

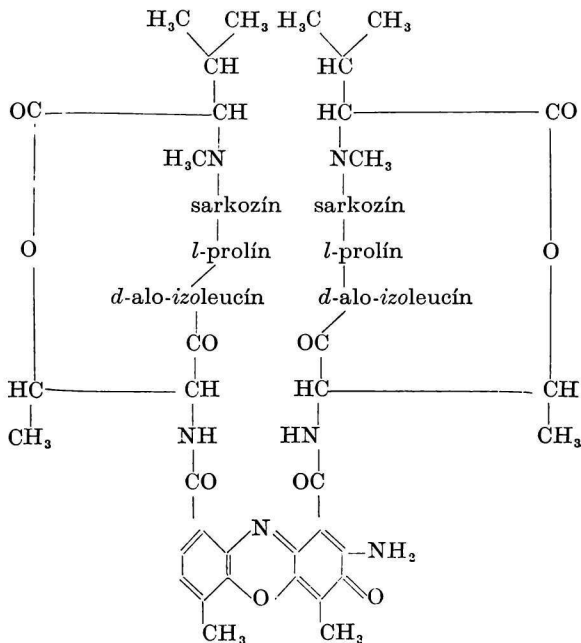
POLAROGRAFICKÉ CHOVANIE AKTINOMYCÍNŮV

M. FEDOROŇKO, H. BERG

ČSAV, Oddelenie fyzikálnej a analytickej chémie
Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Ústav mikrobiológie a experimentálnej terapie v Jene, NDR

Aktinomycíny sú červenožlté veľmi toxické antibiotiká s cytostatickými účinkami. Z chemického hľadiska sú to substituované fenoxazínové chromopeptidy (*I*), ktorých farebná časť zvaná chromofor je spoločná všetkým aktinomycínom. Na chromofore sú napojené dva peptidové zvyšky, ktorých zloženie závisí od biologických vlastností použitých kmeňov aktinomycét a od výrobných podmienok. Štruktúru celého radu aktinomycínov opísal H. Brockmann a spolupracovníci [1—3]:

*I*

Biologické skúšky dokázali, že i menšie štrukturálne zmeny či už na peptidových častiach alebo na chromofore samom silne ovplyvňujú cytostatické účinky aktinomycínov. Napríklad kým aktinomycín C_1 je účinné cytostatikum, chlóraktinomycín C_1 (aminoskupina na chromofore v aktinomycíne

je nahradená chlóróm) je prakticky neúčinný. Z polarografického hľadiska je veľmi dôležité poznať, ako ovplyvňujú peptidové zvyšky a ostatné substituenty redoxný systém základného fenoxazónu(2), a to aj preto, že v niektorých prácach [4] sa našla súvislosť medzi polvlnovými potenciálmi a cytostatickou účinnosťou skúšaných látok. Niektoré polarografické vlastnosti aktinomycínov opísal už jeden z nás [5, 6]. V tejto práci podávame úplnejšie polarografické štúdium aktinomycínu C_1 (ďalej aktinomycín), chlóraktinomycínu C_1 (ďalej chlóraktinomycín) a fenoxazónu(2) ako modelovej látky.

Experimentálna časť

Pracovalo sa na Heyrovského polarografe typu LP 55 v obvyklom zapojení s temperovanou Kalouskovou nádobkou a oddelenou 1 M merkurosulfátovou elektródou. pH hodnoty použitých roztokov sa premerali na pH metri firmy Radiometer. Použitá kapilára mala pri výške rezervoára $h = 60$ cm dobu kvapky 3,46 sek. a prietokovú rýchlosť $m = 1,98$ mg/sek. Aktinomycín a chlóraktinomycín sa vyrobili a chromatograficky prečistili na Ústave mikrobiológie a experimentálnej terapie v Jene; fenoxazón(2) nám poskytol dr. Musso z Organicko-chemického ústavu Univerzity v Göttingene. Všetky chemikálie použité na prípravu tlmivých roztokov boli analytickej čistoty. Všetky experimenty polarografického štúdia uvedených látok sa vykonali v tlmivých roztokoch za prítomnosti 50 % metanolu. Spektrá v ultrafialovej a viditeľnej oblasti všetkých troch skúšaných látok sa premerali na univerzálnom spektrofotometri firmy Zeiss.

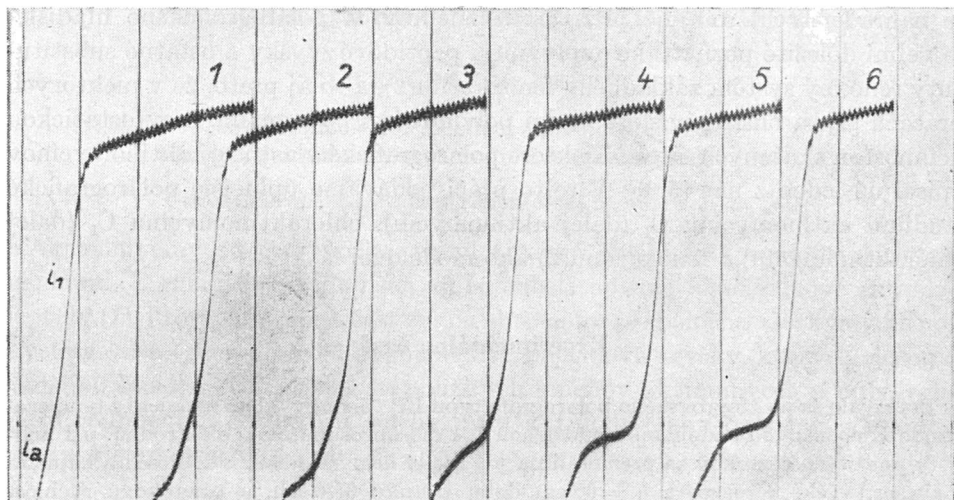
Výsledky

Štúdium reverzibilných redoxných systémov

Fenoxazón(2) poskytuje pri všetkých skúšaných koncentráciách v Britton—Robinsonových tlmivých roztokoch jednu katodickú dvojelektrónovú vlnu (obr. 1), limitovanú difúziou, ako sa overilo zo závislosti od výšky rezervoára a z kriviek závislosti okamžitého prúdu od času. Anodické vlny leukoformy fenoxazónu(2) sa objavujú pri tých istých potenciáloch, pri ktorých prebiehajú príslušné redukcie oxydovanej formy. Pri postupnom prevode oxydovanej formy na redukovanú účinkom vodíka za katalytického pôsobenia koloidného paládia prechádzala anodicko-katodická vlna plynule cez nulovú líniu galvanometra, čo je dôkazom reverzibilného charakteru fenoxazónu(2).

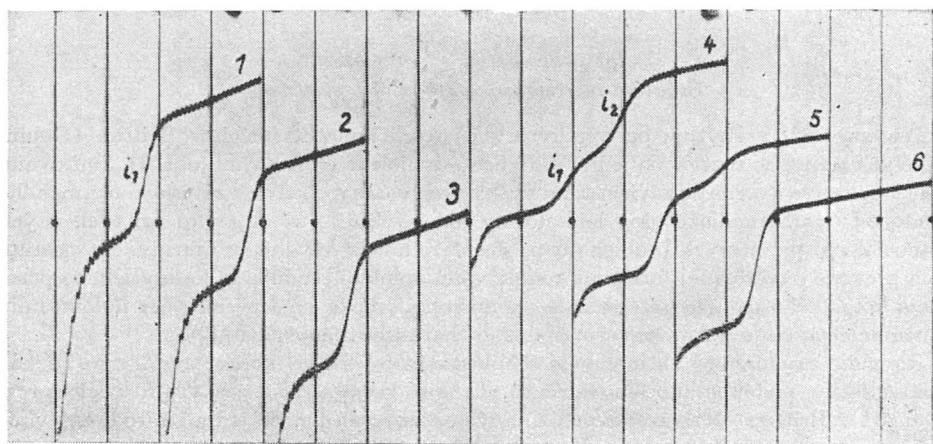
Rovnako sa chová aj aktinomycín a chlóraktinomycín pri koncentrácii $< 5 \cdot 10^{-5}$ M. Obidve látky, podobne ako fenoxazón(2), do tejto koncentrácie poskytujú v celom rozsahu pH v Britton—Robinsonových tlmivých roztokoch len po jednej katodickej vlne, polvlnové potenciály ktorých súhlasia s polvlnovými potenciálmi vln zodpovedajúcich leukoformiem, čo je dôkazom polarografickej reverzibility (obr. 2, krivka 1, 2, 3).

Všetky tri skúmané látky, najmä pri vyšších koncentráciách, sú na anodickej strane sprevádzané jednou zle vyvinutou vlnkou (i_u). Posun polvlnových potenciálov týchto vln s pH je menší než pri prvej katodickej vlne (i_1), takže v závislosti od pH môžu tieto vlny splývať s katodickou vlnou (obr. 3 a 4, krivka 1, 2, 3) alebo sa jasne diferencujú (obr. 4, krivka 4, 5). Uvedené vlny najpravdepodobnejšie prislúchajú zlúčeninám týchto látok s anodicky rozpustenou ortuťou.



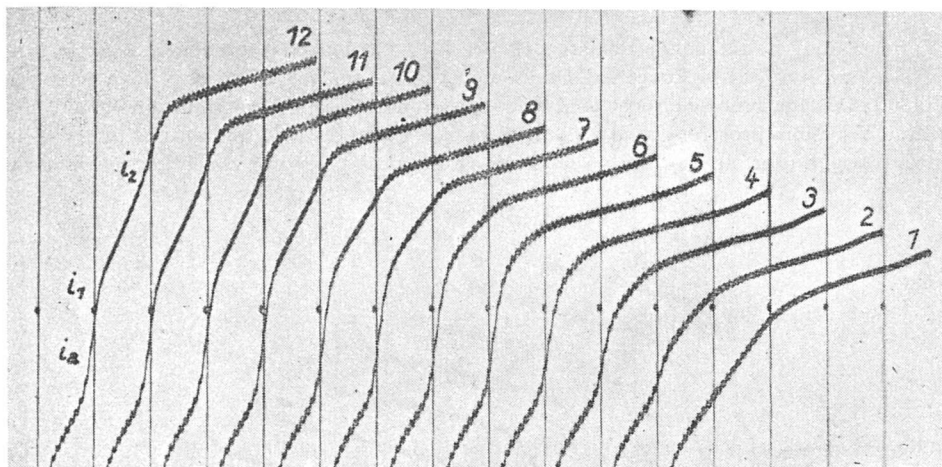
Obr. 1. Závislosť vln fenoxazónu(2) od pH v Britton—Robinsonových vodno-alkoholických tlmivých roztokoch.

$2,5 \cdot 10^{-4}$ M fenoxazón(2). (1) roztok kyseliny sírovej s 50 % metanolu; (2) až (6) Britton—Robinsonove tlmivé roztoky s 50 % metanolu; pH: (1) 1,55; (2) 2,82; (3) 4,80; (4) 6,80; (5) 8,34; (6) 9,80. Krivky (1) až (3) od 0. závitu, krivky (4) až (6) od 1. závitu, 1 M merkursulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. 1 20.



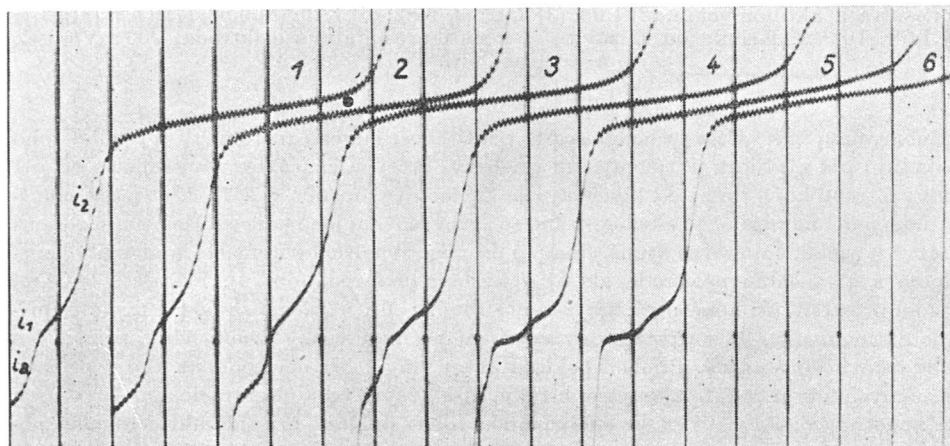
Obr. 2. Závislosť katodicko-anodických vln aktinomycínu od jeho koncentrácií v Britton—Robinsonovom tlmivom roztoku o pH 6,8.

Koncentrácie aktinomycínu: krivky (1) až (3) $3 \cdot 10^{-5}$ M, krivky (4) až (6) $10 \cdot 10^{-5}$ M. Krivky (1) a (4) úplne oxidované formy, (2) a (5) čiastočne redukované formy, (3) a (6) úplne redukované formy. Krivky registrované anodicko-katodicky od 1. závitu, 1 M merkursulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. krivky (1) až (3) 1 : 3, krivky (4) až (6) 1 10.



Obr. 3. Závislosť výšok vln od koncentrácie chlóraktinomycínu v Britton—Robinsonovom vodno-alkoholickom tlmivom roztoku o pH 3,9.

Koncentrácie chlóraktinomycínu: (2) 1,1; (3) 2,1; (4) 3,1; (5) 4,1; (6) 5,0; (7) 5,9; (8) 6,7; (9) 7,5; (10) 8,3; (11) 9,1; (12) 9,8 10^{-5} M. Krivky od 0. závit, 1 M merkurosulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. 1 7.

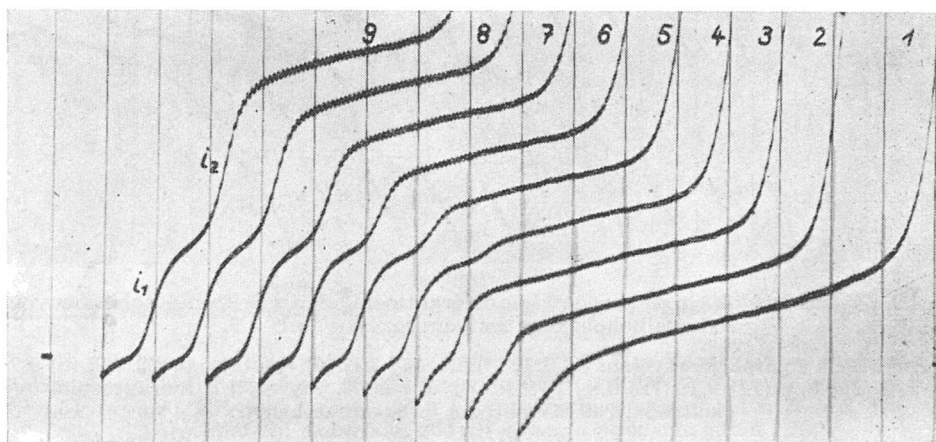


Obr. 4. Závislosť vln chlóraktinomycínu od pH v Britton—Robinsonových vodno-alkoholických tlmivých roztokoch.

$2,5 \cdot 10^{-4}$ M chlóraktinomycín. pH (1) 2,23; (2) 2,82; (3) 4,75; (4) 6,80; (5) 8,34; (6) 9,80. Krivky (1) až (5) od 0. závit, krivka (6) od 1. závit, 1 M merkurosulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. 1 15.

Aktinomycín a chlóraktinomycín pri koncentráciách $> 5 \cdot 10^{-5}$ M

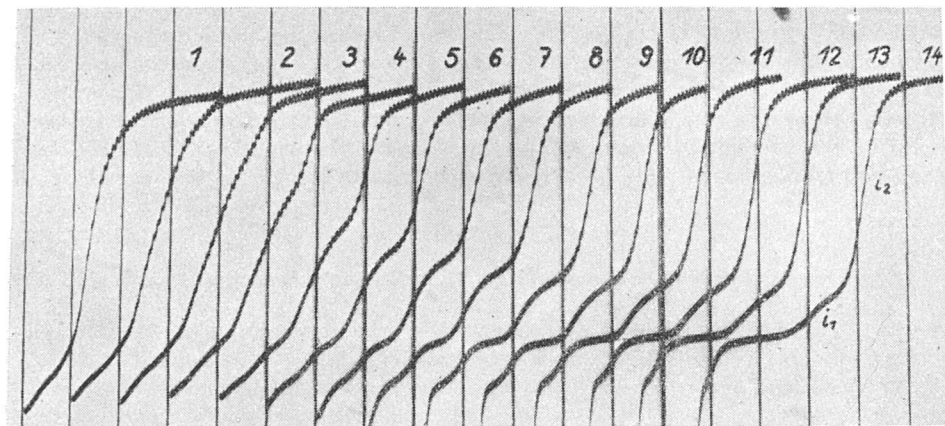
V neutrálnej a alkalickej oblasti pH pri koncentrácii aktinomycínu $> 5 \cdot 10^{-5}$ M sa výška prvej vlny (i_1) s koncentráciou nemení, začína sa však objavovať nová vlna (i_2) asi o 300 mV negatívnejšie. Súčet oboch vln je úmerný koncentrácii pridaného aktinomycínu. V kyslom prostredí prvá vlna (i_1) dosahuje svoju medznú hodnotu až pri vyšších koncentráciách (obr. 5). Jej limitná hodnota sa dosiahne pri tým vyšších koncentráciách



Obr. 5. Závislosť výšok vln od koncentrácie aktinomycínu v Britton—Robinsonovom vodno-alkoholickom tlmivom roztoku o pH 4,62, Koncentrácie aktinomycínu: (2) $1,98 \cdot 10^{-5}$; (3) $3,92 \cdot 10^{-5}$; (4) $5,82 \cdot 10^{-5}$; (5) $7,70 \cdot 10^{-5}$; (6) $9,52 \cdot 10^{-5}$; (7) $11,3 \cdot 10^{-5}$; (8) $13,1 \cdot 10^{-5}$; (9) $14,8 \cdot 10^{-5}$ M. Krivky od 1. závitú, 1 M merkurosulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. 1 $\cdot 7$.

aktinomycínu, čím nižšia je hodnota pH použitého tlmivého roztoku. V dôsledku toho poskytujú pH závislosti aktinomycínu priebehy, ktorých charakter závisí nielen od pH tlmivých roztokov, ale aj od koncentrácie aktinomycínu (obr. 6 a 7). V prípade chlóraktinomycínu na rozdiel od aktinomycínu sa pri zvyšovaní jeho koncentrácie nad hodnotu $5 \cdot 10^{-5}$ M začína objavovať druhá vlna (i_2) pri negatívnejších potenciáloch nielen v neutrálnom a alkalickom prostredí, ale aj v kyslom prostredí (obr. 4). Pravda, vo veľmi kyslom prostredí pri koncentrácii kyseliny sírovej $> 0,1$ N začína sa podobne ako v prípade aktinomycínu výška prvej vlny zvyšovať na úkor výšky druhej vlny, pričom ich suma ostáva konštantná. Priebeh poklesu prvej vlny s pH má podobne ako v prípade aktinomycínu tvar spojitě klesajúcej krivky, ktorý závisí od koncentrácie depolarizátora. Pri koncentrácii $2,5 \cdot 10^{-4}$ M je inflexný bod tohto poklesu pri chlóraktinomycíne posunutý oproti aktinomycínu ca o 3 jednotky ku kyslejším hodnotám.

Pri vyšších koncentráciách aktinomycínov, keď sú na katodickej strane viditeľné dve vlny, pri postupnej redukcii oxydovaných foriem na príslušné leukoformy sa na anodickej strane vytvára len jedna anodická vlna, a to na mieste potenciálov prvej vlny. Pri všetkých skúšaných koncentráciách poskytujú leukoformy aktinomycínov vždy len jednu anodickú vlnu, zatiaľ čo zodpovedajúce katodické deje v závislosti od koncentrácie sú sprevádzané vznikom jednej alebo dvoch vln (obr. 2).

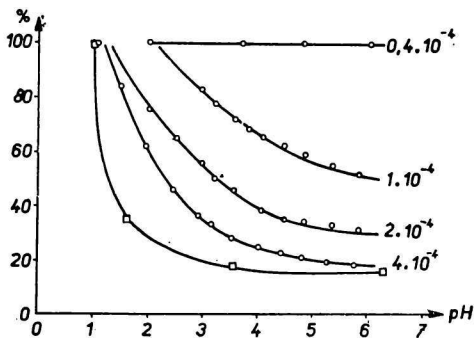


Obr. 6. Závislosť vln aktinomycínu od pH v Britton—Robinsonových vodno-alkoholických tlmivých roztokoch.

4 10^{-4} M aktinomycín. (1) a (2) roztoky kyseliny sírovej s 50 % metanolu; (3) až (14) Britton—Robinsonove tlmivé roztoky s 50 % metanolu. pH: (1) 1,05; (2) 1,55; (3) 1,85; (4) 1,95; (5) 2,45; (6) 2,90; (7) 3,15; (8) 3,50; (9) 4,0; (10) 4,4; (11) 4,8; (12) 5,25; (13) 5,75; (14) 6,35. Krivky od 0. závit, 1 M merkurosulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. 1 20.

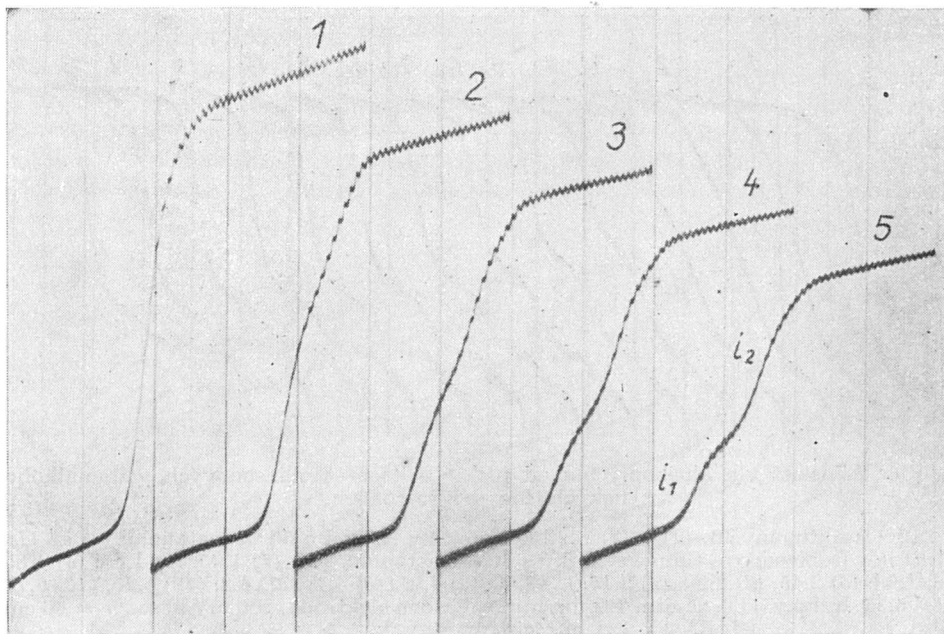
Výšky prvej vlny (i_1) v závislosti od koncentrácie vykazujú viac alebo menej kinetický charakter. Pri koncentrácii len omálo vyššej než $5 \cdot 10^{-5}$ M výšky vln značne klesajú so znižovaním výšky rezervoára. So stúpajúcou koncentráciou aktinomycínov sa tento pokles znižuje a pri koncentrácii $> 5 \cdot 10^{-4}$ M výška prvej vlny prakticky nezávisí od výšky rezervoára.

Krivky závislosti okamžitého prúdu od času ($i-t$ krivky) v celom rozsahu pH a pri rozličných potenciáloch kriviek aktinomycínov dokazujú, že prúd na jednotlivých kvapkách nevykazuje nijaký pokles, čo by nasvedčovalo silnej a rýchlejšej adsorpcii aktinomycínov na povrch elektródy. Analýzou $i-t$ kriviek pri potenciáloch, keď sa už dosiahol limitný prúd aj druhej vlny, sa zistilo, že exponent $i-t$ kriviek je blízky hodnote $1/6$ (0,18), čo je dôkazom, že limitný prúd je difúzny. S klesajúcim potenciálom však exponent stúpa až k hodnote blízkej $2/3$, čo je hodnota charakteristická pre kinetické deje. Toto zistenie je nielen potvrdením, že elektródový proces prislúchajúci druhej vlne je ireverzibilný [8], ale aj dôkazom, že limitný prúd prvej vlny (keď sa



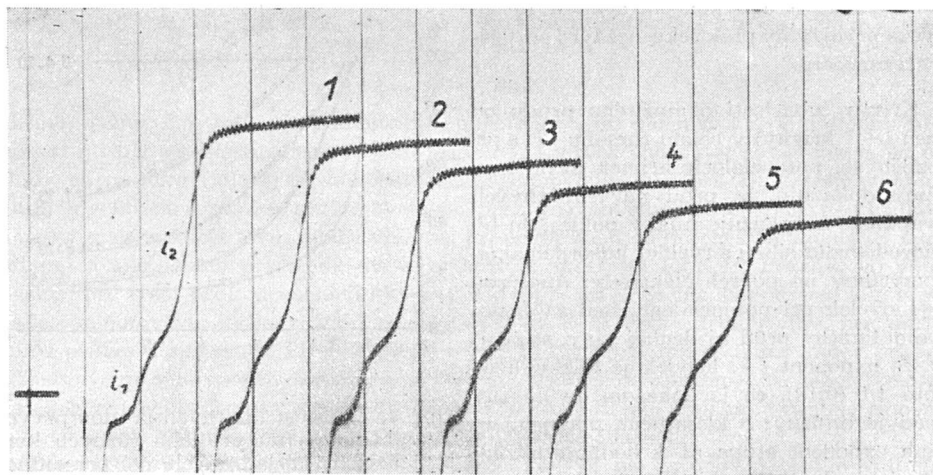
Obr. 7. Závislosť limitných prúdov prvých vln aktinomycínu pri jeho rôznych koncentráciách, vyjadrených v percentách z celkových prúdov, od pH.

Koncentrácie aktinomycínu sú vyznačené na obrázku pri závislostiach. Prvá krivka znázorňuje závislosť rozpustnosti aktinomycínu od pH pri 25 °C. Rozpustnosť pri pH 1 je zvolená za 100 % rozpustnosť.



Obr. 8. Teplotná závislosť výšok vln $1 \cdot 10^{-4}$ M aktinomycínu v Britton—Robinsonovom tlmivom roztoku o pH 8,5.

Teploty: (1) 60; (2) 50; (3) 40; (4) 30; (5) 20 °C. Krivky od 0. závit, 1 M merkurosulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. 1 7.



Obr. 9. Teplotná závislosť výšok vln $0,68 \cdot 10^{-4}$ M chlóraktinomycínu v Britton—Robinsonovom tlmivom roztoku o pH 8,4.

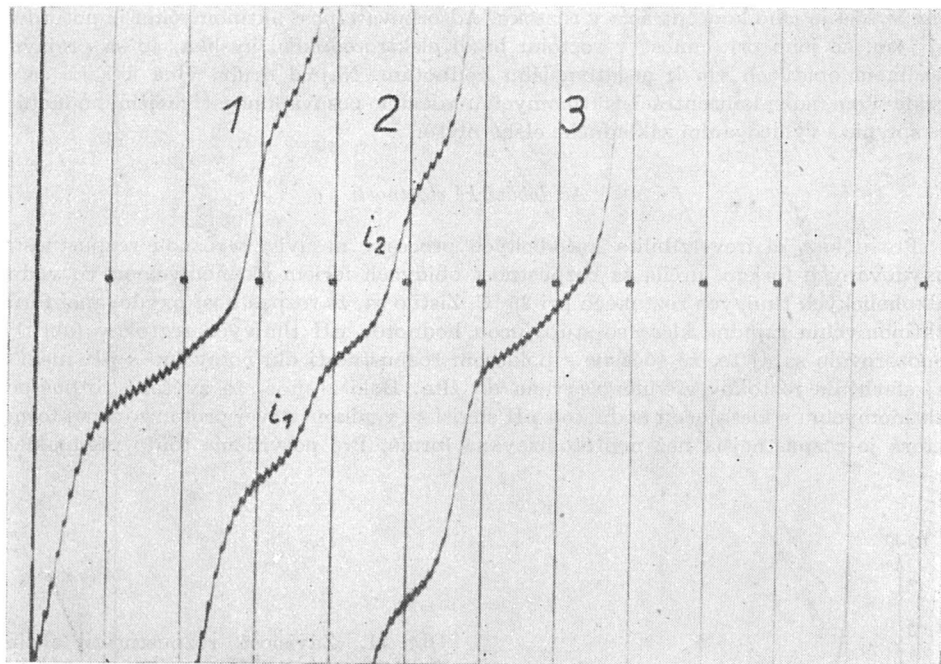
Teploty: (1) 45; (2) 40; (3) 35; (4) 30; (5) 25; (6) 20 °C. Krivky od 1. závit, 1 M merkurosulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. 1 5.

$i-t$ krivky registrovali pri potenciáli jej limitného prúdu) má kinetický charakter.

Za týchto podmienok je teplotný koeficient prvej vlny 12 %/grad, kým hodnota teplotného koeficienta sumy oboch vln je ca 2 %/grad. Pri všetkých skúmaných koncentráciách aktinomyecínu sa polvlnový potenciál prvej vlny posúva s teplotou k negatívnejším hodnotám, zatiaľ čo polvlnový potenciál druhej vlny sa posúva k pozitívnejším hodnotám, takže pri určitej teplote polvlnové potenciály oboch vln spĺývajú (obr. 8). Pri chlóraktinomyecíne sa naproti tomu výška prvej vlny s teplotou prakticky nemení (obr. 9).

Zisťovanie charakteru druhej vlny (i_2) pri aktinomyecíne a chlóraktinomyecíne

Zo závislosti výšok prvej vlny od výšky rezervoára a z $i-t$ kriviek je jasné, že ireverzibilitu katodických dejov a ich dvojstupňový charakter spôsobujú samotné aktinomyecíny. Rozdvojenie katodických vln pri koncentrácii $> 5 \cdot 10^{-5}$ M je zapríčinené brzdením katodických procesov v dôsledku absorpcie samotných aktinomyecínov. Ako je známe, na povrchu kvapkovej elektródy sa môže adsorbovať látka polarograficky aktívna (depolarizátor sám), ako aj látka polarograficky inaktívna. V našom prípade môžeme na molekulu aktinomyecínu nazerať ako na depolarizátor schopný adsorpcie alebo tiež



Obr. 10. Závislosť katodicko-anodických vln $3 \cdot 10^{-5}$ M aktinomyecínu za prítomnosti $2 \cdot 10^{-4}$ M eozínu v Britton—Robinsonovom tlmiacom roztoku o pH 6,8.

Krivky: (1) úplne oxidovaná forma, (2) čiastočne redukovaná forma, (3) úplne redukovaná forma. Krivky od 1. závit, 1 M merkurosulfátová elektróda, 200 mV/absc., $h = 60$ cm, citl. 1 3.

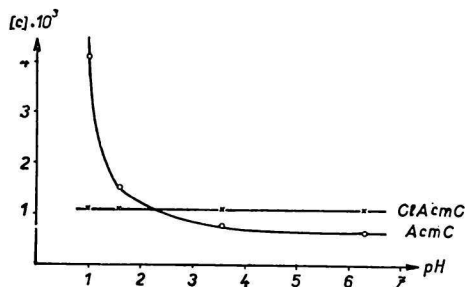
môžeme formálne považovať peptidové zvyšky za cudziu povrchove aktívnu látku, ktorá ovplyvňuje reverzibilné polarografické chovanie fenoxazónu(2). Keďže dva peptidové zvyšky a jeden chromofor vytvárajú vždy jednu molekulu aktinomycínu, nemožno

danom prípade meniť nezávisle pomer ich koncentrácie a tým presne špecifikovať vplyv peptidových zvyškov na polarografické chovanie fenoxazónu(2). Preto sme sa pokúsili vyskúšať vplyv inej známej povrchove aktívnej látky na redoxný systém aktinomycínov, ktorý je zachovaný pri ich koncentrácii $< 5 \cdot 10^{-5}$ M. Do roztokov aktinomycínu o koncentrácii $< 5 \cdot 10^{-5}$ M sa postupne pridával roztok povrchove aktívneho eozínu. Pri určitej jeho koncentrácii sa začala vlna aktinomycínu rozdvajovať. Ďalším pridávaním eozínu sa výška prvej vlny ďalej znižovala a výška druhej vlny sa stále zvyšovala so súčasným posunom jej polvlnového potenciálu k negatívnejším hodnotám. Pri dostatočne vysokej koncentrácii eozínu prvá vlna aktinomycínu zmizne úplne a objaví sa len druhá vlna, ktorej polvlnový potenciál je asi o 300 mV posunutý k negatívnejším hodnotám (obr. 10, krivka 1). Elektroódový proces oxydácie príslušnej leukoformy nie je však brzdený ani za prítomnosti eozínu (obr. 10, krivka 2, 3). Teda celkový obraz je podobný ako pri vyšších koncentráciách samotného aktinomycínu.

Adsorbovateľnosť aktinomycínu na povrchu ortuťovej elektródy sa ďalej dokazovala štúdiom elektrokapilárnych kriviek. Elektrokapilárne krivky dokazujú, že aktinomycín v Britton—Robinsonových tlmivých roztokoch o rôznych hodnotách pH adsorbuje sa na povrchu kvapkovej elektródy v celej oblasti potenciálov (0—1,5 V), a to tým viac, čím vyššia je jeho koncentrácia v roztoku. Adsorbovateľnosť aktinomycínu je potvrdená aj tým, že jeho prítomnosť v roztoku brzdí elektroredukcii kyslíka, čo sa prejavuje posunom obidvoch vln k negatívnejším hodnotám. Najmä druhá vlna kyslíka sa už prídavkom malej koncentrácie aktinomycínu tak silne posúva k negatívnejším hodnotám, že splynie s vylučovaním základného elektrolytu.

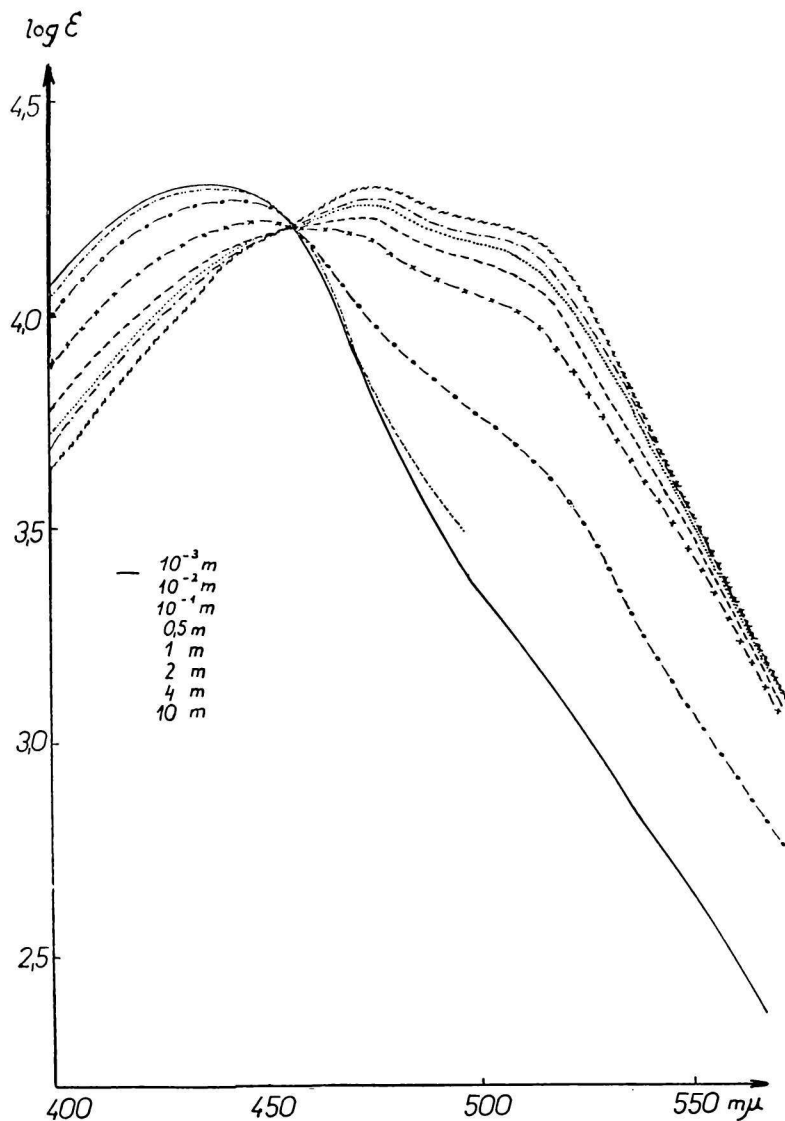
Acidobázické vlastnosti

Pre dôkaz, či ireverzibilita katodických procesov nesúvisí s rôznou rozpustnosťou oxydovaných foriem, určila sa rozpustnosť obidvoch foriem aktinomycínov vo vodno-alkoholických tlmivých roztokoch pri 25 °C. Zistilo sa, že rozpustnosť oxydovanej formy aktinomycínu rapídne klesá so stúpajúcou hodnotou pH tlmivých roztokov (obr. 11). Spozorovalo sa aj to, že súčasne s poklesom rozpustnosti aktinomycínu s pH mení sa aj sfarbenie roztokov z vínovočervena do žltá. Bolo zrejmé, že zvýšená rozpustnosť aktinomycínu s klesajúcou hodnotou pH súvisí so vznikom novej protonizovanej formy, ktorá je rozpustnejšia než neprotonizovaná forma. Pre potvrdenie tohto predpokladu



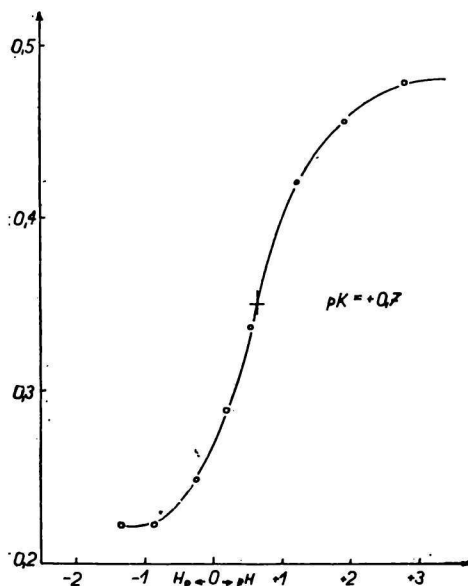
Obr. 11. Závislosť rozpustnosti aktinomycínu a chlóraktinomycínu od pH roztoku pri 25 °C.

určili sa spektrofotometrickou metódou konštanty protonizácie aktinomycínu (obr. 12 a 13). Podobne sa premerali aj konštanty protonizácie ostatných polarograficky skúšaných látok. Merania sa urobili v roztokoch kyseliny sírovej od koncentrácie 10 M, t. j. $H_0 = -4,89$, do 10^{-3} M, ako aj v Britton—Robinsonových tlmivých roztokoch v roz-



Obr. 12. Absorpčné krivky aktinomycínu vo vodných roztokoch kyseliny sírovej.

Koncentrácia aktinomycínu $2,5 \cdot 10^{-4}$ M. Absorpčné krivky zodpovedajúce jednotlivým použitým koncentráciám kyseliny sírovej sú označené, ako je uvedené na obrázku.



Tabuľka 1

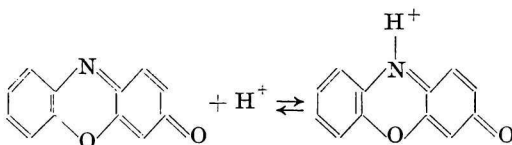
Látka	Hodnota pK
aktinomycín	+0,7
fenoxazón(2)	—1,5
chlóraktinomycín	—4,1

Obr. 13. Spektrofotometrické stanovenie konštanty disociácie protonizovanej formy aktinomycínu.

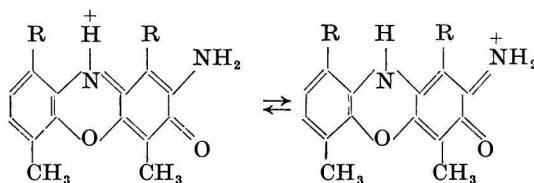
Koncentrácia aktinomycínu $5 \cdot 10^{-5}$ M.
Hodnoty extinkcie merané pri vlnovej dĺžke 420 m μ .

medzi pH 2—10 pri 25 °C. Hodnoty funkcie kyslosti H_0 pre vodné roztoky kyseliny sírovej sa prevzali z práce [7]. Výsledky meraní, ktoré sú vyjadrené pomocou H_0 , sú uvedené v tab. 1.

Keďže sa vo všetkých troch látkach zistilo iba po jednom stupni protonizácie v celom skúšanom rozsahu, je zrejmé, že ide len o protonizáciu fenoxazónového dusíka podľa uvedenej schémy:



Protonizovaná forma vytvára v prípade aktinomycínu rezonančne stabilizované katióny, v dôsledku čoho nemôže nastať protonizácia aminoskupiny na chromofore [3]:



Ďalej sa dokázalo, že leukoforma je niekoľkokrát rozpustnejšia než jej zodpovedajúca oxydovaná forma. Naproti tomu rozpustnosť chlóraktinomycínu je v celom skúšanom rozsahu pH konštantná (obr. 11). Je to pochopiteľné, pretože za týchto podmienok

chlóraktinomyecín existuje v roztoku len vo svojej neprotonizovanej forme (pozri tab. 1), čo je príčinou aj toho, že pomer obidvoch vln pri chlóraktinomyecíne sa nemení v celom rozsahu pH (obr. 4).

Diskusia

Pri polarografickom štúdiu zlúčenín azínovej skupiny sa zistilo, že na polarografických vlnách týchto redoxných systémov vznikajú v mnohých prípadoch „anomálne“ vlny. Vysvetlenie podstaty vzniku týchto „anomálnych“ vln a ich matematické vyhodnotenie urobil R. Brdička [9] na prípade metylénovej modrej. Podľa tejto teórie vznik „anomálnych“ vln je spôsobený adsorpciou oxydovanej alebo redukovanej formy na povrchu kvapkovej elektródy. Adsorpcia v týchto prípadoch neovplyvňuje polvlnové potenciály hlavných vln redoxných systémov, ako to napríklad názorne vidieť z polarografických kriviek rozindulínu. Oveľa komplikovanejšie obrazy nastávajú v prípade uplatnenia adsorpcie pri dvojestupňovej redukcii, keď vzniká dostatočne stabilizovaná forma semichinón [10], ktorá sa ďalej v oddelenej vlne redukuje na konečný produkt. Podobný prípad podľa M. Voříškovéj [11] nastáva pri α -oxyfenazíne a α -oxymetylfenazíne (pyocyanín), kde sa uplatňuje adsorpcia redukovanej formy.

Fenoxazón(2), aktinomyecín a chlóraktinomyecín, ktoré sme polarograficky skúmali, takisto patria do skupiny azínových farbív. Fenoxazón(2) nevykazuje nijaké polarografické „anomálie“ a jeho chovanie za všetkých skúmaných podmienok dokazuje, že ide o typický redoxný systém. Zavedením ďalších substituentov na fenoxazón(2), napríklad za vzniku aktinomyecínu a chlóraktinomyecínu je táto reverzibilita zachovaná len pri protonizovaných formách. Pri neprotonizovaných formách je zachovaná iba do koncentrácie $5 \cdot 10^{-5}$ M.

V prípade neprotonizovaných foriem pri koncentrácii $> 5 \cdot 10^{-5}$ M je reverzibilita porušená adsorpciou aktinomyecínov na povrchu kvapkovej elektródy. Dôkazom toho je značné zníženie povrchového napätia ortuti ich prítomnosťou v roztoku. Aj značný posun polvlnových potenciálov vln kyslíka k negatívnejším hodnotám za prítomnosti už malého množstva aktinomyecínu potvrdzuje predpoklad, že naadsorbovaný aktinomyecín na povrchu kvapkovej elektródy brzdí proces redukcie kyslíka. Táto adsorpcia je však iného typu, než akú opísal R. Brdička [9]. V našich prípadoch sa neobjavuje adsorpčná predvlnka, ktorej výška by sa nemenila v celom rozsahu pH a ktorá by bola viditeľná na katodickej i na anodickej strane pri tom istom potenciáli. Podobne neexistuje ani hlavná redoxná vlna, ktorá by pri prechode z katodickej strany na anodickú nemenila svoj polvlnový potenciál. V daných prípadoch je katodický elektródový proces zodpovedajúci prvej vlne (i_1) reverzibilný a druhej vlne (i_2) ireverzibilný. Pri leukoformách sa brzdenie anodického

procesu za uvedených podmienok prakticky neprejaví. Pri katodickom procese ide teda o spomalenie elektródového deja, kde redukcia depolarizátora (aktinomycínu) je ovplyvnená povrchove aktívnou látkou (opäť aktinomycínom). Domnienka, že na skúšané aktinomycíny musíme nazerať jednak ako na povrchove aktívne látky, jednak ako na depolarizátory oddelene, potvrdila sa pokusom pri nízkych koncentráciách aktinomycínu, keď je viditeľná len jedna vlna, pridávaním roztoku povrchove aktívneho eozínu. Eozín podobne ako aktinomycíny brzdí katodický proces, avšak nebrzdí anodický proces. Neporušenie anodického procesu ani za prítomnosti eozínu treba pripísať fyzikálno-chemickým vlastnostiam leukoforiem aktinomycínov, najmä ich niekoľkonásobne väčšej rozpustnosti než pri oxydovaných formách aktinomycínov, čo sa dokázalo experimentálne. Pokles reverzibility mnohých organických redoxných systémov za prítomnosti eozínu pozoroval K. Wiesner [12].

Podľa dnešných predstáv sú v podstate možné dve príčiny spomaľovania elektródových dejov [13]. Prvá tvrdí, že adsorpčný film sťažuje prenikanie iónov k elektróde, kým podľa druhej adsorpčný film sťažuje bezprostredný prechod elektrónov. Podľa prvej teórie na spomaľené prenikanie cez naadsorbovaný film môžeme nazerať ako na určité doplnkové sťaženie difúzie k povrchu elektródy. Tento prípad možno porovnať s redukciou voľných iónov, ktoré sa pomaly uvoľňujú z nejakého komplexu. Za týchto podmienok je prítomná jedna redoxná vlna. Medzný prúd musí však byť v oblastiach adsorpcie povrchove aktívnych látok menší. Pri potenciáli desorpcie výška vln vzrastie na normálnu hodnotu. Podľa druhej teórie musí nastať rozdelenie anodicko-katodických vln pri nulovej línii galvanometra. Polarografické chovanie aktinomycínov vyhovuje prvej teórii. Pokiaľ je koncentrácia aktinomycínov v roztoku malá, ich naadsorbované molekuly na povrchu kvapkovej elektródy prakticky neovplyvňujú difúziu ďalších molekúl, a preto elektródový proces je reverzibilný. Pri dostatočne vysokej koncentrácii sa povrchový film natolko spevní, že značne sťažuje difúziu molekúl aktinomycínov, v dôsledku čoho sa redukcia ďalších molekúl posunie k negatívnejším potenciálom. Kinetický charakter prvej vlny aktinomycínu, ktorý je zrejмый z jej závislosti od výšky rezervoára a $i-t$ kriviek, je dôkazom toho, že aktinomycín patrí k slabším povrchove aktívnym látkam. Obsadenie povrchu kvapky je tu limitované nie difúziou aktinomycínu k povrchu kvapky, ale jeho adsorpčnou rovnováhou. To znamená, že množstvo molekúl aktinomycínu adsorbovaných na jednotkový povrch kvapky sa s jej dobou nemení a za ináč konštantných podmienok závisí len od koncentrácie aktinomycínu. R. W. Schmid a C. N. Reilley [14] zistili, že prídavok tymolu takisto spôsobuje rozdvojenie vln redukcie mednatých iónov z komplexu kyseliny etyléndiamíntetraoctovej, pričom prvá vlna, ako autori dokázali z $i-t$ kriviek a výškových závislostí, má taktiež kinetický charakter. Porovnaním našich výsledkov s údajmi

uvedených autorov možno usúdiť, že aktinomycín podobne ako tymol ovplyvňuje elektródové deje rovnakým spôsobom.

Vplyv teploty na desorpciu aktinomycínu je značný, zatiaľ čo v prípade chlóraktinomycínu sa prakticky neuplatní. Je to dôkazom, že chlóraktinomycín sa adsorbuje nepomerne silnejšie.

Za starostlivé prezretie rukopisu a vecné pripomienky ďakujeme dr. P. Zumanovi a za účinnú pomoc pri štúdiu i—t kriviek dr. J. Kutovi a dr. I. Smoleňovi. Vďaka patrí aj E. Brodkorbovej, M. Pavlovičovej a A. Sedláčkovi za technickú pomoc pri spektrofotometrických meraniach.

Súhrn

Opisuje sa polarografické chovanie fenoxazónu(2), aktinomycínu C_1 a chlóraktinomycínu C_1 . Fenoxazón(2) vykazuje za všetkých skúmaných podmienok reverzibilný charakter. V prípade aktinomycínu C_1 a chlóraktinomycínu C_1 je reverzibilný charakter úplne zachovaný len pri ich protonizovaných formách. Zatiaľ čo si anodické deje pri neprotonizovaných formách zachovávajú svoje reverzibilné vlastnosti pri všetkých skúšaných koncentráciách, táto reverzibilita pre katodické deje je zachovaná len do koncentrácie $5 \cdot 10^{-5}$ M. Pri koncentrácii $> 5 \cdot 10^{-5}$ M nastáva rozdvojenie katodickej vlny v dôsledku adsorpcie samotných aktinomycínov svojimi peptidovými koncami na povrchu kvapkovej elektródy najmä v okolí elektrokapilárnej nuly. Príčina posunu časti katodickej krivky k negatívnejším potenciálom a ireverzibilný charakter spočíva v značnom zbrzdení difúzie molekúl aktinomycínu cez naadsorbovaný film k povrchu kvapkovej elektródy. Kinetický charakter prvej vlny (i_1), najmä pri vyšších koncentráciách aktinomycínu je dôkazom toho, že adsorpcia nie je limitovaná difúziou adsorbujúcich sa molekúl aktinomycínu, ale adsorpciou rovnováhou. Neovplyvnenie anodického elektródového procesu sa vysvetľuje vlastnosťami leukoforiem, predovšetkým ich vyššou rozpustnosťou. Naadsorbovaný film z molekúl chlóraktinomycínu C_1 je nepomerne pevnejší než z aktinomycínu C_1 , čo potvrdzujú teplotné závislosti.

ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ АКТИНОМИЦИНОВ

М. ФЕДОРОНЬКО, Г. БЕРГ

ЧСАН, Отдел физической и аналитической химии Химического института
Словацкой академии наук в Братиславе

Институт микробиологии и экспериментальной терапии, Пена, ГДР

Описано полярографическое поведение феноксазона(2), актиномицина C_1 и хлорактиномицина C_1 . Феноксазон(2) обладает при всех испытываемых условиях обратимым характером. В случае актиномицина C_1 и хлорактиномицина C_1 обратимый характер вполне сохранен только у их протонизированных форм. Пока что анодные процессы у непротонизированных форм соблюдают свои обратимые свойства при всех испы-

туемых концентрациях, эта обратимость для катодных процессов соблюдается только до концентраций $5 \cdot 10^{-5}$ м. При концентрации $> 5 \cdot 10^{-5}$ м настает раздвоение катодной волны вследствие адсорбции самых актиномицинов своими пептидовыми концами на поверхности капельного электрода особенно в области электрокапиллярного нуля. Причина смещения части катодной кривой к более отрицательным значениям потенциала и необратимый характер причинен в значительном торможении диффузии молекул актиномицина через наадсорбированную пленку к поверхности капельного электрода. Кинетический характер первой волны (i_1), особенно при высших концентрациях актиномицина, является доказательством того, что адсорбция не ограничена диффузией адсорбирующихся молекул актиномицина но адсорбционным равновесием. Неоказание влияния на анодный электродный процесс объясняется свойствами лейкоформ, особенно их высшей растворимостью. Наадсорбированная пленка из молекул хлорактиномицина C_1 несравнительно более прочная чем из актиномицина C_1 , что подтверждают температурные зависимости.

Поступило в редакцию 6. 9. 1961 г.

POLAROGRAPHISCHES VERHALTEN DER ACTINOMYCINE

M. FEDOROŇKO, H. BERG

ČSAV, Abteilung für physikalische und analytische Chemie
an der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava

Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie in Jena, DDR

Es wurde das polarographische Verhalten des Phenoxazons(2), Actinomycins C_1 und Chloractinomycins C_1 beschrieben. Phenoxazon(2) weist unter allen geprüften Bedingungen einen reversiblen Charakter auf. Im Falle des Actinomycins C_1 und des Chloractinomycins C_1 bleibt der reversible Charakter nur bei deren protonisierten Formen voll erhalten. Während die anodischen Vorgänge bei den nichtprotonisierten Formen ihre reversiblen Eigenschaften bei allen geprüften Konzentrationen erhalten, wird diese Reversibilität für die kathodischen Vorgänge nur bis zu einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-5}$ м erhalten. Bei einer Konzentration $> 5 \cdot 10^{-5}$ м tritt eine Gabelung der kathodischen Stufe als Folge einer Adsorption der Actinomycine als solcher mit ihren Peptiden an der Oberfläche der Tropfelektrode hauptsächlich in der Umgebung des elektrokapillaren Nullpunkts ein. Die Ursache der Verschiebung eines Teiles der kathodischen Kurve zu negativeren Potentialen und der irreversible Charakter beruht in einer beträchtlichen Bremsung der Diffusion der Moleküle des Actinomycins bei ihrem Weg durch den adsorbierten Film zur Oberfläche der Tropfelektrode. Der kinetische Charakter der ersten Stufe (i_1), hauptsächlich bei höheren Konzentrationen des Actinomycins, ist ein Beweis dafür, dass die Adsorption nicht durch die Diffusion der sich adsorbierenden Moleküle des Actinomycins limitiert wird, sondern durch das Adsorptionsgleichgewicht. Die Nichtbeeinflussung des anodischen Elektronenprozesses erklärt sich durch die Eigenschaften der Leukoformen, hauptsächlich durch deren höhere Löslichkeit. Der adsorbierte Film aus Molekülen des Chloractinomycins C_1 ist verhältnismässig fester als jener aus Actinomycin C_1 , was durch die Temperaturabhängigkeiten bestätigt wird.

In die Redaktion eingelangt den 6. 9. 1961

LITERATÚRA

1. Brockmann H., Bohnsack G., Franck B., Gröne H., Muxfeldt H., Süling C., *Angew. Chem.* 63, 70 (1956). — 2. Brockmann H., Boldt P., *Naturwiss.* 8, 262 (1959). — 3. Brockmann H., *Die Actinomycine. Fortschritte der Chemie organischer*

Naturstoffe XVIII, Wien 1960. — 4. Berg H., König K. H., *Anal. Chim. Acta* 18, 140 (1958). — 5. Berg H., *Polarographische Reaktionsgeschwindigkeitsmessungen in Mikrobiologie und Biochemie*, Consiglio nazionale delle ricerche, *Contributi teorici e sperimentali di polarografia*, Vol. 3 (1957). — 6. Berg H., Bachus K. P., Jackel W., Löber G., Tlach K. F., *Monatsberichte der DAW zu Berlin* 1, 7 (1959). — 7. Paul M. A., Long F. A., *Chem. Rev.* 57, 1 (1957). — 8. Smoleř I., Kuta J., *Z. physik. Chem.* 58, 58 (1958). — 9. Brdička R., *Collection* 12, 522 (1947). — 10. Brdička R., *Chem. listy* 38, 252 (1944).

11. Voříšková M., *Collection* 12, 607 (1947). — 12. Wiesner K., *Collection* 12, 594 (1947). — 13. Stromberg A. G., Zagajnova L. S., *Dokl. Akad. nauk SSSR* 97, 107 (1954). — 14. Schmid R. W., Reilley C. N., *J. Am. Chem. Soc.* 80, 2087 (1958).

Do redakcie došlo 6. 9. 1961

Adresa autorov:

*Inž. Michal Fedoroňko, C. Sc., Bratislava, Mlynské nivy 37, Chemický ústav SAV
Dr. Hermann Berg, Jena, Beuthenbergstrasse 11, Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie.*