionymi tryptofanu.

Objawy awitaminozy ustępowały po dodaniu do diety amidu kwasu nikotynowego. Doświadczenia te stały się punktem wyjścia dla hipotezy, że tryptofan w syntezie biochemicznej kwasu nikotynowego jest tym związkiem pośrednim poprzedzającym powstanie kwasu nikotynowego. Według Wooley'a jednak dietą zbożowa wpływa na powstanie pellagry nie tylko na skutek niedoboru pewnych niezbędnych aminokwasów, ale i na skutek działania specyficznego czynnika pellagrogenicznego, którym okazał się kwas indolooctowy.

W świetle późniejszych badań, pellagra pozostaje w związku nie tylko z niedoborem kwasu nikotynowego, ale według Lecocqua ten zespół chorobowy wynika z równoczesnego niedoboru kwasu nikotynowego, pantotenowego i p. aminobenzoowego.

9. Nukleotydy Pirydynowe. (czynnik V).

Doświadczenia przeprowadzone na drobnoustrojach grupy *Haemophilus* wykazały rolę wzrostową dwu czynników o nieznannej początkowo strukturze X i V.

Jak później stwierdzono czynnik X ma budowę hemową, a czynnik V budowę nukleotydu pirydynowego. Według Lwoffa (1937) czynnik V jest identyczny z kozymazą i koenzymami Warburga i Christiana (dwu lub trójfosfopirydynonukleotydy).

W zależności od zapotrzebowania czynnika V dla wzrostu podzielono bakterie na 3 grupy:

1). Organizmy, które syntetyzują koenzymy I i II z pożywki zawierającej związki amonowe jako źródło azotu i proste związki węglowe (węglany, octany, jako źródło węgla, n.p. *E. coli*).

2). Organizmy, które potrzebują dla wzrostu całkowitej, nienaruszonej cząsteczki koenzymu (n. p. szczepy *Haemophilus*). Doświadczenia Schlenka i Gingricha (1942 i 1944) wykazały, że szczepy *Hemophilus influenzae* i *parainfluenzae* mogą syntetyzować koenzymy I i II w tych warunkach gdy istnieje już połączenie między amidem kwasu nikotynowego i pentozą.

Ponadto Bass, Berkman, Saunders i Kozler wykazali w swoich doświadczeniach znaczenie katalazy, która w pewnych wypadkach może pokrywać zapotrzebowanie niektórych szczepów *Hemophilusa* w stosunku do koenzymów nukleotydowych I i II.

3). Organizmy, które syntetyzują nukleotydy pirydynowe ze składników: amidu kwasu nikotynowego, kwasu adenilowego i pentozy. Tu zaliczają się: *Staph. aureus*, *Corynebact. diphtheriae*, *Proteus* i szereg innych.

Nukleotydy fosfopirydynowe spełniają w życiu drobnoustrojów doniosłą rolę czynników przenoszących wodór i biorących udział w biologicznych oksydacjach.

10. Zasady Purynowe i Pirymidynowe.

Niektóre z zasad purynowych, względnie pirymidynowych odgrywają specyficzną rolę wzrostową dla pewnych typów bakterii.

W szczególności stwierdzono doniosłą rolę *uracylu* (2,6 dwuoksypirymidyny) dla wzrostu beztlenowego *Staph. aureus* i *Ebertella typhosa*.

W warunkach tlenowych wyżej wymienione bakterie syntetyzują uracyl.

Dla wielu bakterii uracyl jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym. Wymienimy następujące: *Clostridium tetani*, *Shigella dysenteriae*, *Str. haemoliticus*.

Pochodne uracylu, a głównie te, które miały grupy metylowe zachowały się biernie w stosunku do wzrostu bakteryjnego.

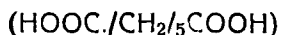
Inne zasady purynowe i pirymidynowe są również ważne dla wzrostu pewnych bakterii. Trudno określić, która z tych zasad odgrywa najważniejszą rolę w życiu drobnoustrojów. Raczej należy się liczyć z pewną wybiórczością w zapotrzebowaniu bakterii w stosunku do tych zasad.

Zasady purynowe (guanina, ksantyna, adenina), wywierają uczulające działanie na zachowanie się *Acetobakter suboxydans* w stosunku do kwasu p. aminobenzoowego. O ile bowiem w nieobecności zasad purynowych wrażliwość bakterii na kwas p. aminobenzoowy nie obejmuje dawek poniżej 0.01 mg/ml, uracyl to po dodaniu zasad purynowych uczulenie doprowadza do granicy wrażliwości nawet poniżej 0.001 mg/ml kwasu p. aminobenzoowego. Antagonistą adeniny względnie guaniny jest benzoimidazol.

Pochodne metylowe, nitrowe, aminowe benzoimidazolu są już o wiele słabszymi inhibitorami w stosunku do czynności zasad purynowych. Działanie bakteriostatyczne jest odwracane przy pomocy adeniny. Kierunek działania benzoimidazolu, pobudzający czy też hamujący wzrost pozostaje w ścisłym związku z jego stężeniem.

Benzoimidazol w małych dawkach działa jako czynnik pobudzający do wzrostu, podobnie zresztą jak w wypadkach i innych inhibitorów, np. sulfamidowych połączeń.

11. Kwas pimelinowy.



Kwas pimelinowy jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym dla *Corynebacterium diphtheriae* (1937 — Muller) ale tylko wtedy gdy jego zawartość w pożywce nie przekroczy 1,0%. Optimum stężenia wynosi zaledwie 0.005 mg/ml.

W stężeniach wyższych od 1.0% działa jako inhibitor.

Kwas pimelinowy zastępuje dla niektórych bakterii biotynę. Według Eakina (1942) kwas pimelinowy bierze udział w syntezie biotyny

u *Aspergillus niger*. W pożywce dla *Corynebact. diphtheriae* kwas pime-
linowy daje się zastąpić przez biotynę. Dane te wskazują bezsprzecznie
na pewien związek genetyczny między kwasem pime-
linowym a biotyną.

12. Kwas askorbinowy.

O roli wzrostowej kwasu askorbinowego dla drobnoustrojów wiemy
nie wiele. Niektóre gatunki grzybów (Bourne i Allen 1935), nie-
które bakterie, n. p. *Serratia marcescens* (Busing i Peters 1940) syn-
tetyzują kwas askorbinowy.

Dodatek kwasu askorbinowego w ilości 0.02% do pożywki pobudza
fermentację *Str. lactis* (Rahn i Hegarty 1943), a w stężeniu
0.05 μ mg/ml. pobudza wzrost *sarcina flava*.

Ponadto stwierdzono działanie wzrostowe kwasu askorbinowego dla
niektórych pleśni, zielonych glonów, niektórych beztlenowców, *Clostri-*
dium perfringens i *tetani*. Prawdopodobnie kwas askorbinowy stanowi
czynnik regulujący potencjały oksydoredukcyjne dający się w pewnych
wypadkach zastępować przez cysteinę.

Antagonistą kwasu askorbinowego jest związek zbliżony do niego
budową chemiczną, jego homolog kwas glukoaskorbinowy.

13. „Mezo” — Inozytol

Inozytol należy do tych czynników wzrostowych, które są znane od-
dawna pod nazwą biosów wykrytych w drożdżach. (Bios i Lucas 1924,
Eastcott 1928).

Inozytol występuje w biosferze pod postacią różnych kompleksów i tak
w tkankach zwierzęcych związany jest głównie z białkiem, u roślin wystę-
puje przede wszystkim pod postacią estru 6-fosforowego, u bakterii gruźli-
czych pod postacią g'lukozydów w frakcji fosfatydowej.

Niedobór inozytolu w pokarmach zwierzęcych wywołuje objawy
alopecji. Według Wooleya myszy żyjące w symbiozie z florą bak-
teryjną syntetyzującą inozytol nie zapadają nigdy na alopecję.

Dla wielu szczepów drożdżowych i wielu gatunków grzybów inozy-
tol jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym, natomiast przez inne jest
syntetyzowany. Z bakterii stwierdzono rolę wzrostową inozytolu w *prąt-*
kach gruźlicy.

14. Cholina.

Rola choliny jako czynnika lipotropowego w metabolizmie tłusz-
cowców u ssaków była już znana oddawna.

W ostatnich kilku latach zwrócono uwagę na znaczenie choliny jako
czynnika wzrostowego dla drobnoustrojów.

Cholina jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym dla wielu szczepów *Diplococcus pneumoniae* (Rane i Subbaró w 1940, Badger 1944). Rola choliny w rozwoju pneumokoków odnosi się prawdopodobnie do syntezy fosfolipidów. Badanie związków pochodnych choliny na czynność wzrostową dla pneumokoków wykazało istotną rolę łańcucha zasadniczego N.C-C-OH względnie N.C-C-C-OH.

Grupy metylowe lub etylowe przy azocie wpływają dodatnio na wzrost aktywności natomiast grupy fenolowe i karboksylowe niszczą aktywność cząsteczki.

Na mutantach otrzymanych z kultury *Neurospora crassa* pod wpływem naświetlania promieniami ultrafioletowymi wykazano znaczenie choliny, która może zastąpić inne czynniki wzrostowe. Udział choliny w przeniesieniu grup metylowych u drobnoustrojów dotychczas nie był jeszcze stwierdzony. Badania na mutantach *Neurospora* pozwoliły śledzić drogi syntezy choliny. U jednego z mutantów synteza choliny zatrzymała się na substancji, która u innych mutantów łatwo przekształcała się w cholinę. Wyizolowana substancja dwumetyloaminoetanol, której obecność stwierdzono również u szeregu roślin, bezpośrednio poprzedza cholinę w jej biochemicznej syntezie.

15) Kwas olejowy.

Kwas olejowy spełnia różne funkcje i w związku z nimi pozostają te tak znaczne różnice w zapotrzebowaniach ilościowych tego związku przez różne bakterie. Np. *Corynebact. acnes* rośnie najlepiej na agarze zawierającym 1—5% kwasu olejowego. Zawartość kwasu olejowego w pożywce dla grzyba *Pitysporum ovale* niepotrzebuje być wyższa od 100 mg/ml. pożywki. Dla *Clostridium tetani* optimum stężenia kwasu olejowego w pożywce potrzebne dla wzrostu wynosi zaledwie 0.01mg/l. Doświadczenia te wskazują wyraźnie, że dla każdego z tych ustrojów kwas olejowy odgrywa inną rolę i dla różnych celów jest użytkowany.

16) Naftochinony (witaminy K).

T w o r t i I n g r a m w swych klasycznych doświadczeniach jeszcze z 1913 roku wykazali, że *Mycobact. tuberculosis hominis*, *Mycobact. phlei* syntetyzują te substancje, które są potrzebne dla wzrostu *Mycobact. paratuberculosis*.

Z wyciągów *Mycobact. tuberculosis hom.* wyizolowano żółty, krystaliczny związek, który nazwano *ftiokolem* o budowie 3-hydroksy, 1—4 naftochinonu. Związek ten zachowuje się jak witamin K (działanie przeciwkrwotoczne). Ftiokol jest prawdopodobnie związkiem identycznym z czynnikiem J o h n a. Rolę podobną do ftiokolu spełniają i inne antrachinonowe substancje czynne przeciwkrwotocznie Najlepiej zba-

dany jest 2 metylo 1—4 antrachinon. We wszystkich wypadkach stwierdzono równoległość reakcji wzrostowej i przeciwkrwotocznej. Związki wyizolowane z wyciągów bakteryjnych o silnym działaniu wzrostowym wykazywały własności witaminu K i odwrotnie substancje przeciwkrwotoczne (preparaty witaminów K) działały jako bodźce wzrostowe. Szereg bakterii np. *B. mycoides*, *B. subtilis*, *Mycobact. tubercul. hom.*, *E. coli* syntetyzują związki antrachinowe.

Obliczono, np. że *E. coli* hodowana na syntetycznej pożywce zawierającej tylko glukozę, cytryniany i składniki mineralne produkuje substancję, których czynność obliczona na witamin K wynosi 1000 K jednostek na gram suchych komórek.

Z antagonistów ftiokolu wymienić należy *jodinię* pochodną dwuhydroksyfenazyny, która jest syntetyzowana przez *Chromobacterium iodinum*. Jodiniina hamuje wzrost *Str. hemolyticus*. Reakcja bakteriostatyczna jest hamowana przez hydroksyantrachinony, względnie 1—4 naftochinony.

17) Czynniki wzrostowe o nieznanym budowie.

Badania z kilku ostatnich lat pozwoliły wykryć szereg związków, których rola biologiczna obejmuje dwa kierunki działań;—jeden to wpływ na wzrost, a drugi to udział w tworzeniu białych i czerwonych ciałek krwi. Związki te zaliczone zostały również do grupy witamin B. Do najlepszych źródeł tych związków należą wyciągi drożdżowe i wątrobowe. Pierwsze doświadczenia przeprowadzone przez Willsa w 1931 r. dały doskonale wyniki w leczeniu anemii makrocytarnych wyciągami drożdżowymi i wątrobowymi.

W zespole tych związków objętych nazwą „Nowych czynników antyanemicznych“ znajdują się—witamina M, czynnik eluowany z norytu, witamina B_c, czynnik *Lactobacillus casei*, witamina B₁₀, witamina B₁₁, witamina B_c conjugata, czynnik *Str. lactis R*, *Str. faecalis*, kwas folowy. Niektóre z tych czynników zostały już wyizolowane i wykrystalizowane i określone pod względem budowy chemicznej, inne znane są tylko pod postacią wyciągów mniej lub więcej oczyszczonych.

18) Czynnik eluowany z Norytu.

Snell i Peterson wydobyli z wyciągów drożdżowych i wątrobowych przy pomocy adsorbpcji wybiórczej na norycie i eluowaniu mieszaną pirydyno alkoholową czynnik wzrostowy, którego czynność wzrostową stwierdzono dla *L. casei*. Prawdopodobnie związek ten należy do grupy ciał purynowych. Możliwe, że ten sam czynnik jest również czynnikiem wzrostowym dla kurcząt. Działanie wzrostowe tego czynnika badane było na *L. delbrucki*, *Bact. pentosaceum*, *Str. lactis R*.

19) Kwas folowy.

Stężone wyciągi otrzymane z zielonych liści, głównie szpinaku przy pomocy wielokrotnej adsorpcji, elucji i strącania solami ołowiu i srebra, doprowadziły do wyizolowania czynnika, którego działanie wzrostowe zaznaczało się jeszcze w stężeniu 0.00012 $\mu\text{mg/ml}$. Czynnikiem ten, którego głównym źródłem są zielone liście nazwano kwasem folowym. Wykryto go również w tkankach zwierzęcych, przede wszystkim w wątrobie i w nerkach. Znaczenie kwasu folowego nie tylko jako potężnego czynnika wzrostowego ale i jako czynnika antyanemicznego było przedmiotem badań lat ostatnich. Przypisuje się mu budowę kwasu pteroyloglutaminowego. Związki tego typu zostały wyodrębnione głównie z wątroby i z produkcji fermentacji niektórych kultur bakteryjnych. I tak wśród produktów fermentacji bakterii dyferytycznych wyizolowano kwas pteroylotrójglutaminowy, którego budowę przypisujemy dzisiaj kwasowi folowemu. Oczyszczone wyciągi kwasu folowego pobudzają do wzrostu przede wszystkim bakterie kwasu mlekowego, niektóre szczepy drożdżowe i *Clostridium tetani*.

Znany jest szereg innych jeszcze czynników wzrostowych o niezupełnie określonym składzie, o budowie zbliżonej do kwasu folowego. Do takich bliżej nieznanymi związków należy Czynniki dwunukleotydu *Stokkstad* izolowany z wątroby, który pobudza do wzrostu niektóre szczepy bakterii kwasu mlekowego. Z wyciągów drożdżowych otrzymano preparaty czynne jeszcze w stężeniach 0.02 $\mu\text{mg/ml}$.

20) Czynniki *Str. lactis R.*

Keresztery i inni wyizolowali z wątroby w 1943 r. substancję czynną o działaniu wzrostowym, dla *Str. lactis R.* ale o nieznacznym wpływie wzrostowym dla *L. casei*. Czynnikiowi temu przypisują budowę kwasu pteroikowego, który stanowi człon składowy w budowie kwasu folowego

21) Witamina B_c .

Z wątroby wyizolowano krystaliczny związek, który będąc czynnikiem antyanemicznym dla kurcząt, dla pewnych drobnoustrojów odgrywa rolę wzrostową. Krystaliczna witamina B_c działa jeszcze w stężeniu 0.00005 $\mu\text{mg/ml}$ zarówno na *Lactob. casei* jak też na *Streptococcus lactis R.* Witaminie B_c przypisuje się dziś budowę kwasu pteroyloglutaminowego.

22) Witamina B_c conjugata.

Czynnik antyanemiczny dla kurcząt wyizolowany z drożdży wykazywał nieznaczną czynność wzrostową dla bakterii kwasu mlekowego. Dawniej przypisywano witaminie B_c conjugata budowę kompleksu białkowego. Według ostatnich znanych badań przewiduje się dla niej budowę kwasu pteroyloheptaglutaminowego.

23) Witamina conjugaza

Witamina B_c conjugaza zaliczona jest do enzymów. Zadaniem jej jest rozszczepienie witaminy B_c conjugata na witaminę B_c (frakcja czynna i białko). Prawdopodobnie ta witamina — enzym jest szeroko rozpowszechniona w świecie roślinnym i zwierzęcym (szpik kostny, nerki, trzustka, ziemniaki).

Efektem ostatnich dwu lat było określenie budowy chemicznej 4 substancji pochodnych kwasu pteroikowego i glutaminowego, które zasygnalizowane były już przedtem pod nazwą nowych czynników antyanemicznych. Równolegle do czynności antyanemicznej cechuje je potężna czynność wzrostowa.

Badania Levisona nad rolą kwasu pteroylotrójglutaminowego w hamowaniu rozwoju nowotworów i antagonistycznym działaniu kwasu pteroyloglutaminowego są jeszcze jednym dowodem potwierdzającym teorię Wooda o pokrewieństwie chemicznym antagonistów biologicznych. Wykrycie w naturalnych produktach rozpadu związków o budowie pteroyloglutaminowej kwasu p. aminobenzoesowego nasunęło myśl zastosowania sulfamidów jako antagonistów hamujących syntezę kwasu folowego. Słusznie bowiem należałoby przypuszczać, że kwas p. aminobenzoesowy jest jednym z substratów dla syntezy kwasu folowego. Szereg doświadczeń potwierdziło te przypuszczenia. Potwierdzeniem tej tezy były obserwacje, że bakterie, które nie syntetyzują kwasu folowego nie są hamowane w swoim wzroście przez sulfamidy.

24, 25) Witaminy B₁₀ i B₁₁.

Z eluatu norytu wydobyto kilka frakcji, z których jedna frakcja wykazywała właściwości wyłącznie tylko czynnika wzrostowego, a druga była odpowiedzialna za rozwój upierzenia ptaków. Czynniki te nie zostały dotychczas chemicznie ściśle określone. Próby zastąpienia ich pyrydoksalem, pyrydoksyną, pyridoksaminą, alfa-pyracyną, beta pyracyną, kwasem folowym nie dały pozytywnych rezultatów.

26) Czynniki „Sporogenes”.

Z wielu tkanek zwierzęcych i roślinnych wydobyto frakcję czynną wzrostową, która chemicznie jest nienasyconym oksykwasem o wzorze sumarycznym C₁₁H₁₂O₄. Frakcja ta wykazuje własności wzrostowe dla *Clostridium botulinum*, *Cl. welchii*, *Cl. sporogenes*. Niektóre bakterie wykazywały zdolności do syntezy tego związku Np. *Salmonella typh.*, *Ebertella typhosa*, *M. tuberculosis*, *Aspergillus versicolor*.

27) Czynniki Lacto Bacillus Casei (Streptogenina).

Czynnik *L. b. casei* wykryty był przez Wooleya jako istotny czynnik wzrostowy dla streptokokków hemolitycznych. Najbogatsze źródło

dla tego czynnika stanowi hydrolizat białkowy, głównie kazeiny. Według Williamsa na czynnik ten składają się znane już czynniki wzrostowe, powiązane ze sobą jak np. kwas p, aminobenzoesowy, glutamina i pirydoksyna. Czynnik ten nazwany streptogeniną prawdopodobnie ma budowę peptydu o niewielkiej masie cząsteczkowej. Syntetyczne peptydy, na które składają się kwas glutaminowy, kwas p. aminobenzoesowy mają niewielką masę cząsteczkową.

28) G l u t a t i o n .

Pewne szczepy *Neisseria gonorrhoeae* potrzebują do wzrostu kilku bliżej nieokreślonych jeszcze czynników. Między innymi należy do nich i glutation (G o u l d 1943).

29) C z y n n i k w z r o s t o w y l i p o i d o w y .

Dla *Mycobact. tuberculosis* Czynnik bliżej niezbadany, wykryty w żółtku jaja i zwierzęcych tkankach.

30) C z y n n i k a c e t o n o w y .

Clostridium acetobutylicum produkuje aceton w obecności tego bliżej nieokreślonego pod względem budowy chemicznej czynnika.

31) A m i n o k w a s y .

Pewne gatunki bakteryjne rosnące na pożywkach syntetycznych składających się z soli amonowych, glukozy i soli mineralnych potrzebują do wzrostu niektórych aminokwasów. Rola aminokwasów nie ogranicza się tylko do roli materiału budulcowego dla białka protoplazmy komórek. Prawdopodobnie spełniają one jeszcze bliżej nieokreślone funkcje w metabolizmach bakteryjnych. W szeregu przypadków zaobserwowano wzajemne zubożenie toksyczności jednych aminokwasów przy pomocy drugich. Bakterie nie rosnące na pożywce I na skutek toksyczności aminokwasu, nie rosnące też na pożywce II rosły normalnie gdy dodano do pożywki oba te aminokwasy w odpowiednim stosunku ilościowym.

Dla większości bakterii niezbędne są następujące aminokwasy: *metionina, cystyna, kwas glutaminowy, tryptofan, wanilina*.

W stosunku do innych aminokwasów tylko pewne gatunki bakterii wykazują zapotrzebowanie wybiórcze. Niezwykle ważne jest stężenie aminokwasów w pożywkach. Stężenie indywidualnych aminokwasów może stać się czynnikiem ograniczającym wzrost. Interesujące doświadczenie z dziedziny antagonizmu przeprowadził Mc. Ilwain (1941), który zastosował do zahamowania wzrostu odpowiedników aminokwasów, w których grupa karboksylowa była podstawiona sulfonową. W tych wypadkach, w których dany aminokwas był czynnikiem niezbędnym dla

wzrostu szczepu osiągnano zahamowanie wzrostu przy pomocy odpowiedniego związku aminosulfaminowego. Działanie bakteriostatyczne cofano znów przy pomocy odpowiadającego aminokwasu. Doświadczenia te potwierdziły teorię Wooda i Fildesa o konkurencji enzymatycznej.

* * *

Wszystkie związki umieszczone w zespole czynników wzrostowych nie są bynajmniej równoważne sobie pod względem typu działania biologicznego i zasięgu. Niektóre z nich mają działanie prawie uniwersalne, obejmują świat wyższych zwierząt, roślin i większość drobnoustrojów. Inne znów są wybiórczymi czynnikami wzrostowymi dla pewnych tylko gatunków, a często dla pewnych tylko szczepów bakteryjnych.

Niektóre z wyżej wymienionych związków stanowią znane z procesów enzymatycznych koenzymy, czynne już w minimalnych ilościach. Inne stanowią zasadnicze metabolity, występujące w poszczególnych fazach przemian metabolicznych, zapotrzebowania ilościowe bakterii w stosunku do nich są bardzo różnorodne. Zapotrzebowanie ilościowe czynników wzrostowych pozostaje w związku z tak licznymi zmiennymi, że nie zawsze dadzą się wyprowadzić pewne ściśle określone reguły. W zasadzie jednak, zapotrzebowanie jakościowe i ilościowe odnoszące się do czynników wzrostowych pozostaje zawsze w związku z zdolnościami syntetycznymi danego gatunku. Poza tym wchodzi też w grę zdolność wzajemnego zastępowania się czynników wzrostowych.

Dla przeprowadzenia badań nad czynnikami wzrostowymi szczególnie nadają się metody: testowe na bakteriach kwasu mlekowego, które wykazują nader różnorodne zapotrzebowania w stosunku do substancji wzrostowych i metoda mutantów (*Neurospora crassa*) otrzymywanych przy pomocy naświetlania promieniami Rentgena. Mutanty tracą zdolności wybiórcze właściwe szczepowi macierzystemu w kierunku syntezy poszczególnych czynników wzrostowych.

III. D Y S K U S J A.

Przegląd zebranego materiału doświadczalnego z dziedziny czynników wzrostowych dla drobnoustrojów nasuwa pewne problemy, które w tej chwili mogą tylko służyć jako materiał do dyskusji, a poglądy na te zjawiska nie są jeszcze dojrzałe do wyprowadzenia pewnych ogólnych wniosków.

Mechanizmy przemian metabolicznych dokładnie już zbadane dla wyższych zwierząt i roślin, prawdopodobnie są takie same dla świata drobnoustrojów. Różnica polega jednak na tym, że zróżniczkowanie, a właściwie zindywidualizowanie w świecie bakteryjnym jest o wiele wyższe. Każdy niemal gatunek bakteryjny stanowi odrębną jednostkę pod względem warunków życia, a przede wszystkim zapotrzebowań zewnątrz substancji macierzystych, niezbędnych dla istotnych metaboliz-

mów komórkowych. Zawsze aktualne zagadnienie znalezienia prasu-
stancji macierzystej nie może być dla drobnoustrojów rozwiązane, gdyż
obok bakterii autotroficznych dla których źródłem węgla i azotu, a więc
substancją macierzystą wszystkich metabolitów i ciał czynnych są tylko
substancje mineralne, istnieją bakterie o bardzo zróżnicowanym i wy-
biórczym zasięgu zapotrzebowania substancji wzrostowych.

Każdy ze znanych dotychczas czynników wzrostowych dla drobnou-
strojów jest dla pewnych gatunków bakterii czynnikiem niezbędnym
dla wzrostu, a przez inne często nawet pokrewne gatunki bakteryjne
jest syntetyzowany.

Wybiórczość świata bakterii w zapotrzebowaniu różnych struktur
chemicznych i pozostające z nią w związku zdolności syntetyczne są tak
specyficzne, że trudno mówić o pewnym podstawowym, wspólnym dla
wszystkich układzie atomowym, stanowiącym punkt wyjściowy dla syntez
biologicznych. O ile bowiem dla pewnych gatunków bakteryjnych możli-
wości rozwojowe istnieją już w podłożach wyłącznie mineralnych, źródłem
węgla może być dwutlenek węglowy, to dla innych gatunków niezbędne
są albo alifatyczne aminokwasy, bądź pierścienie pirymidynowe, benze-
nowe, tiazolowe, pirydynowe i różnorodne grupy podstawnikowe.

W zespole czynników wzrostowych spotykane są różnorodne struktury
chemiczne, od najprostszych układów alifatycznych do złożonych homo
i heterocyklicznych. Z grup podstawnikowych istotną rolę odgrywiają
grupy hydroksylowe, karboksylowe, aminowe i alkilowe. W pewnych wa-
runkach właściwych dla każdego typu bakteryjnego poszczególne układy
chemiczne, występujące w substancjach biologicznie czynnych mogą się
wzajemnie zastępować. Np. amid kwasu nikotynowego może zastąpić
dla szeregu bakterii tiaminę, biotyne, kwas pantotenowy i inne czynniki
wzrostowe. Zasady purynowe np. mogą uczulać pewne rodzaje bakterii
na kwas aminobenzoesowy. Sama definicja czynnika wzrostowego nie
jest do dziś jeszcze jednakowo podawana przez wszystkich badaczy.
Niektórzy z nich nadają nazwę czynnika wzrostowego tylko tym sub-
stancjom, które pozostają w pewnym związku czynnościowym do po-
większającej się masy komórkowej, natomiast nie wchodzi same w skład
masy budulcowej.

W powyższym referacie oparłam się na pracach Knighta, który
obejmuje pod nazwą czynników wzrostowych i te, które mogą wpłynąć
bezpośrednio na pomnożenie masy komórkowej, i te, które wchodzi
w łańcuch przemian metabolicznych istotnych i decydujących o wzroście
i rozmnożeniu komórek, w końcu i te, które pobudzają pewne istotne
przemiany w bliżej nieokreślony sposób.

Różnorodność w zapotrzebowaniach jakościowych i ilościowych
właściwych dla każdego gatunku bakteryjnego stanowi dowód oczywisty
dla różnorodności zadań ich w ustroju.

Według zestawienia czynników wzrostowych Knighta czynnikiem wzrostowym jest zarówno zasada purynowa i pirymidynowa wchodząca w schemat budowy nukleoproteidów, szereg aminokwasów decydujących o powstawaniu specyficznych struktur komórkowych, jak też i amid kwasu nikotynowego, składnik koenzymu enzymatycznych procesów oksydoredukcyjnych, cholina, kwas olejowy, w końcu przedstawiciele z grupy witamin B, jak tiamina, riboflawina, kwas pantotenowy, biotyna, kwas p. aminobenzoesowy, wprowadzające w krąg przemian metabolicznych różnorodne rdzenie cykliczne z ruchliwymi grupami podstawnikowymi. Nie należy przypuszczać, że zestawienie to obejmuje wszystkie możliwe czynniki wzrostowe. Tak długo bowiem, dopóki nie są zbadane warunki życia wszystkich bakterii, tak długo kwestia czynników wzrostowych jest ciągle jeszcze otwarta.

Mac Ilwain w swoim artykule z 1947 roku rozgranicza zupełnie pojęcie czynników wzrostowych i metabolitów ustrojowych. Zasadnicze metabolity ustrojowe biorą udział w przemianach w ilościach rzędu milimolarnego. Drugi typ substancji biologicznie czynnych stanowią katalizatory biorące udział w przemianach w ilościach rzędu milimikromolarnego. Czynniki wzrostowe zaliczone są przez Mac Ilwaina do substancji katalicznych.

O ile jednak nazwą czynników wzrostowych obejmujemy wszystkie nutrolity Knighta, to większości związków z tego zespołu należy przypisać dwojaką rolę. Nutrolit Knighta może działać jako właściwy czynnik wzrostowy kataliczny w ilościach milimikromolarnych i jako metabolit, substancja macierzysta dla związków syntetyzowanych w ustroju, biorąca udział w przemianach w ilościach milimolarnych.

Jedynie wyraźne odgraniczenie procesów wzrostowych od metabolicznych może doprowadzić do wyjaśnienia mechanizmu wzrostowego i ustalenia, czy dany związek umieszczony w zespole czynników wzrostowych bakteryjnych rzeczywiście warunkuje wzrost, czy też może brak jego wpływa na zahamowanie pewnych procesów metabolicznych istotnych warunkujących wzrost.

Drugie istotne zagadnienie o charakterze ogólnobiologicznym poruszone w tym referacie odnosi się do antagonizmu biologicznego. Ołbrzymi już dziś materiał doświadczalny dotyczący antagonizmu biologicznego nie pozwala jeszcze na wyprowadzenie pewnych ogólnych wniosków, które mogą wskazać na kierunek przemiany chemicznej prowadzącej od ciała czynnego do inhibitorów. Oprócz teorii ujmującej istotę antagonizmu biologicznego w podobieństwie struktury chemicznej ciała czynnego i inhibitora konkurujących o ten sam enzym znana jest jeszcze teoria fizykochemiczna Bella i Robina (1942). Według tej teorii blokowanie białka enzymatycznego przez enzymy jest reakcją jonową. Według tej teorii

grupy aminowe z grupy sulfamidowej łączą się z zjonizowanym wodorem enzymów bakteryjnych. Żadna jednak z tych teorii fizyko-chemicznych nie tłumaczy dlaczego sulfamidy są inhibitorami dla pewnych tylko enzymów a nie mają wpływu na inne enzymy tych samych komórek. Żadna z tych hipotez nie wyjaśnia zmian w odporności na leki. Trudno bowiem przypuścić, by enzymy niewrażliwe na sulfamidy nie miały jonizującego wodoru, jak też trudno przypuścić, by białka enzymatyczne wrażliwe na sulfamidy miały w pewnych warunkach tracić ten witalny wodór jonizujący, który według powyższych teorii jest koniecznym warunkiem powstawania związków kompleksowych z zasadowymi grupami inhibitorów.

Teoria podobieństwa w strukturze chemicznej i konfiguracji między substancją wzrostową i inhibitorem, pozwoliła wyjaśnić, że te substancje chemoterapeutyczne, których budowa jest analogiczna do budowy cząsteczki koenzymu lub jego fragmentu mogą się łączyć z składnikami białkowymi enzymów. W tych warunkach powstają nieaktywne kompleksy: lek-białko-koenzym. Ten punkt widzenia popiera Wood (1945) który stwierdza, że z 5000 poznanych i zbadanych związków sulfamidowych tylko te były czynne, w których grupy podstawnikowe przy azocie znajdującym się przy grupie sulfonowej zawierały fragmenty koenzymów oddechowych (pirydynę, pirymidynę, tiazol).

Fildes i Wood (1940) widzą przyczynę bakteriostatycznego działania sulfamidów w ich antagonizmie do czynnika wzrostowego, którym jest kwas p. aminobenzoesowy. Sevaga (1942) tłumaczy działalność bakteriostatyczną sulfamidów zahamowaniem czynności enzymów oddechowych.

Obie te teorie mogą się uzupełniać, gdyż w syntezie kwasu p. aminobenzoesowego i szeregu aminokwasów aromatycznych odgrywają rolę enzymy z grupy enzymów oddechowych.

Jednak zdaniem Sevaga kwas p. aminobenzoesowy nie jest czynnikiem wzrostowym bakterii chorobotwórczych, a działanie sulfamidów pozostaje zdaniem jego w związku z zakłóceniem w wykorzystywaniu innych czynników wzrostowych, a przede wszystkim w zakłóceniu mechanizmu oddechowego.

W materiale zebrany przez Sevaga, który przeczy teorii Wooda i Fildesa znajduje się i ten argument, że kwas p. aminobenzoesowy dla szeregu bakterii jak np. *Streptobact. plantarum*, *Bact. tularensis*, *Cl. acetobutylicum* nie tylko że nie jest czynnikiem wzrostowym, ale przeciwnie nawet inhibitorem.

Zwolennicy teorii Wooda i Fildesa przypuszczają, że niektóre czynniki wzrostowe mogą w pewnych warunkach wywierać działanie hamujące w stosunku do wzrostu.

Według Se v a g a ten dwustronny kierunek działania jest właściwy dla wszystkich inhibitorów. Popiera swoje twierdzenie tym argumentem, że wszelkie inhibitory enzymatyczne, jak cjanki, narkotyki, związki azotowe w małych stężeniach działają jako boźce dla układów enzymów oddechowych.

Przy rozpatrywaniu materiału doświadczalnego trudno jest zdobyć się na zdecydowany pogląd w sprawie stosunku ciała czynnego do inhibitora. W szeregu przykładów analogia chemiczna w strukturze jest zupełnie wyraźna. Konkurencja obu tych związków o te same białka enzymatyczne wydaje się być uzasadniona. Dokładny mechanizm tych procesów nie jest jeszcze wyjaśniony. Se v a g próbuje, ale tylko na przykładzie sulfamidów, uzasadnić swój pogląd, że działanie inhibitorów polega na hamowaniu procesów oddechowych. Szereg doświadczeń przemawia za tym, że sulfamidy zakłócają mechanizm procesów pozostających w związku z oddechowymi enzymami tkankowymi, np. zużytkowanie glukozy, dysmutacje kwasu pyrogronowego, utlenienie glicerolu, kwasu mlekowego, pyrogronowego, pochłanianie tlenu w obecności kwasu bursztynowego i glutaminowego, utlenienie glukozy przez *E. coli*, syntezę aminokwasów, czynność oksydazy indofenolowej.

Ponieważ najważniejsze metabolity zużytkują się w syntezach witamin, koenzymów, grup prostetycznych białek złożonych, w procesach oksydoredukcyjnych, a więc ujęcie działalności sulfamidów i innych antybiotyków jako czynników hamujących procesy oksydoredukcyjne wydaje się zdaniem Se v a g a uzasadnione.

Wynik antagonizmu zależy od stężenia i względnego stopnia powinowactwa rywalizujących związków do białka enzymu.

Białko . koenzym + witamin

lek . białko . koenzym + witamin = witamin . białko . koenzym + lek

lek . białko + koenzym + witamin = witamin + białko . koenzym + lek.

Mimo szeregu argumentów uzasadniających poglądy Se v a g a teoria Wo o d a i F i l d e s a nie jest pozbawiona realnych podstaw, będących w zgodzie z dotychczasowymi wynikami doświadczalnymi.

Inhibitory dla większości znanych dotychczas czynników wzrostowych wykazują strukturę chemiczną podobną, a działanie bakteriostatyczne daje się zwykle odwrócić przy pomocy odpowiedniego czynnika wzrostowego.

Z dotychczas zebranego materiału doświadczalnego nie daje się wyprowadzić żadna ogólna reguła tycząca przemiany chemicznej warunkującej przekształcenie związku biologicznie czynnego w inhibitora. W zasadzie pozostaje zwykle wspólny rdzeń aromatyczny, heterocykliczny, czy też łańcuch alifatyczny. Np. dla kwasu p. aminobenzoesowego i sulfamidów wspólny jest rdzeń benzenowy i grupy podstawnikowe w położeniu para, przyczem jedną z grup podstawiających jest grupa aminowa,

dla kwasu nikotynowego i jego antagonisty kwasu pirydino-3-sulfonowego rdzeń pirydynowy, z grupą podstawnikową w położeniu 3. Glutamina i kwas asparaginowy są homologami w szeregu aminokwasów dwukarboksylowych. W pewnych wypadkach ma miejsce zmiana rdzenia podstawowego. Pyritiamina, antagonistka tiaminy zawiera rdzeń pirydynowy w miejsce pirymidynowego. Antagonista adeniny-benzimidazol ma rdzeń benzenowy, w miejsce pirymidynowego. W innych przypadkach widzimy tylko wymianę grup podstawnikowych. W o o l e y przywiązuje duże znaczenie do wymiany grup karboksylowych. Wymianę tę obserwujemy w sulfamidach, acetylopirydynie i fenilopantenonie, całkowite lub częściowe.

Hipoteza W o o d a, że natężenie akcji antagonistycznej pozostaje w związku odwrotnie proporcjonalnym do wielkości zmiany w strukturze chemicznej, wydaje się jeszcze zbyt przedwczesną.

Z danych doświadczalnych nie zawsze bowiem potwierdza się przypuszczenie i przesądzenie z góry charakteru antagonistycznego danego związku.

Ponadto według powyższych teorii działanie bakteriostatyczne wystąpi tylko wtedy, gdy odpowiedni czynnik wzrostowy nie jest syntetyzowany w ustroju. Doświadczenia nie zawsze potwierdzają tę regułę. Doniosłą rolę w reakcji bakteriostatycznej odgrywa stosunek stężeń inhibitora do czynnika wzrostowego. Wskaźniki stężeniowe czyli antybakteryjne ilorazy stężeń inhibitorów do stężeń metabolitów potrzebnych do zubożenia reakcji wahają się w bardzo szerokich granicach od 100 — 1000. Czasem nie dochodzą jednak do 0.1, a w pewnych wypadkach przekraczają i dziesiątki tysięcy.

Znane są też wypadki, w których działanie bakteriostatyczne jest hamowane i innymi metabolitami. Np. efekt bakteriostatyczny sulfamidów może być usuwany nie tylko kwasem p. aminobenzoesowym, ale także przez metioninę i adeninę. Reakcję antagonistyczną fenilopantenonu daje się odwrócić nie tylko przy pomocy kwasu pantotenowego, lecz za pomocą niektórych aminokwasów np. glikokolu względnie tryptofanu.

Z przykładów tych widać, że mechanizmy reakcji antagonistycznych nie dają się podporządkować pewnej ogólnej regule.

Wprawdzie drogi przemian chemicznych prowadzących od ciał biologicznie czynnych do inhibitorów nie są jeszcze zupełnie wyraźnie nakreślone, ale tym niemniej nowy kierunek badań dla chemoterapii został nakreślony. Bakteriostatyków należy szukać prawdopodobnie wśród związków o pokrewnej budowie chemicznej do tych związków, które stanowią istotne czynniki wzrostowe, niezbędne dla rozwoju bakterii.

Teoria W o o d a i F i l d e s a wyjdzie zwycięsko z dotychczasowego chaosu o ile uda się przewidzieć dla każdej bakterii strukturę chemiczną bakteriostatyku i potwierdzić to doświadczeniem.

Konieczne jest ustalenie granic działania bakteriostatyku, które są zależne przede wszystkim od zdolności syntetycznych danego ustroju, od stężeń, warunków optymalnych działania, które pozostają też w związku z pewnymi okresami rozwojowymi bakterii.

Czy są możliwości wynalezienia bakteriostatyku uniwersalnego? Według teorii W o o d a i F i l d e s a, tak jak nie ma układu chemicznego macierzystego odpowiedzialnego za rozwój i wzrost wszystkich bakterii, tak też nie należy szukać jednego tylko czynnika hamującego rozwój i wzrost wszystkich bakterii.

Zastosowanie praw antagonizmu biologicznego ma doniosłe znaczenie nie tylko dla rozwoju chemoterapii, lecz pozwala wytyczyć nowe drogi dla farmakologii i dla badania procesów enzymatycznych. Antagonizm biologiczny może oddać duże usługi przy badaniu i ocenie preparatów witaminowych i hormonalnych. Próby wywoływania awitaminoz nie na drodze niedoboru żywnościowego lecz przy pomocy antagonistów mogą dać nam doskonale metody badawcze zastępujące dotychczasowe, kosztowne i długotrwałe.

PIŚMIENNICTWO.

- 1) D. W. Wooley: Some aspects of Biochemical Antagonism. Currents in Biochemical Research Dawid E. Green 1946.
 - 2) D. W. Wooley: Biological antagonisms between structurally related compounds. Advances in Enzymology VI, 1946.
 - 3) M. G. Sevag: Enzyme Problems in relation to Chemoterapy. Advances in Enzymologiy VI, 1946.
 - 4) C. J. Knight: Growth Factors in Microbiology. Vitamins and Hormones 1945.
 - 5) E. A. Evans: The Biological Action of the Vitamins 1942.
 - 6) J. R. Porter: Bacterial Chemistry and Physiology 1947.
 - 7) C. G. Anderson: An Introduction to Bacteriological Chemistry 1946.
 - 8) H. Mc. Ilwain: Interrelations in microorganisms between growth and the metabolism of Vitamin like substances. Advances in Enzymology VII, 1947.
 - 9) D. W. Wooley: Water soluble Vitamins. Annual Review of Biochemistry XVI, 1947.
-

S U M M A R Y.

The paper contains a detailed characteristic of growth factors and of their antagonists.

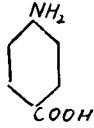
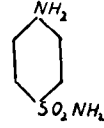
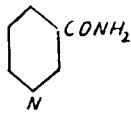
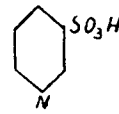
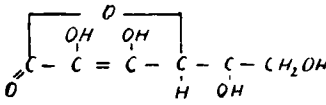
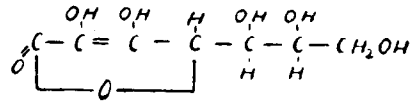
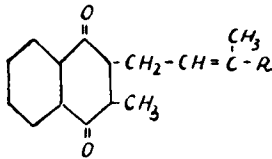
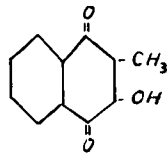
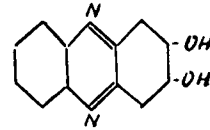
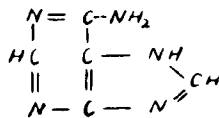
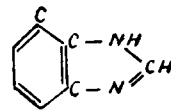
Different views on growth factors and on their relation to cellular metabolites are discussed.

The opinions of Knight and Mac Ilwain as to the definition of growth factors are critically reviewed.

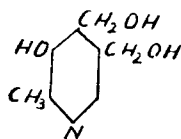
The theories of Wood and Fildes and of Sevåg on the mechanism of the antagonistic action of compounds of a chemical structure similar to the structure of the corresponding growth factors are discussed.

Tablica II

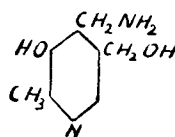
Czynniki wzrostowe Czynniki antagonistyczne

*Kwas p-aminobenzoesowy**Sulfanilamid**Amid kw. nikotynowego**Kw. pirydynu-3-sulfanowy**Kwas askorbinowy**Kw. glukoaskorbinowy**Wit. K* $R = C_{16}H_{33}$ *Fliokol**Jadinina**Adenina**Benzimidazol*

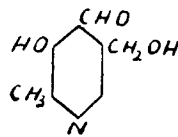
Tablica III
Czynniki wzrostowe



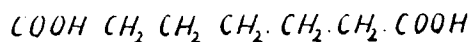
Pirydoksyna



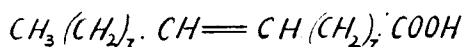
Pirydoksamina



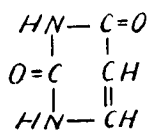
Pirydoksal



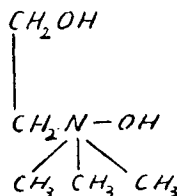
Kwas pimelinowy



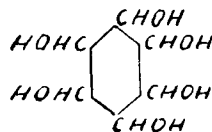
Kwas olejowy



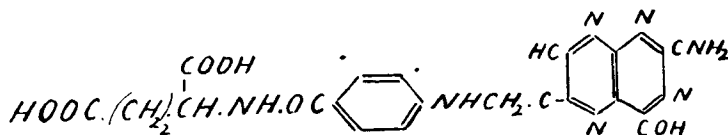
Uraacyl



Cholina



Mezainozytal



Kwas pteroyloglutaminowy