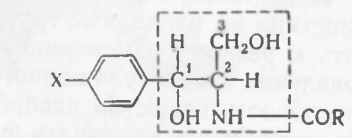
Доклады Академии наук СССР
1955. Том 102, № 5

ХИМИЯ

Член-корреспондент АН СССР М. М. ШЕМЯКИН, М. Н. КОЛОСОВ, М. М. ЛЕВИТОВ, К. И. ГЕРМАНОВА, М. Г. КАРАПЕТЯН, Ю. Б. ШВЕЦОВ и Э. М. БАМДАС

О ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ СТРОЕНИЕМ И АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ХЛОРОМИЦЕТИНА (ЛЕВОМИЦЕТИНА) И МЕХАНИЗМЕ ЕГО ДЕЙСТВИЯ

За последние годы осуществлен синтез нескольких сотен аналогов и производных хлоромицетина (хлорамфеникола, левомицетина) (I), причем многие из синтезированных соединений были подвергнуты биологическим испытаниям. Однако имевшиеся до настоящего времени экспериментальные данные позволяли сделать достаточно определенный вывод о степени и характере влияния на антимикробную активность хлоромицетина лишь аминопропандиольной части его молекулы. Здесь обращал на себя внимание тот факт, что практически любые структурные или пространственные изменения аминопропандиольной цепи, меняющие природу или взаиморасположение отдельных атомов и групп в этой части молекулы, приводят к полной или почти полной потере антимикробной активности ([1]). Отсюда было естественно придти к выводу, что аминопропандиольная цепь хлоромицетина служит для его связывания со специфическими белками энзимов, необходимых для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов. Впервые к этому выводу пришла в 1952 г. группа английских исследователей ([2]), считавших, что в результате именно такого взаимодействия хлоромицетина с микробными клетками происходит нарушение нормального обмена последних *.



(I): X=O$_2$N, R=CHCl$_2$
(II): X варьирует, R=CHCl$_2$
(III): X=O$_2$N, R варьирует

Если воспользоваться данными рентгеноструктурного анализа броманалога хлоромицетина ([3]) и одновременно учесть, что молекула хлоромицетина обладает стойкой цис-конформацией ([4]), то резко бросается в глаза одна очень своеобразная особеность этого соединения — исключительная пространственная сближенность и в то же время пространственная доступность его ациламино- и оксигрупп, что создает возможность их сильного взаимодействия с пептидными группировками белковых молекул. Таким образом, амидная и две гидроксильные группы алифатической цепи хлоромицетина образуют тот активный центр (пунктирный треугольник на рис. 1 *а*), который обеспечивает присоединение этой молекулы к специфическим центрам некоторых бактериальных энзимов.

Какова же роль двух других, не менее важных частей молекулы хло-

* В развитие своей гипотезы указанные исследователи изложили и ряд дальнейших соображений о причинах и характере этого взаимодействия ([2]), которые, однако, по нашему мнению, нельзя принимать во внимание, так как они основаны на неправильной пространственной модели хлоромицетина, соответствующей на самом деле его эритро-изомеру, а также на ошибочных результатах некоторых микробиологических испытаний (см. ([1]) и ниже).

ромицетина — его *n*-нитрофенильного радикала и N-дихлорацетильного остатка, крайне редко встречающихся у природных соединений? Вопрос о причине сильного влияния этих группировок на антимикробную активность хлоромицетина почти не обсуждался в литературе. Нам казалось наиболее вероятным, что влияние обеих группировок должно быть связано с характерным для них сильным поляризующим действием и что именно эта их способность является, наряду со структурными и пространственными особенностями аминопропандиольной части молекулы, одним из основных факторов, определяющих высокую специфичность биологического действия хлоромицетина.

Для проверки правильности этого предположения нами были синтезированы две группы аналогов хлоромицетина типов (II) и (III) и затем определена степень их антимикробной активности в отношении типичных грамположительных и грамотрицательных бактерий *. Полученные результаты позволяют придти к выводу, что *n*-нитрофенильная группа оказывает большое влияние на антимикробную активность молекулы как в силу своей электронной природы, так и благодаря возможности проявления своего поляризующего действия. В то же время геометрические размеры этой части молекулы, в отличие от аминопропандиольной группировки, не имеют решающего значения. Действительно, оказалось, что нитрогруппа может быть перемещаема вдоль системы сопряженных кратных связей без существенного снижения активности вещества, в то время как отсутствие этого сопряжения приводит к мало или совсем неактивным аналогам. Так например, нами было выяснено, что соединения (II) с X=*n*-$O_2NC_6H_4CH : N$ и *n*-$O_2NC_6H_4N : N$ обладают весьма высокой активностью, тогда как близкие им аналоги хлоромицетина, лишенные нитрогруппы (II; X=$C_6H_5CH : N$ и $C_6H_5N : N$), а также соединение (II) с X=*n*-$O_2NC_6H_4CONH$, у которого отсутствует непрерывная система сопряженных кратных связей между нитрогруппой и аминопропандиольной цепью, активны лишь в незначительной степени. Характерно также, что соединение (II) с X = *м*-$O_2NC_6H_4N : N$, являющееся аналогом «мета-изомера» хлоромицетина ([1]), оказалось сходным с последним по силе своего антимикробного действия **.

Представлялось весьма вероятным, что замена нитрогруппы хлоромицетина на различные группировки ионогенного характера будет приводить к резкому изменению антимикробных свойств вещества вследствие появления в молекуле ионного заряда. Последний должен сильно изменять способность вещества адсорбироваться белками, тем самым изменяя и его способность проникать через биологические среды и связываться со специфическими бактериальными энзимами. Результаты проведенного нами изучения антимикробных свойств соответствующих аналогов хлоромицетина типа (II) полностью подтвердили это предположение. Оказалось, что, независимо от силы и характера поляризующего действия ионогенных группировок, замена ими нитрогруппы всегда приводит к почти или совсем неактивным соединениям. В то же время устранение у последних возможности диссоциировать на ионы сопровождается в большин-

* Результаты этих исследований частично уже опубликованы ([5]).

** Сделанный выше вывод о характере влияния нитрофенильного остатка на антимикробную активность хлоромицетина подтверждается далее результатами биологических испытаний ряда других его аналогов типа (II). Так, нами было выяснено, что активность этих соединений падает чаще всего в тем большей степени, чем менее электроноакцепторен заместитель X, находящийся в *n*-положении бензольного кольца и что по своему влиянию на антимикробную активность эти заместители могут быть расположены в следующий ряд: $NO_2 > CN > COOCH_3 > Cl > SO_2CH_3 > SO_2NH_2$. Конечно, здесь не наблюдается вполне удовлетворительного параллелизма, поскольку угнетение различных микроорганизмов хотя и сходными, но все же различными антибактериальными агентами должно происходить несколько отлично. Например, в случае грамотрицательных бактерий группировки CH_3S и CH_3O оказываются стоящими вне приведенного ряда. Поэтому данный ряд является в известной мере условным, хотя отмеченная здесь общая тенденция несомненно правильна.

стве случаев появлением антимикробной активности той или иной силы. Например, соединения типа (II), содержащие X = COOH, SO_2H, SO_3H, AsO_3H_2, OH и NH_2, почти или совсем неактивны, тогда как производные этих соединений, имеющие X = $COOCH_3$, SO_2CH_3, SO_2NH_2, OCH_3, обладают заметной, а иногда даже значительной активностью. Следовательно, вступление ионогенных группировок всегда сопровождается уничтожением у аналогов хлормицетина их специфических антимикробных свойств. Выявление этой закономерности позволяет прекратить поиски высокоактивных аналогов хлормицетина среди соединений, содержащих группировки ионогенного характера.

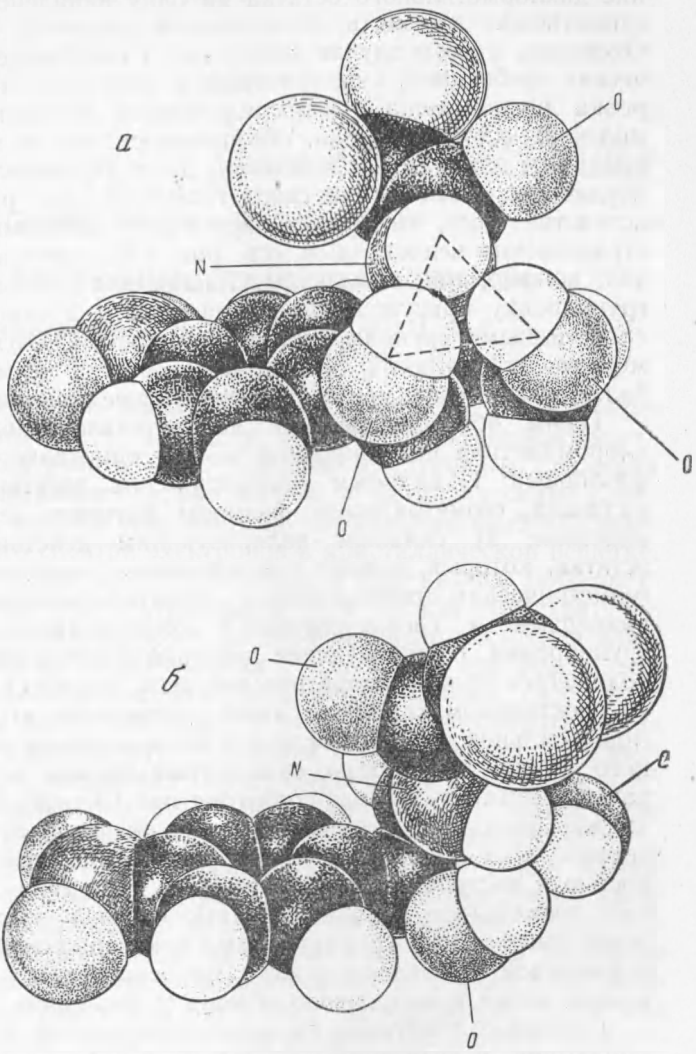


Рис. 1. Стьюартовские модели хлормицетина

Перейдем к вопросу о зависимости антимикробной активности хлормицетина от строения его N-дихлорацетильного остатка. Эта зависимость носит более сложный характер, чем в случае *n* - нитрофенильного радикала, так как ацильный остаток должен, повидимому, не только проявлять поляризующее действие, но одновременно удовлетворять и определенным геометрическим требованиям. Необходимость наличия в ацильном остатке заместителей, обладающих некоторой оптимальной величиной полярности, следует из высокой активности аналогов хлормицетина типа (III) с R=$CHBr_2$ или CH_2CN [1] и резко пониженной активности аналогов того же типа с R=CCl_3 и CH_3 [1]. В то же время высокая активность соединения (III) с R = $C_6H_4CHCl_2$-*n* [1] свидетельствует о том, что дихлорметильную группу можно перемещать, подобно нитрогруппе, вдоль системы сопряженных кратных связей. Следовательно, для проявления молекулой антимикробной активности важно поляризующее действие дихлорметильной группы, а не только ее полярность. Сходная, хотя и менее яркая картина выявляется и при сопоставлении трех аналогов типа (III) с R = CCl_3, CH : $CHCCl_3$ и $CH_2CH_2CCl_3$; по нашим данным, второе из этих соединений только немногим уступает по своей активности первому, тогда как третье соединение по сравнению с первым уже

заметно менее активно. Однако соединение (III) с $R = CH : CHCHCl_2$ оказалось значительно менее активным, чем хлоромицетин, хотя удаление дихлорметильного остатка на одну виниленовую группу не должно существенно изменять электронный характер амидной группировки. Очевидно, в этом случае имеет место несоблюдение каких-то геометрических требований, существенных в силу того, что N-ацильная группировка расположена в непосредственной близости к активному центру молекулы хлоромицетина, обеспечивающему ее присоединение к бактериальным энзимам. Повидимому, дихлоркротонильный остаток оказался неудачным в отношении своих геометрических размеров и формы либо вследствие того, что он экранирует этот активный центр, делая его пространственно недоступным (ср. рис. 1 *б*), либо из-за того, что он изменяет конформацию молекулы, лишая тем самым аминопропандиольную группировку присущей ей специфичности в отношении взаимодействия с пептидными группами белковых молекул. Отсюда вытекает, что геометрический характер N-ацильного остатка не менее, а может быть, и более существенен, чем его поляризующее действие.

Таким образом, высокая избирательность биологического действия хлоромицетина на микробные клетки определяется одновременно тремя факторами: 1) сильным поляризующим действием *n*-нитрофенильного радикала, геометрические размеры которого не имеют существенного значения; 2) сильным поляризующим действием дихлорацетильного остатка, который должен одновременно удовлетворять и определенным геометрическим требованиям; 3) строго определенными геометрическими размерами и соответствующей конформацией аминопропандиольной группировки. Поляризующее действие *n*-нитрофенильного радикала, находящегося при C^1 алифатической цепи, должно существенно отражаться на электронном характере этого углеродного атома и связанной с ним гидроксильной группы, тогда как поляризующее действие дихлорацетильного остатка будет резко сказываться прежде всего на электронном характере атома азота, находящегося при C^2 цепи, причем в обоих случаях должно иметь место значительное снижение электронной плотности. Сочетание этих особенностей с определенной пространственной сближенностью и доступностью ациламино- и оксигрупп, вероятно, и обусловливает возможность сильного взаимодействия этих групп со специфическими пептидными группировками некоторых энзимов, необходимых для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов, что и приводит в конечном итоге к нарушению обмена у последних.

Поскольку требуемое снижение электронной плотности N- и O-атомов ациламино- и оксигрупп может быть в той или иной степени достигнуто за счет поляризующего действия различных атомов и группировок, становится понятной относительно небольшая специфичность *n*-нитрофенильного и дихлорацетильного радикалов, которые могут быть в некоторых случаях с успехом заменены другими радикалами со сходным поляризующим действием. Ясна и причина, почему эти радикалы не должны содержать ионогенных группировок, так как превращение полярной молекулы в ион (безразлично, положительный или отрицательный) резко изменит ее способность взаимодействовать с белковыми составляющими энзимов, приведя к неспецифической ассоциации с белками за счет электростатического взаимодействия ионных зарядов.

Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
27 I 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] М. М. Шемякин, А. С. Хохлов, Химия антибиотических веществ, 2-е изд., М., 1953, стр. 125—134, 144—148, 559—564. [2] R. J. Collins, B. Ellis et al., J. Pharm. Pharmacol., **4**, 693 (1952). [3] J. D. Dunitz, J. Am. Chem. Soc., **74**, 995 (1952). [4] G. Fodor, J. Kiss, J. Sallay, J. Chem. Soc., **1951**, 1858. [5] М. М. Шемякин, Э. М. Бамдас и др., ДАН, **86**, 565 (1952); ЖОХ, **23**, 1854 (1953); **25**, № 5 (1955).