

Aljoša Bavec¹

Strukturne značilnosti in delovanje nekaterih peptidnih antibiotikov

Structure-activity Relationships of Some Peptide Antibiotics

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: struktura – peptidni antibiotiki – farmacevtska biokemija

Peptidni antibiotiki so po zgradbi zelo raznolika skupina antibiotikov. Poznamo linearne, ciklične, takšne z dodatnimi kemijskimi substituentami, vezane v obroču ali na obroč, in takšne brez njih. Skoraj vsem skupna lastnost je njihova amfipatičnost. Primarna struktura linearnih peptidnih antibiotikov pomeni niz aminokislin, ki si sledijo v zaporedju. Daljši monomerni peptidni antibiotiki ponavadi v vodni raztopini zavzamejo sekundarno strukturo alfa-heliksa, krajši pa obliko naključnega klobčiča. V stiku s polarnimi ali nepolarnimi površinami, na primer s fosfolipidnim dvoslojem, pa se struktura molekule uredi in delež alfa-heliksa se poveča oziroma molekula pridobi različne deleže sekundarnih struktur. Amfipatičnost se najbolje izrazi v obliki alfa-heliksa tako, da so vzdolž osi molekule na eni strani nanizane hidrofilne, na nasprotni strani pa hidrofobne aminokisliline. Zaradi dodatnih kemijskih neaminokislinskih skupin je alfa-heliks manj pogost pri cikličnih peptidnih antibiotikih. Pri njih se oblikujejo večja hidrofilna in hidrofobna področja, ki so organizirana v nekakšne ploskve ali liste, ki se med seboj izmenjujejo in so podobna beta-strukturi. Omenjene strukturne lastnosti je treba upoštevati pri pridobivanju oz. kemijski sintezi novih peptidnih antibiotikov.

ABSTRACT

KEY WORDS: structure – peptide antibiotics – pharmaceutical biochemistry

Peptide antibiotics are a very heterogenic group of antibiotics. Among them we differ cyclic, linear, non-substituted or substituted peptide antibiotics. The main feature of almost all peptide antibiotics is their amphiphilicity. Primary structure of linear peptide antibiotics is defined as the covalent backbone structure of polypeptide chains, including the sequence of amino acid residues. The predominant structure of long length antibiotic peptides in an aqueous medium is the helical structure called alpha helix. Short length monomer peptides have very little secondary structure and exist mainly as a random coil. A typical amphiphilic alpha helix is characterized by a flat hydrophobic and hydrophilic face along the axis of the molecule that interacts with polar and non-polar surfaces, like phospholipid bilayers, by packing around them in rigid, well-ordered, alpha helical arrangements. Cyclic peptide antibiotics show little potency for alpha helical conformation since they adopt bulky non-peptide groups. Rather, they express polar and non-polar regions that alternate with each other, form 'leaves' that resemble on beta sheets. Knowledge about structural characteristics of peptide antibiotics is very important for the development of new class of highly efficient antibiotic drugs.

¹ Asist. mag. Aljoša Bavec, univ. dipl. biol., Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana.

UVOD

Prvo opredelitev antibiotikov je leta 1942 postavil mikrobiolog S. A. Waxman, leta 1989 jo je dopolnil W. K. Joklik. Ta pravi, da so antibiotiki kemijske spojine, ki jih proizvajajo mikroorganizmi, ali podobne snovi, pridobljene z delno ali popolno sintezo, ki v majhnih koncentracijah zavirajo rast ali uničujejo druge mikroorganizme.

Vsi antibiotiki niso enako dobri. Lastnosti dobrega antibiotika so, da ima baktericidno in ne bakteriostatično delovanje, mikroorganizmi nanj ne smejo postati odporni, imeti mora široko območje delovanja, ne sme povzročati stranskih učinkov, kot so alergije, okvare ledvic, jeter in kostnega mozga, spremembe črevesne flore, in mora biti dobro topen v vodi. Zaradi naštetih lastnosti se danes v medicini in veterini od približno 7000 znanih naravnih antibiotikov uporablja le nekaj sto. Antibiotiki, ki se uporabljajo, so proizvod majhnega števila bakterij in gliv iz rodov *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Micromonospora*, *Streptomyces* in *Bacillus*.

Po svoji kemijski zgradbi so antibiotiki zelo raznoliki. Najbolj uporabljeni so betalaktamski antibiotiki, npr. penicilini in cefalosporini. Njihova značilnost je štiričlenski betalaktamski obroč. Med derivate aminokislin zraven omenjene skupine betalaktamskih antibiotikov uvrščamo še kloramfenikol in peptidne antibiotike. Glikozidni antibiotiki predstavljajo sorazmerno veliko skupino aminoglikozidnih antibiotikov, nukleozidnih antibiotikov, makrolidov in linkozamidov. Ostale, po kemijski strukturi heterogene antibiotike, pa uvrščamo med policiklične antibiotike (tetraciklini), polietre, poliene in ansamakrolide (1).

Antibiotiki učinkujejo na dva načina. Lahko popolnoma uničijo mikroorganizme ali pa le zavirajo njihovo rast. Delujejo tako, da poškodujejo plazemsko membrano (peptidni antibiotiki), ustavijo sintezo celične stene bakterij (penicilini, cefalosporini), zavirajo prevajanje obveščevalne RNK v beljakovino (tetraciklini), preprečujejo podvojevanje DNK ali prepis DNK v RNK (nukleozidni antibiotiki – citostatiki).

Manjša odpornost mikrobov proti peptidnim antibiotikom

Največ težav pri uporabi naravnih antibiotikov povzroča pojav odpornosti (rezistence) in tolerance mikroorganizmov proti antibiotikom. Razvoj novih antibiotikov gre v smer s kemijsko sintezo spremenjenih naravnih, t. i. polysintetičnih antibiotikov, ali popolnoma sintetičnih antibiotikov, proti katerim so mikroorganizmi manj odporni. Zelo presenetljivo je dejstvo, da se mikrobi vedno hitreje prilagajajo na nove antibiotike, tudi takšne z izredno kompleksno kemijsko strukturo. Zdravljenje s cefalosporini tretje generacije se zdi neuspešno. Tudi kombinirano antibiotično zdravljenje, skupaj z betalaktamskimi in aminoglikozidnimi antibiotiki, se velikokrat izkaže za neučinkovito (2). Mikroorganizmi postopoma postajajo odporni proti vsem antibiotikom, tudi takšnim, za katere je še do nedavnega veljalo, da ni mikroba, ki bi nanje postal odporen. Na primer, glikopeptidni antibiotik vankomicin, ki se že več kot dvajset let uporablja v medicini pri zdravljenju streptokoknih okužb, je še do nedavnega veljal za antimikrobno snov, na katero streptokoki ne morejo postati odporni. Bakterija *Streptococcus pneumoniae*, pogost povzročitelj meningitisa in sepse, pa je v dobrih dveh desetletjih pridobila toleranco in odpornost proti vankomicinu (3). Kakor koli, kaže, da ravno novi peptidni antibiotiki obetajo največ pri zdravljenju bakterijskih okužb.

Za pridobivanje in sintezo novih peptidnih antibiotikov moramo vedeti, katere so glavne strukturne značilnosti, da molekula pridobi lastnosti antibiotika.

STRUKTURA PEPTIDNIH ANTIBIOTIKOV

Glavna strukturna značilnost skoraj vseh peptidnih antibiotikov, ki se uporabljajo v klinični praksi, je amfipatičen značaj molekule (4, 5).

Amfipatične snovi so sestavljene iz polarne ali nabite regije in regije, ki ima nepolaren značaj. V vodi amfipatične snovi s svojimi polarnimi ali nabitimi regijami reagirajo s topilom, nepolarni deli molekule pa se raje izogibajo topilu in agregirajo v manjša nepolarna območja. Primer amfipatičnih snovi so detergenti (6).

Amfipatični peptidi imajo delno polaren in delno nepolaren značaj. Običajno pride njihova amfipatičnost najbolj do izraza, kadar so v obliki alfa-heliksa tako, da so vzdolž osi molekule na eni strani nanizane hidrofilne, na drugi strani pa hidrofobne aminokisljine (7). Amfipatičnost pa se lahko izrazi tudi v obliki dipola. To pomeni, da ima peptid na N-terminalnem delu bazično, kationsko polarno glavo in dolg nepolaren aminokislinski rep na C-terminalnem delu molekule. V stiku z nepolarnimi ali polarnimi površinami se molekula peptida orientira tako, da se veže s hidrofobnimi deli na nepolarno, s hidrofilnimi pa na polarno površino.

Amfipatični peptidi so lahko naravni ali umetni. Izraz *naraven* peptid uporabljamo takrat, ko imamo v mislih peptide, sintetizirane v bioloških sistemih, ali biološke peptide, sintetizirane umetno, s peptidnim združevalcem (sintetizer) ali ročno. Izraz *umeten* peptid uporabljamo za peptide, ki niso biološkega izvora in jih pripravljamo le sintetično. Največkrat so izpeljanke naravnih peptidov. Od naravnih peptidov se lahko razlikujejo samo v eni aminokisljini. Takšna zamenjava ima navadno majhen vpliv na strukturo, vendar pa lahko zelo spremeni biološko funkcijo peptida. Takšen je MAS 17 (8), neaktivni analog mastoparana (sestavina osjega strupa), ki ima na mestu šest lizin namesto levcina.

V bioloških sistemih število aminokisljin v peptidu obsega od 2–3 do nekaj 1000 (6). Majhni peptidi (od 2–3 do 50 aminokisljin) v vodnih raztopinah zaradi premajhnega števila aminokisljin praviloma ne zavzamejo pravilne sekundarne strukture. Največkrat zavzamejo obliko naključnega klobčiča ali *random coil* obliko (9). V stiku s površino, na primer z lipidnim dvoslojem, ali pri di-, tetramerizaciji monomernih peptidov (slika 1) pa se atomi v molekuli uredijo in delež alfa-heliksa se poveča (10) oziroma molekula pridobi različne oblike sekundarnih struktur.

Peptidni antibiotiki so praviloma kratki amfipatični peptidi, ki imajo lastnosti antibiotikov. Imajo majhno molekulsko maso in so sestavljeni iz aminokisljin, tudi neobičajnih, npr. D-alanina, D-valina ali dihidroalanina. Za njih je značilna odpornost proti proteolitičnim encimom. Glede na kemijsko strukturo jih delimo v dve skupini: linearne in ciklične.



Slika 1. Amfipatični linearni peptid melitin, sestavina čebeljega strupa, v vodni raztopini zavzame strukturo dveh alfa-heliksov na koncih molekule, spojenih z beta-zavojem. Na sliki je prikazana kristalna struktura dimera iz dveh monomer (zelen in moder) melitina. Aminokisljinsko zaporednje monomera melitina je naslednje: Gly Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu Thr Thr Gly Leu Pro Ala Leu Ile Ser Trp Ile Lys Arg Lys Arg Gln Gln. Nepolarne aminokisljine so podčrtane. Polarne, bazične ali kisle aminokisljine niso podčrtane. Aminokisljina L-prolin (Pro) predstavlja mesto, kjer sta dva alfa-heliksa v monomeru ločena z beta-zavojem (16).

Linearni peptidni antibiotiki

Linearni peptidni antibiotiki so sestavljeni iz niza aminokisljin, ki ima začetek in konec. Za njih veljajo kemijske lastnosti amfipatičnih peptidov. Daljši monomerni linearni peptidni antibiotiki v vodni raztopini ponavadi zavzamejo strukturo alfa-heliksa (slika 1), ki je termodinamsko najbolj ugodna sekundarna struktura (npr. gramicidin A, B ali C), krajši pa zavzamejo obliko naključnega klobčiča. Nekateri izmed linearnih peptidov pa imajo bolj kompleksno primarno in sekundarno strukturo, npr. nizina Z. Kristalna struktura nizina Z ni znana. Zaporedje aminokisljin v peptidu je iz 34 aminokisljin. Vsebuje v glavnem hidrofobne aminokisljine (Ile, L-izolevcin; Leu, L-levcin; Pro, L-prolin; Gly, L-glicin; Met, L-metionin; Val, L-valin), ki so potrebne za pravilno oblikovanje pore v hidrofobnem okolju plazemske membrane bakterij. Aminokisljini L-lizin (Lys) in L-histidin (Hys), ki se štirikrat pojavita v peptidu, pa data antibiotiku pozitiven naboj in skupaj s hidrofobnimi aminokisljinami amfipatičen značaj molekuli. Poleg neobičajnih aminokisljin (dihidroalanin in dihidrobutirin) pa v strukturi nizina Z nastane pet neobičajnih tioetrskih vezi (Abu-S-Ala: β -metillantionin, Ala-S-Ala: lantionin; S: žveplov atom tioetr-

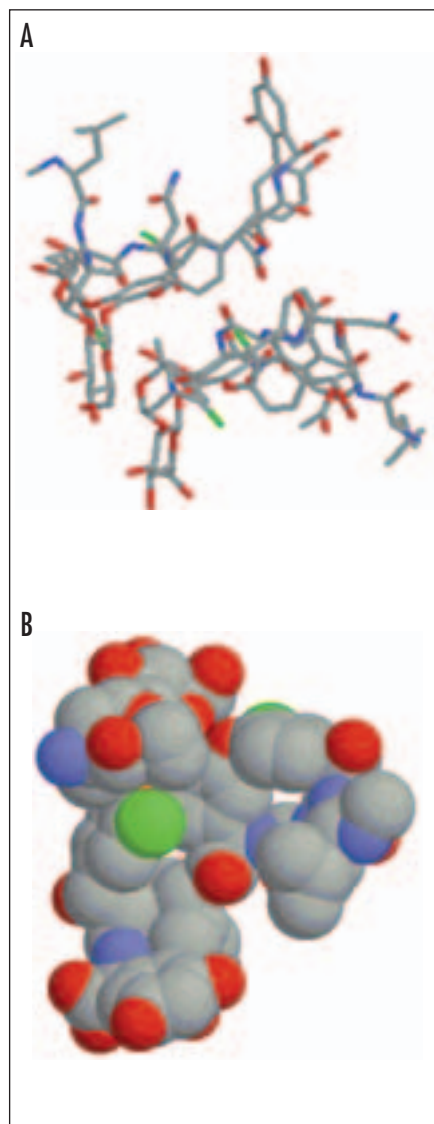
ske vezi). Le-te stabilizirajo peptid in onemogočajo formiranje alfa-heliksa ter favorizirajo strukturo beta-zavoja. Tako kompleksna struktura nizinu Z omogoča dobro odpornost proti delovanju mikroorganizmov (11).

Ciklični peptidni antibiotiki

Če ciklizira samo del peptida (npr. bacitracin, vankomicin), ali pa kar cel (npr. valinomycin) govorimo o cikličnih peptidnih antibiotikih. Nekateri ciklični peptidni antibiotiki, na primer valinomycin, aktinomycin C in vankomicin, imajo poleg aminokislin prisotne tudi neaminokislinske kemijske skupine, dvovalentne katione, aromatske obročje, maščobne kisline ali sladkorje, kar še bolj poudari njihovo strukturno zapletenost. Ciklični peptidni antibiotiki zaradi cikličnosti in dodatnih neaminokislinskih skupin praviloma ne tvorijo alfa-heliksa. Zato pridobijo amfipatično strukturo na drugačen način kakor zgoraj opisani linearni peptidi. Nasprotno amfipatični strukturi linearnih peptidov, ki imajo vzdolž osi peptida na zunanji strani hidrofilno površino in znotraj peptida hidrofobno površino, imajo ciklični peptidni antibiotiki večja samostojna polarna in nepolarna področja. Le-ta so lahko organizirana v nekakšne hidrofilne in hidrofobne ploskve oziroma liste, ki se med seboj izmenjujejo, podobno kot pri glikopeptidnih antibiotikih tipa vankomicin (slika 2). Tu sedem aminokislin s petimi aromatskimi obročji predstavlja hrbtenico molekule. Na njo pa so vezane najrazličnejše kemijske substituentne, npr. metilne in hidroksilne skupine ter sladkorji (5).

DELOVANJE PEPTIDNIH ANTIBIOTIKOV

Večina peptidnih antibiotikov deluje nespecifično, podobno kot kationski detergenti. Vežejo se na fosfolipide plazemske membrane bakterij in zaradi amfipatične narave lažje prodirajo v fosfolipidni dvosloj. Preko fosfolipidnega dvosloja tvorijo štiri-, šest- ali osemmerne agregate iz monomernih peptidov v ionske kanale – pore (slika 3), in tako povečajo prepustnost plazemske membrane, kar vodi v osmotsko neuravnovešenost in smrt celice (4). Nekateri izmed njih pa delujejo bolj specifično. Na primer širokospektralni

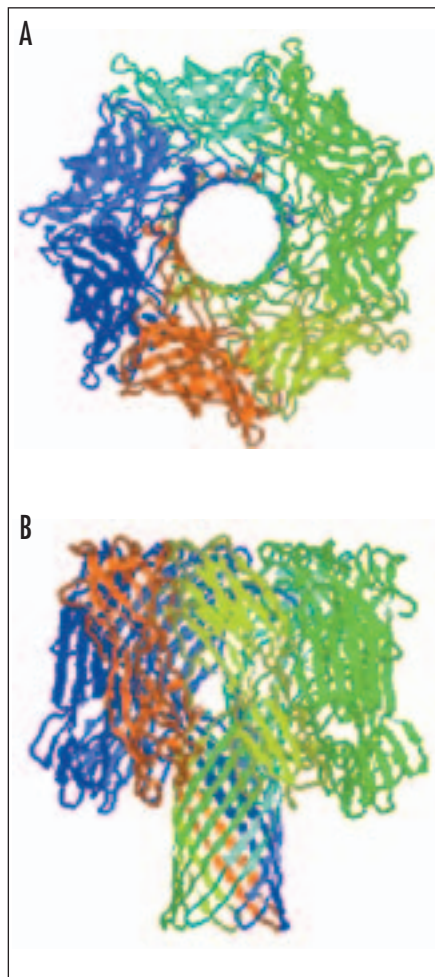


Slika 2. Kristalna struktura cikličnega glikopeptidnega antibiotika vankomicina. A: Dimer glikopeptidov. Vezavo obeh monomerov v dimer omogočajo hidrofobne interakcije aromatskih obročev in vodikove vezi atomov kisika, dušika in vodika peptidne vezi. B: Monomer. Spodaj levo (terminalna karboksilna skupina in hidroksilne skupine aromatskih obročev) in zgoraj levo (hidroksilne skupine derivata glukoze) predstavljata izrazito hidrofilna področja. Vmes je hidrofobno področje aromatskih obročev in ogljikovega polipeptidnega skeleta molekule. Rdeča barva: kisik; modra: dušik; siva: ogljik; zelena: klor. Rdeča barva predstavlja hidroksilne ali/in keto skupine v peptidni vezi, modra barva pa amino skupine ali/in dušike v peptidni vezi (17).

antibiotik vankomicin se vedno veže na isti površinski receptor, glikolipid v plazemski membrani bakterij, imenovan lipid II (12). Le-ta je potreben za pravilno sintezo celične stene bakterij. Torej z vezavo vankomicina na lipid II se ustavi sinteza celične stene in nastopi smrt bakterije. Še bolj zanimiv pa je na novo odkrit linearni peptidni antibiotik nizin Z (11), ki ga proizvajajo nekateri sevi bakterije *Lactococcus lactis*. Podobno kot vankomicin se tudi nizin Z specifično veže z lipidom II, vendar ne zavre sinteze bakterijske celične stene, temveč s tvorbo por poveča prepustnost plazemske membrane, podobno kot kationski detergenti. Nizin Z je nekakšen funkcionalni hibrid vankomicina in kationskih detergentov, torej ubijalska kombinacija specifičnosti in sposobnosti tvorbe por v plazemski membrani bakterij. Ravno slednje pa je razlog, zakaj je peptid tako dobro aktiven, deluje namreč pri nanomolarnih koncentracijah.

Klinična uporaba peptidnih antibiotikov

Danes je poznanih kar nekaj peptidnih antibiotikov, vendar je v medicini njihova uporaba omejena zaradi njihove toksičnosti za človeški organizem. Uporabljajo se bolj kot lokalni antiseptiki na koži in sluznicah in le izjemoma za pravo antibiotsko kemoterapijo. Peptidni antibiotiki so velike molekule. Ker se v črevesju slabo absorbirajo, jih uporabljajo za zdravljenje okužb v črevesju. V klinični praksi se največ uporabljata dve skupini polipeptidnih antibiotikov: *polimiksini* in *glikopeptidni antibiotiki*. Ciklični polimiksini, zlasti polimiksina B in E, se uporabljajo pri zdravljenju hudih okužb s *Pseudomonas aeruginosa* (okužbe oči in sečnih izvodil), če je bolnik alergičen ali preobčutljiv na penicilinske antibiotike. Polimiksini se uporabljajo lokalno pri okuženih ranah, opeklinah, pri vnetju sluhovoda in očesne veznice. Pri nevtropeničnih bolnikih jih uporabljajo za dekontaminacijo črevesja. Bacitracin se uporablja pri zdravljenju gnojnih ran, ki so posledica streptokoknih in stafilokoknih okužb. Polimiksini tirotricin se veliko uporablja v veterinarski praksi pri preprečevanju materničnih okužb po porodu in pri zdravljenju vimenskega vnetja pri kravah. Med glikopeptidnimi antibiotiki se največ uporabljata vankomicin in teikoplanin. Upo-



Slika 3. Kristalna struktura osmih monomerov alfa-hemolizina predstavlja beljakovinski agregat, ki tvori ionski kanal – poro v fosfolipidnem dvosloju. A: Pogled od zgoraj. Z leve zgoraj proti desni zgoraj se vrstijo posamezni monomeri v barvah – zelena, svetlo modra, temno modra, oranžna, rumena in svetlo zelena. Luknja na sredini predstavlja kanal, poro v membrani. B: Pogled s strani. 'Klobuk gobe', ki se zoži v kanal oziroma poro (18).

rabljata se pri zdravljenju srčnih obolenj, zlasti stafilokoknega endokarditisa, in ostalih streptokoknih okužb (sepsa, možganski absces, pljučnica) ter enterokolitisa, ki ga povzroča *Clostridium difficile*. Teikoplanin veliko bolje učinkuje na streptokoke, vankomicin pa na stafilokoke, ki so brez koagulaze (13, 14). Glikopeptidni daptomicin pa se zlasti uporablja pri zdravljenju hudih okužb z bakterijami

Staphylococcus aureus in *S. epidermidis*, ki so odporne proti penicilinom in vankomicinu (14). Nekateri izmed peptidnih antibiotikov so citostatiki in se uporabljajo pri zdravljenju rakavih obolenj, rhabdomyosarkoma in nefroblastoma. Takšen je aktinomycin D (15).

SKLEPI

Kljub temu da imajo peptidni antibiotiki različno zastopanost polarnih, nepolarnih, kisljih in bazičnih aminokislin in da v vodni raztopini zavzamejo različne oblike sekundarne ali terciarne strukture, je skoraj vsem skupna lastnost *amfipatičnost*.

Dobra lastnost peptidnih antibiotikov je njihova baktericidnost, slabost pa toksičnost za človeški organizem, kratka življenjska doba peptida v človeškem telesu in ozko območje delovanja, praviloma samo proti grampozitivnim bakterijam. Amfipatična struktura peptida, ki je prisotna pri večini peptidnih antibiotikov (vankomicin, nizin Z), je potrebna za baktericidnost. Vendar pa ponekod sama amfipatičnost ni dovolj za baktericidnost. Potrebne so tudi druge specifične strukturne lastnosti peptida. Na primer, točno določen geometrijski razpored aminokislinskih radikalov v prostoru omogoča vezavo peptida na receptorsko molekulo. Če ni predhodne vezave antibiotika, ni

baktericidnega delovanja. Primer je nizin Z. Poznamo tudi takšne peptidne antibiotike, ki nimajo izražene amfipatičnosti, na primer hidrofobni gramicidin A, in so baktericidni. Zelo majhne so strukturne razlike med toksičnimi hemolitičnimi peptidi, kakršna sta čebelji melitin in osji mastoparan, in peptidnimi antibiotiki. Ravno slednje pa je treba upoštevati pri sintezi novih peptidnih antibiotikov. Baktericidnost in toksičnost sta v nekakšnem premem sorazmerju. Bolj ko je antibiotik baktericiden, bolj je toksičen za človeški organizem, in obratno. Zgornja trditev pa očitno ne velja popolnoma za nizin Z. Kemijska sinteza antibiotika s tako kompleksno strukturo je izredno zahtevna in tehnološko draga, a še vedno vredna novih raziskav. Torej je prihodnost iskanja oziroma izdelave novih antibiotikov ravno v peptidnih antibiotikih, ki imajo lastnosti nizina Z: specifičnost, majhna toksičnost in baktericidnost. Kljub temu, da se nizin Z zaradi svoje majhne toksičnosti in baktericidnosti že skoraj 50 let uporablja kot sredstvo za konzerviranje v prehrabeni industriji, še niso izolirali mikroorganizma, ki bi bil odporen proti temu antibiotiku. Ravno slednje pa ga uvršča v sam vrh zanimivih antimikrobnih snovi in odpira nove razvojne možnosti ter uporabo že nekoliko pozabljenih peptidnih antibiotikov v medicini človeka in živali.

LITERATURA

- Walker JB. Methods in enzymology, Antibiotics. In: Hash JH, editor. *Aminoglycoside antibiotics*. New York, London: Academic Press Inc; 1975. p. 429-65.
- Jarque I, Sanz MA. Application of the concepts of evidence-based medicine to the evidence on the treatment of febrile neutropenia. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999; 17 Suppl 2: 95-102.
- Novak R, Henriques B, Charpentier E, Normark S, Tuomanen E. Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. *Nature* 1999; 399: 590-3.
- Saberwal G, Nagaraj R. Cell-lytic and antibacterial peptides that act by perturbing the barrier function of membranes: facets of their conformational features, structure-function correlations and membrane-perturbing abilities. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1197 (2): 109-31.
- Barna JCJ, Williams DH. The structure and mode of action of glycopeptide antibiotics of the vancomycin group. *Annu Rev Microbiol* 1984; 38: 339-57.
- Leninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of Biochemistry. In: Neal V, editor. *Water: Its Effect on Dissolved Biomolecules*. 2nd ed. New York: Worth Publishers; 1993. p. 87.
- Schafmeister CE, Miercke LJ, Stroud RM. Structure at 2.5 Å of a designed peptide that maintains solubility of membrane proteins. *Science* 1993; 262: 734-8.
- Vitale N, Mukai H, Rouot B, Thierse D, Aunis D, Bader MF. Exocytosis in chromaffin cells. Possible involvement of the heterotrimeric GTP-binding protein G(o). *J Biol Chem* 1993; 268: 14715-23.
- Podo F, Strom R, Crifo C, Zulauf M. Dependence of melittin structure on its interaction with multivalent anions and with model membrane systems. *Int J Peptide Protein Res* 1982; 19 (5): 514-27.
- Bavec A, Jureus A, Cigić B, Langel Ū, Zorko M. Peptitergent PD₁ affects the GTPase activity of rat brain cortical membranes. *Peptides* 1999; 20: 177-84.

11. Breukink E, Wiedemann I, van Kraaij C, Kuipers OP, Sahl H, de Kruijff B. Use of the cell wall precursor lipid II by a pore-forming peptide antibiotic. *Science* 1999; 286: 2361-4.
12. Sheldrick GM, Jones PG, Kennard O, Williams DH, Smith GM. Structure of vancomycin and its complex with acetyl-D-alanyl-D-alanine. *Nature* 1978; 271: 223.
13. Pittet D, Harding I. Infective endocarditis and glycopeptides. *J Infect* 1998; 37 (2): 127-35.
14. Marolt-Gomišček M. Glikopeptidni antibiotiki. In: Rutar S, editor. *Antibiotiki in kemoterapevtiki v vsakdanji praksi*. 1st ed. Ljubljana: Založba Tangram; 1992. p. 92-96.
15. Wolden SL, Anderson JR, Crist WM, Breneman JC, Wharam MD Jr, Wiener ES, et al. Indications for radiotherapy and chemotherapy after complete resection in rhabdomyosarcoma: A report from the Intergroup Rhabdomyosarcoma Studies I to III. *J Clin Oncol* 1999; 17 (11): 3468-75.
16. Terwilliger TC, Eisenberg D. The structure of melittin. I. Structure determination and partial refinement. *J Biol Chem* 1982; 257: 6010-5.
17. Schafer, M., Schneider, T. R., Sheldrick, G. M.: Crystal structure of vancomycin. *Structure* 1996; 4: 1509-15.
18. Song, L., Hobaugh, M. R., Shustak, C., Cheley, S., Bayley, H., Gouaux, J. E.: Structure of staphylococcal alpha-hemolysin, a heptameric transmembrane pore. *Science* 1996; 274: 1859-66.

Prispelo 6. 10. 2000