Polyene 抗眞菌抗生物質의 生物學的 性狀에 關하여

大韓結核協會 結核研究院

金 尙 材

Biology of the Polyene Antifungal Antibiotics: Sensitivity and Resistance

Sang J. Kim, D. Sc.

(Korean Tuberculosis Institute, Korean National Tuberculosis Association)

Polyene antibiotics are toxic towards eukaryotic cells such as fungi, algae, protozoa, and mammalian cells, but not toxic towards prokaryotic cells such as bacteria. It is now generally accepted that the polyene molecules combine with membrane sterols to yield a complex, as a result of which the cell membrane can no longer function as a selective restraining barrier. Damage to the membrane results in a cell death due to a leakage of many cell constituents.

However the mutants insensitive to the polyene antibiotics are occasionally isolated from sensitive strains of many fungi both in vivo and in vitro. Mutants of *Aspergillus funnelliae* resistant to relatively high level of amphotericin B and low level of nystatin, obtained by successive transfers of wild type in the presence of increasing concentrations of the polyenes, showed quantitatively and qualitatively altered sterol compositions, as compared with that of wild types. Former mutant produced a large amount of $\Delta^{7,22,24(28)}$ -ergostatrien- 3β -ol and a lesser amount of $\Delta^{7,22}$ -ergostadien- 3β -ol while the latter mutant produced not only these two sterols but also ergosterol, which is a major sterol of wild types. This phenomenon has also been demonstrated in the polyene resistant mutants of *Cryptococcus neoformans* whose sterol compositions are different according to the level of resistance to the polyenes. While the high level resistant mutants produced $\Delta^{5,8,22}$ -ergostatrien- 3β -ol and Δ^8 -ergosten- 3β -ol the low level resistant mutants produced $\Delta^{7,22}$ -ergostadien- 3β -ol and Δ^7 -ergosten- 3β -ol. These results suggest that the effectiveness of polyene bindings is in the order: $\Delta^{5,7}, \Delta^7$, and Δ^8 -sterol. This order also seems to be true to the impairments of many other properties, relevant to sterols, of both fungi.

However as the mutants resistant to amphotericin B of *C. neoformans* are exclusive from those mutants due to the altered sterol compositions of the cells, the sterol change is not an only mechanism of resistance to the polyenes.

序 論

Polyene 抗眞菌抗生物質은 그分子構造가 親脂性이며 堅固한 多共軛二重結合 (conjugated polyene)과 親水性이며 柔軟한 polyol로 되어있고 lactonization에 의해

달린 巨大한 炭素環의 化合物(macrolide ring)로서 主로 *Streptomyces spp*에 의해 生産된다. ^{23,34,41)} 1950년에 nystatin (mycostatin 이라고도 함)²⁴⁾이 처음 發見된후 오늘에 이르기까지 約 89種 以上이 分離報告^{23,29,55,57,58,61)}되었는데 그중에서 現在 眞菌症의 治療에 用

리 이용되고 있는 것은 많지 않다.

polyene 항真菌劑의 몇 가지 뚜렷한 生物學的 性狀을 보면 먼저 이 抗菌劑는 真菌類^{11, 33, 56, 66)}, 말무리⁴⁰⁾, 原蟲類¹⁸⁾ 및 哺乳動物의 細胞³⁶⁾와 같은 eukaryotic cell에 對해서는 作用力을 가지고 있으나 blue-green algae나 細菌類와 같은 prokaryotic cell에 對해서는 作用力이 없으며 感受性이 있는 細胞는 비록 休止期에 있어도 致命的 傷害를 받는 것이⁴¹⁾ 特異하다. 그리고 polyene 항真菌劑는 그에 對해 感受性이 있는 細胞와는 結合하지만 그렇지 않은 細胞와는 結合하지 않고 感受性이 있는 真菌類의 細胞는 그 原形體도 感受性을 나타내는데 비해 感受性이 전혀 없는 細菌類의 細胞는 그 原形體도 亦是 感受性이 없다^{23, 41)}. polyene 항真菌劑는 그들이 가지고 있는 共軛二重結合의 數가 증가할수록 感受性細胞에 對한 作用力이 대체로 큰 경향이 있고¹⁾ 그리고 적은 macrolide ring의 抗菌劑가 큰 macrolide ring의 抗菌劑보다 細胞膜에 더 큰 損傷을 주는 경향이 있다³⁵⁾. 따라서 赤血球를 溶解시키는 데는 적은 macrolide(예를 들면 filipin)가 큰 macrolide(예를 들면 nystatin 또는 amphotericin B)보다 더 效果적이다^{31, 32, 41)} 그러나 抗真菌力을 比較해보면 그와 反對이다.

이러한 性狀을 가진 polyene 항真菌劑가 그에 對해 感受性이 있는 細胞에 對해 어떻게 作用하며 真菌症의 治療途中에 가끔 出現하는 耐性菌은 또 어떠한 機轉에 依해서 耐性을 나타내고 있는가하는 문제들을 既히 報告된 文獻들을 중심으로 略述하고자 한다.

化學的 性狀

Polyene 항真菌劑의 迅速한 分類法中的 하나가 그들이 가지고 있는 共軛二重結合의 數에 따라 獨특하게 나타나는 UV absorption spectra를 觀察하는 것이다⁴⁸⁾. 一般적으로 완전히 飽和된 有機物은 매우 짧은 波長의 紫外線을 吸收하는데 비해 分子內에 二重結合과 같은 不飽和된 部分이 있으면 보다 긴 波長을 吸收하게 된다. 대체로 polyene 항真菌劑의 경우에는 共軛二重結合의 數가 증가할 수록 吸收되는 紫外線의 波長은 길어진다. 化合物이 共軛二重結合을 가져 吸收되는 光線의 波長이 충분히 길어졌으면 그物質은 대개 색깔을 띄게 되는데 色素의 질과 열음은 그物質이 가지고 있는 共軛二重結合의 數에 따라 決定된다. 3個의 共軛二重結合을 가진 polyene 항真菌劑는 대체로 無色이거나 약간의 黃色을 띄고 共軛二重結合이 4個면 淡黃色이며 5個면 黃色이고 7個이면 赤黃色을 띤다. polyene의 立體化學的構造를 보면 $\begin{smallmatrix} \text{H} & \text{C} \\ & \parallel \\ \text{C} & \text{H} \end{smallmatrix}$ 로 “trans”型이며 methylpentaene 처럼 發色團(chromophore)이 methyl基를 가지고 있던가 또는 flavofungin이나 dermostatin

처럼 發色團에 ketone group이 연결되어있으면 그들이 가지고 있는 共軛二重結合의 數에 따라 불수있는 固有의 UV absorption spectra에 變化가 온다. ^{46, 48)} polyene 항真菌劑의 分類는 대개 그들이 가지고 있는 共軛二重結合의 數에 따라 그리고 mycosamine이나 perosamine⁴²⁾과 같은 炭水化合物의 有無에 따라 行한다. ²³⁾ 많은 polyene 항真菌劑가 amino sugar를 가지는데 이들은 또 대개 carboxyl基도 含有하고 있어서 鹽基性和 酸性을 同時に 가지고 있는 化合物이다.

이제 只今까지 分離報告된 polyene 항真菌劑들을 그들이 가지고 있는 共軛二重結合의 數에 따라 大別하여 살펴보면 다음과 같다.

1. Trienes:^{23, 61)} 이群에 屬하는 polyene 항真菌劑는 約 6種정도 밝혀져 있는데 Table 1에서 보는 바와같이 그 대부분이 *Streptomyces spp.*에 依해 生産된다. 그러나 proticin과 trien 처럼 *Bacillus sp.*와 *Actinomyces sp.*에 依해 生産되는 것도 있다.

Fig. 1. The chemical structures of several tetraenes

Table 1. Some properties of trienes

Name	Producing organism	Chemical composition and molecular weight
MM-8	<i>Streptomyces sp.</i>	N, 4
Mycotrienin	<i>Streptomyces sp.</i>	C ₃₆ H ₅₀ N ₂ O ₈ (638)
Proticin	<i>Bacillus licheniformis var. mesentericus</i>	C ₃₁ H ₄₅ O ₇ P (560)
Resistaphylin	<i>S. antibioticus</i>	C ₂₄ H ₃₄ N ₂ O ₇ (463)
Trienine	<i>Streptomyces sp.</i>	C ₂₄ H ₃₄ N ₂ O ₇ (463)
		C ₅₄ .7;H,8;N,1.3 to 1 (1300)
Trien	<i>Actinomyces chromogenes var. trienicus var. nov.</i>	

Table 2. Some properties of tetraenes

Name	Producing organism	Chemical composition and molecular weight
Mycosamine-containing tetraenes		
Amphotericin A	<i>Streptomyces nodosus</i>	C,60.3;H,1.7 (915)
Lucensomycin	<i>S. lucensis</i>	C ₃₆ H ₅₃ NO ₁₃ (708)
Nystatin	<i>S. albulus</i>	C ₄₇ H ₇₅ NO ₁₇ (926)
PA-166	<i>Streptomyces sp.</i>	C ₃₅ H ₅₃ NO ₁₄ (712)
Pimaricin	<i>S. notalensis</i>	C ₃₃ H ₄₇ NO ₁₇ (666)
Rimocidin	<i>S. rimosus</i>	C ₃₈ H ₅₃ NO ₁₃ (742)
Tetramycin	<i>S. noursei var. jenensis</i>	C ₃₄ H ₅₃ NO ₁₄ (699)
Tetrin A	<i>Streptomyces sp.</i>	C ₃₄ H ₅₁ NO ₁₃ (681)
Tetrin B	<i>Streptomyces sp.</i>	C ₃₄ H ₅₁ NO ₁₃ (697)
Unamycin A	<i>S. fungicidicus</i>	C,52.2;H,7.8;N,1.7; O38.3
Arenomycin B	<i>Streptomyces sp.</i>	
Insufficient data for classification		
Akitamycin	<i>S. akitaensis</i>	C,53.7;H,7.7;N,1.65
Antimycin A	<i>S. aureus</i>	
Chromin	<i>S. chromogenes</i>	C,58.2;H,7.8;N,2.3
Endomycin A	<i>S. endus</i>	
Polifungin	<i>S. noursei var. polifungini</i>	
Protocidin	<i>Streptomyces sp.</i>	C ₂₉ H ₇₅ NO ₁₃ (615)
7071-RP	<i>Streptomyces sp.</i>	C,58.3;H,8;N,1.65;O,31.5 (859)
Sistomycosin	<i>S. viridosporus</i>	Contains N

2. **Tetraenes**^{23,55)} : 이群에 屬하는 抗菌劑는 Table 2에서 보는 바와같이 約 19種정도 알려져 있으며 모두 *Streptomyces spp.*에 의해 生産된다. 이 가운데서 nystatin은 現在 真菌症의 治療에 널리 利用되고 있다. 化學構造가 밝혀진 lucensomycin^{15,17)}, nystatin¹⁰⁾, pimaricin¹⁹⁾, rimocidin¹²⁾, tetrin A⁵⁰⁾ 및 tetrin B⁵²⁾등을 보면 Fig. 1과 같다.

3. **Pentaenes**^{13, 23, 26, 49, 58, 62)} : 이群에 屬하는 抗菌劑는 約 28種정도 알려져 있는데 그중에서 發色團에 methyl基가 붙어있는 methylpentaene이 11種 ketone基가 붙어있는 lactone-conjugated pentaene이 3種정도 밝혀져 있고 그리고 發色團에 그런것들이 붙어있지 않은 classical pentaene이 14種정도 알려져 있다. Classical pentaene은 그들 固有의 UV absorption을 나타내나

Table 3. Some properties of pentaenes.

Name	Producing organism	Chemical composition and molecular weight
Methylpentaenes		
No carbohydrate:		
Aurenin	<i>Streptomyces aureorectus</i>	C ₃₃ H ₅₄ O ₁₁ (626)
Cabicipidin	<i>S. gougeroti</i>	C ₃₅ H ₆₀ O ₁₃ (688)
Chainin	<i>Chainia</i> sp.	C ₃₃ H ₅₄ O ₁₀ (610)
Durhamycin	<i>S. durhamensis</i>	C, 63.8; H, 10.2; O, 25.5
Filipin III	<i>S. filipensis</i>	C ₃₅ H ₅₈ O ₁₁ (655)
Fungichromin (lagosin)	<i>S. cinnamomeus</i> var. <i>cinnamomeus</i>	C ₃₅ H ₅₈ O ₁₂ (671)
Neopentaene	<i>Streptomyces</i> sp.	C, 61.3; H, 8.8
Pentaene	<i>S. sanguineus</i>	C, 62.1; H, 9.2; O, 28.9
Pentamycin	<i>S. pentaticus</i>	C ₃₅ H ₆₀ O ₁₃ (688)
Xantholycin	<i>S. xantholyticus</i>	C, 70.6; H, 9.8; O, 19.7
Contains carbohydrate:		
Moldicidin A	<i>Streptomyces</i> sp.	C ₄₂ H ₈₁ NO ₁₉ (903)
Lactone-conjugated pentaenes:		
Flavomycoin	<i>S. roseoflavus</i> var. <i>jenensis</i>	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₀ (721)
Mycoticin A	<i>S. ruber</i>	C ₃₇ H ₆₀ O ₁₀ (664)
Mycoticin B	<i>S. flavofungini</i>	C ₃₆ H ₅₈ O ₁₀ (651)
Classical pentaenes		
Contain mycosamine:		
Eurocidin A	<i>S. albireticuli</i>	C ₄₀ H ₆₅ NO ₁₅ (800)
Eurocidin B	<i>S. eurocidicus</i>	C ₃₉ H ₆₃ NO ₁₅ (787)
Contain N in unspecified form:		
Aliomycin	<i>S. acidomyceticus</i>	Contains S
Capacidin	<i>Streptomyces</i> sp.	C ₅₄ H ₈₅ N ₂ O ₁₈ (1049)
HA-106	<i>Streptoverticillium cinnamoneum</i> var. <i>sparsum</i>	
HA-135	<i>Stv. sporiferum</i>	
HA-145	<i>Stv. cinnamoneum</i> var. <i>albosporum</i>	
HA-176	<i>Stv. cinnamoneum</i> var. <i>lanosum</i>	
PA-15	<i>Streptomyces</i> sp.	
Pentaene	<i>S. effluvius</i>	C ₃₇ H ₆₁ NO ₁₄ (744)
Compound 616	<i>S. parvisporogenes</i>	C, 58.4; H, 8.2; N, 2; O, 21.3
Insufficient data for classification		C, 62; H, 7.8; N, 2.7; O, 27.5
Distamycin	<i>S. distallicus</i>	
Fungichromatin	<i>Streptomyces</i> sp.	No N
Fumanomycin	<i>Actinomyces lavendobrunneus</i> sp. nov.	

methyl기나 ketone기가 발색團에 붙어있는 pentaene은 前者와 다른 UV absorption spectra를 나타낸다. Table 3에서 보는 바와같이 대부분의 抗菌劑가 *Streptomyces* spp.에 의해 生産되는데 chainin과 fumanomycin만은 각각 *Chainia* sp.와 *Actinomyces* sp.에 의해

生産된다. 化學構造가 밝혀진 몇몇 pentaene을 보면 Fig. 2와 같다.

4. Hexaenes²³⁾: 이群에 屬하는 抗菌劑는 Table 4에서 보는 바와같이 約 9種정도 알려져 있으며 모두 *Streptomyces* spp.에 의해 生産된다. 이群의 抗菌劑에 對

Table 4. Some properties of hexaenes.

Name	Producing organism	Chemical composition and molecular weight
Contains no carbohydrate :		
Dermostatin	<i>S. viridogriseus</i>	C, 64.9; H, 9; O, 26.1 (572)
Insufficient data for classification :		
Cryptocidin	<i>Streptomyces</i> sp.	C ₅₂ H ₈₃ ~ ₈₆ NO ₁₇ (983~986)
Endomycin B	<i>S. hygroscopicus</i> var. <i>enhygrus</i>	
Flavacid	<i>S. flavus</i>	C, 61.6; H, 7.8; N, 1.1; O, 36.3
Fradicin	<i>S. fradiae</i>	
Mediocidin	<i>S. mediodicidicus</i>	
Mycelin	<i>S. roseoflavus</i>	No N
Mycelin IMO	<i>S. diastatochromogenes</i>	
Tetrahexin*	<i>Streptomyces</i> sp.	C, 65; H, 8.5; N, 1.3; O, 24.7

*Tetrahexin also contains a tetraene chromophore.

Fig. 2. The chemical structures of several pentaenes

한 化學的 研究은 아직 充分히 이루어져 있지 않다.

5. Heptaenes^{6, 8, 23, 29, 43, 57} : 本群의 抗菌劑는 모두 27種정도 알려져 있는데 *Actinomyces* sp.로부터 生産되는 cryptomycin을 제외하고는 모두 *Streptomyces* spp.로부터 生産된다. 이中에서 amphotericin B는 現在 systemic mycoses(全身性真菌症)의 治療에 널리 利用되고 있다. 이群의 抗菌劑는 芳香族化合物의 有無와

種類에 따라 區分 할 수 있는데 먼저 芳香族化合物을 갖지 않는 抗菌劑는 4種이고 그리고 芳香族化合物을 가지고 있는것 중에서 N-methyl-*p*-aminoacetophenone을 함유하는 抗菌劑는 3種이며 *p*-aminoacetophenone을 가진 抗菌劑는 14種이다. Amphotericin B, candidin 및 DJ400B1 등의 化學構造를 보면 Fig. 3에서 보는 바와 같다.

生物學的 活性

Polyene 抗真菌劑는 그들이 가지고 있는 共軛二重結合의 數가 增加하면 그에 따라 感受性細胞에 대한 作用力도 크지는 傾向이 있다¹⁾. 그러나 感受性菌에 對한 各種 polyene 抗真菌劑의 最低發育抑制濃度(MIC)의 比

Fig. 3. The chemical structures of several heptaenes

Table 5. Some properties of heptaenes.

	Producing organism	Chemical composition and molecular weight
in no aromatic ity:		
Amphotericin B	<i>S. nodosus</i>	$C_{47}H_{73}NO_{17}$ (924)
Candidin	<i>S. viridoflavus</i>	$C_{47}H_{71}NO_{17}$ (939)
Mycoheptin	<i>S. netropsis</i>	$C_{48}H_{77}NO_{17}$ (939)
X-63	<i>Streptomyces sp.</i>	
Contain N-methyl- <i>p</i> -amino- acetophenone :		
Candimycin	<i>S. echinensis</i>	C, 57.2; N, 1.7; H, 8.2
DJ400B1	<i>S. surinam</i>	$C_{66}H_{96}N_2O_{22}$ (1269)
Perimycin	<i>S. coelicolor var. aminophilus</i>	$C_{47}H_{75}N_2O_{14}$ (892)
Contain <i>p</i> -aminoacetophenone		
Ascosin	<i>S. canescens</i> ;	
Aureofungin	<i>S. cinnamomeus var. terricola</i>	C, 60.4; H, 7.9; N, 2.2
Ayfactin A	<i>S. viridofaciens</i>	C, 62.6; H, 7.8; N, 2.7
Ayfactin B	<i>S. aureofaciens</i>	C, 62.5; H, 7.6; N, 2.8
Azacolutin	<i>S. cinnamomeus var. azacoluta</i>	
Candidin	<i>S. griseus</i>	$C_{63}H_{85}N_3O_{19}$ (1200)
DJ 400B2	<i>S. surinam</i>	$C_{58}H_{86}N_2O_{21}$ (1147)
Hamycin	<i>S. primprina</i>	C, 59.9; H, 7.8; N, 2.2; O, 20.1
Heptaefungin A	<i>Streptomyces sp.</i>	
Heptamycin	<i>Streptomyces sp.</i>	
Levorin A	<i>S. levoris</i>	$C_{59}H_{93}N_2O_{22}$ (1181)
Levorin B	<i>S. levoris</i>	$C_{62}H_{114}N_2O_{22}$ (1238)
Trichomycin A	<i>hachijoensis</i>	$C_{61}H_{86}N_2O_{21} \cdot 2H_2O$ (1230)
Cryptomycin	<i>Actinomyces bulgaricus</i>	
Insufficient data for classification		
Antifungin 4915	<i>S. paucisporogenes</i>	
Eurotin A	<i>S. griseus</i>	
Heptaene 757	<i>Streptomyces sp.</i>	
Monicamycin	<i>Streptoverticillium</i> <i>cinnamomeus var. monicae</i>	
Neoheptaene	<i>Streptomyces sp.</i>	
PA-150	<i>Streptomyces sp.</i>	

較는 接種菌量, 培養溫度, 培養時間 및 培養基의 造成에 따라 MIC가 달라지기 때문에 技術的으로 대단히 어렵다. 대체로 抗菌力을 抑制하는 物質을添加하지 않고 그리고 강한 緩衝力을 갖는 造成된 合成培養基를 各種 polyene 抗真菌劑의 MIC 比較實驗에 利用하는 것이 좋다는 報告²⁵⁾가 있다. *Candida albicans*에 對한 各種 polyene 抗真菌劑의 MIC를 보면 Table 6에서 보는 바와 같다. 7個의 共軛二重結合을 가진 amphotericin B 나 candidin은 각각 0.54 및 0.42 μ M인데 比較해서 4個

의 共軛二重結合을 가진 nystatin이나 pimaricin은 각각 3.3 및 7.5 μ M이고 3個를 가진 mycotrienin은 8 μ M로 대단히 높은 MIC를 보여주고 있다.

그리고 적은 macrolide ring의 polyene 抗真菌劑(例, filipin)가 큰 macrolide ring의 抗菌劑(例, nystatin 및 amphotericin B)보다 人工膜이나 自然細胞膜에 더 큰 損傷을 준다³⁵⁾. 例를 들면 적은 macrolide의 filipin이 큰 macrolide의 nystatin이나 amphotericin B 보다 赤血球溶解를 더 잘 시킨다. 하지만 抗菌力을 比較해 보

Table 6. Relative activities against *Candida albicans* of the polyenes¹⁾

Antibiotic	Median MIC	
	$\mu\text{g/ml}$	μM
Mycotrienin		8
Nystatin	3	3.3
Pimaricin	5	7.5
Filipin	5	7.4
Dermostatin		1.4—2.8
Candididin	0.5	0.42
Amphotericin B	0.5	5.54

던 그와 反對現象을 나타낸다. 따라서 膜에 對한 損傷이 抗菌力의 一次의 要因이 될수 없다고도 본다.

實際 各種 真菌症의 治療에 利用할수 있는 polyene 抗真菌劑는 이들의 MIC보다도 人體에 對한 毒性의 程度가 낮아야 한다. 대부분의 polyene 抗真菌劑가 人體에 對한 毒性이 強해 實際 臨床의 應用이 可能한 抗真菌劑는 많지 않다. 治療에 利用可能한 抗真菌劑도 病型에 따라 使用方法이나 投藥經路가 달라져야 한다. 現在 真菌症 治療에 가장 널리 利用되고 있는 polyene 抗真菌劑는 nystatin과 amphotericin B인데 前者는 消化管의 真菌症(例, candidosis)을 治療하기위해 375mg/day를 經口投藥하지만 一般으로 全身性真菌症 治療를 爲해서는 이 抗真菌劑가 적합하지 않다. 왜냐하면 nystatin을 經口投藥하면 消化管으로부터 吸收가 잘 안되고 經口以外의 經路는 심한 毒性때문에 使用하지 못한다. 그래서 위에서 이야기한 바와같이 消化管의 真菌症의 治療에 利用하거나 아니면 局所感染을 局所治療하는데 使用한다. Amphotericin B는 主로 全身性真菌症의 治療에 使用하며 病型따라 經口, 包膜 또는 靜脈內에 投藥한다. 靜脈內注射는 대개 0.1~1mg/kg/day(每日 8~80 mg)을 投與하는데 처음엔 적은 量으로 시작하여 차츰 投藥量을 增加시키는 것이 좋다. 그밖에 candididin과 pimaricin등이 真菌症의 治療에 利用되고 있다.

Polyene 抗真菌劑의 投藥에는 대개 몇가지 副作用이 隨伴하는데 例를 들면 amphotericin B를 投藥할 경우 흔히 惡阻, 嘔吐, 熱, 局所血栓性靜脈炎, 貧血, hypokalemia 및 血中尿增加등이 온다^{59,60}. 惡阻, 嘔吐 및 熱등과 같은 即刻의 反應은 解熱劑, antihistamine 또는 hydrocortisone등으로 輕減시킬수 있다. 그리고 amphotericin B 投藥의 경우 흔히 오는 副作用으로서 問題가 되고 있는 것은 腎臟에 對한 損傷인데 이는 대개 永久한 損傷이 아니면 오래동안 持續된다⁶⁰. 貧血은 대개 正常赤血球이면서 正色性인 貧血이므로 이는

抗真菌劑가 赤血球을 破壞하기 때문이 아니고 骨髓抑制로 인한 赤血球生産減少때문에 오는 現象이다^{23,61}. 白鼠에 對한 몇몇 polyene 抗真菌劑의 毒性을 比較해보면 Table 7과 같다.

Table 7. Toxicity of several polyene antibiotics by different routes in mice. ²³⁾

Compound	LD50 in mice (mg/kg)			
	Intravenous	Subcutaneous	Intraperitoneal	Oral
Nystatin	3	24	8—14	3,500
Pimaricin	5—10	5,000*	250*	1,500*
Candididin		100—280	2.1—7	90—400
Amphotericin B	4—6.6		280	8,000

* Rats

이처럼 polyene 抗真菌劑는 그 毒性이 커서 實際 臨床

Figs. 4 and 5 Effect of amphotericin B (0.5 $\mu\text{g/ml}$) on *Aspergillus fennelliae*. 4. A cell of the resistant strain treated with the drug for 24 hours, X36,000. 5. A cell of the wild type strain treated with the drug for one hour, X32,000. CW, cell wall; PM, plasma membrane; M, mitochondria.

的應用에 問題點이 많고 따라서 細心한 주의를 要하는데 이러한 毒性을 極少化하기 위해 또한 많은 努力이 있었다. 하지만 毒性을 나타내는 polyene分子內의 構造가 또 抗菌力을 가지고 있는 곳이기 때문에 그 構造를 變化시켜 毒性을 減少시키면 抗菌力의 弱화도 隨伴하게 마련이다. 그러나 毒性이 크게 줄고 抗菌力이 약간 減少된다면 臨床的應用도가 높아질 것으로 期待되어 試圖되었던 것이다. 예를 들면 amphoteric polyene을 N-acetylation시켜 水溶性 鹽으로 만든다던가⁵³⁾ 비슷한 方法으로 N-succinylation시키며⁴⁴⁾ 그리고 amphotericin B나 그 acetylated derivative의 遊離 carboxyl基에 diazomethane을 붙이기도 한다. 아직 이러한 抗菌劑들이 實際 真菌症의 治療에 利用되고 있지는 않다

感受性 細胞에 對한 作用機轉

Polyene抗真菌劑의 正確한 作用機轉은 1960年代에 밝혀졌다. 즉 抗菌劑가 感受性細胞와 結合하게되면 細胞膜에 損傷을 주게되고 이로 인해 많은 代謝物質이 流出하게 된다. Figs. 4, 5에서 보는 바와같이 amphotericin B로 처리한 *Aspergillus fennelliae*의 細胞(Fig. 5)는 처리되지 않은 細胞(Fig. 4)와는 달리 細胞膜이 일그러져있고 그리고 mitochondria도 正常的인 形態를 갖추지 못하고 있다. 그런데 polyene分子는 細胞內에서 細胞膜이 sterol과 結合한다는 事實이 밝혀졌다. 그밖에 糖分解와 呼吸이 抑制되어 細胞가 죽는다고 하는데 이는 二次的 響影이라고 볼수있다. 感受性 細胞에 對한 作用을 簡略하게 綜合해 보면 다음과 같다⁴¹⁾.

Polyene antibiotic + Sensitive cell → Membrane sterol

즉, polyene分子가 感受性細胞의 細胞膜에 分布하는 sterol과 結合하게되면 이는 곧 細胞膜의 機能과 構造를 破壞하여 膜의 滲透性에 變化를 가져와 各種 代謝物質이 流出하게됨으로서 細胞가 죽게된다. 보통 제일 먼저 流出하는 代謝物로는 K⁺인데 만일 試驗管內 實驗으로서 培養基의 pH를 5.5以下로 조절하면 K⁺과 H⁺의 交換이 일어나 細胞內가 酸性化되고 이는 곧 自己分解酵素를 活性化시켜 細胞의 破壞가 加速된다고 한다.

Polyene 抗真菌劑에 對한 感受性에 있어서 sterol이 主된 要素라는 事實은 다음의 事實들에 의해 분명해졌다. 먼저 polyene 抗真菌劑含有培養基에 sterol을 添加하게 되면 polyene의 作用力의 無効化된다는 事實^{20, 67)}과 真菌類와 같이 sterol을 含有하는 細胞는 polyene에 對해 感受性을 가지고 있는데 反해 細菌類처럼 sterol을 含有하지 않는 細胞는 耐性을 나타낸다는 事實이다. 그리고 *Schizosaccharomyces japonicus*를 酸素存在下에서 培養하게되면 다른 真菌類처럼 ergosterol을 主된 sterol로 生産하게되어 polyene에 對해 感受性을 나타내는데 비해 이 菌을 嫌氣性條件下에서 培養하면 ergosterol 生産이 中止되고 따라서 polyene에 對한 感受성이 低下된다⁹⁾. 그리고 *Acholeplasma laidlawii*를 cholesterol含有培養基에 培養하면 細胞가 sterol을 含有하게 되고 따라서 polyene에 對해 感受性을 나타내는데 sterol을 含有시키지 않은 培養基에 培養하면 細胞가 sterol을 含有치 않게 되고 따라서 polyene에 對한 感受性도 갖지 않는다^{14, 63)}. 그밖에 polyene 感受性細胞의 細胞膜을 有機溶劑로 sterol을 抽出해 버리면 polyene이 結合하지 않는다⁴¹⁾는 事實과 sterol을 含有하는 人工 또는 自然膜은 polyene에 의해 그 機能 및 構造의 變化가 일어나는데 反해 sterol이 缺乏된 膜은 影響을 받지 않는다^{27, 28, 35)}. 그리고 試驗管內에서 sterol과 polyene이 직접 結合하는 것을 spectrophotometry나 fluorometry로 觀察할수 있다는 事實^{47, 54)}들이 polyene抗真菌劑에 對한 感受性에 있어서 sterol이 主된 要因임을 잘 설명해 주고 있다.

耐性菌의 出現과 그 機轉

Polyene抗真菌劑가 各種真菌症의 治療에 사용되어온 지 15年以上되었지만 現在 一次耐性이라든가 獲得耐성이 이 抗菌劑의 使用에 큰 問題가 되고있지는 않다. 그러나 最近 Woods等⁶⁵⁾이 amphotericin B로 Funguria를 治療하는 途中에 이 抗菌劑에 對해 耐성이 생겨 菌을 分離하여 觀察한 결과 原因菌인 *Candida albicans*가 amphotericin B를 포함한 몇몇 polyene抗真菌劑에 對해 耐性을 나타내고 있음을 보았다. 뿐만아니라 Cryptococcosis를 amphotericin B로 治療하는 途中에 이 抗菌劑에 對한 菌의 感受성이 시간이 지남에 따라 漸次 低下되는 現象이 觀察된바도 있어⁵⁾ polyene抗真菌劑의 使用에 있어서 耐性問題를 전혀 看過해 버릴수 없다. 아마 polyene耐성이 흔하지 않은 理由中의 하나는 이 抗菌劑가 毒性이 強해 臨床的應用에 있어 注意와 慎重을 기한 탓이라고 본다.

polyene抗真菌劑에 對한 病原性 또는 非病原性 真菌類의 耐性을 試驗管內에서는 쉽게 誘導할 수 있다.

Table 8. Sensitivity to amphotericin B and nystatin of wild types (AF4, AF5) and four resist ant resistant mutants of *Aspergillus fennelliae*

Strains	Incubation period	Control	AmphotericinB ($\mu\text{g/ml}$)										Nystatin (u/ml)					
			0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	100	5	10	20	40	80	160	
AF4	48 hr.	100* 1.0 ⁺	9.1 0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	100 0.2	—	—	—	—	—	
	72 hr.	100 2.4	100 0.6	45.8 0.1	—	—	—	—	—	—	—	100 0.9	86.7 0.2	—	—	—	—	
	120 hr.	100 >3.0	100 2.3	100 0.6	30.8 0.2	—	—	—	—	—	—	100 2.6	100 1.8	100 0.2	—	—	—	
AF5	48 hr.	100 1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	34.4 0.2	—	—	—	—	—	
	72 hr.	100 2.4	68.8 0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	87.5 1.0	53.1 0.1	—	—	—	—	
	120 hr.	100 >3.0	100 2.1	78.1 0.6	65.6 0.2	—	—	—	—	—	—	100	100	28.1	—	—	—	
AF4- NS1	48 hr.	100 1.0	7.3 0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	46.0 0.5	21.2 0.1	—	—	—	—	
	72 hr.	100 2.4	100 0.6	16.8 0.1	—	—	—	—	—	—	—	100 1.4	100 0.2	53.2 0.1	—	—	—	
	120 hr.	100 >3.0	100 2.4	56.8 0.5	46.0 0.2	—	—	—	—	—	—	100 >3.0	100 1.2	62.1 0.6	16.0 0.1	—	—	
p-NS1	48 hr.	100 1.0	10.8 0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	69.0 0.6	39.3 0.1	—	—	—	—	
	72 hr.	100 2.3	70.5 0.6	21.4 0.2	—	—	—	—	—	—	—	100 2.0	100 0.8	50.5 0.1	—	—	—	
	120 hr.	100 >3.0	100 2.4	100 1.4	82.1 0.3	—	—	—	—	—	—	100 >3.0	100 2.2	91.7 1.0	20.2 0.1	—	—	
AF5- AB1	48 hr.	100 0.5	100 0.5	100 0.5	100 0.4	82.5 0.4	54.4 0.3	52.6 0.2	25.4 0.1	—	—	100 0.4	100 0.2	15.8 0.1	—	—	—	
	72 hr.	100 1.3	100 1.0	100 1.0	100 0.9	100 0.8	84.1 0.7	82.5 0.6	53.5 0.4	—	—	100 1.1	100 1.0	100 0.7	1.8 0.4	—	—	
	120 hr.	100 >3.0	100 >3.0	100 3.0	100 2.8	100 2.5	100 2.0	100 1.5	57.9 1.0	8.9 0.2	—	100 >3.0	100 3.0	100 2.8	68.4 0.5	1.8 0.1	—	
p-AB1	48 hr.	100 0.6	100 0.5	100 0.5	95.7 0.4	81.2 0.3	279.5 0.2	46.2 0.2	41.9 0.1	9.4 0.1	—	100 0.5	69.2 0.2	—	—	—	—	
	72 hr.	100 1.8	100 1.5	100 1.1	100 1.1	100 1.0	72.7 0.8	61.5 0.7	53.8 0.5	—	—	100 1.4	100 0.6	83.8 0.3	3.4 0.1	—	—	
	120 hr.	100 >3.0	100 >3.0	100 3.0	100 2.8	100 2.3	100 2.0	100 1.7	75.2 1.0	24.8 0.6	—	100 >3.0	100 2.2	100 1.4	44.4 0.6	1.7 0.2	—	

*Per centsurvival on control and polyene medium.

⁺Diameter (cm) of colony.

2, 3, 15, 21, 22, 30, 45) 菌의 耐性獲得은 變異型分離에 의한 突然變異이며 一時的適應現象은 아니다^{2, 21, 30, 45)}. 그리고 紫外線照射나 chemical mutagen을 使用하면 單段階耐性變異株(single-step mutant)를 쉬이 얻을수 있지만 그렇지않고서는 대개 多段階過程(multi-step process)을 通해 耐性獲得이 일어난다. 그런데 polyene抗眞菌劑에 對한 菌의 耐性現象은 이 항균제에 對한 感受性에 있어서 主된 要素인 菌體의 sterol을 念頭에 두고 生覺해

야 할 것이다. *Candida albicans*에 對한 polyene의 殺菌力을 無効化 할 수 있는 各種 sterol中에서 가장 效果의인 sterol이 ergosterol임이 밝혀졌는데⁶⁷⁾ 이는 또한 人工 및 自然膜에 含有되어 있는 sterol 種類와 polyene에 對한 感受性의 比較實驗에서도 증명된바 있다^{26, 28)}. 各種 病原性 및 非病原性 眞菌類의 主된 sterol은 이처럼 polyene에 對한 感受性이 큰 ergosterol인데 分子構造가 이로부터 달라 짐에따라 感受性에 變化가 올 것으

로豫測된다. 그런데 最近에 이루어진 몇몇 優秀한 研究結果가 이러한 豫測을 實證해주고 있다. 즉 polyene 抗眞菌劑에 對해 耐性을 獲得한 菌은 그 大部分의 경우 에 있어서 그들이 含有하는 sterol의 量的質的 變化가 隨伴한다는 事實을 觀察했던것이다^{3,5,14,21,22,30,31,32,45,56,64,65}. Ergosterol의 含量이 減少되던가 아니면 그 生産이 中斷되고 이와 同時에 ergosterol이 아닌 다른 sterol이 代替生産됨을 觀察했다. 그러나 眞菌類의 polyene耐性現象이 반드시 sterol의 變化에 依해서만 일어나는 現象이라고 할수는 없는 것 같다. 實驗方法이 粗雜한데가 없진 않지만 數種의 dermatophytes를 polyene含有培養基에 여러대 繼代培養하여 얻은 耐性變異株가 polyene을 分解하여 不活性化시키는 酵素를 生産한다는 報告가 있다. 이제 *Aspergillus fennelliae*³⁹와 *Cryptococcus neoformans*에서 觀察된 研究結果를 中心으로 polyene 耐性의 機轉을 살펴보기로 한다.

Polyene 耐性和 Sterol 變化

앞서 말한바와같이 polyene感受性菌의 主된 sterol인 ergosterol이 菌이 耐性을 獲得함에 따라 그 生産이 減少되던가 아니면 中止되고 그 대신에 polyene과의 結合에 있어서 ergosterol보다 덜 効果적인 sterol이 生産되는데 이제 *Aspergillus fennelliae*와 *Cryptococcus neoformans*의 感受性菌과 耐性菌이 生産하는 sterol을 分析해본 結果를 보면 다음과 같다.

*Aspergillus fennelliae*의 경우^{30,31}: Malt extract agar에 amphotericin B의 濃度를 段階적으로 올리면서 *Asp. fennelliae*의 “A” mating type (AF5)을 32대 繼代培養한 結果 約 100倍程度의 MIC가 增加한 高濃度耐性菌(AF5-AB1)을 얻을수 있었다. (Table 8) 즉 感受性菌(AF4및 AF5)의 MIC는 0.25~0.5 μ g/ml인데 비해 amphotericin B 耐性菌(AF5-AB1)의 MIC는 $\geq$ 64 μ g/ml이었다. 그리고 “a” mating type (AF4)을 nystatin含有培養基에 15대 繼代培養하여 얻은 耐性菌(AF4-NS1)은 그 MIC가 感受性菌에 비해 倍程度 增加했다. 즉 感受性菌은 10~20u/ml에 抑制되는데 비해 nystatin 耐性菌(AF4-NS1)은 20~40u/ml에 抑制된다. 이러한 耐性菌들은 다른 polyene 抗眞菌劑와 交叉耐性을 나타내는데 AF5-AB1의 경우 filipin, nystatin 및 pimarinic 등 試驗된 모든 항균제에 交叉耐性을 나타내었고 AF4-NS1은 filipin 및 pimarinic에 對해서는 交叉耐性을 나타내는데 amphotericin B에는 感受性을 보여주고 있다.

菌이 polyene 항진균제에 對해 耐性을 獲得함과 同時에 形態 및 生理學的 變化가 隨伴하는데 Fig. 6에서 보

Fig. 6 Four-day-old colonies (left) and conidial heads (right $\times$ 120) of the wild type and polyene resistant mutants of *Aspergillus fennelliae* on Czapek's solution agar at 30C. A and B. The wild type, AF4. C and D. The mutant, AF4-NS1. E and F. The mutant, AF5-AB1.

는바와같이 藥劑感受性菌과 nystatin耐性菌(AF4-NS1)처럼 低濃度耐性菌은 分生子頭形成이 많고 따라서 分生子生産이 풍부한데 비해 amphotericin B耐性菌처럼 高濃度耐性菌은 分生子生産이 대단히 貧弱하고 그리고 發育速度도 遲延됨을 볼수 있다. 藥劑耐性菌이 感受性菌에 비해 生活力이 뒤떨어지는 現象은 세균을 포함한 다른 菌에서도 흔히 볼수있는 現象이다. AF5-AB1은 分生子生産과 같은 無性生殖뿐만 아니라 有性生殖도 크게 損傷을 받는다. 이러한 現象은 *Neurospora crassa*에서도 觀察된바 있다.

다음은 malt extract broth에 培養하여 얻은 菌絲體가 含有하는 sterol을 抽出하여 UV spectrophotometry, thin layer chromatography, gas liquid chromatography 및 gas chromatograph-mass spectrometry를 實施한 結果를 보면 다음과 같다.

먼저 菌絲體를 alcoholic KOH로 처리한 다음 n-hep-

tane으로 抽出한 非鹼化合物을 ethanol에 溶解하여 Cary 14 spectrophotometer로 UV absorption spectra를 觀察한 結果를 보면 Fig. 7과 같다. 感受性菌(AF4및 AF5)은 ergosterol과 同一한 UV absorption spectra를 나타내는데 비해 AF5-AB1과 그 progeny(p-AB1)는 ergosterol이 없고 그 대신에 225 및 232nm에 peak를 갖는 새로운 sterol을 生産하고 있음을 보여주고 있다. AF4-NS1과 그 progeny (p-NS1)는 새로운 sterol과 減少된 量의 ergosterol을 同時に 生産하고 있음을 보여주고 있다.

이는 thin layer chromatography로 더욱 뚜렷하게 區別할수 있는데 즉 Fig. 8에서 보는 바와같이 感受性

Fig. 7. UV absorption spectra of ergosterol and nonsaponifiable heptane extracts of the wild types and mutants.

菌(AF4및 AF5)은 ergosterol을 主된 sterol로 生産하는데 비해 amphotericin B 耐性菌 (AF5-AB1 p-AB1)은 ergosterol과는 Rf値가 틀리는 새로운 sterol을 主된 sterol로 生産하며 ergosterol은 전혀 生産하지 않는다. Nystatin耐性菌(AF4-NS1 및 p-NS1)은 새로운 sterol에 더해 減少된 量의 ergosterol을 生産하고 있음을 보여주고 있다. Nystatin耐性菌이 그 發育速度나 分生孢子의 生産力이 感受性菌에 準한 점과 polyene耐性の 程度가 비교적 弱한 점이 비록 減少된 量이긴 하나 ergosterol을 生産하고 있기때문이라고 思料된다. 다음은 heptane으로 抽出한 非鹼化合物을 adsorption column

Fig. 8. Mobility tests of sterol standards and nonsaponifiable heptane extracts of wild types and mutants on 5% silver nitrate impregnated silica gel-G plate.

Fig. 9. Gas-liquid chromatograms of the sterols from the mutants AF5-AB1, AF4-NS1 and wild type AF5, and pure ergosterol.

Fig. 10. Mass spectra of the two new sterols A and B from polyene resistant mutants.

chromatography로 sterol을純粹分離하여 gas liquid chromatography한 결과 Fig. 9에서 보는 바와 같이 AF5-AB1이 retention time이 서로다른 두 가지 sterol을生産하고 있다. 처음의 적은 peak(sterol A)와 그 다음의 큰 peak(sterol B)를 GC-MS 한 결과 Fig. 10에서 보는 바와같이 각각 $\Delta^{7,22}$ -ergostadien-3 β -ol 및 $\Delta^{7,22,24}$ -ergostatrien-3 β -ol이었다. AF4-NS1은 여러實驗結果를綜合한 결과 ergosterol($\Delta^{5,7,22}$ -ergostatrien-3 β -ol)과 위의 두 sterol A 및 B등 세가지 sterol을生産했다.感受性菌(AF5)은 微量의 다른 sterol을生産하나 ergosterol이 大部分이다. 따라서 $\Delta^{7,22}$ 나 $\Delta^{7,22,24}$ (28) sterol은 균이 polyene에 對해感受性을 나타내는데 그리고 正常的인 無性및 有性生殖과 發育을 하는데 있어서 ergosterol ($\Delta^{5,7,22}$)보다 덜 効果的임을 알수있다.

*Cryptococcus neoformans*의 경우³²⁾: Malt extract agar에 24時間 培養한 균으로 만든 菌液을 15W殺菌燈아래서 20秒間 照射한 後 室溫에서 72時間 震盪培養한 다음 各種 polyene含有培養基에 接種하여 培養함으로써 耐性菌을 分離하였다. Table 9에서 보는 바와같이 amphotericin B 耐性菌(CNAR1~3) 3株 nystatin耐性菌(CNNR1) 1株 및 pimaricin 耐性菌(CNPR1~5) 5株 등 모두 9株를 分離하였는데 amphotericin B 耐性菌 3株를 除外한 다른 모든 耐性菌에서는 交叉耐性을 볼수 있다. CNPR1~3는 amphotericin B에 對해 약간의 耐性을 나타내나 다른 耐性菌은 感受性을 나타내었다.

이제 이들 耐性菌이 含有하는 sterol을 抽出하여 그 UV absorption spectra를 觀察한 결과 Fig.11에서 보는 바와같이 wild type과 CNAR1~3등은 同一한 UV absorption spectrum(B type)을 나타내는데 ergosterol을 含有하고 있음을 보여주고 있다. 그밖의 耐性菌들은 C type의 UV absorption spectrum을 보여주고 있는

Table 9. Sensitivity to polyene antibiotics of wild types and nine mutants of *Cryptococcus neoformans* strains

Strains	Minimal inhibitory concentrations(MIC)		
	Amphotericin B(μ g/ml)	Nystatin(u/ml)	Pimaricin(μ g/ml)
Wild types	0.5	5-10	1.25
CNAR1	32-64	10	1.25
CNAR3	16-32	5-10	1.25
CNAR3	32-64	10-20	1.25
CNNR1	0.5	20	10
CNPR1	0.5-1	40	20-50
CNPR2	1-2	40-80	50
CNPR3	0.5-1	40	20-50
CNPR4	0.5	20	10
CNPR5	0.5	20	10

데 ergosterol이 缺如되어있다. 다음은 이들의 sterol을 GLC로 分析해본 결과 Fig.12에서 보는바와 같이 CNPR1~3는 同一한 GC(CNPR2로 表記)를 보이고 peak 1과 peak 2의 MS (Fig. 13)은 各各 $\Delta^{5,8,22}$ -ergostatrien

Fig. 11. Ultraviolet spectra of ergosterol(A) and the sterols (B,C) from wild type and polyene resistant mutants of *C. neoformans*.

Fig. 12. Gas-liquid chromatograms of the sterols from wild type and polyene resistant mutants of *C. neoformans*.

- 3β -ol 및 Δ^8 -ergosten- 3β -ol로 同定되었다. CNNR1과 CNPR4 및 CNPR5도 同一한 GC를 나타내는데 peak 1의 MS는 $\Delta^{7,22}$ -ergostadien- 3β -ol로 그리고 peak 2의 MS는 Δ^7 -ergosten- 3β -ol로 同定되었다. (Fig. 14) 그리고 wild type과 CNAR1~3등도 同一한 GC를 나타내는데 peak 1의 MS는 ergosterol로 그리고 peak 2의 MS는 Δ^7 -ergosten- 3β -ol (Fig.14)로 同定되었다. Amphotericin B 耐性菌이 wild type과 同一한 sterol 構成을 갖고 있다는 事實도 特異할 뿐 아니라 ergosterol이 wild type의 主된 sterol이 아니고 Δ^7 -ergosten- 3β -ol이 主된 sterol이란 點도 特異했다. 따라서 CNAR1~3는 그들의 耐性機轉을 sterol과 聯關시켜 說明할수없고 어

Fig. 13. Mass spectra of the sterols from a mutant CNPR 2.

Fig. 14. Mass spectra of the sterols from wild type and mutants, CNAR3 and CNPR 4

떤 다른 機轉에 依해서 耐性을 나타내고 있다고 본다.

Amphotericin B 耐性菌을 除外한 그 밖의 耐性菌株들은 그들의 polyene 耐性이 含有하고 있는 sterol과 깊히 聯關되어있는데 이제 그들의 polyene 耐性的 程度와 生産하는 sterol 種類와 比較했을때 sterol 分子構造에 있어서 B-ring의 二重結合의 分布가 매우 重要함을 알수 있다. 즉 $\Delta^{5,7}$ 型의 sterol이 polyene에 가장 敏感하고 그 다음은 Δ^7 型의 sterol이며 Δ^8 型의 sterol이 가장 感受性이 낮다. Sterol이 關連된 菌의 다른 性狀도 이와

같은 순서로 損傷을 입는것 같다. Δ^8 sterol을 生産하는 耐性菌(CNPR1~3)은 mice에 對한 病原性を 잃고 그 리고 發育速度도 지연되며 嫌박형성이 貧弱해 질 뿐아 니라 發育溫度도 變해 37°C에서 生育하지 못한다.

Polyene耐性과 sterol生産의 變化는 다른 곰팡이에서 도 觀察된바있다. 즉 *Saccharomyces cerevisiae*^{3, 4, 45, 51, 64}, *Candida albicans*^{22, 65} 및 *Neurospora crassa*²¹ 등에서 以上에서 이야기한 事實들을 직접 간접으로 觀察한바 있다.

結 論

Polyene抗眞菌劑는 eukaryotic cell에만 作用하는 抗 菌劑로서 그 機轉을 보면 polyene分子가 細胞膜의 ster- ol과 結合하면 이로 因해 細胞膜의 構造의 機能의 變化가 오게되고 이는 곧 膜의 滲透性에 損傷이 생겨 細胞內의 各種 代謝物質이 流出하므로써 細胞가 죽는다. 그런데 어느 菌에서나 또 어느 藥劑에 對해서나 흔히 볼 수 있듯이 polyene抗眞菌劑에 對해서도 耐性菌이 出現 한다. 이러한 polyene耐性菌은 그 大部分의 경우에 있 으서 polyene感受性의 主된 要素인 sterol生産에 變化가 오는데 즉 ergosterol生産이 減少되던가 아니면 中 斷되면서 ergosterol 生合成過程의 各種 intermediate sterol이 蓄積된다. polyene耐性菌이 生産하는 sterol種 類와 polyene에 對한 耐性의 程度를 比較해본 結果 ster- ol分子의 B-ring의 二重結合의 分布가 重要한데 즉 Δ^5 , Δ^7 , Δ^8 순서로 polyene에 對한 感受性이 低下됨을 볼 수 있었다. 대체로 ergosterol 生合成過程에서 이 終末 產物인 ergosterol로부터 먼 intermediate sterol일수록 耐性의 程度가 커진다. 그런데 sterol이 관여된 菌의 다른 性狀도 이와 같은 순서로 損傷을 받게된다.

References

1. Athar, M.A. 1969. A study of the effects of some polyene antibiotics on *Candida* species. Ph. D. Thesis. Univ. of London. England.
2. Athar, M.A., and H.I. Winner. 1971. The development of resistance by *Candida* species to polyene antibiotics *in vitro*. J. Med. Microbiol. 4: 505—517.
3. Bard, M. 1972. Biochemical and genetic aspects of nystatin resistance in *Seccharomyces cerevisiae*. J. Bacteriol. 11 : 659—657.
4. Barton, D.H.R., J.E.T. Corrie, D.A. Widdows- on, M. Bard, and R.A. Woods. 1974. Biosynthetic implications of the sterol content of ergosterol-deficient mutants of yeast. J.C.S. Chem. Comm. 30—31.
5. Bennett, J.E. 1966. Susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to amphotericin B. Antimicrob. Agents & Chemother. 405—410.
6. Bohlmann, F., E.V. Dehmlow, H.J. Neuhahn, R. Brandt, and H. Bethke. 1970. Neue Heptaen-Makrolide. 2. Grundskelet, Stellung der funktionellen Gruppen und Struktur der Aglycone. Tetrahedron 26 : 2199—2207.
7. Bonner, D.P., W.Mechlinski, and C.P. Schaffner. 1972. Polyene macrolide derivatives. III. Biological properties of polyene macrolide ester salts. J. Antibiot. 25 : 261—262.
8. Borowsk, E., L. Falkowski, J. Golik, J. Zielinski, T. Ziminski, W. Mechlinski, E. Jereczek, P. Kolodziejczyk, H. Aidercreutz., C. P. Schaffner, and S. Neelakantan. 1971. The structure of candidin, a polyene macrolide antifungal antibiotic. Tetrahedron Lett. no. 22 : 1987—1992.
9. Bulder, C.J.E.A. 1971. Anaerobic growth, ergosterol content and sensitivity to a polyene antibiotic, of the yeast *Schizosaccharomyces japonicus*. Anton. Van Leewenhoek 37 : 353—358.
10. Chong, C.N., and R.W. Rickards. 1970. Macrolide antibiotic studies. XVI. The strure of nystatin. Tetrahedron Lett. no. 59 : 5145—5148.
11. Cirillo, V.P., M. Harsch, and J.O. Lampen. 1964. Action of the polyene antibiotics filipin, nystatin and N-acetyl-candidin on the yeast cell membrane. J. Gen. Microbiol. 35 : 249—259
12. Cope, A.C., U. Axen, and E.P. Burrows. 1966. Rimocidin. II. Oxygenation pattern of the aglycone. J. Amer. Chem. Soc. 88 : 4221—1227.
13. Cope, A.C., R.K. Bly, E.P. Burrows, O.J. Ced- er, E. Ciganek, B.T. Gillis, R.F. Porter, and H.E. Johnson. 1962. Fungichromin: complete structure and absolute configuration at C₂₆ and C₂₇. J. Amer. Chem. Soc. 84 : 2170—2181.
14. Feingold, D.S. 1965. The action of amphotericin B on *Mycoplasma laidlawii*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 19 : 261—267.
15. Fryberg, M., A.C. Oehlschlager, and A. M.

- Unrau. 1974. Sterol biosynthesis in antibiotic-resistant yeast: nystatin. Arch. Biochem. Biophys. 160 : 83—89.
16. Gaudiano, G., P. Bravo, and A. Quilico. 1966. The structure of lucensomycin. I. Tetrahedron Lett. no. 30 : 3559—3565.
17. Gaudiano, G., P. Bravo, A. Quilico, B.T. Golding, and R.W. Rickards. 1966. The structure of lucensomycin II. Tetrahedron Lett. no.30 : 3567—3571.
18. Ghosh, B.K., and A.N. Chatterjee. 1962. Leishmanicidal activity of nystatin, a polyene antifungal antibiotic. I. The probable mechanism of action of nystatin on *Leishmania donovani*. Antibiot. Chemother. 12 : 204—206.
19. Golding, B.T., R.W. Rickards, W.E. Meyer, J. B. Patrick, and M. Barber. 1966. The structure of the macrolide antibiotic pimaricin. Tetrahedron Lett. no. 30 : 3551—3557.
20. Gottlieb, D., H.E. Carter, L.C. Wu, and J. H. Sloneker. 1960. Inhibition of fungi by filipin and its antagonism by sterols. Phytopathology 50 : 594—603.
21. Grindle, M. 1973. Sterol mutants of *Neurospora crassa*: their isolation, growth characteristics and resistance to polyene antibiotics. Molec. Gen. Genet. 120 : 283—290.
22. Hamilton-Miller, J.M.T. 1972. Sterols from polyene-resistant mutants of *Candida albicans*. J. Gen. Microbiol. 73 : 201—203.
23. Hamilton-Miller, J.M.T. 1973. Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics. Bacteriol. Rev. 37 : 166—196.
24. Hazen, E.L., and R. Brown. 1950. Two antifungal agtens produced by a soil actinomycete. Science 112 : 423.
25. Hoeprich P.D., and P.D. Finn. 1972. Obfuscation of the activity of antifungal antimicrobics by culture med'a. J. Infect. Dis. 126 : 353—361.
26. Horii, S., T. Shima, and A. Ouchida. 1970. Partial structre of the eurocidin complex. J. Antibiot. 22 : 102—104.
27. Hsuchen, C.C., and D.S. Feingold. 1973. Selective membrane toxicity of the polyene antibiotics: studies on lecithin membrane models (liposomes). Antimicrob. Agents & Chemother. 4 : 309—315.
28. Hsuchen, C.C., and D.S. Feingold. 1973. Selective membrane toxicity of the polyene antibiotics: studies on natural membranes. Antimicrob. Agents & Chemother. 4 : 316—319.
29. Kalasz, H., V. Szell, J. Gyimesi, K. Mogyar, I. Horvath, and I. Szabo. 1972. Antibiotics produced by Streptomyces. IX. Heptafungin A, a new heptaene macrolide antibiotic. Acta microbiol. Acad.Sci. hung. 19 : 111—120.
30. Kim, S.J., and K. J. Kwon-Chung. 1974. Polyene resistant mutants of *Aspergillus fennelliae*: studies of sterol contents and genetics. Antimicrob. Ag. & Chemother. 6 : 102—113.
31. Kim, S.J., and K.J. Kwon-Chung, G.W.A. Milne, and B. prescott. 1974. Polyene resistant mutants of *Aspergillus fennelliae*: identification of sterols. Antimicrob. Ag. Chemother. 6 : 405—410.
32. Kim, S.J., K.J. Kwon-Chung, G.W.A. Milne, W.B. Hill, and G. Patterson. 1975. Relationship between polyene resistance and sterol Compositions in *Cryptococcus neoformans*. Antimicrob. Ag. Chemother. 7 : 99—106.
33. Kinsky, S.C. 1961. Alterations in the permeability of *Neurospora crassa* due to polyene antibiotics. J. Bacteriol. 82 : 889—897.
34. Kinsky, S.C. 1967. Polyene antibiotics. p. 122—141 In D. Gottlieb and P.D. Shaw (ed.), Antibiotics Vol. I., Springer Verlag, New York.
35. Kinsky, S.C. 1970. Antibiotic interaction with model membranes. Ann. Rev. Pharmacol. 10 : 119—142.
36. Kinsky, S.C., J. Avruch, M. Permutt, H.B. Rogers, and A.A. Schonder. 1962. The lytic effect of polyene antifungal antibiotics on mammalian erythrocytes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 9 : 503—507.
37. Kinsky, S.C., R.A. Demel, and L.L.M. van Deenen. 1967. Further studies on the hemolytic action of Filipin and derivatives. Biochim. Biophys. Acta 135 : 835—843.
38. Kinsky, S.C., S.A. Luse, D. Zopf, L.L.M. van Deenen, and J. Haxby. 1967. Intrreaction of Filipin and derivatives with erythrocyte mem-

- ranes and lipid dispersions: electron microscopic observations. *Biochim. Biophys. Acta* 135 : 844—861.
39. Kwon-Chung, K.J., and S.J. Kim. 1974. A Second heterothallic *Aspergillus*. *Mycologia*, 66 : 628—638.
 40. Lampen, J.O., and P.M. Arnow. 1961. Inhibition of algae by nystatin. *J. Bacteriol.* 82 : 247—251.
 41. Lampen, J.O. 1969. Amphotericin B and other polyenic antifungal antibiotics. *Amer. J. Clin. Pathol.* 52 : 138—146.
 42. Lee, C.H. and C.P. Schaffner. 1969. Perimycin. The structure of some degradation products. *Tetrahedron* 25 : 2229—2232.
 43. Mechliniski, W., C.P. Schaffner, P. Ganis, and G. Avitabile. 1970. Structure and absolute configuration of the polyene macrolide antibiotic amphotericin B. *Tetrahedron Lett.* no. 44 : 3873—3876.
 44. Michalska, E. 1964. Microbiological studies on N-succinylperimycin: the determination of sensitivity of clinical strains of *Candida*. *Chemotherapy* 9 : 52—60.
 45. Morzahn, S.W., and R.A. Woods. 1972. polyene resistance and the isolation of sterol mutants in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.* 72 : 339—348.
 46. Narasimhachari, N., and M. B. Swami. 1970. Dermostatin : a revised hexaene structure. *J. Antibiot* 23 : 566
 47. Norman, A. W., R.A. Demel, B. Dekruyff, and L.L. M. Van Deenen 1972. Studies on the biological properties of polyene antibiotics: evidence for the direct interaction of filipin with cholesterol. *J. Biol. Chem.* 247 : 1918—1929.
 48. Oroshnik, W., and A.D. Mebane. 1963. The polyene antifungal antibiotics. *Prog. Chem.Org. Nat. Prod.* 21 : 17—79.
 49. Pandey, R.C., and K.L. Rinehart. 1970. Polyene antibiotics. V. Characterization of components of the Filipin complex. *J. Antibiot.* 23 : 414—417.
 50. Pandey, R.C., V.F. German, Y. Nishikawa, and K.L. Rinehart. 1971. Polyene antibiotics. II. The structure of tetrin A. *J. Amer. Chem. Soc.* 93 : 3738—3747.
 51. Parks, L.W., F.T. Bond, E.D. Thompson, and P.R. Starr. 1972. $\Delta^{8(9),22}$ -Ergostadien-3 β -ol, an ergosterol precursor accumulated in wild type and mutants of yeast. *J. Lipid Res.* 13 : 311—316.
 52. Rinehart, K.L., W.P. Tucker, and R.C. Pandey. 1971. Polyene antibiotics III. The structure of tetrin B. *J. Amer. Chem. Soc.* 93 : 3647.
 53. Schaffner, C.P., and E. Borowski. 1961. Biologically active N-acyl derivatives of polyene macrolide antifungal antibiotics. *Antibiot. Chemother.* 11 : 724—732.
 54. Schroeder, F., J.F. Holland, and L.L. Bieber, 1972. Fluorometric investigations of the interaction of polyene antibiotics with sterols. *Biochemistry* 11 : 3105—3111.
 55. Shenin, Yu. D., V.N. Soloviev, and A.A. Nevinsky. 1973. Structure of polyenic antibiotic, ArenomycinB. *Antibiotiki*, 18 : 865—876.
 56. Sutton, D.D., P.M. Arnow, and J. O. Lampen. 1961. Effect of high concentrations of nystatin upon glycolysis and cellular permeability in yeast. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 108 : 170—175.
 57. Tsyganova, V.A., A.F. Morgunova, Yu. E. Konev, S.N. Soloviev, and M.A. Malyskina. 1972. Cryptomycin, a new heptaenic antibiotic produced by *Actinomyces bulgaricus*. *Antibiotiki*, 14 : 1760—1072.
 58. Tsyganova, V.A., N.P. Barashkova, and Yu. D. Shenin. 1973. A new pentaenic antibiotic produced by *Actinomyces lavenbobbunneus* sp. nov. *Antibiotiki*, 18 : 771—774.
 59. Utz, J.P. 1968. Clinical applications and side-effects of antifungal drugs. p. 242—250. In G.E. W. Wolstenholme and R. Porter (ed.) CIBA foundation symposium on systemic mycoses. Churchill. London.
 60. Utz, J.P., J.E. Bennett, M. W. Brandriss, W.T. Butler, and G. J. Hill. 1964. Amphotericin B toxicity. *Ann. Int. Med.* 61 : 334—354.
 61. Vinogradova, K.A., Z.G. Sokolova, V.A. Poltorak, and A.B. Silaev. 1973. *Actinomyces chromogenes* var. *trienicus* var. nov., an organism producing trien antibiotic. *Antibiotiki*, 10 : 876—881.

62. Wasserman, H.H., J.E. van Verth, D.J. McCaustland, I.J. Borowitz, and B. Kamber. 1967. The mycoticins, polyene macrolides from *Streptomyces ruber*. J. Amer. Chem. Soc. 89 : 1535—1536.
63. Weber, M.M., and S.C. Kinsky. 1965. Effect of cholesterol on the sensitivity of *Mycoplasma laidlawii* to the polyene antibiotic filipin. J. Bacteriol. 89 : 306—312.
64. Woods, R.A. 1971. Nystatin-resistant mutants of yeast: alterations in sterol content. J. Bacteriol. 103 : 69—73.
65. Woods, R.A., M. Bard, I.E. Jackson, and D.I. Drutz. 1974. Resistance to polyene antibiotics and correlated sterol changes in two isolates of *Candida albicans* from a patient with an amphotericin B-resistant funguria. J. Infect. Dis. 129 : 53—58.
66. Zygmunt, W.A. 1966. Intracellular loss of potassium in *Candida albicans* after exposure to polyene antifungal antibiotics. Appl. Microbiol. 14 : 953—956.
67. Zygmunt, W.A., and P. A. Tavormina. 1966. Steroid interference with antifungal activity of polyene antibiotics. Appl. Microbiol. 14 : 865—869.
-