

YENİ BİR ANTİBİYOTİK, KALSİMİSİN

A NOVEL ANTIBIOTIC, CALCIMYCINE

İlkay ÖREN

İsmail YALÇIN

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
06100 Tandoğan / ANKARA

ÖZET

Bu derlemede, bir antibiyotik olan kalsimisin incelenmiş, polieter antibiyotikler sınıfına giren bu bileşiğin yapısının aydınlatılması, iyonoforik özelliği ve bazı gram pozitif bakterilere karşı gösterdiği antibakteriyel etki araştırılmıştır.

SUMMARY

In this review, structure elucidation, ionophores properties and the antibacterial activity against some gram-positive bacteria of calcimycine which is a polyether antibiotics were searched.

Anahtar kelimeler : Kalsimisin, antibakteriyel etki, benzoksazol

GİRİŞ

Yapısında benzoksazol halkası taşıyan A 23187 kodlu kalsimisin yeni bir antibiyotik olup, Streptomyces chartreusis NRRL 3852 susundan biyosentez yoluyla elde edilmiştir (1,2,3). Bu bileşiğin iyonofor özellik gösterdiği ve gram pozitif bakterilere karşı inhibitör etkili olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, sıçan karaciğer mitokondri membranında gerçekleştirdikleri deneylerde kalsimisinin Mg^{+2} ve Ca^{+2} gibi divalent katyonlarla dimerik kompleks oluşturduğunu ve antibakteriyel etkinin bu kompleksten kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir(4).

Kalsimisin, sahip olduğu kimyasal yapı ve gösterdiği iyonofor özellikten dolayı polieter antibiyotikler sınıfında yer almaktadır.

Polieter antibiyotikler, lipofilik özellikte kompleksler oluşturarak lipid bariyerlerinden geçisi sağlarlar (5). Karakteristik iyon taşıma özellikleri bunların iyonoforlar olarak adlandırılmalarına neden olmuştur.

Polieter antibiyotiklerin iyonoforlar olarak tanımı, bazı katyonların taşınmasında etkili oldukları esasına dayanır. Bunlar içerisinde monovalan katyonları (K^+ , Na^+ , Li^+) taşıma özelliğine sahip olanlar monovalan polieterler, divalent katyonları (Ca^{+2} , Mg^{+2}) taşıyabilenler ise divalent polieterler olarak adlandırılırlar (5).

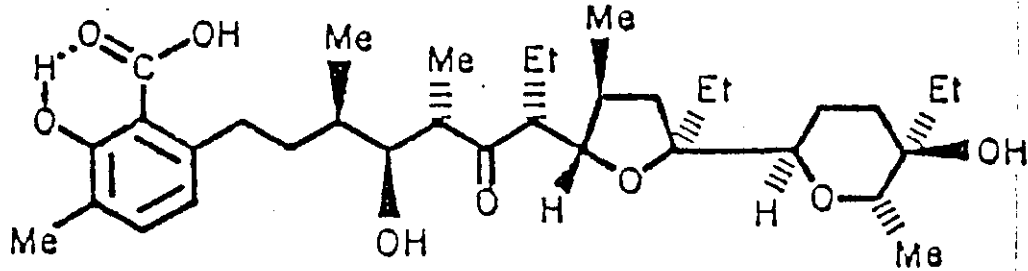
Genel olarak iyonoforları mikrobiyolojik etkilerini gözönüne alarak aşağıda verildiği şekilde sınıflandırabiliriz

- 1) Nonmikrobiyal İyonoforlar
 - a) Crown polieteterleri
 - b) Sentetik kriptatlar
 - c) Nonsiklik sentetik iyonoforlar
 - d) Oktadekadienik asitler
- 2) İyonofor Antibiyotikler
 - a) Peptid iyonoforlar
 - b) Siklodepsipeptidler
 - c) Makrotetrolitler
 - d) Polieteter antibiyotikler

Polieteter antibiyotikler ise kendi arasında şu şekilde sınıflandırılmıştır.

- 1a: Monovalan polieteterler (Monensin, Nigerisin)
- 1b: Monovalan monoglikosid polieteterler (Dianemisin)
- 2a: Divalan polieteterler (Lasalosid, Lysocellin)
- 2b: Divalan pirol eterler (Kalsimisin)

Polieteter antibiyotikler ilk olarak Berger ve Ark. tarafından 1951 yılında bulunmuştur (6). Fakat yapılarının aydınlatılması ancak onaltı yıl sonra gerçekleştirilebilmiştir ve aromatik kromofora sahip olmasından dolayı ilk olarak Lasalosid yapısı ele alınmıştır. Johnson ve Ark. tarafından da 1970 yılında yapısı aydınlatılmıştır (7). Şekil 1



Şekil 1: Lasalosid'in kimyasal yapısı

Molekül kristal yapısında iken hidrojen bağlarından dolayı siklik bir konformasyon içerir. Her iki uca yer alan karboksil grubu ile hidroksil grubu arasında bir hidrojen bağı oluşur. Bu bükülme sonucunda bileşikteki oksijenli kısımlar ortada toplanırlar. Hidrofobik alkil grupları ise dış yüzeyde kalır. Bu kısım bileşiğin lipofilik yüzeyini oluşturur.

Böylece yapıda beklenmeyen çözünürlük özellikleri ortaya çıkar. Hidrofobik alkil yüzeyleri ile lipofilik yüzeylere geçiş kolaylaşır. Karakteristik konformasyon özelliklerinden dolayı su ortamında çözünmezler; benzen, eter ve kloroform da çözünürler (5).

Tuzları şeklindeki polieteter antibiyotiklerin iyonoforik aktivitelerinin arttığı sanılmaktadır (5).

Bu bileşiklerin kompleks oluşturmada seçicilik göstermeleri, aktivite yönünden de selektivite kazandırmaktadır (5).

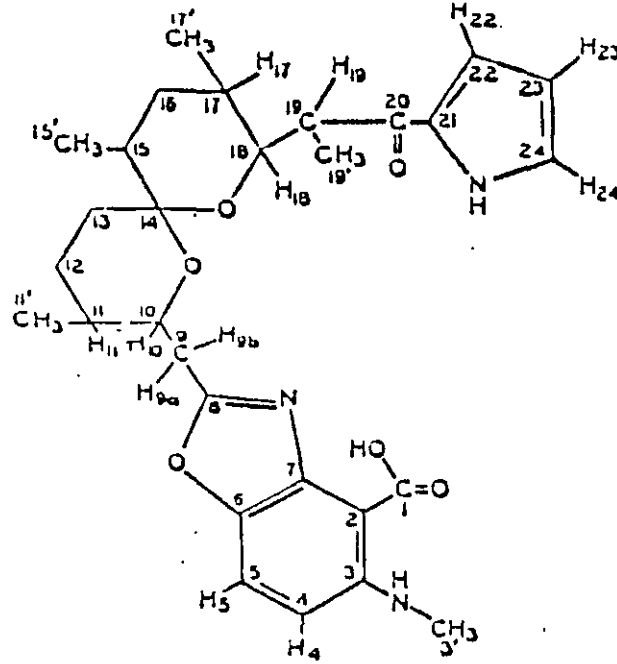
Lasalosid hem monovalan hem de divalan katyonlarla kompleks oluşturur. Bunlar sırasıyla Ca^{+2} , K^+ , Li^+ , Na^+ ve Mg^{+2} dur. Oysa kalsimisin yalnız Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi divalan katyonlara karşı seçicilik gösterir.

Polieter antibiyotiklerin gram negatif organizmalara karşı inaktif olmalarına karşın gram pozitif basil, kok ve filamantöz mikroorganizmalara karşı aktivite gösterdiği görülmüştür. Antimikrobiyal aktivite ile kimyasal yapı arasında bir bağlantı olduğu ileri sürülmüştür.

Sonuç olarak mikrobiyal inhibisyonun monovalan katyonların (örneğin; K^+) kaybindan ileri geldiği düşünülmektedir (8).

KALSİMİSİNİN YAPISI VE TÜREVLERİ

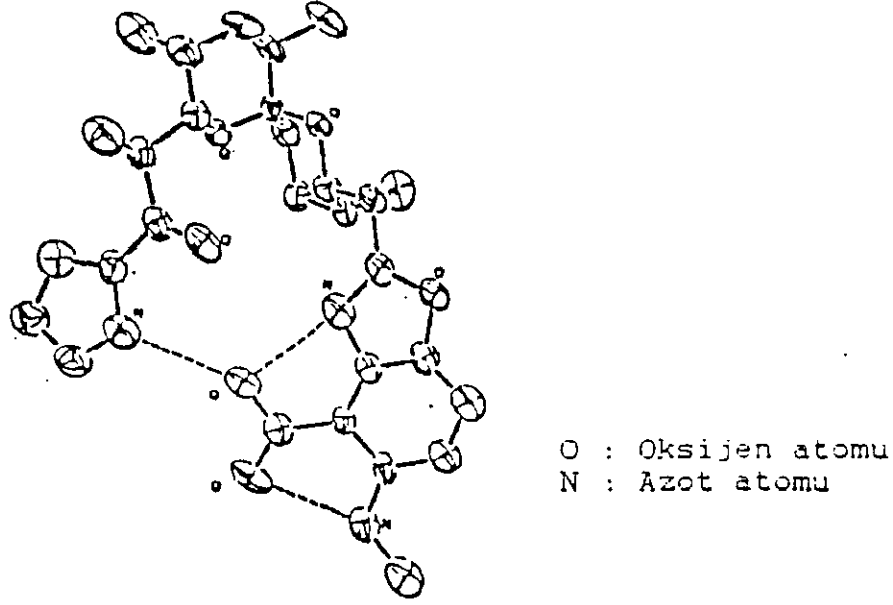
Streptomyces chartreusis NRRL 3882 süsundan izole edilen A 23187 kodlu kalsimisin, karboksilik polieter iyonoforlar sınıfındadır (9-15).



Sekil 2: Kalsimisin'in kimyasal yapısı

Bu yapı şekil 2'de gösterildiği gibi 3 temel üiteden oluşur. Bir α -ketopirrol, bir süstitüe benzoksazol yapısı ve bir spiro halka sistemi (10). Polieter antibiyotikler, spiro halka sisteminde 5 ve 6 üyeli yapılar içerirler. Kalsimisinin spiro halka sistemi iki tane 6 üyeli doymuş heterosiklik halka taşır. Kalsimisinin yapısı çeşitli kimyasal metodlar ve X-Ray kristalografisi kullanılarak aydınlatılmıştır (16,17)

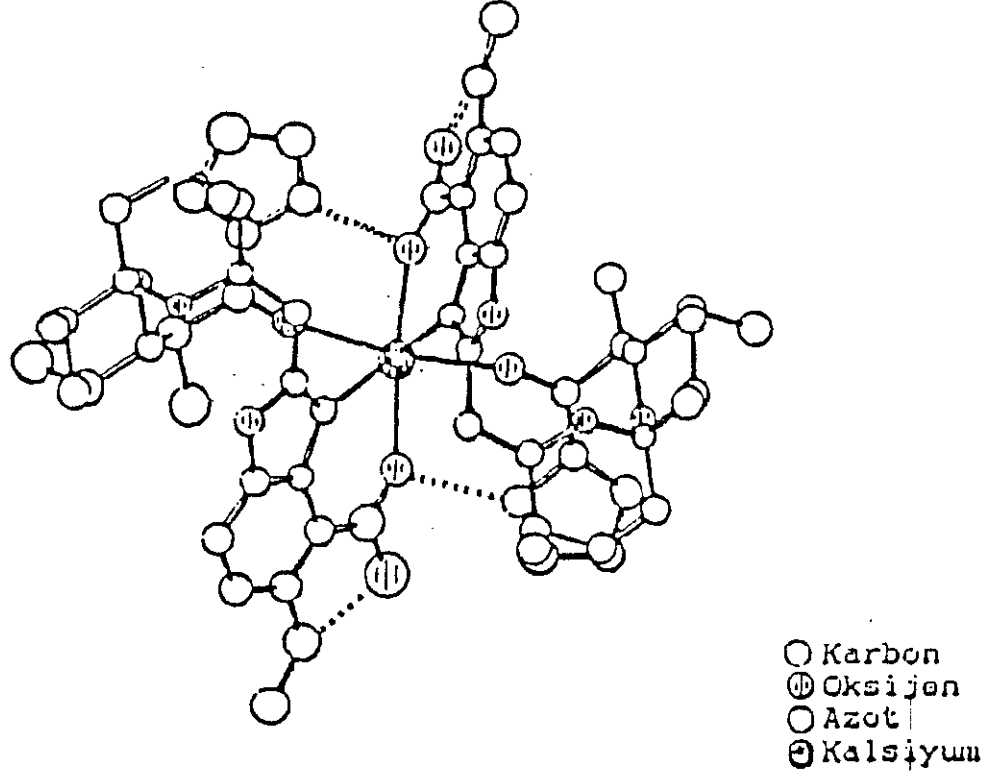
Kalsimisin 3 değişik molekül içi hidrojen bağı yaparak yalancı siklik bir konformasyon gösterir (10). Şekil 3'de görüldüğü gibi bu bağlar; karboksil grubunun karbonil oksijeni ile piroldaki azotun hidrojeni ve benzoksazol yapısındaki azot atomu ile benzoksazolun 3. konumunda bulunan metilamindeki hidrojen atomu arasında olmaktadır. Böylece Lasolosid yapısında olduğu gibi kalsimisinde de molekül içi gerçekleşen bu hidrojen bağları nedeniyle oluşacak bükülmeler sonucunda heteroatomlar taşıyan yüzeyler iç kısımda, lipofilik kısımlar dış yüzeyde kalacak şekilde bir konformasyon oluşur ve molekül membranlardan geçişi sağlayacak değişik bir çözünürlük özelliği kazanmış olur.



Şekil 3: Kalsimisindeki molekül içi hidrojen bağları

Çeşitli araştırıcılar (10,16,18-22), kalsimisinin divalent kationlarla oluşturdukları kompleksleri incelediklerinde bir, Ca^{+2} iyonunun iki molekül kalsimisine bağlanarak, 2:1 (antibiyotik : divalent kation) kompleksleri meydana getirdiklerini gözlemlemişlerdir. Oluşan bu 2:1 kompleksinde divalent kationun her iki kalsimisin molekülünde yer alan karboksil gruplarının birer oksijeni, 20. konumdaki karbonil oksijenleri ve benzoksazol halkasındaki azot atomları arasında koordine kovalan bağlarla tutularak selat kompleksi oluşturduğu belirlenmiştir. Bu komplekste ayrıca molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları oluşturularak ve geriye kalan kısımlarda su molekülleriyle doldurularak dimer yapısının bu konformasyonda durması sağlanır (Şekil 4).

Molekül içi hidrojen bağı, 3. konumda yer alan sekonder amin yapısındaki azotun hidrojeni ile 2. konumda yer alan karboksil grubunun diğer oksijeni arasında, moleküller arası hidrojen bağı ise bir kalsimisin molekülünün karbonyl grubu oksijeniyle diğer kalsimisin molekülünün pirol halkasındaki azot hidrojeni arasında gerçekleşir.



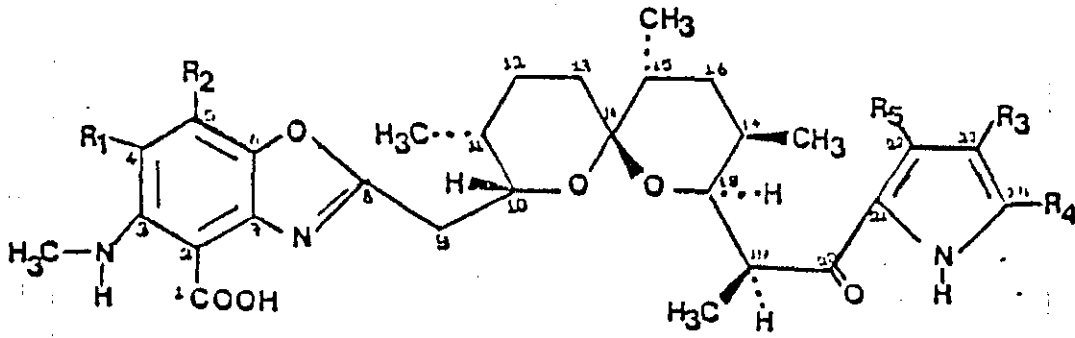
Sekil 4: Kalsimisinin kalsiyum iyonu ile kompleksi

Oluşan bu kompleks yapı ile toprak alkali katyonlar membran fazından spesifik olarak taşınırlar (20,21,23,24,25). Böylece bir monokarboksilik asit olan kalsimisinin doğal ve doğal olmayan membranlardan divalen katyonları geçirebileceği belirtilmiştir (16).

Abbott ve Ark. 200' ün üzerinde rastgele seçilen mikroorganizmalardan hiçbirisinin kalsimisine karşı direnc göstermediğini belirtmişler (4) ve kalsimisinin metil esterlerini hazırlamışlardır (3,4). Fakat ester yapısının oluşturulması nedeni ile karboksil grubundan kaynaklanan iyonofor özelliğin ortadan kaldırıldığı ve bu türevlerin mitokondri membranında bulunan iki değerlikli katyonlarla dimerik kompleksler oluşturamadıkları görüşünü savunmuşlardır.

1981 Yılında kalsimisinin halojenli türevleri de hazırlanmıştır. Babcock ve Ark. yapıya halojen girmesinin antibakteriyel etkinin azalmasına neden olduğunu belirtmişlerdir (26,27).

Yine aynı yıl Debono ve Ark. da benzoksazol çekirdeğinin selektif brominasyon veya klorinasyon ve pirol halka sisteminin brominasyon veya iyodinasyonu ile kalsimisinin dibromo, diiyodo ve tetrabromo gibi türevlerini elde ettiler (28). Araştırmacılar 4-Bromo kalsimisinin divalen katyon bağlama ve taşıma özelliklerini incelediklerinde affinitesinin kalsimisine göre, özellikle Ca^{+2} iyonunun selektif taşınmasında yaklaşık 10 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. 4-Bromo kalsimisinin Mg^{+2} transportunda inaktif olduğu belirtilmiştir.

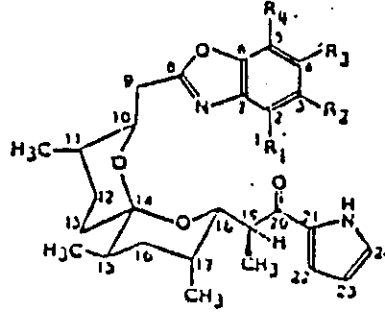


- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 1) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=H$ | 2) $R_1=Br, R_2=R_3=R_4=R_5=H$ |
| 3) $R_3=Br, R_1=R_2=R_4=R_5=H$ | 4) $R_3=R_4=Br, R_1=R_2=R_5=H$ |
| 5) $R_1=R_3=Br, R_2=R_4=R_5=H$ | 6) $R_1=R_3=R_4=R_5=Br, R_2=H$ |
| 7) $R_1=Cl, R_2=R_3=R_4=R_5=H$ | 8) $R_3=I, R_1=R_2=R_4=R_5=H$ |
| 9) $R_3=R_4=I, R_1=R_2=R_5=H$ | 10) $R_1=Br, R_2=R_3=R_4=R_5=H$ |
| 11) $R_1=Cl, R_2=R_3=R_4=R_5=H$ | 12) $R_1=Br, R_3=Br, R_2=R_4=R_5=H$ |
| 13) $R_1=Br, R_4=Br, R_2=R_3=R_5=H$ | |

Gresh, kalsimisinin ve türevlerinin divalen katyonlara olan affinitesinin artması için benzoksazol çekirdeğindeki benzen halkasının 3. konumundan elektron veren grublarla süstitüsyonunun gerekli olduğunu belirtmiştir (22).

Bu düşünceden hareketle Prudhomme ve Ark. kalsimisinin çeşitli türevlerini elde etmişlerdir (20). Bu bileşikler Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1: Kalsimisin Türevleri



Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	COOH	NHCH ₃	H	H
2	H	COOH	H	H
3	COOH	H	H	H
4	COOH	H	H	CH ₃
5	COOH	H	CH ₃	H
6	COOH	CH ₃	H	H
7	COOH	OH	H	H
8	COOH	N(CH ₃) ₂	H	H
9	COOH	N(CH ₃)C ₂ H ₅	H	H
10	COOH	N(CH ₃)COCH ₃	H	H
11	COOH	N(CH ₃)COCF ₃	H	H
12*	COOH	OH	H	H

* X14885A: 15. Konum metil grubu içermemektedir.

ANTİBAKTERİYEL ETKİSİ

Kalsimisin üzerinde gerçekleştirilen çeşitli fizyolojik hücre çalışmaları halen devam etmektedir (18, 29-43). Prudhomme ve ark. sıçan karaciğer mitokondrisinden Ca⁺² ve Mg⁺² iyonlarının salınımını incelediklerinde, kalsimisinin bu iki değerlikli kanyonların salınımında oldukça etkili olduğu görülmüştür (44). Türevleri incelendiğinde ise Tablo 1'deki 7 nolu yarı sentetik bileşiğin 1 nolu bileşikten daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. R₂ de hacimli grupların bulunması bileşiği inaktif yapmaktadır.

Taşıma yetenekleri ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIK) sonuçları arasında sıkı bir ilişki oluşturulamamıştır. Antibiyotik aktivitenin iyonofor özelliklerinden kaynaklandığı belirtilmekle beraber hala kesin bilgiler verilememektedir. Ancak hücreden Mg⁺² kaybının inhibisyona neden olduğu öne sürülmektedir. 3 µg/ml konsantrasyondaki kalsimisinin lactobasillus lactis hücrelerindeki bütün Mg⁺² tüketimine yeterli olduğu Prudhomme ve Ark. tarafından bildirilmiştir (44). Tablo 2'de, Tablo 1'de verilen kalsimisin türevlerinin çeşitli mikroorganizmalara karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları verilmiştir.

Tablo 2: Kalsiminin türevlerinin mikrobiyolojik aktiviteleri (µg/ml olarak MİK değerleri)

Bileşik	Bacillus cereus ATTC 14575	Bacillus megaterium ATTC 14581	Micrococcus luteus ATTC 4698	Streptomyces rimosus NRRL 2234	Penicillium decumbens NRRL 742
1	0.024	0.0015	0.012	50	12.5
2	25	6.25	12.5	50	50
3	0.097	0.049	0.195	3.12	25
4	0.39	<0.0015	0.006	25	6.25
5	0.39	0.024	0.012	50	12.5
6	6.25	-	0.78	50	25
7	0.006	<0.0015	0.024	50	100
X14885A(12)	0.097	0.006	0.006	6.25	50
8	3.12	0.39	0.39	25	50
9	1.56	1.56	3.12	50	50
10	12.5	6.25	12.5	50	50
11	0.78	0.20	0.78	12.5	25

SONUÇ VE TARTIŞMA

İyonoforlar sınıfından olan A 23187 kodlu kalsimisin benzoksazol halkası taşıyan bir antibiyotiktir (1,3). Bu yapı, sıçan karaciğer mitokondri membranında iyonofor özelliğinden dolayı Mg^{+2} ve Ca^{+2} gibi divalan katyonlarla dimerik kompleks oluşturarak antibakteriyel etki göstermektedir (4). Araştırmacılar, bu kompleksi incelediklerinde bir Ca^{+2} iyonunun iki molekül kalsimisine bağlanarak 2:1 (Antibiyotik:Divalan katyon) kompleksleri oluşturduklarını gözlemlemişlerdir (10, 16, 19, 20, 22). Oluşan bu 2:1 kompleksinde divalan katyonun her iki kalsimisin molekülünde yer alan karboksil gruplarının birer oksijeni, 20. konumdaki karbonil oksijenleri ve benzoksazol halkasındaki azot atomları arasında koordine kovalan bağlarla tutularak kompleks oluşturduğu bildirilmiştir. Bu komplekste ayrıca molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları oluşturularak ve geriye kalan kısımlar su molekülleriyle doldurularak dimer yapının bu konformasyonda durması sağlanır. Bu şekilde toprak alkali katyonlar membran fazında spesifik olarak taşınabilmektedir (20,21).

Araştırmacılar kalsimisinin değişik türevlerini hazırlayarak incelediklerinde metil esterlerinin etkili olmadıkları görülmüştür (3,4). Bu durum, karboksil grubundan kaynaklanan iyonofor özelliğın ortadan kalkması sonucu esterli türevlerin mitokondri membranında bulunan iki değerlikli katyonlarla dimerik kompleksler oluşturamamalarına bağlanmıştır.

Yapıya halojen girmesinde antibakteriyel etkinin azalmasına neden olmaktadır (26,27). Sadece kalsimisinin 4. konumuna brom bağlanması ile aktivitenin 4 kat arttığı gözlenmiştir (28). Bu bileşiğın Ca^{+2} katyonunun selektif taşınmasında kalsimisinden yaklaşık 10 kat daha etkili olduğu saptanmıştır. Kalsimisin türevlerinin divalan katyonlara karşı affinitesini arttırmak için benzoksazol çekirdeğinin 3. konumdan elektron veren gruplarla süstitüsyonun gerekli olduğu görülmüştür (22). 3.Konumda hacimli grupların bulunması ise aktiviteyi azaltmaktadır(44). 3.Konuma metilamin grubu yerine hidroksil grubunun gelmesi aktiviteyi arttırmıştır.

Taşıma yetenekleri ve antibakteriyel etki arasında bugüne kadar bir ilişki kurulamamasına karşın antibakteriyel aktivitenin iyonofor özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ana çekirdeği, benzoksazol halkası olan iyonofor özellikteki kalsimisin , umut vaat eden bir antibiyotik olup, üzerinde fizyolojik hücre çalışmaları halen devam etmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Gale, R.M., Higgins, C.E., Hoehn, M.M., "Antibiotic A 23187., U.S. 3,923,823, 02 Dec 1975, Ref:CA:84: 87964y (1976)
- 2- Newman, M.S., Khanna, V.K., Kanakarajan, K., "Polyether Antibiotics Synthesis. Total Synthesis and Absolute Configuration of the Ionophore A 23187., J. Ame. Chem. Soc., 101, 6789-6791 (1979)
- 3- Abbott, B.J., Fukuda, D.S., "Microbiological modification of Antibiotic A 23187 esters", U.S. 4,247,703, 27 Jan 1981, Ref:CA:94: 190314s (1981)
- 4- Abbott, B.J., Fukuda, D.S., Dorman, D.E., Occolowitz, J.L., Debono, M., Farhner, L., Microbial transformation of A 23187 a divalent cation ionophore antibiotic, Antimicrob. Agents Chemother., 16, 803, 1973; Ref:CA:93: 68578v (1980)
- 5- Westley, J.W., Polyether Antibiotics: Versatile Carboxylic Acid Ionophores Produced by Streptomyces, Adv. Appl. Microbiol., 22, 177-223 (1977)
- 6- Berger, J., Rachlin, A.I., Scott, W.E., Sternbach, L.H., Goldberg, M.W., "The Isolation of Three New Crystalline Antibiotics from Streptomyces", J. Ame. Chem. Soc., 73, 5295-5297 (1951)
- 7- Johnson, S.M., Jeannie, H., Liu, S.J., Paul, I.C., "The Crystal and Molecular Structure of the Barium Salt of an Antibiotic Containing a High Proportion of Oxygen", J. Ame. Chem. Soc., 92 4428-4435 (1970)
- 8- Harold, F.M., Baarda, J.R., "Gramicidin, Valinomycin, and Cation Permeability of Streptococcus faecalis", J. Bacteriol., 94(1), 53-60 (1967)
- 9- Pressman, B.C., "Properties of Ionophores with broad range cation selectivity", Fed. Proc., 32, 1698-1703 (1973)
- 10- Chaney, M.O., Demarci, P.V., Jones, N.D., Occolowitz, J.L., "The Structure of A 23187, a Divalent Cation Ionophore", J. Ame. Chem. Soc., 96, 1932-1933 (1974)
- 11- Pfeiffer, D.R., Lardy, H.A., "Ionophore A 23187: The Effect of H⁺ Concentration on Complex Formation with Divalent and Monovalent Cations and the Demonstration of K⁺ Transport in Mitochondria Mediated by A 23187", Biochemistry, 15(5), 935-943 (1976)
- 12- Pressman, B.C., "Biological Applications of Ionophores", Annu. Rev. Biochem., 45, 501-530 (1976)

- 13- Evans, D.A., Sacks, C.E., Whitney, R.A., Mandel, N.G., "Studies Directed towards the Total Synthesis of the Ionophore Antibiotic A-23187", Tetrahedron Lett., 8, 727-730 (1978)
- 14- Cresp T.M., Probert, C.L., Sondheimer, F., "An approach to the synthesis of Ionophores Related to A 23187", Tetrahedron Lett., 41, 3955-3958 (1978)
- 15- Bolte, J., Demuynck, C., Jeminet, G., " Sélectivité du transport de Ca^{+2}/Mg^{+2} a travers une membrane liquide par A 23187 (Calcimycine) et son dérivé N-méthyle", Can. J. Chem., 63, 3478-3481 (1985)
- 16- Smith, G.D., Duax, W.L., "Crystal and Molecular Structure of the Calcium Ion Complex of A 23187", J. Ame. Chem. Soc., 98, 1578-1580 (1976)
- 17- Kaufman, R.F., Taylor, R.W., Pfeiffer, D.R., "Acid-Base Properties of Ionophore A 23187 in Methanol-Water Solutions and Bound to Unilamellar Vesicles of Dimyristoylphosphatidylcholine", Biochemistry, 21, 2426-2435 (1982)
- 18- Schaffer, S.W., Safer, B., Scarpa, A., Williamson, J.R., "Mode of Action of the Calcium Ionophores X-537A and A 23187 on Cardiac Contractility", Biochem. Pharmacol., 23, 1609-1617 (1974)
- 19- Deber, C.M., Pfeiffer, D.R., "Ionophore A 23187, Solution Conformations of the Calcium Complex and Free Acid Deduced from Proton and Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Studies", Biochemistry, 15(1), 132-141 (1976)
- 20- Prudhomme, M., Dauphin, G., Jeminet, G., "Semisynthesis of A 23187 (Calcimycin) Analogs. III. Modification of Benzoxazole ring substituents, Ionophorous Properties in an organic Phase", J. Antibiotics., 39, 922-933 (1986)
- 21- Alléaume, M., Barrans, Y., " Structure cristalline du complexe de magnésium de la Calcimycine (A 23187)", Can. J. Chem., 63, 3482-3485 (1985)
- 22- Gresh, N., "The effect of 3- and 4- Ring substituents on the Cation-Binding Properties of the 1-Carboxybenzoxazole Ring", Nouv. J. Chim., 10, 201-204 (1986)
- 23- Haynes, D.H., Pressman, B.C., "Two-Phase Partition Studies of Alkali Cation Complexation by Ionophores", J. Membrane Biol., 18, 1-21 (1974)
- 24- Young, S.P., Gomperts, B.D., "Mobile Carrier Ionophores for Fe (II)", Biochimica et Biophysica Acta, 469, 281-291 (1977)

- 25- Kauffman, R.F., Chapman, C.J., Pfeiffer, D.R., "Location and Dynamics of Ionophore A 23187 Bound to Unilamellar Vesicles of Dimyristoylphosphatidylcholine". Biochemistry, 22, 3985-3992 (1985)
- 26- Babcock, D.F., Deber, C.M., Debono, M., Molloy, R.M., Pfeiffer, D.R., "Halo A-23187 derivatives", U.S. 4,227,003, 07 Oct 1980, Ref:CA:94: 84099r, 1981.
- 27- Debono, M., Molloy, R.M., "Bromo-A-23187 derivatives", U.S. 4,227,003, 07 Oct 1980, Ref:CA:94: 84100j, 1981.
- 28- Debono, M., Molloy, R.M., Dorman, D.E., Paschal, J.W., Babcock, D.F., Deber, C.M., Pfeiffer, D.R., "Synthesis and Characterization of Halogenated Derivatives of the Ionophore A 23187: Enhanced Calcium Ion Transport Specificity by the 4-Bromo Derivative", Biochemistry, 20, 6865-6872 (1981)
- 29- Reed, P.W., Lardy, H.A., "A 23187: A Divalent Cation Ionophore", J. Biol. Chem., 247(21), 6970-6977 (1972)
- 30- Zahlten, R.N., Stratman, F.W., Lardy, H.A., "Regulation of Glucose Synthesis in Hormone-Sensitive Isolated Rat Hepatocytes", Proc. Nat. Acad. Sci., 70(11), 3213-3218 (1973)
- 31- Levy, J.V., Cohen, J.A., Inesi, G., "Contractile Effects of a Calcium Ionophore", Nature, 242, 461-463 (1973)
- 32- Foreman, J.C., Mongar, J.I., Gomperts, B.D., "Calcium Ionophores and Movement of Calcium Ions following the Physiological stimulus to a Secretory Process", Nature, 245, 249-251 (1973)
- 33- Wong, D.T., Wilkinson, J.R., Hamill, R.L., Horng, J.S., "Effects of Antibiotic Ionophore, A 23187, on oxidative Phosphorylation and Calcium Transport of Liver Mitochondria", Arch. Biochem. Biophys., 156, 578-585 (1973)
- 34- Maino, V.C., Green, N.M., Crumpton, M.J., "The role of calcium ions in initiating transformation of lymphocytes", Nature, 251, 324-327 (1974)
- 35- Selinger, Z., Eimerl, S., Schramm, M., "A calcium Ionophore Simulating the Action of Epinephrine on the α -Adrenergic Receptor", Proc. Nat. Acad. Sci., 71(1), 128-131 (1974)
- 36- Steinhardt, R.A., Epel, D., "Activation of Sea-Urchin Eggs by a Calcium Ionophore, A 23187", Proc. Nat. Acad. Sci., 71(5), 1915-1919 (1974)
- 37- Luckasen, J.R., White, J.G., Kersey, J.H., "Mitogenic Properties of a calcium Ionophore A 23187", Proc. Nat. Acad. Sci., 71(12), 5083-5090 (1974)

- 38- Holz, R.W., "The Release of Dopamine from Synaptosomes from Rat Striatum by the Ionophores X537 A and A 23187", Biochimica et Biophysica Acta, 375, 138-152 (1975)
- 39- Furchgott, R.F., Cherry, P.D., Zawadzki, J.V., Jothianandan, D.J., "Endothelial Cells as Mediators of Vasodilation of Arteries", J. Cardiovascular Pharmacology, 6, 336-343 (1984)
- 40- Shikano, K., Berkowitz, B.A., "Endothelium Derived Relaxing Factor is a Selective Relaxant of vascular smooth Muscle", J. Pharmacol. and Exper. Therap., 243(1), 55-63 (1987)
- 41- Durante, W., Sen, A.K., Sunahara, F.A., "Impairment of endothelium dependent relaxation in aortae from spontaneously diabetic rats", Br. J. Pharmacol., 94, 463-468 (1988)
- 42- Altan, V.M., Karasu, C., Özüarı, A., "The Effects of Type-1 and Type-2 Diabetes on Endothelium-Dependent Relaxation in Rat Aorta", J. Pharmacol. Biochem. 33(3), 1-4 (1989)
- 43- Boulanger, C., Schini, V.B., Moncada, S., Vanhoutte, P.M., "Stimulation of cyclic GMP production in cultured endothelial cells of the pig by bradykinin, adenosine diphosphate, calcium ionophore A 23187 and nitric oxide", Br. J. Pharmacol., 101, 152-156 (1990)
- 44- Prudhomme, M., Guyot, J., Jeminet, G., "Semi-synthesis of A 23187 (Calcimycin) Analogs. IV. Cation Carrier Properties in Mitochondria of Analogs with Modified Benzoxazole Rings. Antimicrobial Activity", J. Antibiotics, 39(7), 934-937 (1985)