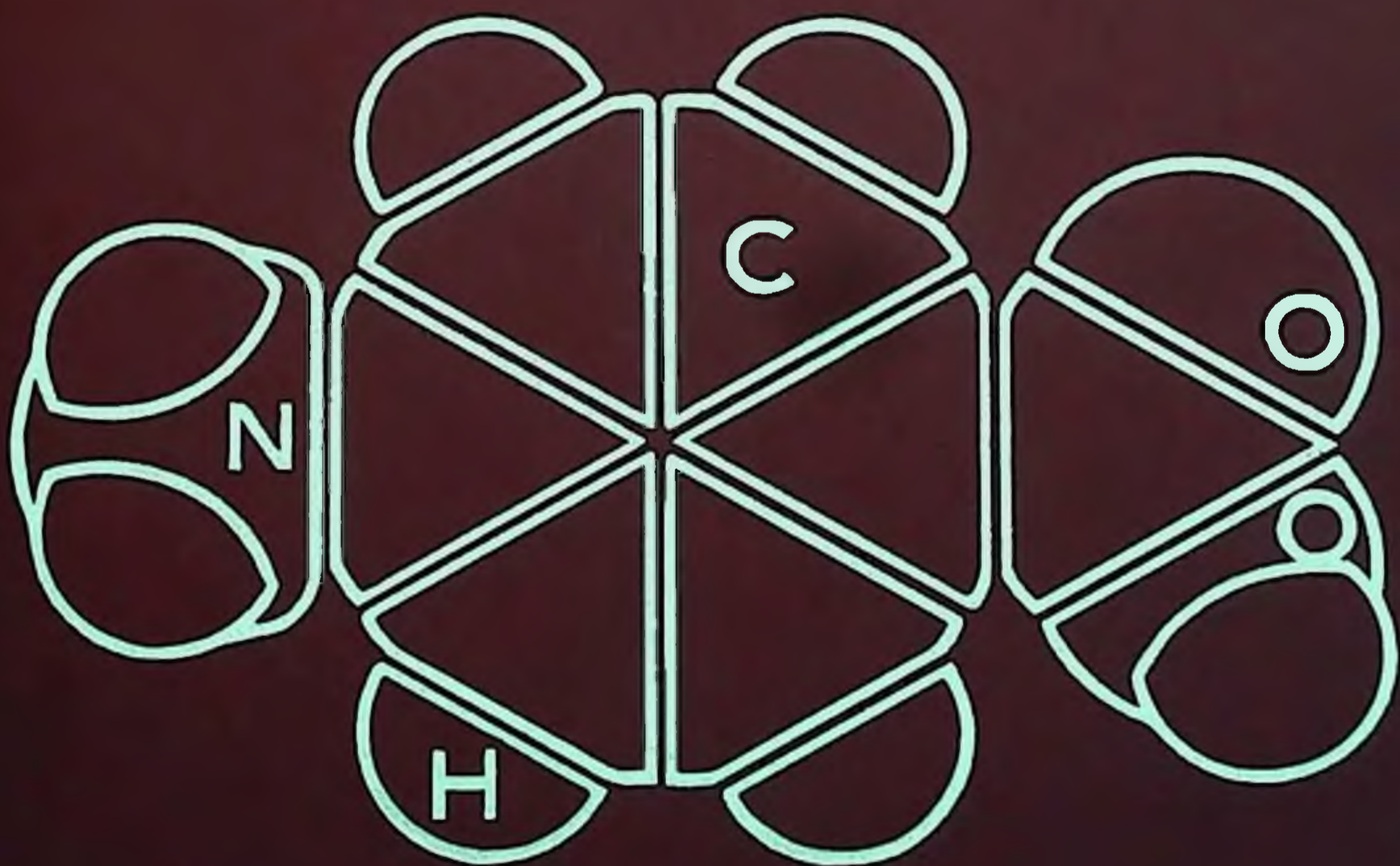


ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

А. АЛЬБЕРТ

ТОМ 1



SELECTIVE TOXICITY

The physico-chemical basis of therapy

SEVENTH EDITION

ADRIEN ALBERT

D.Sc. (Lond.), Ph.D. Medicine (Lond.),
Fellow of the Australian Academy of Science

*Professor Emeritus, Department of Chemistry,
Australian National University, Canberra;
Research Professor, Department of
Pharmacological Sciences, School of Medicine,
State University of New York, Stony Brook.*

London New York

Chapman and Hall

615.2/3

А 561

А. АЛЬБЕРТ

ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

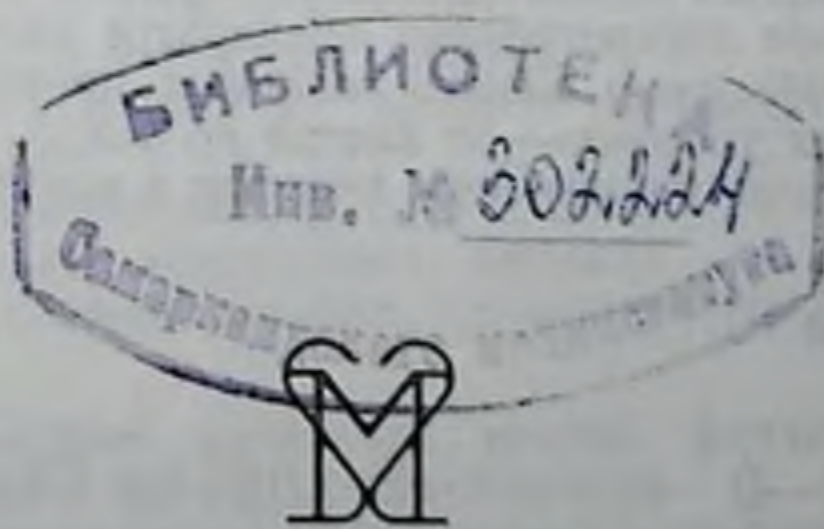
**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
ОСНОВЫ ТЕРАПИИ**

В 2 ТОМАХ

Том I

**ПЕРЕВОД С АНГЛИЙСКОГО
КАНД. ХИМ. НАУК
М. А. ДУМПИС, М. Б. ГАНИНОЙ**

**ПОД РЕДАКЦИЕЙ
ПРОФ. В. А. ФИЛОВА**



Москва «Медицина» 1989

ББК 52.8
А56
УДК 615.2/.3.065

Издание рекомендовано для перевода чл.-корр. АМН СССР
Лакиным К. М., зав. каф. фармакологии ММСИ им. Н. А. Семашко.

Альберт А.

А56 Избирательная токсичность. Физико-химические основы
терапии. Пер. с англ. В 2 томах. Т. 1. — М.: Медицина,
1989, 400 с.; ил.
ISBN 5—225—01519—0
ISBN 412—26010—7

Главная задача книги — рассмотрение основ лекарственной терапии с учетом концепции избирательной токсичности. В 1-м томе освещены теоретические вопросы действия лекарственных веществ, в том числе и три ведущих принципа, лежащих в основе избирательного действия: различие распределения, биохимические и цитологические различия, а также общие вопросы химиотерапии и фармакодинамики. В настоящее время, когда арсенал лекарственных препаратов ежедневно пополняется новыми, врачу необходимо знание основных принципов и механизмов их действия на всех уровнях — от клетки до целого организма.

Для фармакологов, биохимиков, химиков и практических врачей.

Р 4107030000—220
А 039(01)—89 74—89

ББК 52.8

ISBN 5—225—01519—0
ISBN 412—26010—7

© 1985 by Chapman and Hall
© Перевод на русский язык.
Издательство «Медицина»,
Москва, 1989

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к русскому изданию	7
Предисловие к седьмому изданию	9
Глава 1. Избирательность на службе человека	13
1.0. Что такое избирательность?	13
1.1. Успехи применения избирательно токсичных агентов	17
1.2. Физическая основа избирательности: три фактора	29
Глава 2. Этапы установления корреляции структуры и биологического действия	33
2.0. Самые ранние корреляции	34
2.1. Концепция «рецепторов», рецептор как часть фермента, пермеазы или другого белка	36
2.2. Рецептор как часть нуклеиновой кислоты	44
2.3. Рецептор как кофермент или другая малая молекула	49
2.4. Обратимость и другие аспекты рецепции	51
2.5. Изменения в молекуле и биологические свойства	56
2.6. Корреляции и их перспективы	67
Глава 3. Различия в распределении: первый фактор избирательности	70
3.0. Избирательность, обусловленная различиями в распределении	70
3.1. Всасывание, распределение и выведение лекарственных веществ	75
3.2. Проницаемость природных мембран	80
3.3. Значение коэффициента распределения	94
3.4. Механизмы потерь, накопление и выведение	101
3.5. Метаболические изменения как первая стадия выведения лекарственных веществ, синергизм и антагонизм	105
3.6. Метаболические изменения веществ, ведущие к их активации, пролекарства	117
3.7. Количественные аспекты распределения, фармакокинетика, замедленное высвобождение	130
Глава 4. Биохимические различия: второй фактор избирательности	139
4.0. Нуклеиновые кислоты	139
4.1. Белки	165
4.2. Ферменты- и коферменты-аналоги	172
4.3. Метаболизм азота и фосфора	177
4.4. Метаболизм углеводов и липидов	180
4.5. Цикл трикарбоновых кислот, транспорт электронов	185
4.6. Фотосинтез	187
4.7. Гормоны и феромоны	190
4.8. Метаболизм чужеродных веществ	200
4.9. Количественные аспекты сравнительной биохимии	201
Глава 5. Цитологические различия: третий фактор избирательности	203
5.0. Различия в клеточной архитектуре	203
5.1. Цитологические аспекты противоопухолевой терапии	205
5.2. Цитологические аспекты иммунотерапии	208
5.3. Клеточная стенка	212

5.4. Внутриклеточная архитектура	217
5.5. Вирусы	234
Глава 6. Химиотерапия: история и принципы	237
6.0. Исторический обзор	237
6.1. Вклад П. Эрлиха в химиотерапию	238
6.2. Химиотерапевтические средства, существовавшие до 1935 г., химиотерапевтический индекс	243
6.3. Химиотерапия в 1935 г. и в последующие годы	249
6.4. История изыскания средств защиты урожая, пестициды	269
6.5. Резистентность к лекарственным веществам и другим агентам	292
6.6. Терапевтическая интерференция	
Глава 7. Фармакодинамика	304
7.0. Фармакодинамика и химиотерапия	304
7.1. Поиск новых синтетических лекарственных средств	305
7.2. Некоторые общие фрагменты молекулярной структуры фар- макодинамических лекарственных средств	307
7.3. Упрощение структуры природных соединений	309
7.4. Значение количественных подходов	322
7.5. Механизм действия агонистов и антагонистов на рецепторы	324
7.6. Классификация фармакодинамических средств	338
Глава 8. Силы, связывающие лекарственное вещество с рецептором, хи- мические связи, адсорбция	352
8.0. Типы химических связей	352
8.1. Адсорбция	361
8.2. Небиологические примеры избирательности	363
Список литературы	366
Предметный указатель	392

ПРЕДИСЛОВИЕ К РУССКОМУ ИЗДАНИЮ

Книга А. Альберта «Избирательная токсичность» уже в течение многих лет пользуется популярностью во всем мире, о чем свидетельствуют выход седьмого ее издания и многократные дополнительные тиражи. Первое издание вышло в 1951 г. По мере развития науки и накопления фактического материала каждое последующее издание дополнялось и перерабатывалось автором. Настоящее седьмое издание включает ссылки на работы, опубликованные до сентября 1984 г. На русский язык были переведены первое (1953 г.) и четвертое (1971 г.) издания.

Основная задача книги — рассмотрение действия лекарственных веществ и основ лекарственной терапии с точки зрения концепции избирательной токсичности, заключающейся в том, что лекарственное вещество избирательного действия должно действовать только на один тип клеток (тканей или видов), не затрагивая другие. Мишенью действия такого вещества являются так называемые «вредные» клетки (ткани, виды), существование которых мешает нормальной жизнедеятельности организма.

Истоки концепции избирательной токсичности восходят к идее «магической пули» основателя химиотерапии П. Эрлиха. Поэтому не случайно ему и его исследованиям в книге посвящено много страниц.

В настоящее время, когда арсенал лекарственных препаратов постоянно пополняется новыми, врачу особенно необходимо знание основных принципов и механизмов их действия на всех уровнях — от клетки до целого организма. В книге А. Альберта механизмы действия лекарственных веществ, основы и принципы лекарственной терапии рассматриваются на молекулярном уровне. Поэтому не случаен и подзаголовок, появившийся в последних изданиях: «Физико-химическая основа терапии». Однако автор не ограничивается изложением только физико-химических основ действия лекарственных веществ, но и уделяет особое внимание преимуществам и недостаткам конкретных препаратов, особенностям их действия на организм больного.

Явление избирательной токсичности рассматривается им в общебиологическом плане как проявление сходства и различия в воздействии на жизнедеятельность разных форм жизни — низших и высших. Поэтому в книге речь идет не только о лекарственных препаратах, применяемых в медицине, но и о других применяемых человеком биологически активных веществах, проявляющих избирательность при действии на живую мате-

рию. К сожалению, во многих случаях как лекарственные вещества, так и пестициды не обладают достаточно высокой избирательностью действия, а, следовательно, могут поражать не только вредные клетки, ткани или организмы, против которых они направлены, но и полезные. Эта проблема очень остро стоит сейчас во всем мире как в связи с широким, зачастую неумеренным, употреблением лекарственных веществ, так и применением пестицидов или иных биологически активных соединений, постоянно загрязняющих окружающую среду. Так же как и при описании действия лекарственных веществ, при обсуждении механизмов действия различных пестицидов автор не ограничивается лишь теоретическими аспектами проблемы, но уделяет внимание и практическим деталям — наиболее безопасным способам применения, методам защиты человека и полезных видов от действия того или иного препарата.

В отечественной литературе нет монографии, подобной этой по охвату и широте изложения материала. Но многие вопросы, обсуждаемые в книге, неоднократно рассматривались советскими авторами в монографиях, обзорах, статьях. Среди монографий могут быть названы книги С. В. Аничкова «Избирательное действие медиаторных средств»; К. М. Лакина, Ю. Ф. Крылова «Биотрансформация лекарственных веществ»; «Биохимическая фармакология»; В. Е. Голендера и А. Б. Розенблита «Вычислительные методы конструирования лекарств» и другие, а также вышедшая в США на основе отечественного издания, но существенно расширенная монография V. Filov et al. «Quantitative Toxicology».

Книга А. Альберта удачно сочетает в себе черты фундаментального курса химии, биохимии и фармакологии лекарственных веществ и монографии и насыщена конкретным фактическим материалом. Во многих случаях она может служить ценным справочным пособием. Для удобства пользования книгой советскими читателями названия большинства лекарственных веществ даны в соответствии со справочником М. Д. Машковского «Лекарственные средства» (1987).

Надеемся, что перевод нового издания этой книги будет с интересом принят специалистами, работающими как в области практического здравоохранения, так и теоретической биологии, биохимии и медицины.

Л. Б. Пиотровский, В. А. Филов

ПРЕДИСЛОВИЕ К СЕДЬМОМУ ИЗДАНИЮ

Эта книга — о веществах, проявляющих избирательную токсичность, т. е. действующих только на определенный тип клеток и не повреждающих другие, даже соседние. Токсическое действие не всегда вызывает гибель клеток, оно может быть и обратимым, как, например, в случае общих анестетиков. Избирательной токсичностью обладают многие вещества: большинство лекарственных средств, применяемых в медицине или ветеринарии, а также все фунгициды, инсектициды и гербициды, используемые в сельском хозяйстве. Необходимо подчеркнуть, что в книге подробно рассмотрены физические и химические основы избирательности, представляющие, по сути дела, основу молекулярной фармакологии.

Данная работа написана на основе лекций, прочитанных мною в Лондоне в 1948—1949 гг. Первое издание книги появилось в 1951 г. и было невелико по объему, так как в то время наши знания о факторах, определяющих избирательную токсичность, были довольно скудными. Однако в последующие годы развитие этой области шло чрезвычайно быстро. Одной из причин этого были те ограничения на применение любого вещества, которые накладывает слово «токсичность», какой бы смысл не вкладывался в понятие «токсичность»! Кроме того, стали широко использоваться сильнодействующие биологически активные вещества, причем применение некоторых из них привело к тяжелым последствиям. Особое внимание общественности привлекли два события, произошедшие в начале 60-х годов. Во-первых, то, что применение седативного препарата талидомида беременными явилось причиной рождения более 10 000 детей с различными врожденными уродствами, несмотря на то что препарат считался достаточно хорошо исследованным. И во-вторых, было установлено, что неограниченное применение хлорированных инсектицидов загрязняет окружающую среду. Вследствие этого были приняты законы, регулирующие испытания и применение биологически активных веществ.

Стали ли мы после этого осторожнее? Следует ли соглашаться с существующей тенденцией к запрещению применения известных химических соединений из-за недостаточного знания их побочных и отдаленных эффектов? Трудно, но очень важно сохранять объективность и воздерживаться от окончательного решения о возможности применения того или иного вещества до окончательного выяснения его биологических свойств. Совершенно очевидно, что безопасное применение лекарственных

веществ и других агентов зависит от знания механизма их действия. Только в этом случае можно оценить приемлемый уровень риска. Другими словами, между преимуществами и степенью риска следует устанавливать разумный баланс. А для этого необходимо повышать уровень знаний и осведомленности в этой области.

Предыдущие издания «Избирательной токсичности» были переведены на немецкий, итальянский, японский и русский языки. Это новое издание, включающее в себя обзор литературы вплоть до сентября 1984 г., было тщательно переработано с тем, чтобы отразить последние достижения в рассматриваемой области. При сохранении общего плана построения книги сделано много важных дополнений. Это — новые разделы о веществах, влияющих на иммунные процессы, ингибиторах «переходного состояния» и ФАНИ (ферментативно-активируемые необратимые ингибиторы). Включены новые таксономические таблицы бактерий и протозоа, а также указатель 650 структурных формул, приведенных в тексте. Новая глава (17.4) должна помочь в поиске сведений о физических и биологических свойствах лекарственных веществ как в книгах, так и в машинных банках данных.

В число других тем, изложение которых было изменено и расширено, входят: природа рецепторов лекарственных веществ, включая и микрофотографию рецептора, эволюция идей о связи структура — активность, влияние конформационных и стерических факторов на действие лекарственных веществ, рецепторы ГАМК и бензодиазепины, наркотические вещества и опиатные рецепторы, катехоламины; химиотерапия, антипротозойные вещества, отличия в метаболизме пуринов и углеводов у протозоа и гельминтов, фунгициды и антигельминтные препараты, применяемые человеком, противовирусные и противоопухолевые вещества, хелатирующие агенты, используемые при лечении туберкулеза, онкологических и вирусных заболеваний, лекарственные вещества, ингибирующие синтез или функционирование нуклеиновых кислот, инсектициды, фунгициды, гербициды, резистентность к лекарственным веществам; классификация фармакодинамических лекарственных веществ, их предшественники и метаболизм, новые самоинактивирующиеся лекарственные вещества, фармакокинетика, диуретики, антиметаболиты (включая стереоскопические диаграммы взаимодействия ингибиторов с ферментами), блокаторы гистаминовых рецепторов, психотерапевтические вещества, блокаторы кальциевых каналов, регрессионные уравнения и использование ядерного магнитного резонанса для определения мест связывания вещества с рецептором.

Включена также важная информация об антибиотиках (особенно по производным блеомицина, доксоциклина, аминогликозидным и β -лактамным антибиотикам), о механизмах действия наркотических средств и анестетиков, терапии злокачественных

клеток, внутриклеточной архитектуре, биологической значимости различных типов связей, радиофармацевтических препаратах, тетрагидроканнабинолах, противовоспалительных средствах, бензодиазепанах, простагландинах, гормонах насекомых и феромонах, пиретроидах, применение нитросоединений в качестве лекарственных веществ, сердечных гликозидах и использовании системы Эванса и Сазерленда для наглядного представления взаимодействия лекарственного вещества с рецептором.

Надеюсь, что эта книга будет полезна для всех исследователей, работающих в пограничных областях химии и биологии. В качестве справочника по номенклатуре органических соединений можно рекомендовать книгу Jepson and Smith (1974), а по физиологии клеток — Howland (1973). Обзоры работ многих исследователей, занимавшихся созданием и изучением лекарственных веществ, можно найти в книге Holmsted, Liljestrand (1963).

В заключение я выражаю благодарность профессору Артуру П. Грольманну, руководителю отдела фармакологических наук, Университет штата Нью-Йорк, Стони-Брук, за постоянную поддержку; докторам Д. Ф. Уотерхаузу и Дж. Н. Филлипс за текущую информацию по инсектицидам, фунгицидам и гербицидам; и всем нижеперечисленным, кто прочел одну или несколько глав рукописи: профессору Р. Н. Уорренеру, докторам У. Л. Ф. Армарега, Д. Дж. Брауну, У. Д. Л. Кроу, Дж. А. Эликс, Н. С. Джиллу, Р. Дж. Пейсу, Я. Т. Пангу, Д. Д. Перрину, М. Расмуссену и Б. К. Зелингеру.

А. Альберт

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	— артериальное давление
АДФ	— аденозиндифосфат
АМФ	— аденозинмонофосфат
АТФ	— аденозинтрифосфат
АХ	— ацетилхолин
АХЭ	— ацетилхолинэстераза
Ацетил КоА	— ацетилкофермент А
ГАМК	— гамма-аминомасляная кислота
ГЭБ	— гематоэнцефалический барьер
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ДФР	— дигидрофолатредуктаза
КоА	— кофермент А
КОМТ	— катехоламинортометилтрансфераза
МАО	— моноаминоксидаза
НА	— норадреналин
НАД	— никотинамидаденин-динуклеотид
НАДН	— восстановленный никотинамидаденин-динуклеотид
НАДФ	— никотинамидаденин-динуклеотидфосфат
НАДФН	— восстановленный никотинамидаденин-динуклеотидфосфат
ОММ	— относительная молекулярная масса
ПАБ	— пара-аминобензойная кислота
ПМР	— протонный магнитный резонанс
РНК	— рибонуклеиновая кислота
СМЖ	— спинномозговая жидкость
УДФ	— уридиндифосфат
УТФ	— уридинтрифосфат
ФАНИ	— ферментативно-активируемый необратимый ингибитор
ЦНС	— центральная нервная система
ЭПР	— электронный парамагнитный резонанс
ЭР	— эндоплазматический ретикулум

Глава 1

ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ НА СЛУЖБЕ ЧЕЛОВЕКА

За миллионы лет эволюции органического мира в результате естественного отбора появилось множество малых высокоизбирательных молекул, обеспечивающих функционирование живой клетки. Примерами природных агонистов, регулирующих рост и деление клеток, служат витамины, коферменты, гормоны, нейромедиаторы, неорганические ионы, пигменты дыхания и фотосинтеза и другие соединения. Из всех природных агонистов можно особо выделить полизагетероциклы: а) аденозинтрифосфат (АТФ), обеспечивающий энергетические потребности клетки; б) пуриновые и пиримидиновые основания, входящие в состав дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и несущие всю закодированную информацию о жизнедеятельности, индивидуальной изменчивости и наследственности клеток; в) птеридины типа фолиевой кислоты, регулирующие биосинтез пуринов и пиримидинов.

Генерирование всех стимулов, необходимых для жизнедеятельности клеток и тканей, происходит при взаимодействии агонистов с комплементарными биополимерами.

1.0. Что такое избирательность?

Избирательность лекарственного вещества — это его способность воздействовать на клетки только одного определенного типа и не влиять на другие клетки, даже находящиеся в контакте с первыми. Избирательно действующих веществ известно уже немало. В медицине и ветеринарии они называются лекарственными препаратами, тогда как средства для уничтожения сорняков, насекомых или грибов в посевах — пестицидами. Принципы, лежащие в основе действия всех этих соединений, одинаковы, и поэтому в совокупности мы будем называть их биологически активными агентами или просто агентами. Большинство агентов, применяемых в медицине, по химической структуре не очень отличаются от природных веществ, так как действуют на одни и те же рецепторы. То, что написано в этой книге о лекарственных веществах, относится в равной мере ко всем агентам.

Используемые в медицине лекарственные вещества подразделяются на три группы: агонисты, антагонисты и препараты, применяемые для заместительной терапии. К последним относятся, в основном, витамины, гормоны и неорганические веще-

ства, восполняющие недостаток таковых в организме: например, инсулин при диабете, витамин В₁₂ при пернициозных анемиях, кальций во время беременности. Синтетические агонисты представляют собой модифицированные молекулы природных веществ, чаще всего гормонов или нейромедиаторов, и отличаются более длительным действием. Относительно небольшие изменения в структуре молекул природных веществ приводят к замедлению высвобождения, выведения или распада агониста, удлиняя время его воздействия (разд. 3.6, 9.4, 12.4, 12.6).

Большинство лекарственных средств относится ко второй группе — антагонистам — и представляет собой по сути дела ингибиторы природных агонистов. Создание антагонистов — это поиск веществ для борьбы с чужеродными организмами, подавления боли или коррекции нарушений биохимических процессов в больном организме. Токсичность антагонистов является их наиболее ценным свойством, поскольку в этом случае она служит на благо здоровья человека. Необходимо подчеркнуть, что токсичность лекарственного вещества обязательно должна быть избирательной, так как только в этом случае возможно эффективное воздействие на строго определенный тип клеток, не затрагивающее другие соседние клетки. Токсическое воздействие при этом может быть как обратимым, так и необратимым. Клетки, на которые направлено токсическое воздействие, мы будем для удобства называть вредными клетками, в противоположность другим, полезным, которые при этом остаются незатронутыми.

В химиотерапии целью токсического воздействия является уничтожение вредных клеток и эти два типа клеток могут относиться друг к другу как паразит и хозяин. В то же время фармакодинамика ставит перед собой задачу нормализации функционирования вредных клеток, поскольку вредные и полезные клетки входят в состав одного организма.

Многие антагонисты ранее ошибочно считались агонистами, настолько поразителен эффект их воздействия на человеческий организм. Так, этанол угнетает некоторые центры торможения в ЦНС, что приводит к неконтролируемому возбуждению. Это послужило основанием для отнесения этанола к стимуляторам (разд. 7.5.1 и 7.6.1), хотя фактически он является ингибитором. Аналогично действует на ЦНС и самый сильный из известных конвульсантов стрихнин.

Прекрасной иллюстрацией избирательной токсичности служит действие общих анестетиков. Эти лекарственные вещества тем ценнее, чем они токсичнее, при условии избирательного действия на ЦНС и полной обратимости токсического действия. Успех Мортонна, применившего в 1846 г. эфир в качестве средства для наркоза, послужил убедительным доказательством существования избирательной токсичности как явления. Существующие общие анестетики высокотоксичны для ЦНС и только в ничтожной степени — для других тканей, при этом их дейст-

вые исчезает сразу же после прекращения их поступления. Аналогично проявляется избирательная токсичность местных анестетиков, миорелаксантов, антагонистов гистамина и нейромедиаторов (с той лишь разницей, что действие этих веществ длительнее). Что касается противопаразитарных средств, то они должны щадить организм хозяина и одновременно оказывать на паразитов токсическое действие, предпочтительно необратимое.

Используемые в медицине агонисты и антагонисты в основном представляют собой синтетические, реже — природные вещества с низкой относительной молекулярной массой (ОММ), как правило, менее 500, за исключением вакцин и иммунных сывороток, ОММ которых больше. Природные соединения применяют вне тех естественных рамок, в которых они существуют в природе, как это происходит, например, с алкалоидами и антибиотиками.

В заместительной терапии особое внимание следует уделять дозам вводимых агентов, поскольку природные агонисты в избыточных количествах могут оказаться чрезвычайно токсичными. Так, избыток кальциферола (витамин D₂) вызывает рвоту, шелушение кожи и патологические изменения в печени. Известны случаи гибели детей даже от малых доз сульфата железа. Небольшой избыток тиреоидных гормонов вызывает мышечный тремор, а в результате введения адреналина (например, перед удалением зуба) возникают явления тахикардии. Токсические компоненты могут входить даже в продукты питания. Многовековой опыт, пробы и ошибки научили нас исключать из употребления остротоксичные виды продуктов. Однако порой токсический эффект мал и не столь очевиден и проявляется только при постоянном употреблении определенных продуктов в пищу, что заставляет исключать их из диеты. Хронические отравления могут вызывать гойтрогены кочанной и цветной капусты и судорожные алкалоиды бататов; пигмент ликопен, содержащийся в помидорах, повреждает печень; белок яиц вызывает истощение запасов биотина, фитиновая кислота в овсянке — депривацию кальция. (О токсических компонентах, входящих в продукты питания, см. National Academy of Science, 1973.)

Для борьбы с вредными организмами, помимо избирательно токсичных агентов, используют и биологические методы, например выведение полезных видов с целью создания более устойчивой к заболеваниям формы или поиск паразитов, специфически поражающих вредные виды. Так жуками *Castoblastis* в Австралии в 1930 г. был уничтожен кактус-опунция (эти жуки не поедают ничего, кроме опунции), заполонивший огромные площади пахотных земель. Таким же образом удалось приостановить распространение хрущика японского (*Popillice japonica*), угрожавшего в 1916 г. урожаю на Атлантическом побережье США. Для борьбы с этим жуком были использованы один из видов паразитических ос (*Tiphia vegnalis*), обитающих в Китае,

и бактерии *Bacillus popilliae*. Оба этих вида оказались совершенно безвредными для всех других представителей флоры и фауны. Для защиты деревьев от непарного шелкопряда в США применяют споры *Bacillus thuringiensis*; эти же самые бактерии изучаются экспертами ВОЗ с точки зрения возможного использования их для уничтожения комаров и мошек, переносчиков малярии и онхоцеркоза. Прекрасные результаты в борьбе с комарами дает также разведение пород рыб, поедающих личинки этих насекомых в стоячей воде (например, *Gambusia*) [WHO, 1971].

Резкое уменьшение поголовья кроликов в Австралии (1950) и Франции (1952) в результате заражения их вирусами миксоматоза — впечатляющий пример целенаправленного использования вирусов для биологического контроля. Однако применение вирусов в указанных целях небезопасно, так как связано с риском появления злокачественных генов в хромосомах не только животных, но и человека.

Особый метод биологической борьбы, воздействующий только на один вид живых организмов, — генетический метод, обычно заключающийся в стерилизации самцов или самок данной популяции насекомых, что приводит к резкому сокращению ее численности. Стерилизация проводится рентгеновским облучением или обработкой химическими веществами, избирательно подавляющими сперматогенез: как, например, тепа [трис-(азиридин-1-ил)фосфиноксид]. Например, для уничтожения личинок мясной мухи, одного из наиболее серьезных паразитов домашнего скота, была проведена стерилизация самцов. Направленный только на один вид живых организмов генетический метод безопасен для всех других видов, в то время как применение обычных биологических методов сопряжено с некоторой долей риска возможного воздействия на полезные виды. Тем не менее в документах ВОЗ указано, что: «Возможности генетических методов — дело будущего» [WHO, 1971]. О химических веществах стерилизующего типа действия см. Вогсовс (1976).

Наиболее успешные результаты получают при использовании биологических методов в сочетании с избирательными токсическими агентами. Примером такого комбинированного подхода может служить борьба с трипаносомами, возбудителями сонной болезни. Переносчиком этих паразитов является муха цеце. Поэтому в джунглях Африки районы ее обитания сначала обрабатывают дефолиантами, а затем на не защищенных листовых участках муху цеце уничтожают фосфорорганическими инсектицидами. Уничтожение насекомого-переносчика приводит к прерыванию жизненного цикла паразита. Аналогичным образом в районах с существующей опасностью распространения малярии регулярно обрабатывают инсектицидами дома и прилегающие к ним заболоченные участки, уничтожая комаров-переносчиков плазмодия — возбудителя малярии. Следует отметить, что эффективный метод борьбы с малярией — осушение

почвы. Для борьбы с бильгарциозом с успехом применяют обработку водоемов избирательно токсичными моллюскицидами, уничтожающими улиток — переносчиков ленточных червей, возбудителей бильгарциоза у людей. Принцип оздоровления среды путем уничтожения переносчика заболевания избирательно токсичными агентами считают основным не только в тропическом (см. вышеприведенные примеры), но и в любом климатическом поясе.

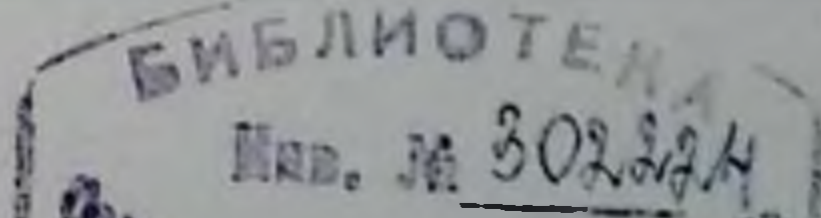
Постоянный бдительный контроль и своевременное уничтожение крыс и насекомых позволяют предупреждать распространение таких опасных заболеваний, как тиф (цепочка передачи: крыса — вошь — человек) и бубонная чума (крыса — блоха — человек).

Перспективным представляется также сочетание биологических и токсикологических методов: использование феромонов (природных половых аттрактантов) для приманки насекомых с последующим применением токсического агента для их уничтожения. Одновременно ведутся поиски репеллентов и веществ, отбивающих аппетит у насекомых.

1.1. Успехи применения избирательно токсичных агентов

Как показал в 1880 г. Le Chatelier, неотъемлемым свойством любой физической системы (даже простейшей из них — типа чашки с водой), является способность сопротивляться изменениям. При любом внешнем воздействии на систему, будь то нагрев или давление, равновесие этой системы сдвигается в сторону минимального изменения. Неудивительно поэтому, что и живые организмы ведут себя аналогичным образом в той мере, в какой им позволяет запас энергии. Гомеостаз живой клетки зачастую вполне успешно противостоит любому вмешательству человека. И это неудивительно, потому что даже простейшие организмы возникли задолго до появления человека, и за время существования в их геноме сконцентрировался такой объем информации, который позволяет им защитить себя почти от любых повреждающих воздействий. Скорее удивительно то, что во многих случаях человек научился влиять на патологические живые организмы, повреждать или даже уничтожать их и при этом не причинять вреда себе, что особенно важно применительно к избирательной токсичности.

Об успехах, достигнутых в борьбе с болезнями с помощью избирательно токсичных агентов, см. Двухгодичный отчет Генерального директора Всемирной ассамблеи здравоохранения и Организации Объединенных Наций [WHO, 1977, 1982]. В мае каждого четного года этот доклад выходит отдельным изданием или же входит в ежегодник «Работа ВОЗ». Резюме публикуется в ежемесячнике «Хроника ВОЗ».



1.1.1. Инфекционные болезни

Не вызывает сомнения то, что инфекционные болезни сокращают продолжительность жизни человека. В развитых странах, благодаря весьма успешному развитию химиотерапии, продолжительность жизни увеличилась, так как инфекционные болезни перестали быть основной причиной смерти людей. Однако в развивающихся странах ситуация остается неблагоприятной — продолжительность человеческой жизни невелика.

Для дальнейшего рассмотрения все инфекционные болезни можно разделить на 5 групп в соответствии с их возбудителями: простейшие, бактерии, вирусы, грибы и черви.

А. Протозойные инфекции. Простейшие (Protozoa) представляют собой одноклеточные организмы со сложным жизненным циклом. Возбудителями наиболее опасной из протозойных инфекций, малярии, являются различные виды рода *Plasmodium*. Ущерб, наносимый малярией, столь велик, что выдвигает ее на первое место среди всех известных заболеваний. ВОЗ считает важнейшей задачей полную ликвидацию малярии как массового заболевания. Для ее решения разработаны рекомендации по осушению болот и обработке жилищ с целью уничтожения разносчиков возбудителей малярии, постоянно ведутся работы по совершенствованию профилактических мер и методов лекарственной терапии этого заболевания.

Малярия — это хроническое заболевание, сопровождающееся гипохромной анемией и характеризующееся приступами лихорадки, иногда повторяющимися через день и значительно ослабляющими организм. Жизненный цикл паразита начинается в момент укуса больного малярией человека самкой комара. При этом с кровью больного в кишечник насекомого проникают гаметоциты. Там они проходят цикл полового размножения, в результате чего появляются спорозонты, проникающие в слюнные железы насекомого, а оттуда, при укусе, в кровь человека. Спорозонты размножаются в печени человека и дают потомство, мерозонты, которые внедряются в эритроциты. Там они созревают до шизонтов, разрушающих эритроциты и проникающих в кровотоки (цикл развития в эритроцитах занимает примерно 48 ч). Шизонты могут вновь внедряться в эритроциты, и цикл повторяется. Однако некоторые из них превращаются в гаметоциты, поэтому полного иммунитета к малярии не вырабатывается.

В Европе и США случаев заболевания малярией практически нет. Например, в Италии в 1919 г. от малярии умерло 8407 человек, а в период с 1948 г. — ни одного. По данным 1976 г., в результате осуществления всемирной программы ВОЗ по борьбе с малярией начиная с 40-х годов малярия ликвидирована в 20 странах. Более 436 млн человек избавлены от опасности заболевания малярией, еще для 1260 млн вероятность заболевания резко снижена. Однако и сейчас число больных маля-

рией достигает 200 млн человек, что связано с ослаблением контроля за распространением малярии в некоторых странах [Noguier et al., 1978]. По данным ВОЗ, от малярии ежегодно умирает около миллиона человек, и в силу некоторых причин, о которых речь пойдет ниже, эта цифра не уменьшается.

При организованном проведении всех возможных мероприятий по борьбе с малярией смертность от этого заболевания довольно низка (разд. 6.33, 19.3.5 — лекарственные вещества и 6.4.1 — инсектициды). Ситуация, однако, осложняется тем, что начиная с 1961 г. у одного из наиболее патогенных видов *Plasmodium falciparum* появились типы, устойчивые к действию основного противомаларийного препарата хингамина (явление резистентности к лекарственным веществам рассматривается в разд. 6.5). Кроме того, в районах Юго-Восточной Азии, Восточной Африки и в Южной Америке появились плазмодии, резистентные к основным профилактическим препаратам — хлоридину и циклогуанилу. Еще более настораживает развитие устойчивости у комаров к применяющимся инсектицидам. Все эти тревожные факты подчеркивают непрочность наших побед над болезнями и наряду с успешным применением известных противомаларийных средств указывают на необходимость поиска новых.

Кроме малярии, тяжелыми и опасными болезнями из протозойных инфекций могут быть трипаносомоз, лейшманиоз (в том числе и кала-азар) и амёбная дизентерия. В отличие от малярии, трипаносомоз встречается только в Африке и в Латинской Америке. Возбудителями острой и хронической форм африканского трипаносомоза у людей являются два подтипа трипаносом: *Trypanosoma brucei rhodesiense* и *T. brucei gambiense* соответственно. Третий подтип, *T. brucei brucei*, поражает крупный рогатый скот, нанося этим большой экономический ущерб. Жизненный цикл всех трех подтипов трипаносом начинается в организме мухи цеце (*Glossina*), куда они попадают с кровью млекопитающих. В желудке насекомого трипаносомы активно размножаются и образуют так называемые проциклические формы, продвигающиеся затем в слюнные железы. Здесь они превращаются в две метациклические формы и в таком виде существуют в организме млекопитающих. Цикл развития в организме мухи трипаносомы проходят за 20 дней. В организме человека или животного паразиты активно размножаются делением. Не так давно удалось научиться культивировать их в лабораторных условиях.

Различают острую форму заболевания, вызываемую родезийским подтипом паразита и в течение года приводящую к смерти больного, и хроническую, возбудителем которой является гамбийский подтип. При трипаносомозе поражается ЦНС, что приводит к мышечной слабости и возрастающей сонливости, поэтому это заболевание и получило название «сонной болезни». Около 45 млн человек болеют трипаносомозом, и от раз-

личных трипаносомных инфекций погибает огромное число животных: лошадей, коров, верблюдов и др. В связи с явной недостаточностью существующих в настоящее время средств для лечения и профилактики трипаносомозов ВОЗ активно поддерживает работы по поиску новых избирательно токсичных агентов для борьбы с этими заболеваниями, включая инсектициды и дефолианты. Однако экономические причины ограничивают эти исследования, и частота заболеваний остается по-прежнему высокой.

Еще один вид трипаносом (*T. cruzi*), распространенный в Южной и Центральной Америке от Мексики до Аргентины, вызывает трипаносомоз, известный под названием болезнь Шагаса. Ежегодно в мире регистрируется около 12 млн случаев заболевания. Переносчики — трианомовые (поцелуйные) клопы. Паразиты локализуются в сердечной мышце, способствуя развитию острой сердечной недостаточности. Болезнь поражает в основном детей и усугубляется недоеданием. Встречается она в основном в развивающихся странах.

Трипаносомоподобные паразиты *Leishmania* вызывают заболевание лейшманиоз. Человек заражается при укусе самки москитов. Различают висцеральный или общий лейшманиоз (кала-азар) и кожный лейшманиоз. Висцеральная форма распространена на юге и востоке Средиземноморья, на Ближнем Востоке и в Южной Аравии, в Индии, Китае, в Центральной и Южной Америке. Возбудитель заболевания размножается в печени, селезенке и костном мозге человека. При лейшманиозе развиваются анемия и истощение, часто приводящие к смерти. Число больных достигает 12 млн человек. Для лечения лейшманиоза применяют препараты, содержащие сурьму (разд. 4.4), при развитии резистентности их комбинируют с диамидинами (разд. 10.3.5).

Амебиаз — заболевание, возбудителем которого является *Entamoeba histolytica*. Единственный источник инфекции — человек. Заражение происходит при попадании одной из форм существования паразита — цист (около 10 микрон диаметром) в организм человека с пищей или водой. Зараженные люди — цистоносители. В толстом кишечнике цисты превращаются в трофозоиты (вегетативная форма). В стенках кишечника амеба быстро размножается и вызывает образование язв. В отличие от бактериальной дизентерии амебиаз носит, как правило, спорадический характер. Одно из наиболее частых осложнений — абсцессы печени. Для лечения успешно применяют метронидазол (разд. 6.3.3).

Организм человека обладает пониженным иммунитетом к протозойным инфекциям, поэтому особое значение для профилактики и лечения этих заболеваний приобретают избирательно токсичные агенты.

Б. Бактериальные инфекции. Успехи в борьбе с инфекционными заболеваниями наиболее ярко демонстрируют достижения

химиотерапии: в 30-е годы пневмония считалась одним из опаснейших заболеваний и часто приводила к смерти больных; очень широко был распространен туберкулез, трудно поддавались лечению бактериальные инфекции в хирургических клиниках. Например, при операциях на простате у пожилых людей практически неизбежными были инфекционные поражения мочевого пузыря, грозным осложнением любой полостной операции был перитонит, послеродовой сепсис нередко приводил к гибели матери, почти не поддавался лечению остеомиелит у детей и т. д. Возможность успешного лечения почти всех инфекционных заболеваний принесло с собой открытие и применение в медицинской практике таких химиотерапевтических средств, как сульфамиды, пенициллин, тетрациклины и изониазид. Их использование одновременно послужило залогом предотвращения эпидемий.

Однако полная победа над инфекционными заболеваниями еще впереди. В отличие от таких болезней, как скарлатина у детей, для лечения которой успешно применяется пенициллин, или тиф и паратиф, поддающиеся лечению левомицетином, существует целая группа инфекционных заболеваний, представляющих собой серьезную опасность. Это холера, трахома, проказа, туберкулез, бруцеллез, уретрит, трепонематоз. Низкий уровень гигиены и медицинского обслуживания в таких районах, как Индонезия, Северная Африка и полуостров Индостан является причиной вспышек холеры в этих районах. При современном уровне развития транспорта эпидемия может легко распространиться в любые точки земного шара. Эффективны при лечении холеры тетрациклин и внутривенное введение физиологического раствора. Трахома, инфекционное заболевание глаз, вызывается микроскопическими бактериями *Chlamydia*. ВОЗ считает трахому наиболее распространенной причиной потери зрения. В тропиках и субтропиках этой болезнью поражено около 400 млн человек.

Несмотря на то что при трахоме эффективно применение глазных капель с тетрациклином, успех при лечении невелик из-за повторных заражений, особенно в тех районах, где плохо налажена очистка воды. В тропической Азии и Африке, в Центральной и Южной Америке и на Дальнем Востоке насчитывается около 12 млн больных проказой, одной из самых страшных инфекционных болезней, калечащих человека. Из этих 12 млн далеко не все могут пройти многолетний курс медикаментозного лечения диафенилсульфоном (разд. 9.17) в сочетании с рифампицином (разд. 4.37).

Несмотря на успехи, достигнутые в профилактике и лечении туберкулеза, по данным ВОЗ, в мире выявлено около 7 млн больных при полумиллионной ежегодной смертности. Больных туберкулезом особенно много в Латинской Америке, Африке, Азии и в Западной части Тихого океана, т. е. в районах с низким уровнем развития здравоохранения.

Бруцеллез — типичный зооноз, т. е. заболевание, передающееся человеку от больных животных, распространен во всех странах мира. Люди заражаются им от домашнего скота (свиней, коров, овец и т. д.) при непосредственном контакте или употребляя в пищу сырое молоко от больных животных. Эффективным препаратом для лечения бруцеллеза является тетрациклин.

В развитых странах широко распространены заболевания уретритами, причем частота уретритов, вызываемых гонококками, уменьшается, а хламидиями — увеличивается. Примерно половина всех случаев заболеваний приходится на возрастную группу от 15 до 24 лет. Быстрое и безболезненное лечение отсутствует.

К трепонематозам относятся такие заболевания, как сифилис (примерно в 40 раз менее распространенный, чем уретриты) и фрамбезия. Частота заболеваний сифилисом слегка повышается, в то время как фрамбезия, которой болеют в основном дети в тропических странах, встречается все реже. Крохотные бактерии риккетсии вызывают сыпной тиф, почти не встречающийся в настоящее время, благодаря применению ДДТ и родентицидов. По данным ВОЗ, из всех зафиксированных случаев 95% приходится на две африканские страны: Эфиопию и Бурунди.

В. Вирусные заболевания. Краеугольный камень в борьбе со многими вирусными заболеваниями — иммунизация населения. Именно благодаря профилактической вакцинации, проведенной ВОЗ в мировом масштабе, в настоящее время ликвидировано одно из наиболее опасных вирусных заболеваний — черная оспа. Однако во многих случаях вакцинация оказывается совершенно бесполезной, а порой и невозможной. Многообещающими представляются успехи медицинской науки в области создания противовирусных лекарственных средств, в частности, в последние годы разработан препарат для лечения болезней, вызываемых вирусом герпеса (разд. 6.3.2). Широко ведется поиск избирательно токсичных агентов для лечения таких заболеваний, как гепатит, желтая лихорадка, бешенство, лихорадка Денге, свинка, грипп и простуды. Возможно, уже в ближайшем будущем в борьбе с вирусными заболеваниями будет достигнут такой же успех, каким в борьбе с бактериальными инфекциями было открытие в 1936 г. сульфаниламидов. Обзор по химиотерапии вирусных инфекций см. Same и Caligiuri (1982).

Г. Грибковые заболевания. Системные грибковые заболевания, иногда представляющие угрозу для жизни, встречаются сравнительно редко. В основном, эти заболевания вполне поддаются лечению химиотерапевтическими средствами. Известны также и высокоизбирательные лекарственные препараты для лечения широко распространенных местных грибковых поражений (разд. 6.3.4).

Д. Гельминтозы. Из группы заболеваний, относящихся к гельминтозам, наиболее серьезное — шистосомоз, по продолжительности и наносимому экономическому ущербу уступающий толь-

ко малярии. Возбудитель шистосомоза *Shistosoma mansoni* паразитирует в кровеносных сосудах кишечника, что приводит к раздражению и отеку кишечника, сопровождающихся приступами сильных болей. Еще более тяжелая форма заболевания вызывается *S. japonicum*, а возбудитель бильгарциоза *S. haematobium* поражает мочеполовую систему. К районам наибольшей распространенности бильгарциоза относятся Египет, Аравийский полуостров, Западная Африка, Китай, Бразилия, Венесуэла и страны Карибского моря.

Промежуточные хозяева шистосом — моллюски, окончательный хозяин — человек. Самки шистосом откладывают яйца в мелких кровеносных сосудах мочевого пузыря или кишечника, откуда они вместе с мочой или калом выделяются из организма. В воде из яиц выводятся личинки (мирацидии). Привлекаемые ионами Mg, выделяемыми пресноводными моллюсками, мирацидии проникают в печень последних. Именно в печени моллюсков происходит развитие и размножение паразита, которое завершается на стадии хвостатых личинок (церкарий), покидающих организм промежуточного хозяина и попадающих в воду. Церкарии попадают в организм человека через слизистые оболочки или через кожу при купании или работе в загрязненных водоемах. Антисанитарные условия, особенно связанные с недостатком воды, новые системы орошения, высокая плотность населения и его бедность способствуют распространению инфекции.

При шистосомозе иммунный ответ организма понижен или отсутствует вообще (это относится и к другим формам гельминтозов). Поэтому лечение шистосомоза требует применения эффективных избирательно токсичных агентов. В настоящее время уже создан ряд лекарственных препаратов такого типа (разд. 6.3.5). Существенный вклад в борьбу с шистосомозом вносит обработка зараженных водоемов моллюскицидами.

Филяриатоз вызывается гельминтами *Wuchereria*, попадающими в организм человека при укусе их комарами — переносчиками. Истинных размеров (10 см) филярии достигают только в лимфатической системе человека. Внедрение паразита вызывает аллергическое воспаление и механические повреждения тканей, приводящие в конечном итоге к слоновости ног. В тропических странах этим заболеванием поражено около 200 млн человек. Для профилактики и лечения филяриатоза применяют избирательно токсичный лекарственный препарат дитразин (6.35), для уничтожения комаров в профилактических целях используют пестициды.

В тропических районах Африки, на юге Аравии и Мексики, в Гватемале более 20 млн человек страдают от онхоцеркоза. В некоторых районах Западной и Центральной Африки этим заболеванием поражено все взрослое население, причем в 35% случаев болезнь приводит к слепоте. Возбудители онхоцеркоза — черви *Onchocerca*, переносчики — мухи. Профилактика и

лечение онхоцеркоза дитразином малоэффективны, других препаратов для лечения этого заболевания нет. Эффективной мерой борьбы с онхоцеркозом может быть применение инсектицидов.

Анкилостомидозы вызываются паразитированием в кишечнике человека круглых червей *Necator* и *Anchylostoma*, относящихся к нематодам. Это заболевание широко распространено в странах с тропическим и субтропическим климатом, особенно в Африке, Америке и на Дальнем Востоке. Возбудитель — круглый червь длиной около 1 см, имеет сложный жизненный цикл. Взрослые анкилостомиды паразитируют в тонком кишечнике. Отложенные самками яйца вместе с испражнениями попадают в почву, где в благоприятных условиях (тепло и влажность) из яиц формируются личинки. Личинки попадают в организм через кожу, по кровяному руслу проникают в легочные капилляры, затем через бронхи и ротовую полость попадают в кишечник. В кишечнике личинки развиваются в половозрелых паразитов, которые присасываются к слизистой оболочке тонкого кишечника. Питаются анкилостомиды кровью. В мире насчитывается около 600 млн больных, пораженных анкилостомидозом, в основном это дети. Наиболее эффективен для лечения тетрахлорэтилен (разд. 6.3.5).

Около 1000 млн человек в мире являются носителями гельминтов, паразитирующих в кишечнике (в основном это виды *Ascaris*, *Enterobius*, *Trichuris* и *Taenia saginata* (бычий цепень). Для борьбы со всеми этими видами гельминтов существуют избирательные антигельминтные препараты (разд. 6.3.5).

В теплых странах распространены и другие заболевания, вызываемые ленточными червями, но они гораздо труднее поддаются лечению. Это трихинеллез, заражение которым возможно при употреблении в пищу мяса зараженных свиней, и эхинококкоз, заболевание, которое передается к человеку по цепочке: овца — собака — человек. Достаточно эффективных препаратов для лечения этих заболеваний пока нет.

Гельминтозы наносят большой ущерб и животноводству. Несмотря на то что в арсенале избирательных токсических агентов есть препараты антигельминтного действия (разд. 6.3.5), высокая стоимость лечения осложняет борьбу с гельминтозами.

1.1.2. Экономические факторы

Как уже неоднократно указывалось выше, для борьбы со многими инфекционными заболеваниями первостепенное значение имеют вопросы гигиены. К сожалению, в настоящее время три четверти населения земного шара живет в условиях, не обеспечивающих обеззараживания и очистки воды. В 1980 г. под эгидой ООН начаты работы по осуществлению программы обеспечения населения земли чистой водой к 1990 г.

Распространенность заболеваний в слаборазвитых странах во многом связана с недоеданием населения. По данным ФАО (1979 г.), более 400 млн человек в мире недоедают, причем даже к 2000 г. в мире будет голодать около 250 млн человек. Для решения продовольственной программы большое значение приобретает поиск средств для защиты урожаев (разд. 6.4).

Однако для борьбы с инфекционными заболеваниями решающими остаются избирательно токсичные агенты. По данным ВОЗ 1976 г., необходимы новые химиотерапевтические препараты против малярии, трипаносомоза, проказы, шистосомоза, лейшманиоза, филяриатоза, особенно в связи с возникновением устойчивых к старым препаратам форм паразитов.

1.1.3. Неинфекционные болезни

Если в развивающихся странах распространены преимущественно инфекционные болезни, для лечения которых требуются химиотерапевтические препараты, то в развитых странах распространены главным образом заболевания, связанные с нарушениями обмена и, следовательно, для их лечения нужны фармакодинамические препараты. В развитых странах в 70% случаев люди умирают от сердечно-сосудистых заболеваний и рака. Психические расстройства и ревматические заболевания являются основной причиной нетрудоспособности. Болезнями цивилизации можно назвать ишемическую болезнь сердца, рак кишечника, диабет, желчнокаменную болезнь и ожирение. Для лечения всех этих заболеваний в распоряжении врачей имеются различные фармакодинамические препараты, но поиск новых более активных лекарственных веществ продолжается.

Возможности, представляемые применением фармакодинамических агентов, необычайно широки. К фармакодинамическим агентам относятся различные по силе и типу действия обезболивающие средства, снотворные вещества и психостимуляторы, противосудорожные препараты и вещества, вызывающие судороги. Применяя фармакодинамические избирательно токсичные соединения, можно регулировать температуру тела, контролировать активность симпатической и парасимпатической нервной системы, скорость основных процессов метаболизма, свертываемость крови, воздействовать на сократительную способность различных мышц (в том числе миокард), на функции эндокринной системы, блокировать повышенную секрецию гистамина, вызывающую появление многих неприятных симптомов.

Медикаментозная терапия широко применяется и для лечения психических заболеваний. Применение психотерапевтических средств уже принесло свои плоды, и многие больные, считавшиеся ранее неизлечимыми, вернулись к полноценной жизни. Будущие возможности применения психотерапевтических средств кажутся неограниченными. Подробнее о лекарственных веществах для лечения этих заболеваний см. разд. 12.9.

Собирательное название «рак» относится к огромной группе заболеваний (около 200), характеризующихся патологическим разрастанием тканей, состоящих из качественно изменившихся клеток. Раковые заболевания делятся на два основных типа: а) солидные опухоли и б) лейкозы и лимфомы. В развитых странах к смертельному исходу чаще всего приводят рак легких и кишечника у мужчин и рак молочной железы у женщин. Химиотерапевтические средства для лечения раковых заболеваний начали применять в 1942 г.

Большое внимание привлекли успехи лекарственной терапии в лечении лейкозов у молодых, так как они дали толчок к развитию химиотерапии злокачественных новообразований. В отличие от взрослых у детей чаще всего встречается острый (97%) и лимфоцитарный лейкоз (5 из 6 случаев). Поэтому до открытия избирательно токсичных препаратов такие больные обычно погибали в течение 3 мес. Но с 1948 г. в связи с развитием химиотерапии это положение коренным образом изменилось. С 1960 г. по настоящее время число больных, живущих более 5 лет, увеличилось с 5 до 50%, предполагают, что многие из них полностью излечились.

По данным Американского онкологического общества США, при населении страны 220 млн человек ежегодно регистрируются около 800 000 случаев раковых заболеваний и, кроме этого, 400 000 случаев легкоизлечимого рака кожи [American Cancer Society, 1983]. В настоящее время существуют доказательства того, что некоторые формы рака имеют вирусное происхождение. Применение современных методов лечения может гарантировать излечение в 40% случаев, при этом только химиотерапия обеспечивает выздоровление в 5% случаев, остальные приходится на долю сочетанного использования хирургического вмешательства, лучевой и химиотерапии. В 1982 г. в Америке от рака умерло 431 000 человек, при ранней диагностике и своевременном лечении многие из них могли бы быть спасены.

Развитие многих солидных опухолей начинается в эпителии кожи, желудка, кишечника, молочной железы, мочевого пузыря, легких или матки. На поздней стадии заболевания, при отсутствии необходимого лечения более 50% злокачественных опухолей у человека могут давать метастазы. В отличие от скальпеля хирурга и луча радиотерапевта лекарственные вещества могут уничтожить злокачественные клетки в любой точке организма. Поэтому, если ранее химиотерапия применялась только в самых крайних случаях, сейчас ситуация изменилась, и к медикаментозному лечению приступают сразу же после оперативного удаления опухоли и лучевой терапии.

Существуют некоторые формы рака, излечения которых удается достичь, применяя только методы химиотерапии. Это, например, хориокарцинома — опухоль матки, обычно появляющаяся при беременности. Раньше уровень смертности при этом

заболевании достигал 90%, а теперь, благодаря лечению избирательно токсичными агентами, в 90% случаев наступает полное выздоровление. Это и лимфома Беркитта у детей, опухоли семенников и яичников, рак костей (включая рабдомиосаркому, саркому Юинга и остеогенную саркому), злокачественный гистиоцитоз, гигантофолликулярная лимфома и миелогенный лейкоз взрослых.

При лечении рака эффективным оказывается и совместное использование разных методов лечения. Так, при лимфогранулематозе (болезнь Ходжкина) применение химиотерапии после облучения приводит к выздоровлению в 90% случаев (на ранней стадии) и в 70% случаев далеко зашедших форм заболевания. Лечение химиотерапевтическими агентами после хирургического вмешательства дает прекрасные результаты при меланоме. При опухолях почек у детей (опухоль Вильмса) совместное применение после операции лучевой и химиотерапии приводит к выздоровлению в 90% случаев. При ранней диагностике рака молочной железы 87% больных выздоравливают, однако при далеко зашедших формах эта цифра падает до 47%. Около 20% таких больных удается вылечить с помощью гормональных препаратов, еще в 48% случаев успех приносит применение антиметаболитов.

Безусловно, бывают случаи, когда хирургическое вмешательство оказывается основным методом лечения.

По оценке ВОЗ в мире ежегодно заболевают раком около 5 млн человек, при населении Земли, равном 4 млрд.

В клинической практике в настоящее время применяют примерно 50 противоопухолевых препаратов (разд. 5.1, 6.3.6 и 13.4), а некоторые новые перспективные средства проходят клинические испытания. Лечение солидных злокачественных опухолей, ранее считавшихся плохо поддающимися лечению, успешно осуществляется такими препаратами, как блеомицин, амсакрин, ауриамицин, циклофосфан и алкилнитрозомочевина, а также высокими дозами метотрексата в сочетании с цитроворином. Однако в целом химиотерапию рака можно назвать «терапией на грани риска», потому что существующие противоопухолевые препараты не обладают той необходимой степенью избирательности, которая уже стала нормой для лекарственных средств другого типа действия.

При поиске противоопухолевых лекарственных веществ основное внимание уделяется отбору наиболее токсичных, избирательно повреждающих данную опухоль соединений. Однако в противоопухолевой терапии в некоторых случаях оптимальные результаты дает применение смеси препаратов различного типа, когда каждое из составляющих содержится в минимальных дозах, что снижает общее токсическое действие, благодаря чему больные легче переносят химиотерапию.

Более подробно о противоопухолевой терапии см. Carter и сотр. (1981).

1.1.4. Клинические исследования

Каждый этап создания новых лекарственных препаратов следует тщательно анализировать с точки зрения экономики, поскольку любое дополнительное фармакологическое исследование повышает их стоимость [Cavalla, 1981]. После того как в экспериментах на двух видах лабораторных животных установлены специфическая активность и безвредность нового вещества, всю дальнейшую информацию можно получить только после испытаний на людях. Многие вещества, показавшие высокую специфическую активность в экспериментах на животных, по целому ряду причин оказались в дальнейшем непригодными для клиники из-за кратковременности действия, плохой всасываемости из кишечника или серьезных побочных эффектов, которые в эксперименте на животных не обнаруживались. И наоборот, весьма часты случаи, когда после клинических испытаний в медицинскую практику входило соединение, которое в экспериментах на животных не было самым активным.

При испытаниях на разных видах животных не всегда удается проследить корреляцию между дозой и активностью препарата, однако с активностью хорошо коррелируется уровень содержания вещества в крови. Поэтому первой задачей клинических исследований должно быть установление дозы, обеспечивающей тот же уровень лекарственного вещества в крови человека, при котором был достигнут лечебный эффект на животных. Целесообразно первые клинические испытания проводить на здоровых добровольцах. На основании фармакокинетических данных, полученных у них после выполнения необходимых анализов крови и мочи (разд. 3.7), можно рассчитать эффективную безопасную дозу лекарственного вещества.

Следующей стадией, при условии явных преимуществ нового лекарственного вещества перед уже имеющимися препаратами, должны быть клинические испытания. При этом обязательно используются такие общепринятые приемы, как применение плацебо и перекрестные тесты. При проведении клинических исследований, если испытание нового лекарственного вещества сопряжено хотя бы с малой степенью риска, следует получить максимально возможную информацию и использовать данные, полученные на патологоанатомическом материале, биоптатах тканей или на культуре ткани. Безусловно, наиболее достоверные данные можно получить при клинических исследованиях, но эти испытания должны проводиться в строгом соответствии с этическими требованиями, установленными декларацией, принятой в Хельсинки в 1964 г. Всемирной медицинской ассоциацией.

Небезынтересно подсчитать, какое количество избирательно токсичных агентов используется в настоящее время. По данным FDA в США в 1981 г. применялось более 4000 лекарственных веществ, а количество используемых пестицидов, согласно дан-

ным Агентства по охране окружающей среды, равнялось 15 000. Справочники и банки данных по биологически активным соединениям приведены в разд. 17.4.

1.2. Физическая основа избирательности: три фактора

Существуют три основных фактора, определяющие возможность проявления избирательной токсичности биологически активным веществом. Соединение может, во-первых, избирательно накапливаться во вредных клетках, во-вторых, вмешиваться в химические процессы, важные для вредных (но не полезных) клеток, и, в-третьих, взаимодействовать с цитологическими структурами, существующими только во вредных клетках. Избирательность действия токсического агента может определяться двумя или даже тремя факторами, но лимитирующим всегда является один из них.

А. Избирательность действия, обусловленная преимущественным накоплением вещества, может быть вызвана морфологическими особенностями. Например, сильная опушенность сорняков по сравнению с культурными злаками или относительно большая (в расчете на единицу веса) уязвимая поверхность тела насекомых по сравнению с млекопитающими приводит к большей площади контакта распыляемого агента с вредным видом. В ряде других случаев избирательное накопление осуществляется по более сложным механизмам (см. главу 3).

Б. Избирательность, обусловленная биохимическими различиями. Если считать, что у всех живых существ, будь то животные, растения или микробы, биохимические процессы протекают одинаково, то биохимия не предоставляет возможности для проявления избирательной токсичности. Отметим некоторые из важнейших особенностей универсальной и фундаментальной биохимической основы организмов. Первичной единицей жизни во всех ее проявлениях служит клетка (даже вирусы паразитируют в клетках, обеспечивая себе питание и размножение). Все виды живого содержат нуклеиновую кислоту, в которой закодирована генетическая информация о функциях данного организма. Далее известно, что такие вещества, как колхицин, нарушают митоз у всех организмов на одной и той же стадии. Это свидетельствует об универсальности биохимического механизма клеточного деления. Точно так же одинаково протекают во всех клетках катаболические процессы, а также процессы гликолиза у таких низших форм живого, как, например, дрожжи, и в столь высокоорганизованных структурах, как мышечная ткань или печень человека. Это с исчерпывающей полнотой было показано в экспериментах с применением ингибиторов при выделении и идентификации ферментов и промежуточных продуктов. Далее, аденозинтрифосфат служит универсальной «валютой» в энергетическом обмене: с помощью АТФ во всех клетках осуществляется перенос энергии между разными процессами

ми метаболического цикла. Такие витамины, как тиамин, рибофлавин и никотинамид, во всех живых клетках входят в состав коферментов.

Однако, каким бы поразительным ни казалось это сходство, тот факт, что все виды живого отличаются друг от друга по внешнему виду и функционируют по-разному, свидетельствует о наличии четких биохимических различий между ними. Более того, даже в разных тканях одного организма биохимические процессы протекают неодинаково. Вопросы, связывающие явление избирательности с биохимическими различиями, обсуждаются в главе 4.

В. Цитологические различия как основа избирательности. Известно, что строение клеток у животных и растений различно. Так, например, у растений нет нервной системы и мышечных клеток, которые есть у животных, зато имеются клеточная стенка и механизм, осуществляющий фотосинтез. Применение метода электронной микроскопии дало возможность установить, что клетки состоят из компонентов (клеточных органелл), у которых видовые различия выражены очень четко. Кроме того, отличаются между собой и клетки разных тканей одного и того же организма. Вопрос о том, как цитологические различия определяют избирательность действия токсических агентов, рассмотрен в главе 5.

Ниже приведена (в очень сжатом виде) филогенетическая классификация животных и растений, от простейших до высших. Существуют и другие таксономические системы. Термин «высшие животные» обычно относят к беспозвоночным, а «высшие растения» — к сперматофитам, но следует иметь в виду, что многие из физиологических особенностей этих высших форм уже вполне развиты у организмов, занимающих на эволюционной шкале низшие места. Все вышесказанное относится к эукариотам, т. е. организмам, обладающим оформленным клеточным ядром.

Извлечение из систематики животных

Подцарство 1: Простейшие

Одноклеточные животные: подразделяются на инфузорий (например, *Paramecium*), жгутиковых (например, *Trypanosoma*), споровиков (например, *Plasmodium*) и амёб.

Подцарство 2: Губки

Многоклеточные животные без нервной системы (например, губки).

Подцарство 3: Многоклеточные

А. Кишечнополостные (например, гидры)

Б. Плоские черви (плоские черви, редко сегментированные)

(а) *Cestodes* (ленточные черви, например, *Taenia*, *Echinococcus*)

(б) *Trematodes* (например, *Schistosoma*, *Fasciola*)

В. Нематоды (круглые черви, несегментированные, например, *Ascaris*, *Nippostrongylus*, *Haemonchus*, *Litomosoides*, *Wuchereria*, *Trichuris*).

Г. Кольчатые черви (типично сегментированные черви)

(а) *Polychaeta* (например, пескожилы)

(б) *Oligochaeta* (например, земляные черви)

- (в) Hirudinea (например, пиявки)
- Д. Моллюски, или мягкотелые
 - (а) Gastropoda (например, улитки, слизни)
 - (б) Lamellibranchia (например, двустворчатые моллюски)
 - (в) Cephalopoda (например, осьминоги)
- Е. Членистоногие
 - (а) Crustacea (например, крабы, усоногие раки)
 - (б) Insecta (например, мухи, вши, блохи, жуки, тараканы)
 - (в) Arachnida (например, пауки, клещи, иксодовые клещи)
- Ж. Иглокожие (пятилучевые животные, например, морские звезды, морские ежи, Arbacia, Echinus)
- З. Хордовые
 - (а) Urochordata (например, асцидии-оболочники, асцидии)
 - (б) Craniata (позвоночные)
 - (i) Pisces (рыбы)
 - (ii) Amphibia (например, лягушки)
 - (iii) Reptilia (например, черепахи, ящерицы)
 - (iv) Aves (птицы)
 - (v) Mammalia (в том числе человек)

Извлечение из систематики растений

- А. Rhycophyta (зеленые, коричневые и красные водоросли)
- Б. Mycophyta (грибы)
- В. Bryophyta (мхи, печеночники)
- Г. Pteridophyta (папоротники, плауны)
- Д. Spermatophyta (семенные растения)
 - Gymnospermae (хвойные)
 - Angiospermae (цветковые растения)
 - Monocotyledons
 - Dicotyledons

Ниже приведена классификация прокариот, менее сложных организмов, не обладающих в отличие от эукариот клеточным ядром и имеющих только отдельные хромосомы. В этой классификации, взятой из руководства Manual of Determinative Bacteriology [Bergey, 1974], определяющим признаком служит способность бактерий к окрашиванию по Граму¹ (вероятно, по мере накопления информации по биохимии и генетике бактерий, классификация их будет изменяться).

Извлечение из систематики прокариот [Bergey, 1974]

1. Цианобактерии (ботаническое название «сине-зеленые водоросли», аэробные фотосинтезирующие)
2. Фототрофные бактерии (анаэробные фотосинтезирующие)
3. Бактерии, образующие чехлы
4. Почкующиеся бактерии
5. Спирохеты (быстро передвигающиеся, например, Треропета)
6. Спиралевидные бактерии (например, Vibrio)

¹ Открыта датским бактериологом К. Грамом в 1884 г. К грамположительным относятся бактерии, окрашивающиеся в пурпурный цвет основным красителем кристаллическим фиолетовым, применяемым в виде комплекса с йодом в этаноле.

7. Грамотрицательные палочки, факультативные анаэробы (например, *Escherichia*, *Salmonella*)
8. Грамотрицательные аэробные палочки (например, *Brucella*)
9. Грамотрицательные аэробные кокки (например, *Neisseria*)
10. Грамотрицательные палочки, анаэробы
11. Грамотрицательные анаэробные кокки
12. Грамотрицательные хемолитотрофные бактерии (окислители неорганических веществ)
13. Метанообразующие бактерии
14. Грамположительные кокки (например, *Staphylococcus*)
15. Грамположительные спорообразующие палочки и кокки (например, *Clostridium*, анаэробы)
16. Грамположительные палочковидные бактерии (например, *Lactobacillus*)
17. Актиномицеты (грамположительные палочки с тенденцией к разветвлению, например, *Mycobacterium*, *Corynebacterium* и *Streptomyces*, источник получения многих антибиотиков)
18. Риккетсии (маленькие внутриклеточные бактерии, например, *Rickettsia*, *Chlamydia*)
19. Микоплазмы (не имеющие клеточной стенки; плазматическая мембрана содержит стероиды, не содержащиеся в других бактериях)

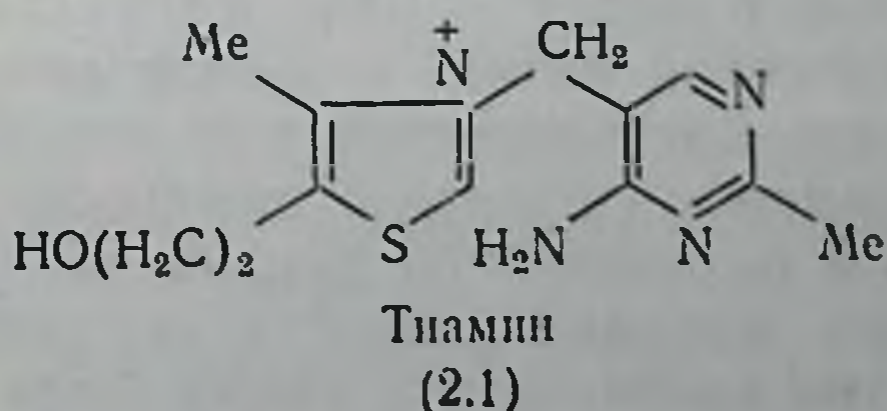
Вирусы представляют собой простейшую форму живого, чрезвычайно далекую от всех остальных форм: они не существуют в форме клеток и не имеют собственного метаболизма (разд. 5.5).

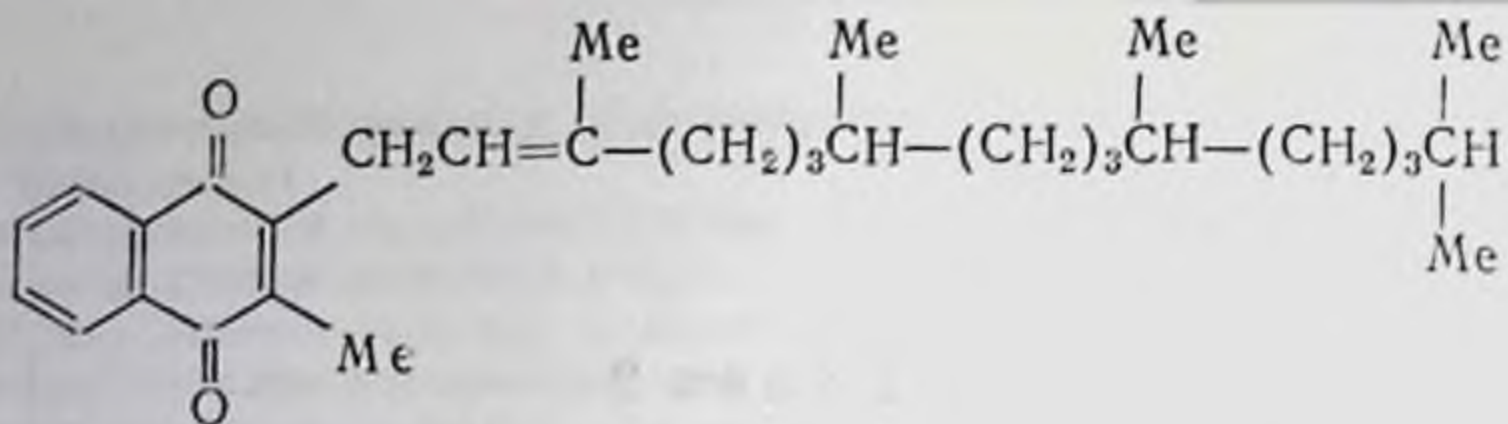
Глава 2

ЭТАПЫ УСТАНОВЛЕНИЯ КОРРЕЛЯЦИИ СТРУКТУРЫ И БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

О трех основных факторах, определяющих избирательность действия агентов на вредные клетки, кратко рассказано в конце главы. Прежде чем перейти к более глубокому анализу этих факторов следует рассмотреть влияние вещества на живую материю и источники биологической активности чужеродных молекул, так как эта активность фактически и есть та сила, которую, применяя принципы избирательности, можно заставить служить человеку. «Чересчур токсичный», на первый взгляд, препарат, может быть, просто недостаточно избирателен. Поэтому следует не просто стремиться уничтожить токсичность (так как при этом активность может исчезнуть вообще), а разумно изменять структуру молекулы таким образом, чтобы повысить избирательность его действия.

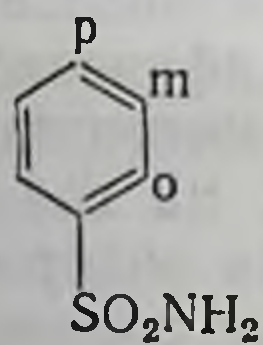
При любых исследованиях корреляций между структурой и биологической активностью принципиально важно знать, что в каждом организме активность медиаторов и коферментов существенно зависит от мелких деталей химической структуры, изменение которых приводит к потере специфического биологического эффекта или его радикальному изменению. Например, активность тиамин (2.1) в экспериментах на голубях снижалась до 5% при замене метильного радикала водородом в пиримидиновом цикле и до $<1\%$ при такой же замене в тиазольном цикле [Schultz, 1940]. При введении дополнительной метильной группы в тиазольный цикл (между атомами азота и серы) активность тиамин пропадала совсем [Bergel, Todd, 1937]. Безусловно, биологическую активность молекул определяют не только боковые цепи. Например, длинную алифатическую боковую цепь в положении 3 молекулы витамина K_1 можно заменить водородом без всякого ущерба для основного биологического действия этого витамина. Очевидно, что в данном случае боковая цепь не содержит атомов, отвечающих за адсорбцию витамина.



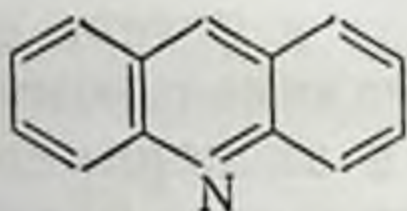


Витамин К₁
(2.2)

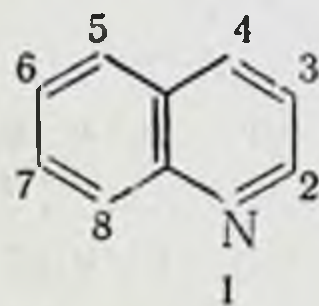
Аналогичная зависимость биологической активности от структуры фрагментов обнаруживается и у синтетических препаратов. В молекуле бензолсульфамида (2.3) аминогруппу можно ввести в три различные положения. В двух случаях это приводит к неактивным соединениям, в третьем — к обладающему высокой антибактериальной активностью сульфаниламиду (стрептоцид). В молекуле акридина (2.4) аминогруппу можно ввести в пять различных положений. В трех случаях получаются практически неактивные аминоакридины, в остальных — мощные антибактериальные препараты. При введении в различные положения молекулы хинолина (2.5) гидроксильной группы из семи изомеров шесть абсолютно неактивны биологически и лишь один обладает сильной антибактериальной и фунгицидной активностью. Еще одной иллюстрацией зависимости биологического действия от тонкой структуры химических соединений служат существенные различия биологической активности оптических изомеров (разд. 2.1).



Бензолсульфамид
(2.3)



Акридин
(2.4)

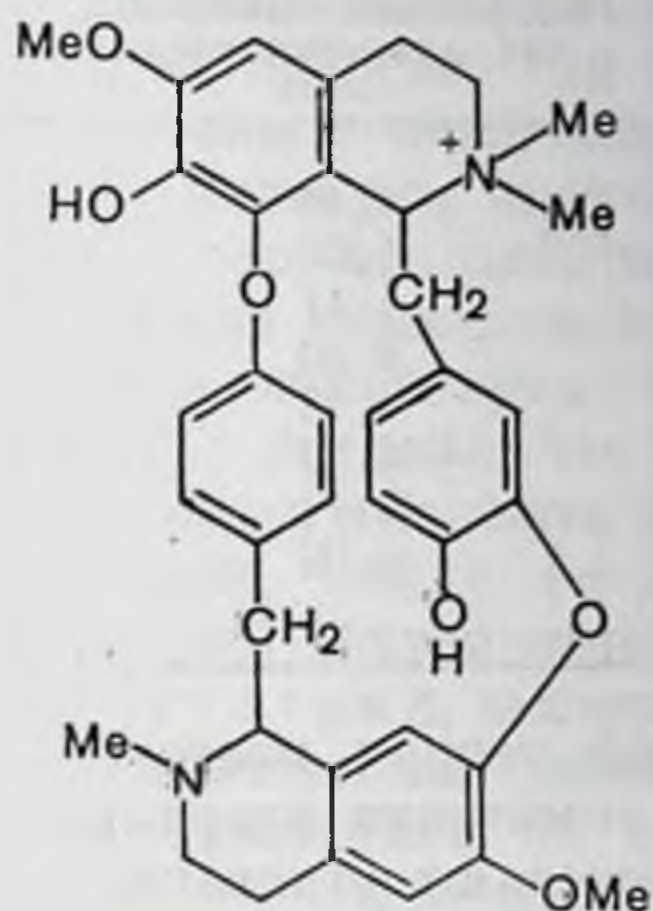


Хинолин
(2.5)

2.0. Самые ранние корреляции

Во времена Возрождения Парацельс (1493—1541) учил: «Все вещества — яды, и нет ни одного, которое не было бы ядом. Только правильная дозировка отделяет яд от лекарства». Эта несколько нигилистская точка зрения стала медленно меняться в ходе научных наблюдений и умозаключений лишь в XIX в. Так, в 1848 г. Blake (США) высказал предположение о том, что биологическая активность соли определяется ее основным или кислотным компонентом, а не солью в целом. В нитрате свинца, например, он считал отравляющим началом свинцовый компонент, а не ацетатную или нитратную часть, а токсичность арсенидов натрия, калия и кальция — арсенидной частью солей. По тем временам эта мысль была смелой, так как

лишь в 1884 г. Arrhenius предложил свою теорию электролитической диссоциации, а именно: растворенные в воде соли диссоциируют на противоположно заряженные ионы.



Тубокурарин
(2.6)

В 1869 г. Brown и Fraser показали, что некоторые алкалоиды, в том числе конвульсанты, теряют свое характерное фармакологическое действие и превращаются в миорелаксанты, когда третичный атом азота в их молекуле при метилировании становится четвертичным. Это простое химическое изменение фактически превращало стрихнин, бруцин, кодеин, морфин, тебанин, никотин, атропин и копинин в вещества с биологическими свойствами алкалоида тубокурарина (2.6), являющегося четвертичным амином. Как уже было продемонстрировано к тому времени Клодом Бернаром (1856), действие этого алкалоида локализуется на уровне нервно-мышечного соединения.

Установление наличия простой связи между строением и биологическими свойствами положило начало поиску других химических групп или ядер (циклических систем), ответственных за данное фармакологическое действие, но к 1910 г. добавилось лишь лечение сифилиса некоторыми органическими соединениями мышьяка. Никаких других примеров связи фармакологического эффекта с определенными химическими группами обнаружить не удалось. Объяснение корреляции С. Brown появилось лишь в нашем веке после развития идей о рецепторах лекарственных веществ и открытия некоторых аналогичных явлений в химии ферментов.

Основой для современного понимания связи структура — активность послужили теория рецепторов и успехи в исследовании физических свойств веществ. Особенно плодотворным оказалось сочетание этих двух подходов, считавшихся ранее конкурирующими.

Таблица 2.1. Корреляция коэффициента распределения (липид/вода) и биологического торможения (снижение подвижности головастиков) [Meyer, 1899; Baum, 1899]

Соединение	Коэффициент распределения, оливковое масло — вода	Минимальная действующая концентрация, моль/л (вода)
Трионал	4,46	0,0018
Бутилхлоралгидрат	1,59	0,0020
Сульфонал	1,11	0,0060
Триацетин	0,30	0,010
Диацетин	0,23	0,015
Хлоралгидрат	0,22	0,020
Этилуретан	0,14	0,040
Монацетин	0,06	0,050

Согласно «липидной теории клеточной депрессии» [Meyer, 1899; Overton, 1901], химически инертные вещества самой различной структуры оказывают угнетающее действие на клетки, богатые липидами, особенно на клетки центральной нервной системы, и воздействие депрессанта тем больше, чем выше коэффициент распределения (между каким-либо липофильным растворителем и водой). Для того чтобы эта формулировка согласовывалась с современными представлениями, после слов «коэффициент распределения» ее следует дополнить словами «вплоть до момента исчезновения гидрофильности вещества». Overton, Meyer учитывали, что клетки центральной нервной системы особенно богаты липидами (разд. 15.0). В табл. 2.1 представлены результаты первых исследований (более поздние данные см. в табл. 15.2).

Депрессантами могут быть углеводороды, галогенированные углеводороды, спирты, эфиры, кетоны, слабые кислоты (типа барбитуратов), слабые основания или сульфоны. Все они представляют собой избирательно токсичные вещества и применяются в медицине в качестве снотворных и общих анестетиков. Это единственный вид биологического действия, не зависящий от структуры вещества (см. главу 15). Роль эффекта распределения в обеспечении избирательности действия лекарственных препаратов рассмотрена в разд. 3.3.

2.1. Концепция «рецепторов», рецептор как часть фермента, пермеазы или другого белка

Доказательством того, что лекарственные вещества взаимодействуют со специфическими участками, называемыми рецепторами, является, во-первых, высокое разбавление, при котором многие лекарственные вещества сохраняют свою активность (иногда до 10^{-9} М), что свидетельствует о комплементарности определенной части клеточной структуры и лекарственного препарата, позволяющей им вступать во взаимодействие, не-

смотря на столь большое разведение; во-вторых, различная биологическая активность пар оптических изомеров, как, например, атропина, морфина и адреналина. Право- и левовращающие изомеры этих соединений значительно отличаются друг от друга по биологической активности. Так как оптические изомеры идентичны по физическим и химическим свойствам и отличаются лишь тем, что их молекулы являются зеркальным отражением друг друга, очевидно, что действие лекарственного вещества определяется формой молекулы и что часть этой молекулы должна быть комплементарна какой-либо структуре в организме. Cushny (1909) показал, что гипертензивное действие, токсичность и способность вызывать глюкозурию у (—)-адреналина в 15 раз сильнее, чем у (+)-адреналина. Данные о различной биологической активности стереоизомеров см. разд. 12.1. И наконец, в-третьих, высокая специфичность биологического действия лекарственных веществ. Например, адреналин оказывает мощное действие на сердечную мышцу, но очень слабо действует на поперечнополосатые мышцы.

Мысль о том, что лекарственные вещества взаимодействуют с рецепторами, впервые высказал Langley, обнаруживший противоположное действие атропина и пилокарпина на выделение слюны у кошек, которое он усиливал небольшими дозами пилокарпина и останавливал малыми дозами атропина. Большие дозы агониста вновь вызывали слюновыделение, а добавление атропина его останавливало [пилокарпин (12.81) — агонист, имитирующий действие ацетилхолина (АХ), а атропин — его антагонист]. Langley справедливо полагал, что существует вещество или, может быть, несколько веществ в нервных окончаниях или клетках желез, с которыми как атропин, так и пилокарпин способны образовывать соединения согласно некоторому закону в зависимости от относительных количеств и степени их химического сродства к этому веществу [Langley, 1878]. Он впервые интерпретировал эти результаты в соответствии с законом действующих масс [Guldberg, Waage, 1864], применение которого ранее ограничивалось лишь неживой природой.

Позже Langley (1905) ввел термин «рецептивные субстанции», противопоставив определенный тип каждому из веществ: пилокарпину, атропину, никотину, тубокурарину, стрихнину, адреналину и тироксину. Пауль Эрлих в Германии в своих иммунохимических работах уже использовал слово «рецептор» [Ehrlich, Morgenroth, 1900]. Для краткости мы в дальнейшем будем называть рецептором такую активную группировку в молекуле протоплазмы, к которой присоединяется чужеродная группа. Развивая идею рецепторов в отношении лекарственных веществ, он ввел понятие о «рецепторном аппарате» трипаносом [Ehrlich, Shiga, 1904]. П. Эрлих определил рецептор лекарственного вещества как небольшой химически определенный участок (на большой молекуле протоплазмы), в норме участвующий в питании и метаболизме клетки и способный, кроме

того, связывать специфические антигены или лекарственные вещества [Ehrlich, 1908].

Эрлих утверждал, что высокая специфичность химиотерапевтических препаратов имеет чисто химическую природу и обусловлена наличием в клетке групп (названных им «хеморецепторами»), обладающих специфическим сродством к лекарственным веществам. Хеморецепторами для соединений мышьяка служат, очевидно, меркаптановые SH-группы, и образование связи As—S ведет к смерти паразита [Ehrlich, 1907, 1909]. Эти идеи Эрлиха представляют собой основу современного понятия «рецептора» как химической группы, в норме активно участвующей в метаболизме клетки, а под воздействием лекарственного вещества вызывающей наблюдаемый физиологический ответ. Более подробно о работах Эрлиха см. разд. 6.1.

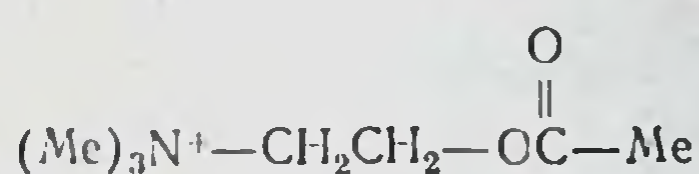
Идея существования рецепторов получила надежное обоснование в работах А. Clark (1926, 1927), продемонстрировавшего, что связывание лекарственного препарата с рецептором количественно подчиняется закону действующих масс, а также, что большинство наиболее точных количественных данных по действию лекарственных веществ указывает на образование нековалентной связи с соответствующими рецепторами (подробнее см. разд. 7.5). Так как в то время еще не была выделена в чистом виде ни одна рецепторная молекула, Clark был вынужден работать в лучшем случае с изолированными клетками, однако количественный подход и воспроизводимость его исследований, в которых использовалось множество препаратов и несколько различных тканей, вызвали большее доверие к теории рецепторов [Clark, 1937].

В конце 20-х годов фармакологи начали употреблять термин «агонист» по отношению к рецептору практически в том же смысле, что и кофермент по отношению к ферменту. Конечно, между агонистом и коферментом не может быть никаких аналогий, так как последний в отличие от лекарственного вещества химически изменяется ферментом. По тем же соображениям фармакологи сравнивали препараты-антагонисты с ингибиторами ферментов. К 1910 г. было известно, что многие ферменты могут блокироваться веществами, сходными по структуре с их субстратами. Например, амилаза, гидролизующая крахмал до мальтозы, легко блокируется глюкозой [Wohl, Glimm, 1910]. Однако связь между рецепторами лекарственных веществ и активным участком фермента впервые была продемонстрирована только в 1926 г.

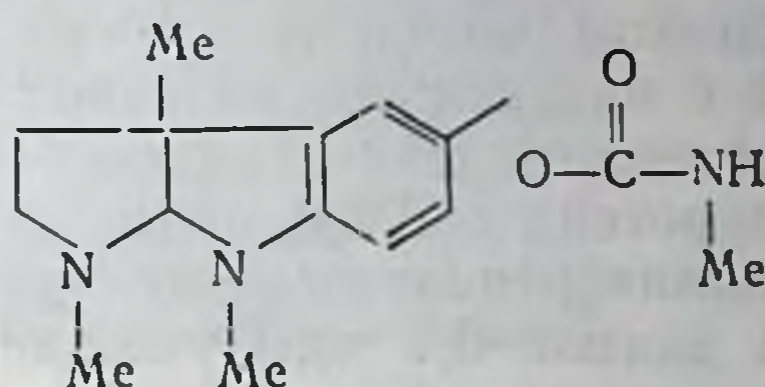
То, что выделенный из овощей ацетилхолин (АХ) оказывает сильное физиологическое действие на животных, стало известно в начале нашего века. Loewi, Navratil (1926) показали, что АХ может быть основным нейромедиатором в организме млекопитающих. Для большинства ученых было полной неожиданностью, что передача нервных импульсов через синапс может иметь химическую природу, так как многие верили, что она

должна быть электрической. Не меньшее удивление вызвал тот факт, что будучи четвертичным амином ацетилхолин является не миорелаксантом (подобно тубокурарину и всем полученным С. Brown четвертичным препаратам), а самым сильным природным мышечным стимулятором.

То, что одна и та же химическая группа в зависимости от своего химического окружения может обуславливать действие как агониста, так и антагониста, объяснил Н. R. Ing: ацетилхолин и тубокурарин действуют на один и тот же рецептор, но меньшая молекула точно соответствует участку связывания и активирует его, тогда как большая молекула, перекрывая рецептор, оказывает блокирующее действие [Ing, 1936]. Теперь мы знаем много химических рядов, низшие гомологи которых являются агонистами, а их более высокомолекулярные гомологи — антагонистами (разд. 7.5.2).



Ацетилхолин (катион)
(2.7)



Физостигмин
(2.8)

В 1918 г. Fühner обнаружил, что алкалоид физостигмин, не оказывая никакого воздействия на мышцу пиявки, при одновременном применении с ацетилхолином усиливает его действие на эту мышцу в миллион раз. Причины этого явления в то время были неясны, а вызываемое физостигмином уменьшение частоты сердечных сокращений млекопитающих связывали с защитой АХ от разрушения эстеразой, тогда еще не выделенной и не идентифицированной. Позднее Loewi, Navratil (1926), Stedman, Stedman, Easson (1932) назвали ее ацетилхолинэстеразой (АХЭ). Несмотря на то что физостигмин действует аналогично АХ, он не является истинным агонистом, так как не действует на холинорецептор, расположенный на мышце, и его относят к псевдоагонистам. В клинике физостигмин пролонгирует у больных действие эндогенного АХ.

2.1.1. Рецепторы на мембранах

Многие рецепторы представляют собой активные центры ферментов. Однако холинорецептор — это не фермент, а белковый комплекс, регулирующий проницаемость клеточной мембраны для ионов натрия, калия и кальция [Karlin, 1974]. Этот белковый комплекс, называемый пермеазой, был выделен из электрического органа ската Жан-Пьером Шанже в 1969 г. [Changéux, 1969]. В мышцах холинорецептор находится на синаптической мембране и обеспечивает степень интенсивности ответа

синапса. Удобнее всего выделять холинорецепторы из холинергических синапсов, расположенных на пластинках электрических органов двух видов рыб, Torpedo и Electrophorus. Гомогенизацией этой ткани с последующим дифференциальным центрифугированием гомогената и седиментацией в градиенте плотности сахарозы удается выделить свободные от АХЭ фрагменты мембран, содержащие холинорецепторы. Эти фрагменты легко образуют синаптосомы, проницаемость которых для ионов $^{22}\text{Na}^+$, $^{42}\text{K}^+$ и $^{45}\text{Ca}^{2+}$ резко возрастает под действием аналога АХ карбахолина (2.11), что свидетельствует о сохранении основных свойств холинорецептора при выделении.

При обработке фрагментов мембран водными растворами анионных и нейтральных детергентов с последующим ультрацентрифугированием можно выделить в количествах, исчисляемых в дециграммах, белковый рецепторный комплекс, свободный от мембранных компонентов [Changeux, 1980]. С этим комплексом агонисты и антагонисты АХ связываются так же, как и с интактными пластинками электрического органа ската.

Высокоочищенный рецепторный комплекс представляет собой гликопротеид с ОММ более 50 000. Под электронным микроскопом холинорецепторы выглядят как скопление розеток. На отрезке длиной 0,1 мкм уместается 12 таких розеток (рис. 2.1). В настоящее время известны полная аминокислотная последовательность белковых субъединиц, составляющих рецепторный комплекс, и места присоединения нескольких углеводных остатков, находящихся на более липофильной белковой субъединице. Более подробно холинорецептор рассматривается в разд. 12.6.

Все вышеописанное относится к «никотиновому» холинорецептору нервно-мышечного синапса. «Мускариновый» рецептор был выделен из мозга быка экстракцией холатом натрия. (Определения «никотинового» и «мускаринового» типов холинорецептора приведены в начале разд. 12.6.) С выделенным из мозга быка рецептором активно связывается специфический мускариновый антагонист [^3H]-атропин (константа ингибирования 2×10^{-9}). Он может быть вытеснен с рецептора немеченым атропином или самим АХ и его агонистами [Carson et al., 1977; Carson, 1982].

Выделены мембранные рецепторы и для других нейромедиаторов. Все они представляют собой высокофосфорилированные гликопротеиды. Выделение рецепторов катехоламинов описано в разд. 12.4, а в разд. 12.8 обсуждаются рецепторы природных полипептидных анальгетиков, обладающие также сродством к морфину.

2.1.2. Рецепторы на ферментах

Вернемся к блокированию АХЭ физостигмином — первому примеру взаимодействия лекарственного вещества с рецептором на ферменте (разд. 2.1.0). Изучение аналогов физостигмина пока-

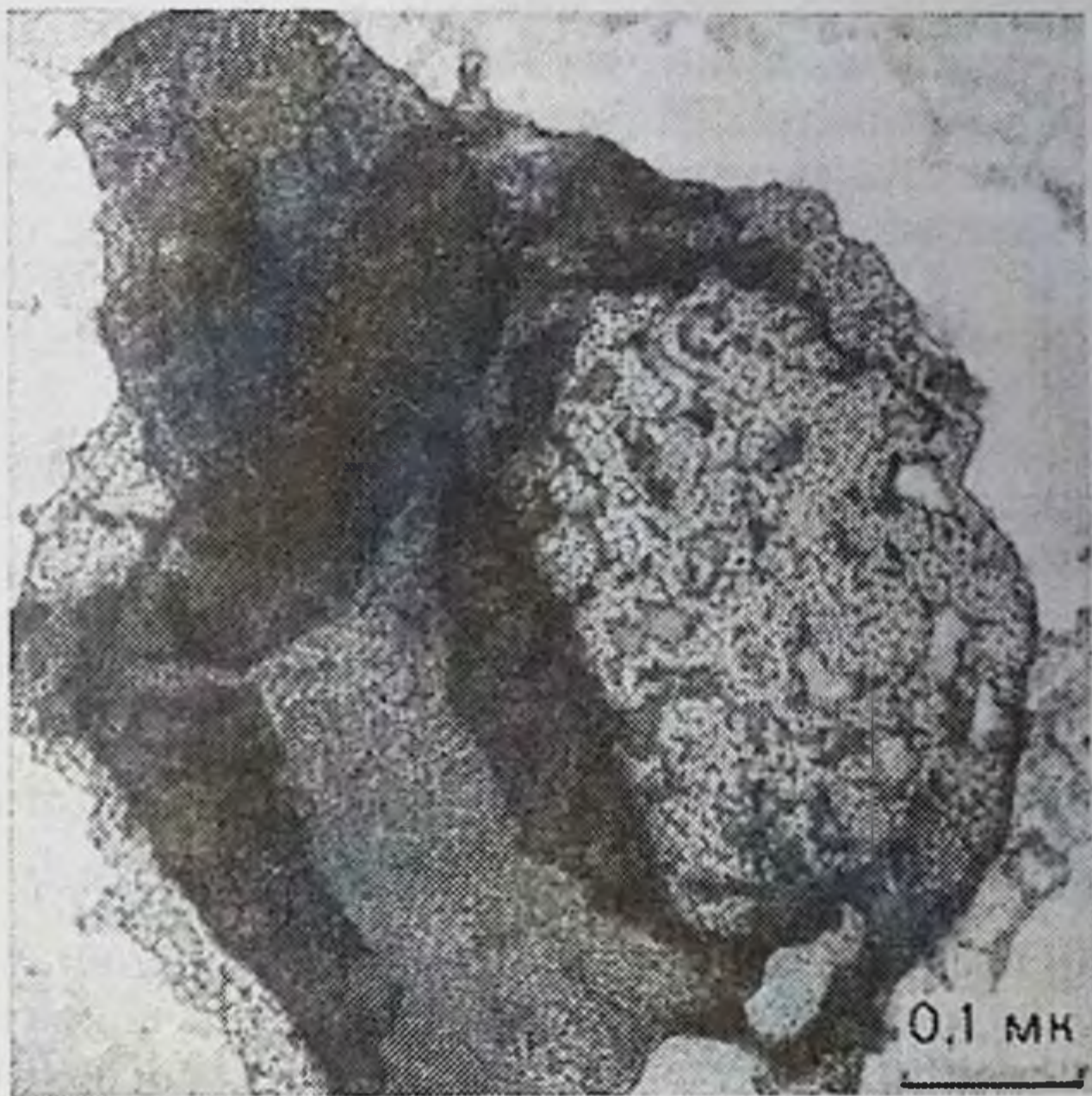
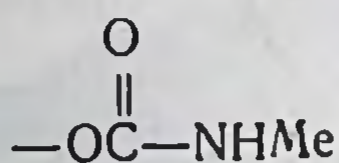


Рис. 2.1. Электронная микрофотография плазматической мембраны электрического органа рыбы (*Torpedo*) с расположенными на ней рецепторами АХ. Центр каждой розетки — Na/K^+ канал.

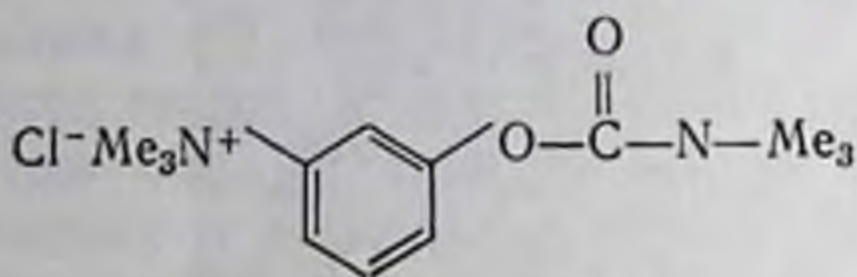
зало, что для связывания с АХЭ необходимо наличие в молекуле двух фрагментов: основной группы и метилкарбамоилокси-группы (2.9) [Stedman, 1926; Stedman, Stedman, 1931]. Прозерин (2.10), простейший из аналогов физостигмина, оказался самым активным препаратом при лечении миостении гравис, болезни, проявляющейся в слабости различных групп мышц и по симптомам напоминающей отравление тубокурарином. Как и физостигмин, прозерин содержит метилкарбамоильную группу, а его основная группа такая же, как у АХ. Наличие этих двух групп позволяет прозерину легко вытеснять АХ из активного центра АХЭ, но в отличие от физостигмина он может проявлять и прямое агонистическое действие на мышечный холинорецептор.

Основанное на этих данных предположение о сходстве карбамоилокси-группы («уретановой») с ацетильной группой ацетилхолина привело к синтезу карбахолина (карбамоилхолина) (2.11), обладающего аналогичной АХ активностью, но действующего более продолжительно [Molitor, 1936]. Хотя частично его действие истинно агонистическое (он взаимодействует с постсинаптическими рецепторами), тем не менее преимущественно оно псевдоагонистическое: карбахолин способствует высвобождению АХ из пресинаптического нервного окончания, что резко отличает его от физостигмина. Действие карбахолина не блокируется, а сам он не гидролизует АХЭ. Препарат приме-

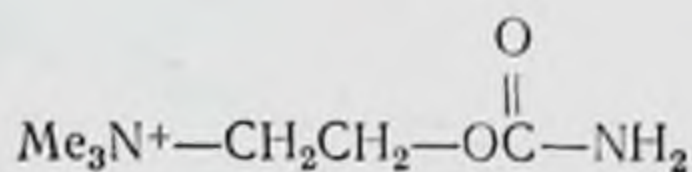
няют для восстановления тонуса мочевого пузыря и кишечника после операций.



Метилкарбамонлоксигруппа
(2.9)



Прозерин
(2.10)



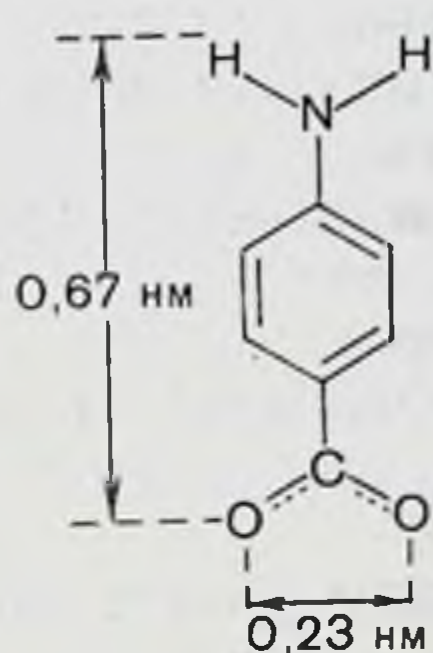
Карбахолин (катион)
(2.11)

Из фармакодинамических лекарственных средств к ингибиторам ферментов относятся и сердечные гликозиды, ингибирующие Na—K АТФазу (см. разд. 14.1) [Bonting, 1970].

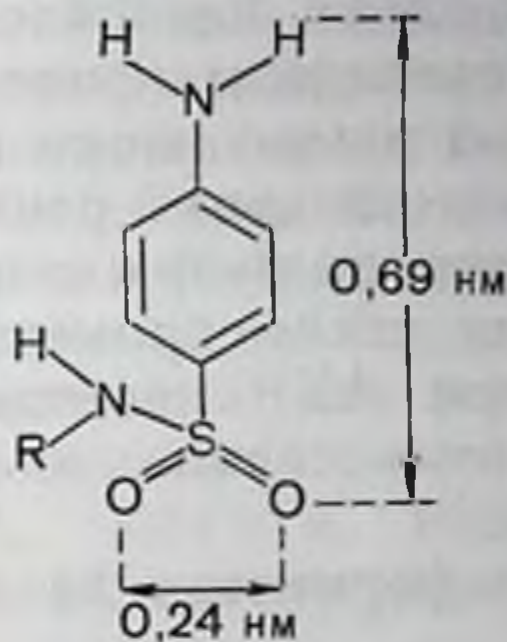
До 1940 г. фармакодинамика и химиотерапия развивались независимо друг от друга, пока D. Woods не показал, что противобактериальные свойства стрептоцида (2.13) связаны со структурным и электронным сходством строения его молекулы с молекулой пара-аминобензойной кислоты (ПАБ) (2.12) [Woods, 1940]. Позднее это количественно подтвердили Bell, Roblin (1942). При одновременном изменении стерических и электронных свойств молекулы стрептоцида, приводящем к увеличению его сходства с ПАБ, противобактериальная активность вещества усиливается, если же при изменении свойств сходство уменьшается, то активность ослабляется. Механизм биологического действия сульфаниламидов установил Gene Brown, выделив фермент дигидрофолатсинтетазу, синтезирующую важный кофермент — дигидрофолиевую кислоту (2.14), составной частью которой является ПАБ. В молекуле дигидрофолатсинтетазы есть место специфического связывания (рецептор) ПАБ. При высоких концентрациях сульфаниламид, согласно закону действующих масс, вытесняет природный субстрат с рецептора на ферменте, что приводит к ингибированию действия фермента и нарушению синтеза дигидрофолиевой кислоты [Brown, 1962].

Противобактериальные сульфаниламиды, действие которых после их открытия в 1930 г. считали основным доказательством гипотезы «одна группа — одно действие», в конце концов нанесли ей смертельный удар. Стало очевидным, что наличие в молекуле сульфамидной группы еще не определяет ее противобактериальную активность, и для взаимодействия молекулы препарата с рецептором необходимо соблюдение и других структурных требований (например, наличие заместителя в пара-положении, см. разд. 9.3.1). При выполнении этих структурных требований сульфаниламидную группу можно заменить на любую другую со сходной полярностью. Например, более выраженными про-

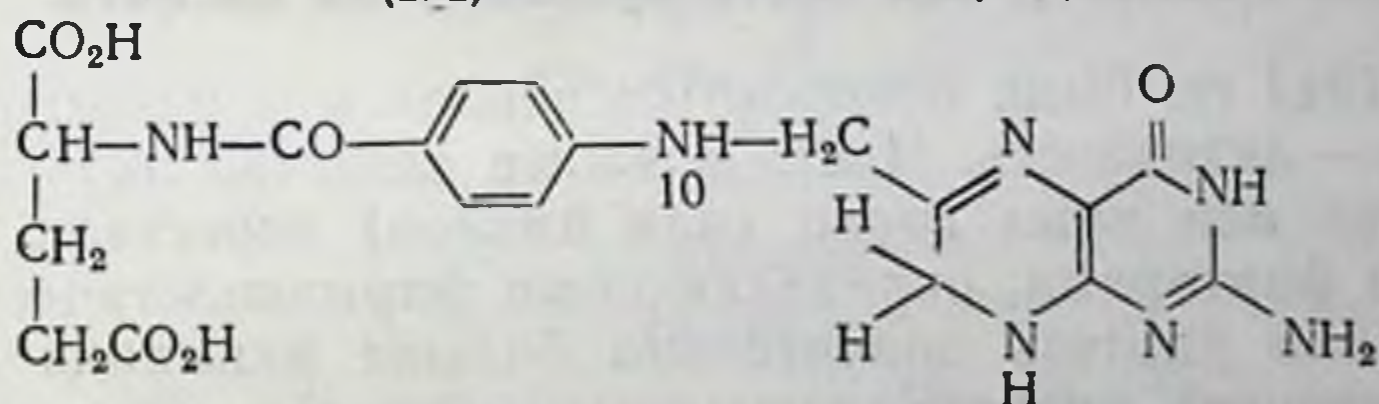
тивобактериальными свойствами, чем стрептоцид, обладает 4,4'-диаминобензил (2.15), также ингибирующий связывание ПАБ с ферментом [Kahn, Weugand, Möller, 1943]. С другой стороны, ароматическая сульфаниламидная группа входит в молекулы многих противодиабетических лекарственных веществ и диуретиков, таких как, например, бутаид (12.61) и хлортиазид (14.1) соответственно. Однако размеры этих молекул и распределение в них зарядов делает невозможным их взаимодействие с дигидрофолатсинтетазой, поэтому они не обладают противобактериальным действием. В то же время блокаторы этого фермента, обладающие противобактериальным действием, могут вообще не иметь в своей молекуле атома серы.



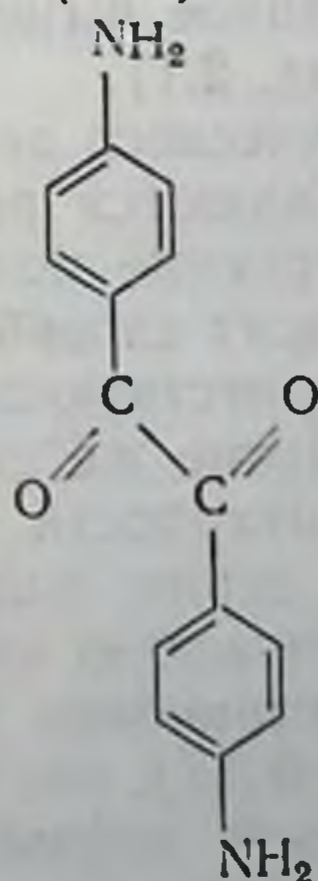
Пара-аминобензойная кислота
(анион)
(2.12)



Сульфаниламид (молекула)
(R=H)
(2.13)



Дигидрофолневая кислота
(2.14)



4,4'-Диаминобензил
(2.15)

И для других лекарственных веществ существуют рецепторы на ферментах, например для антибиотика рифампицина (4.37), ингибирующего действие РНК-полимеразы (разд. 4.0). Аллопуринол (9.51), специально созданный для того, чтобы блокировать два взаимозависимых фермента — гипоксантинооксидазу и ксантинооксидазу [Elion et al., 1966], ингибирует образование мочевой кислоты и поэтому успешно используется для лечения хронической подагры (разд. 9.4.4). Противомаларийное действие хлоридина и противобактериальное действие триметоприма связаны с их блокирующим действием на фермент дигидрофолатредуктазу (разд. 9.3.3). Противобактериальная активность пенициллина проявляется в ингибировании полимеразы, участвующей в образовании новой клеточной стенки бактерий (разд. 13.1). В главе 9 приведены примеры лекарственных веществ, рецепторы которых расположены на ферментах.

Идея существования рецепторов для инсектицидов на ферментах нашла подтверждение вскоре после второй мировой войны, когда стали применять фосфорорганические вещества, ингибирующие АХЭ насекомых этерификацией гидроксильной группы остатка серина, входящего в состав этого фермента (разд. 13.3).

Действие ферментов на молекулярном уровне обсуждается в разд. 9.0.

2.2. Рецептор как часть нуклеиновой кислоты

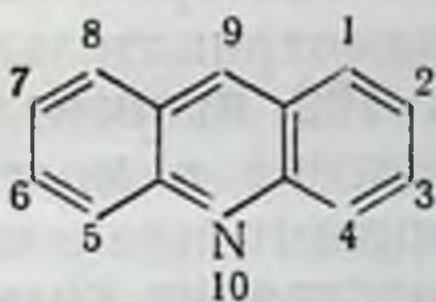
1939—1944 гг. были поворотным периодом в изучении связи структура — активность. Чисто внешнее сходство двух формул, наличие тех или иных групп (или циклов) перестали считать основными факторами, определяющими фармакологический эффект и стали уделять значительно больше внимания изменениям физических свойств, вызываемым введением этих групп (или циклов). Изменению взглядов на связь структура — активность способствовало описанное выше установление механизма действия сульфамидов (разд. 2.1).

Для проявления биологического действия наиболее важными физическими свойствами являются распределение электронной плотности и стерическое строение молекулы. От распределения электронной плотности зависит способность молекулы к ионизации, облегчающей или препятствующей взаимодействию вещества с рецептором. Стерические же свойства молекулы определяют степень ее комплементарности к рецептору. Прекрасной иллюстрацией того, как в серии родственных соединений эти свойства влияют на биологическую активность, может служить корреляция структура — активность в ряду аминокридинов (более подробно см. разд. 10.3.1).

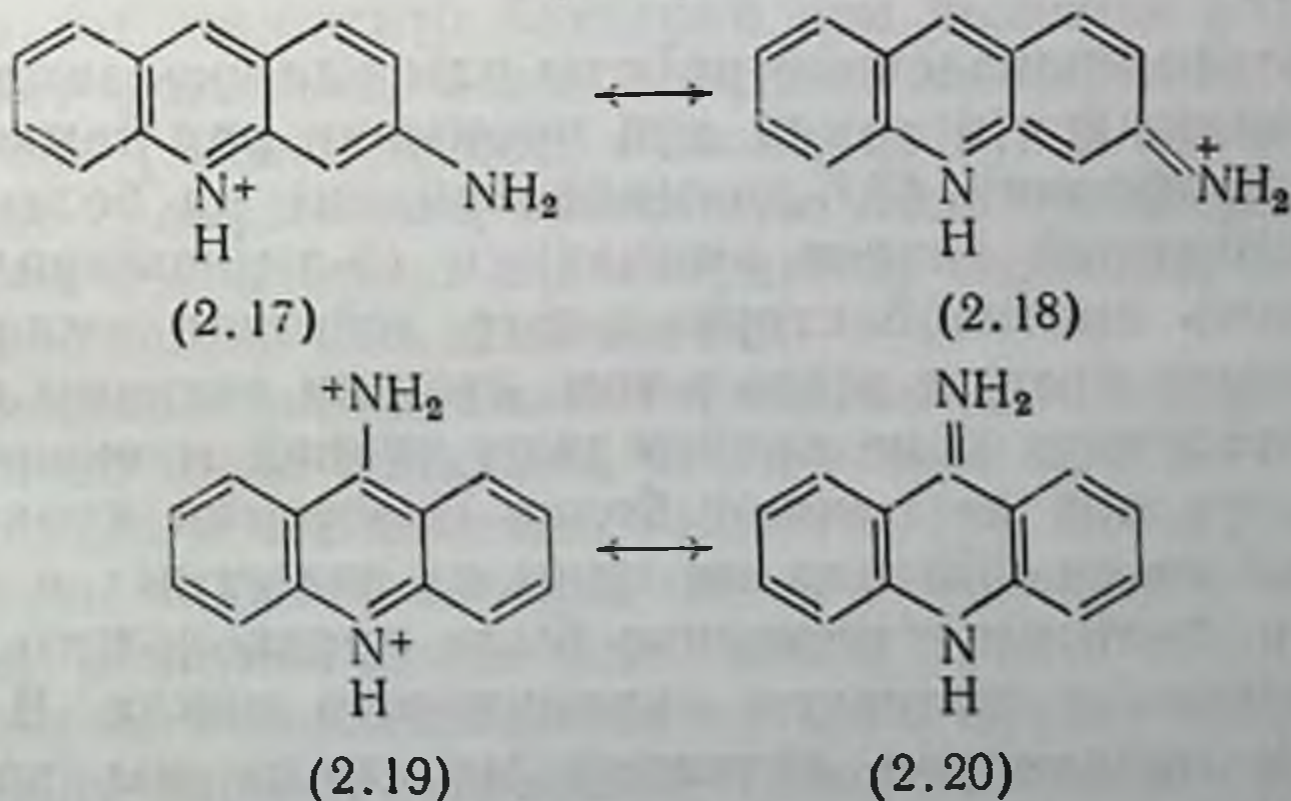
Во время второй мировой войны аминокридины широко применяли для обработки глубоких инфицированных ран [Poate, 1944]. Высокоизбирательные аминокридины обладали

мощным противобактериальным действием и при этом не повреждали ни лейкоциты, ни здоровые ткани, и раны быстро заживали. Исследование ряда аминоакридинов, проведенное мною и моими коллегами по заказу австралийской армии, привело к следующим результатам: во-первых, впервые была установлена количественная связь активности химиотерапевтического средства со степенью его ионизации. И во-вторых, было высказано предположение о том, что рецепторами лекарственного вещества могут быть не только белки, но и нуклеиновые кислоты.

Было доказано, что бактериостатическое действие этих противобактериальных препаратов пропорционально концентрации ионизированной формы — катиона [Albert, Rubbo, Goldacre, 1942]. В начале работы казалось непонятным, почему из пяти изомерных аминоакридинов два обладают высокой противобактериальной активностью, а у остальных трех она очень низкая. В то время об ионизации гетероциклических оснований практически ничего не было известно. Поэтому мы определяли величины pK_a для большого числа соединений. Это позволило нам впоследствии установить основные зависимости основности вещества от его структуры [Albert, Goldacre, Phillips, 1948]. Одной из первых была найдена необходимая нам корреляция для аминоакридинов.



Акридин
(2.16)



Акридин (2.16) — это слабое основание ($pK_a=5,3$) и, следовательно, при pH 7,3 только 1% молекул существует в виде катиона. 3- и 9-Аминоакридины сильные основания, так как их катионы стабилизированы сопряжением, отсутствующим в нейтральной молекуле, например (2.17), (2.18), (2.19), (2.20) соот-

Таблица 2.2. Зависимость противобактериального действия аминоакридинов от степени ионизации

Акридин	Минимальная бактериостатическая концентрация (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	Концентрация катиона, %, рН 7,3, 37 °С
1-Амино	1: 10 000	2
2-Амино	1: 10 000	2
3-Амино	1: 80 000	73
4-Амино	1: 5 000	<1
9-Амино	1:160 000	100
2,7-Диамино	1: 20 000	3
3,6-Диамино	1:160 000	99
4,5-Диамино	1:<5 000	<1

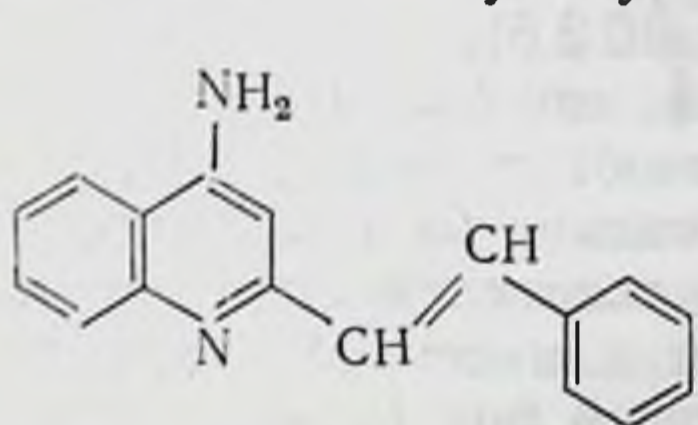
ветственно. Для трех других изомеров такая стабилизация невозможна, и поэтому их основность лишь немного превышает основность акридина (табл. 2.2). В связи с тем что такое сопряжение впервые было установлено для 4-аминопиридина, мы назвали его «4-аминопиридиниевым».

Противобактериальное действие аминоакридинов возрастает пропорционально концентрации ионизированной формы (при значениях рН и температуры, при которых велось биологическое тестирование). На 22 видах бактерий (аэробных и анаэробных, грамположительных и грамотрицательных) была определена биологическая активность 102 производных акридина и было установлено, что если введение в молекулу акридина любого заместителя, электронодонорного или электроноакцепторного, не приводит к снижению концентрации катиона ниже 50% (в условиях эксперимента), то активность соединения не уменьшается [Albert et al., 1945]. Типичные примеры приведены в табл. 10.6 и 10.7.

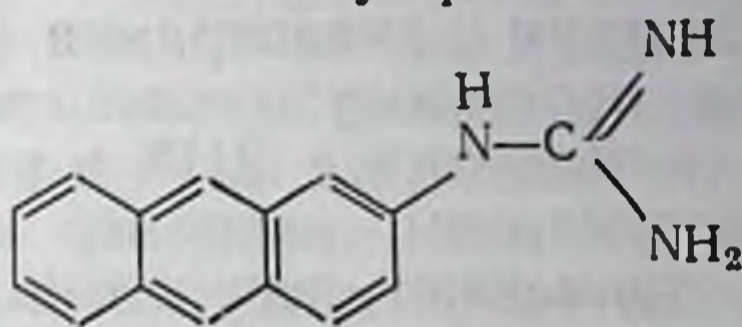
В результате проведенной работы нам удалось заменить широко применявшийся в армии для промывки ран темно-желтый антисептик профлавин (3,6-диаминоакридин) на более избирательный бесцветный аналог аминакрин (9-аминоакридин).

Особенность противобактериального действия аминоакридинов заключается прежде всего в том, что они активны даже при высоких разведениях и не повреждают тканей млекопитающих. Кроме того, на них не влияют белки сыворотки крови. Таким набором свойств не обладал ни один из известных в то время антисептиков, поэтому естественно было предположить, что эти свойства связаны с наличием акридинового цикла. В поисках оптимальных параметров активной молекулы мы последовательно изменяли структуру молекулы и синтезировали близкие аналоги, не содержащие акридинового цикла. При этом было установлено, что при замене акридинового цикла на любой другой биологическая активность сохраняется при выполнении двух условий: а) основность соединения должна быть такой, чтобы при физиологических значениях рН концентрация ионизирован-

ной формы была не ниже 50% и б) площадь плоской части молекулы не менее 3,8 нм [Albert, 1944]. 4-Аминопиридин и 4-аминохинолин (аналоги 9-аминоакридина, без 2 и 1 бензольных колец соответственно) удовлетворяют первому условию, однако площадь плоской части молекулы у них меньше. Но если эту площадь увеличить введением копланарного заместителя, как, например, в 4-амино-2-стирилхинолине (2.21), то появляется и противобактериальная активность. Несущественным оказывается и взаимное расположение бензольных колец в молекуле, о чем свидетельствует противобактериальная активность аминобензохинолинов и аминофенантридинов. В свете всех этих данных неудивителен и тот факт, что гидрирование одного из колец в молекуле стандартного препарата (9-аминоакридина) приводит к исчезновению активности, потому что при этом площадь плоской части молекулы уменьшается на одну треть.



4-Амино-2-стирилхинолин
(1 : 80 000)
(2.21)



2-Гуанидиноантрацен
(2.22)

После гетероциклов были синтезированы основные антрацены, такие как 2-гуанидиноантрацен (2.22), молекулы которых удовлетворяют обоим условиям: основности и площади плоской поверхности. Поэтому 2-гуанидиноантрацен обладает такой же бактериостатической активностью, как и аминоакридин: он действует на тот же спектр бактерий при высоком разведении, не повреждает фагоциты, и его действию не мешают белки сыворотки крови [Albert, Rubbo, Burgvill, 1949]. В этом случае, как и в случае сульфамидов, требуемую биологическую активность определяют стерические и электронные свойства, а не наличие какого-либо цикла или заместителя.

При использовании аминоакридинов для прижизненной окраски тканей было показано, что в живой клетке они накапливаются только в нуклеиновых кислотах [ср. Struggler, 1940]. Необходимость наличия плоской части в молекулах этих соединений стала понятной после того, как в 1961 г. Legman показал, что молекулы аминоакридинов интеркалируют в ДНК, вклиниваясь между парами оснований. Такой комплекс стабилизируется ван-дер-ваальсовыми силами, а также сильными ионными связями с фосфатными группами остова ДНК. Это приводит к повышению T_m («температуры, плавления») на 20°C и свидетельствует о том, что интеркаляция препятствует расплетанию цепей ДНК и, следовательно, нормальному функционированию последней [Legman, 1961].

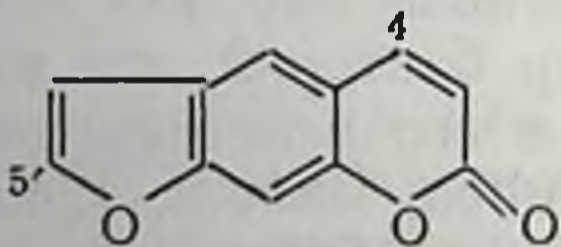
Позже Hurgwitz и его коллеги показали, что противобактериальное действие аминоакридинов обусловлено их способностью блокировать расплетание ДНК, нарушая тем самым синтез бактериальных ДНК и РНК полимеразами [Hurgwitz et al., 1962].

Изучение связи структура — активность в ряду аминоакридинов с очевидностью показало, что нуклеиновые кислоты могут быть рецепторами лекарственных веществ. В данном случае взаимодействие лекарственного вещества с рецептором подробно рассмотрено на молекулярном уровне, что удается далеко не всегда (разд. 10.3).

В настоящее время установлено, что многие другие лекарственные вещества также интеркалируют в ДНК. Например, противоопухолевые препараты рубомицин, адриамицин, дактиномицин (актиномицин D), антрамицин, амсакрин и эллиптицин; противомаларийные — акрихин и хингамин, противопаразитарные — этидиум и хинапирамин (разд. 10.3.5).

Такие противоопухолевые средства, как блеомицин и камптотецин, связываются с ДНК и разрушают ее (разд. 4.0).

Фурукумарины, например ксантоксин (8-метоксипсорален) (2.23), применяют перорально для восстановления пигментов кожи, разрушенных при витилиго, и для сенсibilизации клеток к действию ультрафиолетовых лучей при лечении псориаза. Восстановление пигментации кожи [Africk, Fulton, 1971] происходит в результате сшивки двух пиримидиновых остатков из разных цепей ДНК молекулой лекарственного вещества [Musa-jó, Rodighiero, 1970]. А нежелательная пигментация при лечении псориаза может быть предотвращена применением стерически затрудненных производных, связывающихся только с одной цепью [Rodighiero, Dall'Acqua, 1984].



Псорален
(2.23)

ДНК может быть рецептором и для стероидных гормонов (разд. 2.4). Холекальциферол (витамин D₃) косвенно влияет на всасываемость кальция, индуцируя активность ДНК в клетках, выстилающих кишечник [Haussler, Nogman, 1969]. Действие стероидного гормона насекомых экдизона (4.77) на ДНК вызывает образование фермента, синтезирующего N-ацетил-3,4-дигидроксифенетиламин, взаимодействие которого с белками наружного покрова приводит к линьке [Karlson, Sekeris, 1962]. Противоопухолевые вещества класса азотистых ипритов сшивают две цепи ДНК по остаткам гуанина (разд. 13.4). К лекарственным веществам, имеющим рецепторы на нуклеиновых кислотах, относятся и все аналоги пуринов и пиримидинов, встраивающиеся

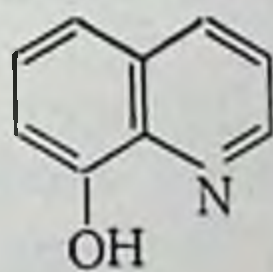
в ДНК (например, идоксуридин) или в РНК (например, 8-азагуанин) (разд. 4.0).

Все вышеприведенные примеры еще раз показывают, что рецепторы лекарственных веществ находятся на нуклеиновых кислотах.

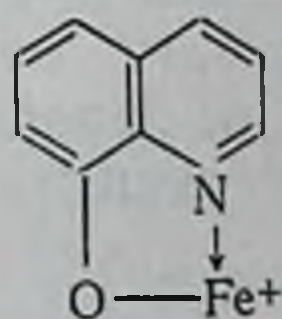
2.3. Рецептор как кофермент или другая малая молекула

Иной вид рецепторов лекарственных веществ был выявлен при изучении механизма действия сильного фунгицида и бактерицида оксина (8-гидроксихинолин) (2.24). Ранее считали, что оксин обладает противобактериальными свойствами благодаря объединению в одну молекулу хинолина и фенола. Однако совершенно очевидно, что биологические свойства двух веществ не могут суммироваться при простом соединении их структур в одной молекуле, поскольку распределение электронов в каждой отдельной молекуле (в данном случае феноле и хинолине) чаще всего не соответствует таковому в гибридной молекуле.

Нам удалось установить, что изменение положения гидроксильной группы в хинолиновом цикле (всего существует шесть изомеров оксина) приводит к исчезновению противобактериальной активности [Albert et al., 1947]. Поэтому мы предположили, что биологические свойства оксина обусловлены его способностью хелатировать катионы металлов с образованием 5- или 6-членного цикла (2.25). Его образование возможно только для оксина и, следовательно, из шести изомеров только он может быть сильным хелатообразующим агентом. Хелатирующие свойства оксина хорошо известны; он применяется в аналитической химии в качестве хелатообразующего агента при анализе металлов, однако эти свойства оксина никогда не рассматривались как основа его химиотерапевтической активности.



Оксин
(2.24)



Комплекс оксин — железо, 1 : 1
(2.25)

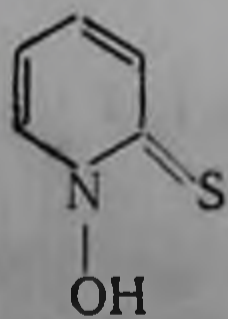
Бактерицидная активность оксина обусловлена его способностью увеличивать токсичность ионов металлов для бактерий. При инкубировании *Staphylococcus aureus* в дистиллированной воде только с оксином либо только с ионами железа или же со смесью оксина и ионов железа было установлено, что бактерии погибают лишь при совместном действии ионов железа и оксина [Albert, Gibson, Rubbo, 1953] (табл. 2.3). В дальнейшем было установлено, что ионы железа в присутствии оксина токсичны для всех видов бактерий, тогда как ионы меди в присутствии оксина обладают фунгицидным действием.

Таблица 2.3. Необходимость присутствия металла для проявления бактерицидной активности оксина (инкубирование в дистиллированной воде при 20° С и высевание через 1 ч)

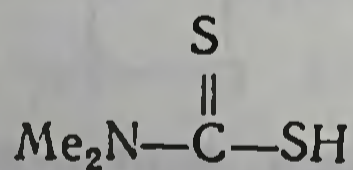
Оксин, 1/М	Сульфат железа, 1/М	Рост (<i>Staphylococcus aureus</i>)
0	0	Активный
100 000	0	Активный
0	100 000	Активный
100 000	100 000	Нет

Впоследствии было показано, что целый ряд веществ, обладающих противобактериальными свойствами и отличающихся от оксина по химическому строению, действуют на бактерии аналогично оксину и хелатируют ионы металлов, что проявляется в быстром уничтожении бактерий и грибов в присутствии ионов железа или меди (соответственно) при высоких разведениях и предупреждается следовыми количествами ионов кобальта (но не других металлов) [Rubbo, Albert, Gibson, 1950]. Примерами препаратов, действующих подобно оксину, могут служить пиритион (2.26) [Albert, Reeis, Tomlinson, 1956], применяемый при дерматозах кожи головы, и диметилдитиокарбаминовая кислота (2.27) [Sijpesteijn, Janssen, 1959], соли которой широко используют в сельском хозяйстве в качестве фунгицидов.

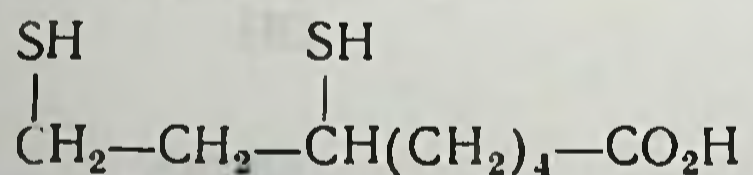
Известно, что кобальт прерывает цепь окислительных реакций, катализируемых другими металлами [ср. Baug, Preis, 1936]. Поэтому датские ученые предположили, что содержащие железо и медь комплексы оксина, пиритиона и диметилдитиокарбаминовой кислоты окисляют тиоктовую кислоту (дигидролипоевая кислота) (2.28) — кофермент окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Они доказали, что в присутствии этих комплексов происходит накопление в среде пировиноградной кислоты [Sijpesteijn, Janssen, 1959]. Во всех случаях рецептором лекарственного вещества была малая молекула.



Пиритион
(2.26)



Диметилдитиокарбаминовая кислота
(2.27)



Тиоктовая кислота
(дигидролипоевая)
(2.28)

То, что кофермент может быть рецептором лекарственного вещества, впервые было показано на примере порфирина цитохромоксидазы. Летальное действие синильной кислоты вызвано ее связыванием со свободными валентностями атома железа, хелатированного в порфирине. Синильная кислота ядовита только

для млекопитающих, так как у многих бактерий этот фермент отсутствует.

В дальнейшем способность малых молекул служить рецепторами лекарственных веществ была показана при изучении действия таких похожих по химическому строению на стероиды полиеновых противогрибковых антибиотиков, как нистатин (14.19) и амфотерицин (5.14). Эти вещества повреждают грибы, нарушая целостность их плазматических мембран в результате связывания с входящим в состав мембраны эргостерином [Hamilton-Miller, 1973]. Точно так же, связываясь с липидными компонентами, разрушают плазматическую мембрану бактерий фенолы, полипептидные антибиотики и жирные четвертичные амины (разд. 14.3).

Конформация некоторых гликолипидных (ганглиозидных) рецепторов клеточных мембран человека изменяется под действием: а) гликопротеидных гормонов типа лютеинизирующего и тиреостимулирующего, б) бактериальных токсинов типа холерного и столбнячного и в) интерферона. Такие конформационные изменения передают приносимую биополимерами информацию через клеточную мембрану. Взаимодействие этих биополимеров с нерцепторными олигосахаридами, являющимися кодирующей частью ганглиозида, не вызывает конформационных изменений в мембране. Другие существующие в организме ганглиозиды, химически родственные активируемым, могут инактивировать биополимеры, конкурентно ингибируя их связывание с рецепторными молекулами. Этот процесс может быть использован в терапии [Kohn, 1977].

2.4 Обратимость и другие аспекты рецепции

А. Обратимость взаимодействия с рецептором. Связь большинства лекарственных веществ и других избирательно токсичных агентов с их рецепторами обычно не очень прочна. Часто эти вещества можно легко отмыть с рецептора, в результате чего эффект агента пропадает. В случае образования ковалентных связей между агентом и рецептором, что встречается редко (определение ковалентных связей см. разд. 8.0), эффект агента практически необратим, как, например, при действии пенициллинов или фосфорорганических соединений (см. главу 13).

Эрлих первым подчеркнул, что действие лекарственных веществ обусловлено образованием менее прочных нековалентных связей. Он писал: «Если в организм животного ввести алкалоиды, ароматические амины, жаропонижающие средства или анилиновые красители, то все эти вещества можно легко удалить из тканей с помощью воды, спирта или ацетона» [Ehrlich, 1900].

Специалисты в области химиотерапии, воспитанные на примере действия пенициллина, обычно считают, что большинство агентов образует в организме ковалентные связи. Но ученые, работающие в области фармакодинамики, привычные к много-

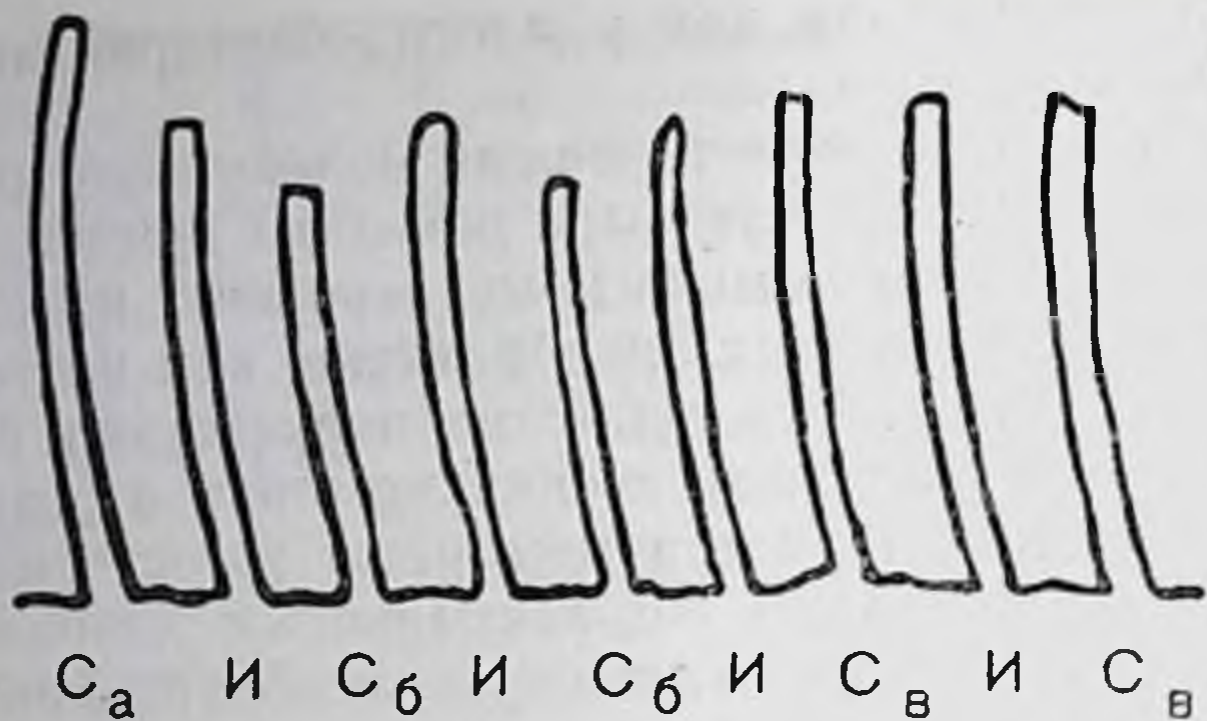


Рис. 2.2. Отмывка лекарственного вещества с рецептора. Опыт с гистамином: кишечник морской свинки погружали попеременно в исследуемый и в стандартный растворы (их объемы доводили до 2 мл с помощью изотонического раствора хлорида натрия). С — стандартный раствор (1 : 5 000 000): а) 0,1 мл; б) 0,07 мл; в) 0,09 мл; И — исследуемый раствор (0,1 мл).

После каждого определения ткань промывали изотоническим раствором хлорида натрия, возвращая ее в исходное состояние. (Результаты опыта: 0,1 мл исследуемого раствора соответствует 0,09 мл стандартного раствора).

кратно повторяющимся отмывкам органов, лучше ориентируются в этих вопросах. На рис. 2.2 приведен типичный пример отмывки лекарственного вещества с рецептора. Совершенно очевидно, что большинство известных лекарственных веществ образует с рецептором слабые лабильные связи — ионные, водородные и ван-дер-ваальсовы (разд. 8.0).

Б. Уязвимость скоростьлимитирующих ферментов. В последовательности биохимических реакций наиболее чувствительным к действию лекарственных веществ оказывается фермент, определяющий скорость всего процесса [Krebs, 1957]. Примером может служить триозофосфатдегидрогеназная система гликолиза. В связи с этим представляется наиболее целесообразным создание лекарственных веществ, ингибирующих ферменты, лимитирующие скорость данного биохимического процесса.

В. Конформационные изменения лекарственных веществ и их рецепторов. Так как субстраты часто изменяют конформацию рецептора, и наоборот [Koshland, 1964], вполне допустимо, что рецепторы и лекарственные вещества также могут изменять конформации друг друга. Некоторые лекарственные вещества имеют жесткую структуру, но другие могут деформироваться под действием рецептора. В свою очередь и сам белковый рецептор может деформироваться под действием лекарственного вещества настолько, что лекарственное вещество входит в им же созданную в рецепторе полость (так называемый случай «наведенного соответствия»). Эта концепция более подробно рассмотрена в разд. 7.5.2 и 9.0; конформационные изменения см. разд. 12.3.

Физиологический ответ определяется воздействием на непрерывный, последовательно расположенный ряд рецепторов, а лекарственное вещество избирательно действует только на один

из них. Например, для снижения давления крови можно воздействовать на периферические сосуды апрессинном (11.47) или нитритами или на более высокое звено и заблокировать симпатические первичные окончания β -блокаторами типа анаприлина (12.56). А можно подняться еще выше и заблокировать симпатические ганглии гексонием (7.30). Наконец можно воздействовать и на высший уровень, ЦНС, катапрессаном (12.53). Все эти типы лекарственных веществ различаются по химическим и физическим свойствам и действуют на химически различные рецепторы.

Г. Изофункциональные рецепторы. Так же как существуют изофункциональные ферменты (разд. 4.2), существуют и изофункциональные рецепторы. Например, АХЭ кишечника овец менее чувствительна к действию фосфорорганических соединений, чем изофункциональный фермент (рецептор) паразитирующих глистов, что и позволяет вести с последними успешную борьбу [Lee, Hodsden, 1963]. АХЭ домашней птицы в отличие от АХЭ млекопитающих не ингибируется бисчетвертичными аминами типа оксазила или гидролизующимися бисчетвертичными эфирами типа дитилина (7.29). В организме человека существует по меньшей мере четыре рецептора катехоламинов (разд. 12.4), два гистаминовых (разд. 9.4.5) и два холинорецептора (никотиновый и мускариновый) (разд. 12.6). Для всех этих рецепторов найдены избирательные агонисты и антагонисты.

Д. Последовательные рецепторы. В некоторых особых случаях связывание агониста с его первичным рецептором само по себе еще не приводит к физиологическому ответу. Например, тиреоидный гормон L-тироксин (11.14) сначала связывается с рецептором на белке преальбумине. Этот комплекс переносится кровью в щитовидную железу, где гормон взаимодействует с другим рецептором. По данным рентгеноструктурного анализа в молекуле преальбумина (ОММ 55 000) существуют два одинаковых канала, каждый из которых с высокой аффинностью (10^7 M^{-1}) связывает по одной молекуле L-тироксина. При этом фенольная группа L-тироксина оказывается в середине белковой молекулы, а его аминокислотная часть — около входа в канал, так что его группа CO_2^- сближается с группой NH_3^+ лизина. Средняя часть молекулы гормона (дифениловый эфир) жестко фиксируется в канале за счет тесного контакта с тремя «элементарными карманами» в белке. В D-тироксине в отличие от L-изомера группа NH_3^+ располагается напротив группы NH_3^+ белка и кулоновское отталкивание ослабляет взаимодействие с рецептором [Andrea et al., 1980].

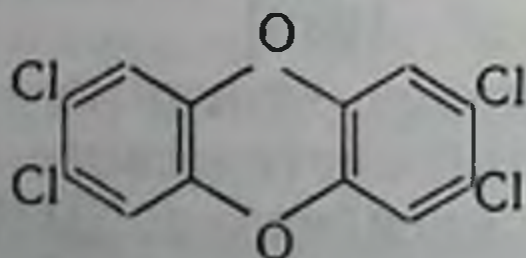
Для стероидных гормонов конечным рецептором является ДНК, что следует из антагонистического действия актиномицина D (специфического ингибитора ДНК-зависимого синтеза РНК); их первые рецепторы — белки. Существование в матке, влагалище и передней доле гипофиза белков, специфичных для

эстрогенов, было показано в ранних работах Jensen, Jacobson (1962) при изучении специфического связывания 17β -[^3H]-эстрадиола с различными тканями. В фаллопиевых трубах существуют места избирательного связывания прогестерона.

Эти комплексы стероид — рецептор образуются в ядрах или проникают в них и связываются с хроматином (в отсутствие белка связывания стероидов не происходит). При этом депрессируется кодон ДНК, и на нем начинает синтезироваться мРНК. В цитозоле рибосомы синтезируют по этой мРНК определенный белок. Все это происходит очень быстро, и физиологический ответ на гормон может проявиться уже через час. Известны и другие типичные примеры индукции синтеза характеристичных белков [Cohen, 1966].

Основной андрогенный стероид, дигидротестостерон, избирательно связывается с кислыми белками в андрогензависимых тканях (например, в предстательной железе) [Anderson, Liao, 1968]. В свою очередь кортикостероиды связываются со специфическими белками в цитоплазме клеток печени и других органов. Эти комплексы проникают в ядра, где связываются с ДНК, что приводит к синтезу специфических мРНК (их образование может быть подавлено актиномицином D), на которых и синтезируются в цитоплазме характеристичные ферменты [Sekeris, 1971]. По аналогичному механизму осуществляется диуретическое действие альдостерона [Edelman, Bogoch, Porter, 1963].

2,3,7,8-Тетрахлордибензо-пара-диоксин (2.28a), широко известная примесь в трихлорфеноле, захватывается рецепторными белками в цитозоле печени и переносится в ядро, где он индуцирует цитохром P-450 и арилгидроксилазу. Эти его свойства не являются вредными, но у некоторых линий мышей диоксин вызывает экспрессию генов, приводящую к дегенерации, делению и дифференциации клеток — так называемую «поддерживающую» патологию. Возможно, в этих процессах участвуют нормальные системы клеточной регуляции, но полной уверенности в этом нет. С аналогичными рецепторами взаимодействует большинство веществ, в молекулах которых имеется плоская поверхность площадью около $0,3 \times 1$ нм [Poland, Knutson, 1982]. Диоксин индуцирует также и δ -левулинсинтетазу, фермент, определяющий скорость биосинтеза порфиринов. Степень токсичности диоксина для человека точно не установлена, возможно, что ее сильно преувеличивают. Однако учитывая его высокую токсичность для некоторых линий мышей, диоксин в настоящее время считают наиболее токсичным из всех низкомолекулярных соединений [Whitlock, Israel, 1964].



Диоксин
(2.28a)

Е. Специальные рецепторы для антибиотиков. Использование в медицинской практике антибиотиков — в 1941 г. пенициллина, а в последующие 8 лет левомицетина и тетрациклинов, открыло новые перспективы для химиотерапии. Было установлено, что и для антибиотиков существуют рецепторы. От обычных синтетических лекарственных веществ большинство антибиотиков отличается сложным стереохимическим строением. При взаимодействии с живой материей именно это свойство делает терапевтическое применение антибиотиков столь эффективным, но, к сожалению, не всегда избирательным.

Ж. Нерепепторное действие. Мишенью для лекарственного вещества может быть не только рецептор. В клинической практике для лечения отравлений неорганическими соединениями обычно применяют хелатирующие агенты, например унитиол (11.23) при отравлениях препаратами мышьяка, сурьмы, ртути и золота и тетацин-кальций (11.27) при отравлениях соединениями свинца (разд. 11.6). Так как эти металлы в норме в организме не встречаются, их нельзя рассматривать как рецепторы.

З. Выделение молекул, содержащих рецепторы. Если рецептор расположен на макромолекуле, то его выделение в чистом виде так же невозможно, как и выделение активного центра фермента. Как указывается в разд. 2.1, в действительности многие рецепторы — активные центры ферментов. Поэтому, за исключением случаев, когда рецептор является малой молекулой (разд. 2.3), задача сводится к выделению и очистке макромолекулы, содержащей рецептор. Для этого гомогенизированную ткань инкубируют с меченым агонистом или антагонистом природного лиганда (например, нейромедиатора). Если связь данного лиганда с рецептором прочна, он может служить индикатором при очистке и концентрировании рецепторной молекулы. На последних стадиях очистки этот лиганд можно заменить другим, менее прочно связывающимся с рецептором, или же удалить его диализом или аффинной хроматографией.

Для изучения рецепторов используют и молекулярные зонды. Они представляют собой малые молекулы с каким-либо выраженным и измеряемым физическим свойством — флюоресценцией, поглощением в видимой области. Необходимым условием является изменение физических характеристик при адсорбции на рецепторе. Применяют также ядерный магнитный и электронный парамагнитный резонансы, последний с использованием нитроксидных радикалов. Энергия изучения флюоресцентного зонда зависит от полярности места связывания и может передаваться от атомов, входящих в связывающее место, к молекуле зонда и изменять параметры ее флюоресценции. Для холинорецептора флюоресцентным зондом служит перхлорат триметиламмоний этиламида 1-диметиламинонафталин-5-сульфокислоты. Возможность его использования для идентификации и анализа рецептора подтверждается тем, что он конку-

рентно вытесняется АХ, диметилтубокурарином и декаметонием [Weber et al., 1971]. Более подробно об использовании зондов, их преимуществах и недостатках см. Lee (1982). В настоящее время выходит многотомное издание, посвященное рецепторам [O'Brien, 1979]¹.

2.5. Изменения в молекуле и биологические свойства

Можно найти две очень близкие по строению молекулы, из которых биологической активностью обладает только одна. Как же объяснить, почему вещества, отличающиеся друг от друга лишь наличием или отсутствием одной метильной группы, так различно ведут себя в условиях биологического эксперимента?

Настоящий раздел посвящен исследованию влияния метильных и метиленовых групп, относимых обычно к «химически инертным». При соответствующем расположении в молекуле они вследствие хорошо известных стерических и электронных влияний могут существенно изменить ее химические свойства. При этом, естественно, изменяются и биологические свойства, зависящие от химического строения.

2.5.1. Влияние стерических факторов

Существует два типа стерических эффектов, обусловленных наличием в молекулах небольших инертных групп. Эффекты первого типа обнаруживаются даже в водных растворах, эффекты второго требуют для своего проявления соответствующей частично комплементарной поверхности, как, например, в ферментативных реакциях.

А. Влияние стерических факторов на растворимость. Введение в молекулу метильной группы приводит к уменьшению растворимости соединения в воде, так как метильная группа обладает гидрофобными свойствами (разд. 17.1) и вследствие этого обычно снижает растворимость. Однако известны исключения из этого правила. В табл. 2.4. приведены величины растворимости в воде для некоторых алифатических спиртов, из которых видно, что растворимость амиловых спиртов увеличивается с разветвленностью боковых цепей. Это связано с существованием прочных водородных связей между молекулами воды. Для того чтобы вещество растворилось в воде, оно должно раздвинуть молекулы воды, т. е. разорвать водородные связи, что легко достигается в случае низших спиртов, метанола и этанола, так как гидроксильные группы составляют значительную часть их молекул и способны легко образовывать водородные связи

¹ О рецепторах лекарственных веществ см. также *Сергеев П. В., Шимановский Н. Л.* Рецепторы физиологически активных веществ. М., 1987; *Комиссаров М. В.* Механизмы химической чувствительности синаптических мембран. — Киев, 1986. — *Примеч. ред.*

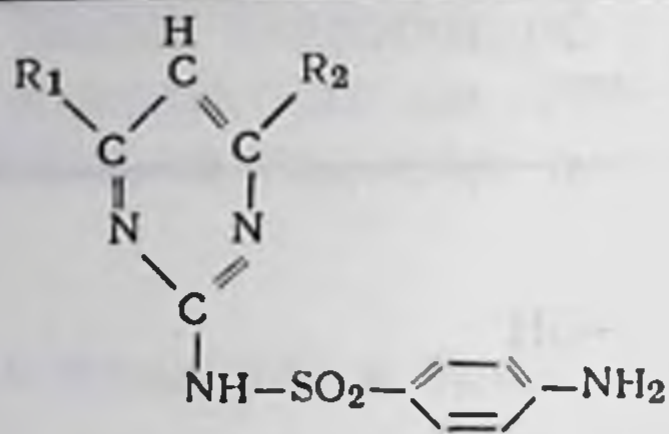
Таблица 2.4. Растворимость спиртов в воде (г на 100 г воды при 20 °С) [Ginnings, Baum, 1937]

Спирт	Растворимость
Пентанолаы	
$\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—OH}$	2,4
$\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH—CH}_3$ OH	4,9
$\text{CH}_3\text{—C—CH}_2\text{—CH}_3$ OH	12,2
н-Бутанол (для сравнения)	8,2

с молекулами воды. В то же время у высших спиртов решающее значение приобретает алифатическая боковая цепь, не способная проникать в промежутки между молекулами воды и раздвигать их, и поэтому она вытесняется из воды, увлекая за собой всю молекулу. Влияние алифатической цепи значительно слабее у спиртов с гидроксильной группой, расположенной ближе к середине молекулы (так, например, растворимость третичного амилового спирта выше, чем его низшего гомолога н-бутанола). Неудивительно и то, что из-за гибкости более длинной цепи растворимость 2-аминомасляной кислоты в воде выше, чем растворимость 2-аминопропионовой кислоты (аланина) [Cohn et al., 1934].

Растворимость ряда сульфамидопиримидиновых препаратов при введении метильной группы резко повышается (табл. 2.5). На первый взгляд это кажется странным, так как эти вещества представляют собой кислоты и добавление каждой новой метильной группы снижает степень ионизации кислотной группы ($\text{—SO}_2\text{NH—}$) за счет индукционного эффекта метильных групп (разд. 17.2). Например, сульфазин менее растворим, чем его метильные производные, хотя он имеет наибольшую степень ионизации из всех членов этого ряда, а ионы, как правило, растворяются лучше, чем нейтральные молекулы. Увеличения растворимости при введении метильных групп можно ожидать и в других соединениях, похожих по сложности и жесткости структуры. Очевидно, метильные группы стерически затрудняют быструю адсорбцию молекул уже растворенного вещества на кристаллической решетке твердой фазы, что и смещает равновесие в сторону увеличения растворимости. Количественные определения растворимости трех веществ (см. табл. 2.5) были проведены при рН 5,2, так как именно в этих условиях практически происходит дезинфекция мочевых путей,

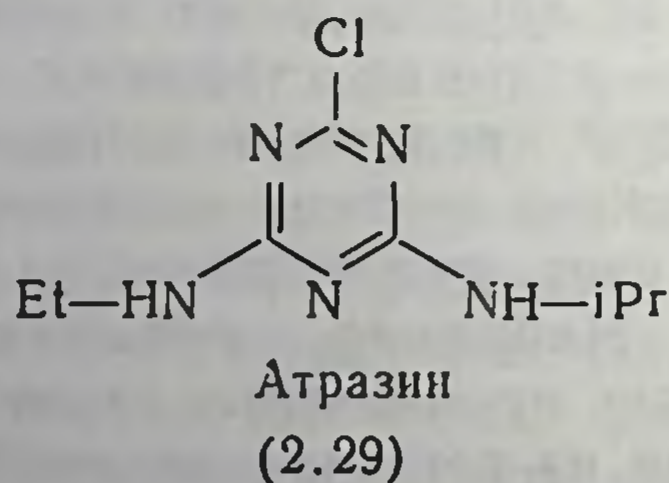
Таблица 2.5. Увеличение растворимости в воде, вызванное введением метильных групп [Gilligan, Plimmer, 1943]



R ₁	R ₂	Лекарственное вещество	рK _a	Процент ионизированной формы при pH 5.2	Растворимость при pH 5.2 (37 °C), ммоль/л
H	H	Сульфазин	6,5	3,9	0,0005
CH ₃	H	Сульфамеразин	7,1	1,4	0,0013
CH ₃	CH ₃	Сульфадимезин	7,4	0,7	0,0024

а также выведение лекарственного вещества почками (все три вещества значительно менее растворимы, чем их ацетильные производные; в противном случае большее значение имели бы данные о растворимости этих производных). Аналогично меняются величины растворимости этих соединений при pH 6,0 и 7,0.

При введении метильных групп в триазиновые гербициды растворимость последних также увеличивается. Такие несимметричные производные, как атразин (2.29), значительно более растворимы в воде, чем симметричные низшие гомологи, например симазин (4.62). Растворимость этих двух веществ в воде при 25 °C равна соответственно 70 и 5 частей на 1 мл. Вследствие этого атразин значительно более токсичен для листьев.



Резкое изменение биологической активности, вызванное введением инертного заместителя, наиболее отчетливо можно наблюдать в гомологических рядах. Обычно в гомологическом ряду биологическая активность повышается при переходе к каждому последующему члену ряда до определенного предела, когда очередное прибавление группы —CH₂— влечет за собой значительное уменьшение или даже полное исчезновение биологической активности. Такое изменение биологической активности для соединений одного гомологического ряда наблюдается

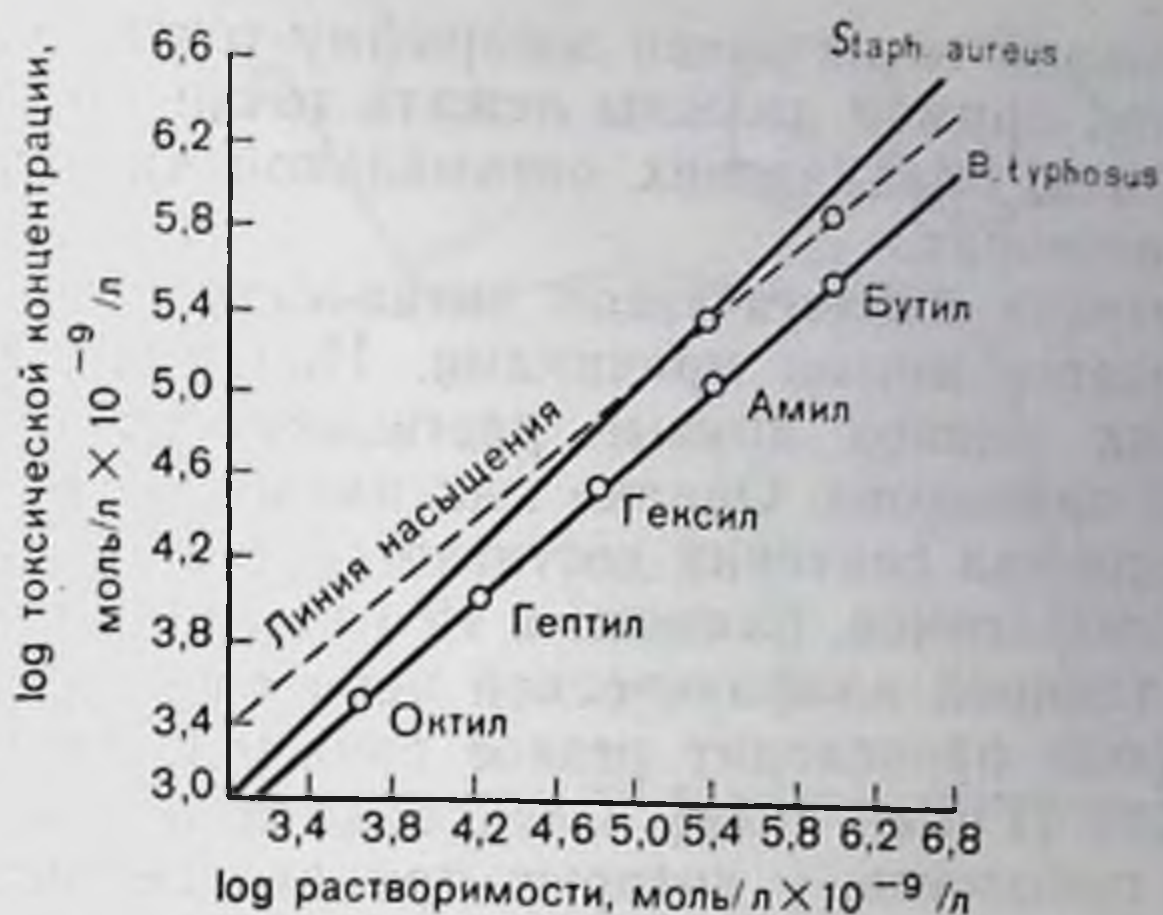


Рис. 2.3. Зависимость бактерицидной активности (концентрация) от растворимости неразветвленных первичных спиртов.

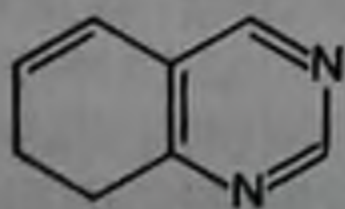
для разных видов биологической активности у различных членов ряда. Неудивительно, что по мере удлинения цепи токсичность возрастает, так как дополнительная метиленовая группа обеспечивает возможность образования дополнительных вандер-ваальсовых связей. А это означает увеличение адсорбционной способности соединения, обеспечивающей связь с рецепторами организма. При этом, однако, увеличения десорбционных сил не происходит, так как кинетическая энергия молекулы не зависит от ее размера. Резкое уменьшение биологической активности стало понятным после того, как Ferguson (1939) показал, что логарифмы эквитоксических концентраций различных членов гомологического ряда лежат на прямой. На прямой лежат и логарифмы их растворимостей, причем эти две прямые не параллельны друг другу, а именно в точке их пересечения и отмечается скачок биологической активности в данном гомологическом ряду (рис. 2.3). В разд. 15.0 этот эффект рассматривается с точки зрения зависимости термодинамической активности от концентрации лекарственного вещества.

На рис. 2.3 приведены графики зависимости логарифма токсических концентраций первичных спиртов от логарифма их растворимости в воде. Как видно из этого рисунка, грамотрицательная бактерия *B. typhosus* крайне чувствительна к воздействию спиртов. Даже для октилового спирта летальная концентрация не превышает предела его растворимости. В то же время грамположительный *Staphylococcus aureus* менее чувствителен к спиртам, поэтому бактерицидный эффект для этого микроорганизма достигается при более высокой концентрации. В результате резкое исчезновение биологической активности наблюдается на уровне амилового спирта, поскольку экстраполированная для гексилового спирта летальная концентрация превышает его растворимость. Показанная на рис. 2.3 пунктиром «кривая насыщения» идет под углом 45° , т. е. логарифм раство-

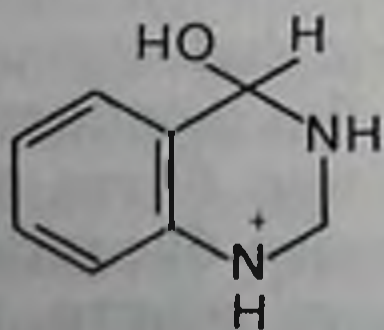
римости в каждой точке равен логарифму токсической концентрации. На этой прямой должны лежать точки для веществ воображаемого ряда, обладающих оптимальной активностью в насыщенных растворах.

Иногда утрата биологической активности высшими гомологами объясняется иными причинами. Например, у первичных алифатических аминов кривые растворимости и токсичности расположены одинаково. Однако максимум токсичности в отношении большинства бактерий достигается для соединений с числом углеродных атомов, близким к 12 (додециламин), а при добавлении к длинной алифатической цепи еще одного или двух атомов углерода происходит резкое снижение антибактериальной активности [Fuller, 1942]. Следует отметить, что это происходит у тех гомологов, у которых при дальнейшем удлинении цепи увеличивается способность к образованию мицелл (разд. 14.0). Так, например, критическая концентрация мицеллообразования при переходе от амина C_{12} к амину C_{14} понижается с 0,01 до 0,003 [Klevens, 1948]. Содержание мономера (неассоциированных молекул) уменьшается при переходе к каждому следующему члену гомологического ряда даже в умеренно разбавленных растворах. Если предположить, что бактериальные рецепторы и мицеллы конкурируют друг с другом в захвате неассоциированных молекул (что вполне вероятно), то легко понять, каким образом это снижение концентрации мономера может привести к резкому уменьшению биологической активности.

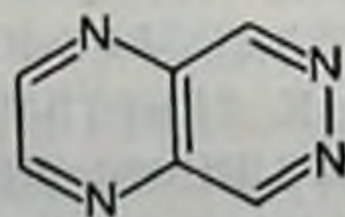
Б. Влияние стерических факторов на ковалентную гидратацию. Метильная группа может препятствовать присоединению молекулы к соседней двойной связи, в результате чего липофильность такого соединения резко возрастает. Прежде чем обсуждать этот удивительный эффект, рассмотрим явление ковалентной гидратации. Наличие перегиба на кривой потенциометрического титрования птеридин-6-она [Albert, Brown, Cheeseman, 1952] помогло обнаружить способность азотсодержащих гетероциклов (хотя бы в виде одной из ионных форм) ковалентно присоединять воду по двойной связи [Albert, 1967, 1976; Perrin, 1965a]. Так, например, молекула хиназолина в водном растворе существует преимущественно в безводной форме (2.30), а ее катион — в виде гидрата (2.31) [Albert, Armarego, Spinner, 1961].



Хиназолин
(2.30)



Гидратированный
хиназолин (катион)
(2.31)



Птеридин
(2.32)

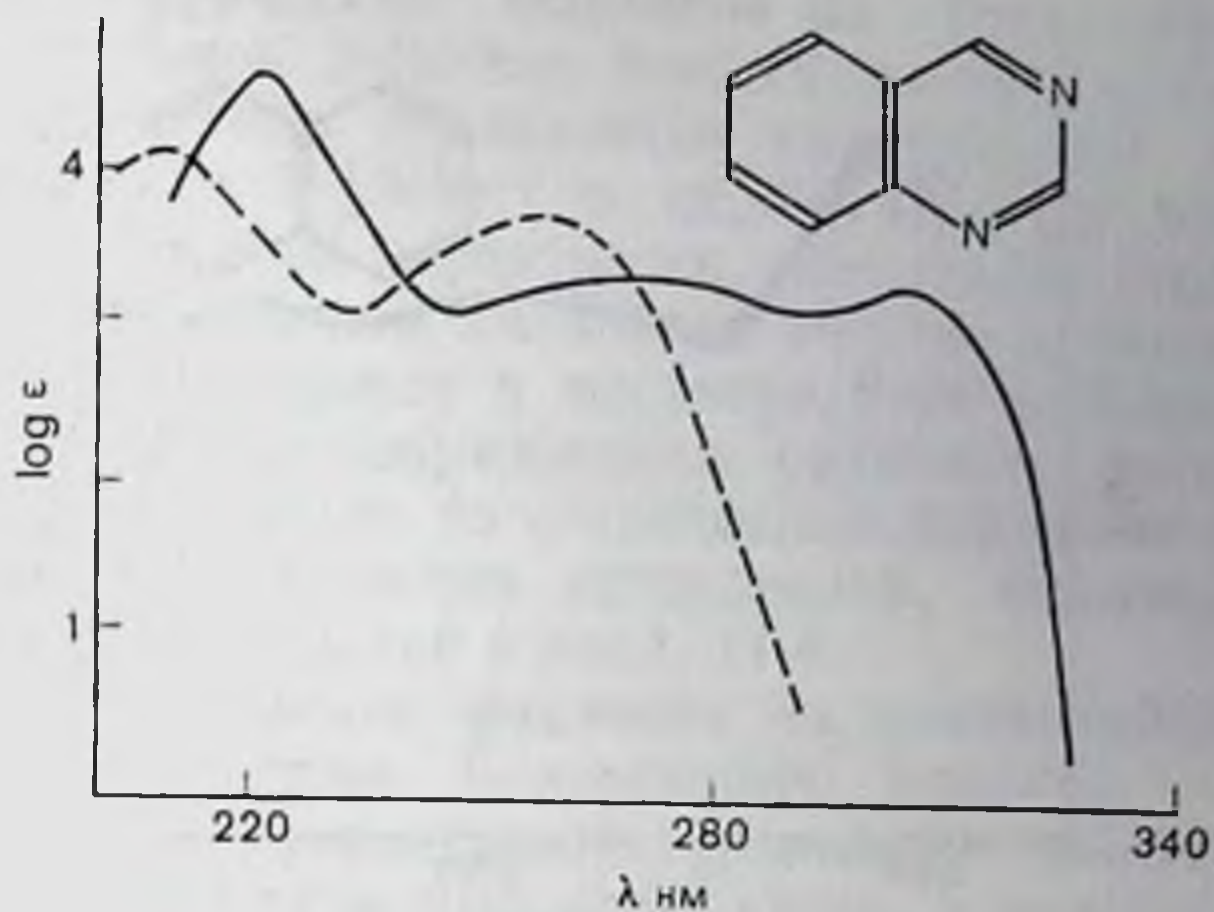


Рис. 2.4. УФ-спектр водного раствора хиразолина (сплошная линия — нейонизированный образец, пунктир — катион).

Наличие ковалентной гидратации можно установить тремя методами, фиксирующими исчезновение двойной связи: 1) ультрафиолетовый спектр сдвигается в коротковолновую область; 2) определение констант ионизации указывает на ослабление кислотных или усиление основных свойств; 3) в спектре протонного магнитного резонанса (ПМР) происходит сдвиг сигнала в сторону слабого поля. Более того, первый и третий методы дают информацию и о строении гидратированной формы. Значения констант в этих методах могут быть предсказаны по данным для изомеров или молекул, содержащих в цикле на один атом азота меньше или не содержащих бензольного кольца. В свою очередь значения для гидратов близки к таковым для соответствующих дигидросоединений.

Например, спектр хиразолина при подкислении раствора неожиданно резко смещается в сторону более коротких волн (рис. 2.4), а значение pK_a становится равным 3,51 (равновесное значение) вместо 1,9 (величина pK_a для безводной формы, определенная методами изучения быстрых реакций) [Bunting, Perrin, 1967]. Если к углеродному атому, атакуемому ОН-группой воды, присоединена метильная группа, то ковалентная гидратация подавлена. Этот эффект зависит в первую очередь от стерических факторов, но усиливается индукцией [Albert et al., 1961]. Поэтому в случае 4-метилхиразолина при подкислении происходит нормальное смещение спектра (рис. 2.5), а величина pK_a равна 2,52, что совпадает с расчетным значением.

Птеридин (2.32) обнаруживает более высокую склонность к гидратации, чем хиразолин; даже его нейтральная молекула гидратирована на 22% (в воде при 20°C). И в этом случае введение метильной группы в положение 4 в значительной степени препятствует гидратации как самого птеридина, так 2-ами-

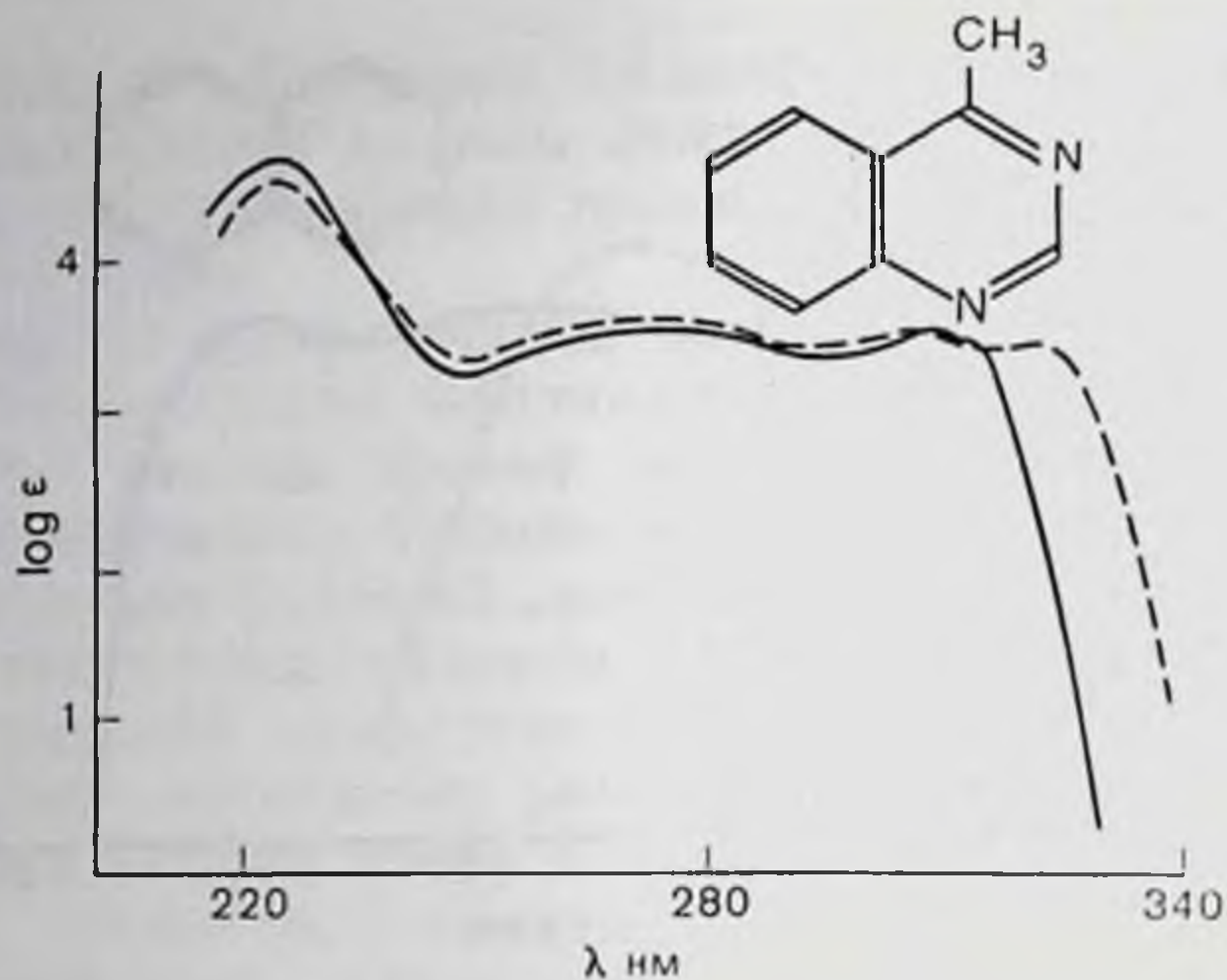


Рис. 2.5. УФ-спектр водного раствора 4-метилхиназолина (сплошная линия — ненонизированный образец, пунктир — катион).

ноптеридина [Albert, Howell, Spinner, 1962] и птеридин-2-она [Albert, Howell, 1962]. Птеридин-6-он гидратируется по двойной связи в положениях 7 и 8 [Brown, Moson, 1956]; этот процесс подавляется введением метильной группы в положение 7 [Albert, Reich, 1961].

Появление в результате ковалентной гидратации новой гидроксильной группы приводит к снижению коэффициента распределения соединения в системе масло — вода и уменьшению его способности проникать через мембраны. А наличие метильной группы в соответствующем положении может увеличивать способность вещества проникать через мембрану вследствие уменьшения гидратации (разд. 17.1), а это, в свою очередь, может полностью менять его физиологические свойства.

Природные птеридины могут существовать в гидратированной, как, например, ксантоптерин, или безводной форме, например, 7-метилксантоптерин [Albert, Reich, 1961; Inoue, Pegg, 1962]. Некоторые природные вещества могут находиться в равновесии с ковалентно-гидратированной формой: афлатоксин, с помощью которого грибок *Aspergillus flavus* переваривает пищу [Patterson, Roberts, 1972]; антрамицин (4.43), пирролобензодиазепиновый антибиотик [Goldberg, Friedman, 1971]; алкалоид хортиамин, понижающий давление крови [Pachter et al., 1960]; тетродотоксин, блокатор натриевых каналов из японской рыбы фугу [Goto et al., 1965], а также эргоалкалоиды при экспонировании на свету [Hellberg, 1959]. Вполне вероятно, что окислению пуринов ксантиноксидазой предшествует их ковалентная гидратация, хотя в равновесной смеси может содержаться лишь небольшое количество гидратированной формы [Bergmann et al., 1960].

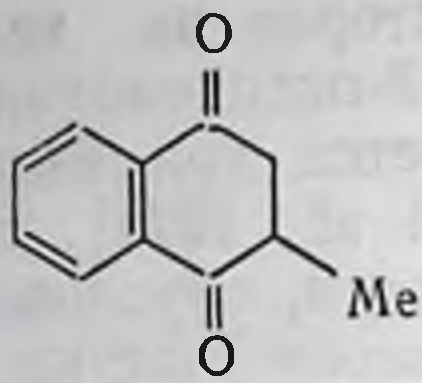
В. Влияние стерических факторов на хелатообразование. Противобактериальное действие 8-оксихинолина (разд. 11.7.1) в значительной степени подавляется при введении метильной группы в положение 2 [Albert et al., 1974]. Этот эффект метильной группы, по всей вероятности, обусловлен стерическими препятствиями при контакте активного участка с биологической поверхностью. Даже просто в растворе 2-метил-8-оксихинолин способен при комплексообразовании различать катионы Al^{3+} и Fe^{3+} , что также связано со стерическим влиянием метильной группы. Примеры стерических затруднений, вызываемых метильной группой, приводятся в разд. 11.4.

Г. Влияние стерических факторов на взаимодействие с рецепторами и ферментами. Большинство молекул, способных связываться с холинорецепторами (имитируя действие мускарина), содержат четвертичный атом азота, у которого один из заместителей представляет собой неразветвленную цепь из пяти атомов (разд. 12.6). Дополнительное введение еще хотя бы одной метиленовой группы в эту цепь приводит к исчезновению биологической активности. Наиболее активные молекулы в качестве двух других заместителей содержат метильные группы, причем их замена атомом водорода или этильной группой приводит к резкому падению активности.

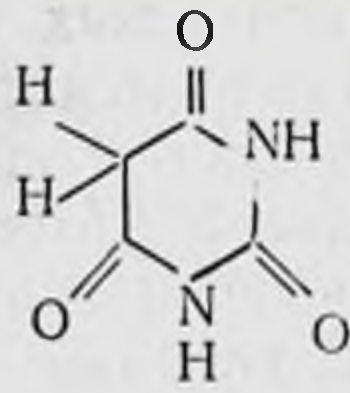
Ферменты также часто обладают настолько высокой специфичностью, что введение или удаление одной метильной группы в молекуле субстрата или кофермента может привести к резкому уменьшению или даже к полному исчезновению их способности взаимодействовать с ферментом. В начале этой главы уже рассказывалось о влиянии метильной группы на биологическую активность тиамина.

Еще одним примером служит индолилуксусная кислота (4.82), природный регулятор роста растений, утрачивающая активное биологическое действие при введении метильной группы в положение 2. В то же время наличие метильной группы в положении 2 абсолютно необходимо для проявления биологической активности витаминов группы К, например менафтона (2.33).

Иногда метильная группа усиливает биологический эффект лекарственного вещества, нарушая его структурное соответствие разрушающему ферменту. Так, гипертензивное действие фенамина (1-метил-2-фенилэтиламин) (9.44) длительнее, чем у 2-фенилэтиламина. Это объясняется устойчивостью фенамина к действию моноаминоксидазы (МАО), которая, однако, быстро разрушает 2-фенилэтиламин [Blaschko, 1952]. Точно так же можно усилить действие кортикостероидов и стероидных половых гормонов введением метильной группы. Так были получены многие эффективные лекарственные вещества. Вероятно, инертные заместители нарушают стерическое соответствие молекул стероидов с разрушающими их ферментами [Ringold, 1961].



Менафтон
(2.33)



Барбитуровая кислота
(2.34)

2.5.2. Электронные влияния

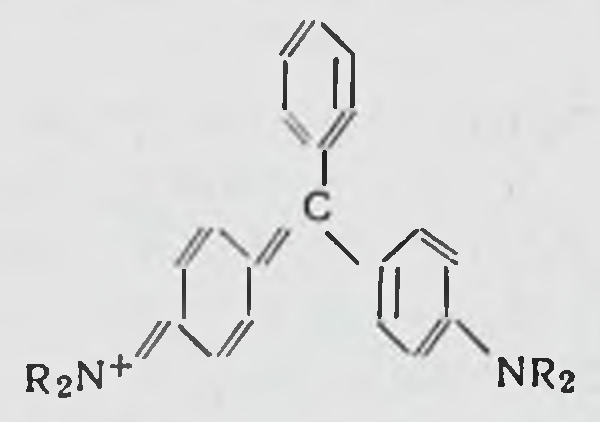
Метильная группа — один из немногочисленных заместителей, всегда проявляющих электронодонорные свойства как по индуктивному механизму, так и за счет сопряжения (разд. 17.2).

А. Электронные влияния на ионизацию. Электронодонорная метильная группа, связанная с атомом углерода, повышает основность и понижает кислотность. Присоединение метильной группы к атому азота, т. е. образование вторичного амина, приводит к увеличению основности, однако третичные амины обычно слабее, чем вторичные. Такие изменения основности чаще всего невелики и не превышают одной единицы рК, но они могут повлиять на биологическое действие, если рК отличается от рН, при котором проводится биологический эксперимент, не более чем на одну единицу (разд. 10.0). В таких случаях разница в единицу рК может привести к тому, что одно из двух лекарственных веществ окажется ионизированным в 10 раз сильнее. Если, как это часто бывает, одна из ионных форм (например, катион) биологически намного активнее, чем другая (например, нейтральная молекула), то такое изменение ионизации может определить наличие или отсутствие биологической активности (разд. 10.3).

Основность трифенилметановых красителей значительно увеличивается при N-алкилировании (сложная химия этих соединений обсуждается в разд. 10.2). Из данных, приведенных в табл. 2.6, видно, что противобактериальная активность строго коррелирует со степенью ионизации исследованных веществ, т. е. биологическая активность зависит от присутствия «химически инертных групп».

Совершенно очевидно, что при метилировании кислотных —ОН или —NH групп пропадает их способность к ионизации. В ряду производных барбитуровой кислоты это приводит к следующим результатам. В водных растворах барбитуровая кислота существует в триоксо-форме (2.34), и в результате отщепления протона от атома С-5 образует моноанион, являющийся довольно сильной кислотой (рК_а 3,9). Введение одной алкильной группы в положение 5 незначительно снижает кис-

Таблица 2.6. Зависимость между ионизацией и противобактериальной активностью в ряду трифенилметановых соединений

<p>Соединение</p> 	<p>P (все четыре)</p>	<p>pK (равновесная)</p>	<p>Процент ионизированной формы при pH 7,3</p>	<p>Минимальная бактериостатическая концентрация для Staph. aureus (24 ч при 37 °C и pH 7,3)</p>
Фиолетовый Дебнера	H	5,38	2	1: 20 000
Малахитовый зеленый	CH ₃	6,90	28	1: 80 000
Бриллиантовый зеленый	C ₂ H ₅	7,90	80	1:1 280 000

лотность, но при двух заместителях такой анион образоваться не может. В этом случае происходит отщепление от N-3 и образуется анион по положению 3, но такая кислота значительно слабее. Так, для барбитала (5,5-диэтилбарбитуровой кислоты) величина pK_a равна 7,9, т. е. в 10^4 раз меньше, чем для самой барбитуровой кислоты. Поэтому введение двух эрнертных этильных групп резко сказывается на биологической активности. Соединение с pK_a 3,9 полностью ионизировано при pH 7,3 (разд. 17.0) и не проникает через ГЭБ, тогда как соединение с pK_a 7,9, как у барбитала, при pH 7,3 ионизировано только на 20% и легко проникает через барьер. Для снотворного действия настолько важна липофильность, что заместители в положении 5 все вместе должны содержать не менее четырех атомов углерода (см. главу 15).

Б. Электронные влияния на окислительно-восстановительные (редокс) потенциалы. Смещение электронов от С-метильной группы приводит к снижению редокс-потенциала (E_0). В результате вещество становится более активным восстановителем и менее активным окислителем (т. е. оно становится более устойчивым к восстановлению), чем его неметилованный гомолог. Редокс-потенциал (определение которого дано в разд. 11.4) отражает равновесие между окисленной и восстановленной формами (все величины редокс-потенциалов, приведенные в этой книге, даны относительно потенциала нормального водородного электрода).

Введение метильной группы в положение 2 молекулы 1,4-нафтохинона для получения соединения (2.33) снижает потенциал до +408 мв, т. е. на 76 мв [Fieser, Fieser, 1935]. Потенциал +408 мв вполне достаточен для окислительного агента в живой клетке. С другой стороны, восстановительный потенциал NAD равен 280 мв, и это значение так мало, что замещенный NAD с еще чуть более низким потенциалом будет, по всей вероятности, уже неспособен к восстановлению в соответству-

ющий NADH в клетке и не сможет выполнять жизненно важную функцию переносчика водорода. Возможно, что именно поэтому 2-метилникотинамид не обладает биологической активностью, хотя эффект метильной группы может быть частично связан и со стерическим влиянием.

В. Электронные влияния в реакциях, протекающих с разрывом ковалентной связи. Выше шла речь о влиянии электронодонорных эффектов метильной группы на процессы, протекающие фактически одновременно, но не рассматривались медленные процессы (т. е. контролируемые кинетически). Метильные группы благодаря электронодонорному характеру способствуют электрофильному замещению, например, облегчая ацилирование соседних аминогрупп или образование ими азометина (основание Шиффа) в реакции с альдегидом. Метильная группа в боковой цепи легко подвергается биodeградации. Метаболическое окисление метильной группы в ароматических углеводородах до карбоксильной полностью меняет характер распределения вещества в организме и способствует его быстрому выделению [ср. Schultzen, Naupyn, 1867].

Метильные группы могут стабилизировать молекулу, если они замещают атом водорода, который в противном случае мог бы отщепиться вместе с соседним атомом. Например, дитиокарбаматы отщепляют сероводород, если хотя бы одна алкильная группа замещается атомом водорода, образуя изотиоцианаты. Так, фунгицид набам расщепляется с выделением изотиоцианата, являющегося, вероятно, истинно действующим агентом. Однако полностью алкилированные дитиокарбаматы, например (2.27), устойчивы и поэтому действуют как таковые (механизм их действия рассматривается в разд. 2.3).

Г. Растворимость. У ароматических азотсодержащих гетероциклов, например у пиридина, замещение атома водорода в группах $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ или $-\text{CO}-\text{NH}$ на метильную группу может резко повышать растворимость в воде. Но заместители, способные образовывать водородные связи (например, $-\text{NH}_2$), уменьшают растворимость таких соединений в воде из-за образования водородной связи с высокополярным атомом азота цикла. Суть этого явления заключается в том, что сила взаимодействия между молекулами таких соединений больше, чем их сила взаимодействия с молекулами воды. В результате увеличивается энергия кристаллической решетки и вещество выпадает в осадок.

Это явление редко встречается у ациклических соединений. Влияние метильной группы на растворимость гетероциклических соединений — следствие способности этой группы нарушать образование ассоциатов, связанных водородной связью, а не прямой эффект ее электронного влияния.

Растворимость некоторых производных птеридина (2.32) (в воде при 20°C) следующая: 4-аминоптеридин 1 : 400, 4-диметиламиноптеридин 1 : 2 [Albert, Brown, Cheeseman, 1952b],

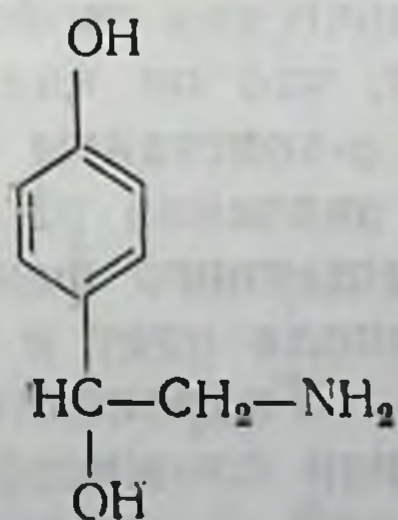
7-гидроксиптеридин 1 : 900, О- и N-метильные производные 1 : 50, 6-аминопурин (аденин) (4.3) 1 : 1100, 6-деметиламинопу-рин 1 : 120 [Albert, Brown, 1954].

2.6. Корреляции и их перспективы

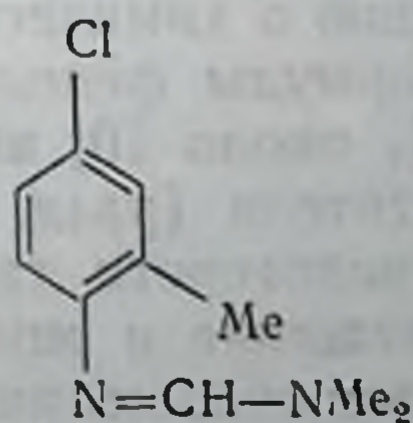
В настоящее время основными свойствами, определяющими биологическую активность, считают: 1) распределение, 2) ионизацию (или другой показатель распределения электронов) и 3) стерическое соответствие (форма). Понимание того, что физико-химические свойства определяют биологическое действие лекарственных веществ, расширило существующие ранее представления о природе рецепторов и в число рецепторных молекул были включены нуклеиновые кислоты и коферменты.

Это раскрыло новые возможности для создания лекарственных веществ. Так, было установлено, что без ущерба для биологической активности можно заменять один цикл другим (если при этом сохраняются данные физические свойства). Например, при замене акридинового цикла на антраценовый противобактериальные свойства сохраняются. Принцип замены гетероцикла на его физический эквивалент был успешно применен при поиске противомаларийных препаратов. В алкалоиде хинине хинуклидиновый цикл сначала был заменен на алифатическую цепь $—CH(OH)—CH_2—NR_2$, а затем второй гетероцикл (хинолин) был заменен на нафталиновый (разд. 10.3.5). Эти изменения структуры не только не ослабили, но даже усилили противомаларийное действие вещества. Полученная молекула перестала быть субстратом для метаболизирующих ферментов, а физико-химические свойства, определяющие биологическую активность, были сохранены.

Этот принцип относится не только к замене колец, но и атомов. Замена атома углерода (в группе $—CH(OH)—CH_2—$) в молекуле октопамина (2.35), нейромедиаторе насекомых, на атом азота (группа $—N=CH—$) привела к получению сериновых инсектицидов, из которых лучшим был широко используемый хлордимеформ (2.36) (сверхсильный агонист для насекомых). Его инсектицидное действие обусловлено сильными агонистическими свойствами [Evans, Gee, 1980].

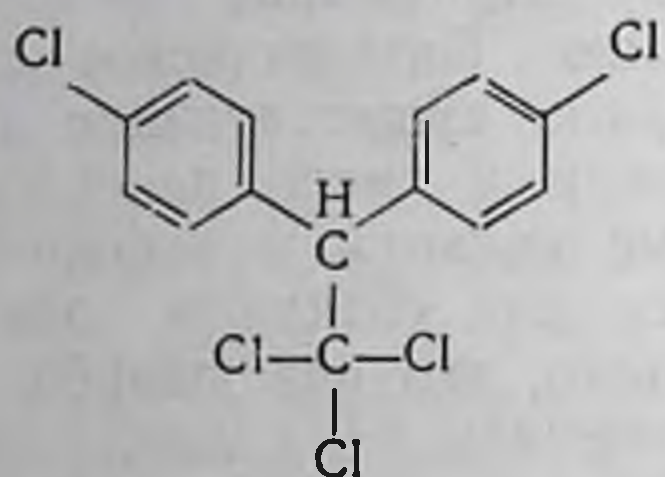


Октопамин
(2.35)

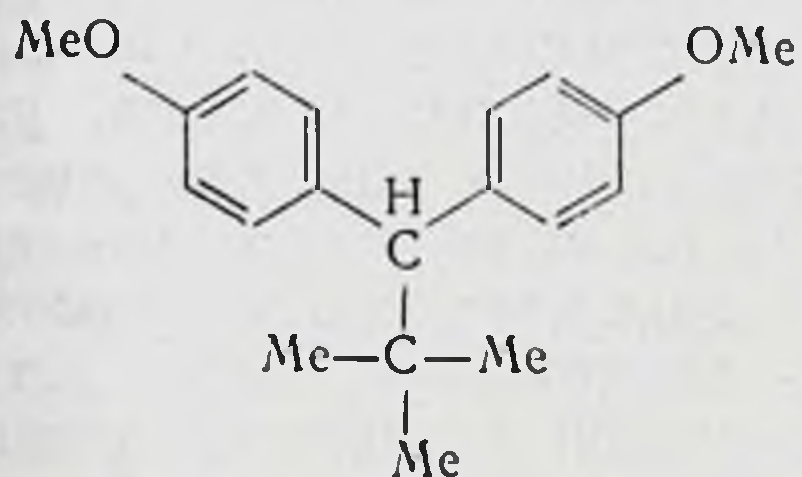


Хлордимеформ
(2.36)

На примере активных аналогов антигипертензивного препарата каптоприла (9.50) видно, как широко можно варьировать структуру молекулы, не изменяя при этом стереохимические свойства. Для проявления активности необходимо образование водородной связи между карбонильной группой вещества и рецептором. При этом неважно, входит ли эта группа $—C=O$ в состав амида, эфира или же является кетогруппой. Ее можно даже заменить на сульфаниламидную группу [Condon et al., 1982].



ДДТ
(2.37)



Дианизилнеопентан
(2.38)

Инсектицидные свойства ДДТ (2.37) также не меняются, если пять атомов хлора в молекуле заменить на метильные или метокси-группы [1,1-дианизилнеопентан (2.38)] [Brown, Rogers, 1950].

Что же мы имеем в виду, говоря о связи структура—активность? Под словом структура мы понимаем строение молекулы вещества, определяющее все его физические и химические свойства (как вытекающие из химической формулы, так и определяемые экспериментально); под активностью подразумевается взаимодействие лекарственного вещества с рецептором. Однако при этом следует помнить, что это взаимодействие связано с наблюдаемым физиологическим эффектом длинной цепью событий. Поэтому о влиянии строения вещества на его действие уместно говорить только тогда, когда рассматривается действие на рецептор.

Можно и нужно уметь предсказывать свойства вещества по его структурной формуле. Химическая формула дает богатейшую информацию о химических и физических свойствах вещества. Так, из формулы фенола следует, что он является слабой кислотой с pK_a около 10; вычитание σ -константы Гаммета для данного заместителя (разд. 17.2) из значения pK_a фенола дает величину кислотности такого замещенного фенола. Электрофильное замещение в молекуле фенола идет в более электроотрицательные положения 2, 4 и 6. Гидроксильная группа может быть превращена в эфирную или сложноэфирную группу. О протекании аналогичных реакций в замещенных фенолах также можно судить по знаку и величине σ -констант Гаммета для этих заместителей: реакция затрудняется электроно-

акцепторными и облегчается электронодонорными заместителями. Нуклеофильное замещение и реакции присоединения не свойственны фенолу; восстанавливается он с трудом, а окисляется с образованием хинонов и продуктов самоконденсации. Сильные электроноакцепторные заместители ($-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CONH}_2$) облегчают нуклеофильное замещение, реакции присоединения и восстановления, но затрудняют окисление. Распределение фенола между водой и липидным растворителем можно приблизительно рассчитать по ρ -константам заместителей по методам Хэнша и Реккера (разд. 17.1).

Точно так же по формуле пиридина можно сказать, что он является слабым основанием с pK_a около 5; основность замещенных пиридинов можно быстро рассчитать по методу Reggin, Dempsey, Serjeant (1981). Положения 2, 4 и 6 электронодефицитны, поэтому туда будет направлено нуклеофильное замещение; реакции присоединения идут только по атому азота; в электрофильные реакции пиридин практически не вступает; восстанавливается лишь в жестких условиях и практически не окисляется.

Правила прочтения этой информации по структурной формуле различных гетероциклов запомнить нетрудно [Albert, 1968].

Рекомендации, могущие помочь в поиске физических и биологических свойств по химическим названиям в книгах и банках данных, см. в разд. 17.4, о химии лекарственных веществ — в руководствах Doerge (1982) и Wolff (1981).

Глава 3

РАЗЛИЧИЯ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ: ПЕРВЫЙ ФАКТОР ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ

В проявлении избирательности в большей или меньшей степени всегда сказываются различия в распределении. В некоторых случаях именно они определяют избирательность токсического агента. В этой главе рассмотрены примеры использования существующих в природе различий в распределении, механизмы последнего, отличающиеся у разных организмов, и, наконец, количественные аспекты процессов распределения.

3.0. Избирательность, обусловленная различиями в распределении

Избирательность на основе различий в распределении означает, что агент, токсичный как для полезных, так и вредных клеток, накапливается только во вредных. Иногда полезные и вредные клетки находятся в организмах разных видов. Много лет тому назад во Франции было обнаружено, что водный раствор серной кислоты можно применять для борьбы с сорняками на полях [Rabaté, 1927]. При опрыскивании поля пшеницы 10% раствором серной кислоты из расчета 13 000 л/га на обработанном участке поля сорняков не было, а необработанная часть зарастала цветущей дикой редькой (рис. 3.1) [Ball, French, 1935; Robbins, Crafts, Raynor, 1952].

Безусловно, серная кислота повреждает цитоплазму и пшеницы, и сорняка. Однако листья пшеницы имеют гладкую и скользкую поверхность, а у двудольных сорняков она грубая и морщинистая; поэтому серная кислота скатывается с побегов пшеницы и задерживается на сорняках. Кроме того, нежные молодые ростки хлебных злаков защищены листочками и находятся ближе к земле, у основания растения, тогда как точки роста двудольных — на верхушках побегов, где они оказываются более уязвимыми. Таким образом, сорные травы гибнут, а полезные растения выживают в результате избирательного действия, которое целиком определяется различиями в распределении токсического вещества [Blackman, 1946].

На примере избирательного действия серной кислоты видно, что даже самый маленький по размеру ион водорода может проявлять избирательность.



Рис. 3.1. Уничтожение сорняка (дикая редька) путем опрыскивания раствором 10% серной кислоты его всходов на пшеничном поле (полоса слева) [Ball, French, 1935].

Избирательность действия тетрациклинов, широко применяющихся для лечения бактериальных инфекций у млекопитающих, определяется в первую очередь различиями в распределении, так как эти препараты накапливаются преимущественно в клетках бактерий, но не млекопитающих. Концентрация тетрациклинов в бактериальных клетках (как грамположительных, так и грамотрицательных) определяется проницаемостью их цитоплазматической мембраны [Franklin, 1971]. Поэтому тетрациклины ингибируют рибосомный синтез белка у бактерий в дозах, не оказывающих токсического действия на высшие организмы [Franklin, 1936b, 1966]. Ингибирование тетрациклинами белкового синтеза в изолированных рибосомах печени крыс подтверждает тот факт, что их избирательность обусловлена непроницаемостью мембраны клеток млекопитающих [Franklin, 1963a, разд. 11.8].

Известны и другие случаи поражения паразитов за счет накопления в них токсинов. Например, отличительной особенностью трипаносом является их способность легко и быстро накапливать органические соединения мышьяка. В течение десяти минут концентрация этих веществ в паразитах становится в несколько сотен раз выше, чем в окружающей жидкости. Вероятно, эта способность обусловлена наличием множества меркаптогрупп на поверхности клеток трипаносом: в работе Eagle (1945) указывается, что каждая пятая боковая цепь их поверхностных белков содержит SH-группу.

Аналогичным образом высокоэффективное антигельминтное средство фенотиазин, применяемый для лечения глистных заболеваний у овец, при пероральном введении накапливается только в паразитах, но не в клетках слизистой кишечника, тогда как при внутримышечном введении он токсичен и для паразита, и для хозяина [Lazarus, Rogers, 1951].

Таков же механизм действия дифторметилорнитина при лечении кокцидоза, наносящего большой ущерб птицеводству. Возбудитель этого заболевания протозоа *Eimeria* размножается в эпителии кишечника цыплят и поражает его. Препарат ингибирует орнитиндекарбоксилазу паразита, при этом фермент хозяина не затрагивается, так как дифторметилорнитин не проникает через кишечную стенку (разд. 9.7.2).

Ниже приведены примеры избирательного распределения агентов в разных тканях одного организма.

При пероральном введении гризеофульвин накапливается у человека только в ороговевших клетках — эпидермисе, волосах и ногтях. Поэтому он применяется при лечении грибковых поражений этих тканей. У грибов гризеофульвин блокирует митоз, вызывая образование многоядерных клеток [Gull, Tinci, 1973]. На клетки млекопитающих и растений он действует аналогично, поэтому очевидно, что избирательность действия в данном случае — следствие различий в распределении.

После внутримышечного введения больному цианкобаламина (витамина B_{12}) происходит его накопление в костном мозге, несмотря на 10^{10} -кратное разбавление в жидкостях организма. Даже 1 мкг этого витамина при таком введении достаточно для того, чтобы в костном мозге больных с пернициозной анемией началось образование эритроцитов. Процесс распределения витамина B_{12} изучали с помощью препарата, меченного ^{57}Co .

Другим ярким примером избирательности действия, обусловленной специфичностью распределения, может служить йод, избирательно накапливающийся в щитовидной железе. За этим процессом можно проследить с помощью радиоактивного йода (^{131}I , период полураспада 8 дней), используемого при лечении тиреотоксикоза. В зависимости от дозы радиоактивный препарат может понижать повышенный уровень метаболизма в железе или повреждать возникшие в ней опухоли. Обычная доза при пероральном введении составляет 10^{-12}г , 80% этого количества вскоре после введения попадает в железу.

Неорганические фосфаты специфично накапливаются в трабекулярной костной ткани, расположенной рядом с эритроидным костным мозгом. Для уменьшения образования эритроцитов при полицитемии в клинике используют ^{32}P (период полураспада 14 дней).

Применение радиофармацевтических препаратов для безопасной и точной диагностики представляет собой одно из

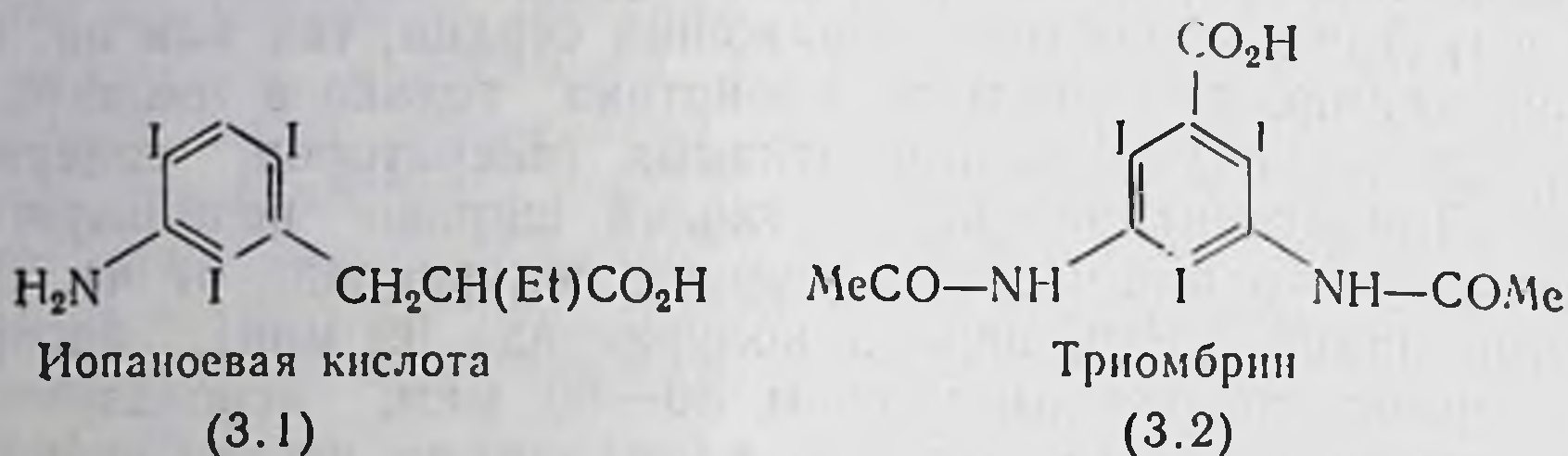
важных направлений в использовании атомной энергии в здравоохранении. Так, галлий ^{67}Ga (период полураспада 78 ч) благодаря своей избирательности незаменим при диагностике опухолей лимфатической системы. Хром (^{51}Cr , период полураспада 28 дней) избирательно метит эритроциты. Перспективно использование рубидия (^{82}Rb , период полураспада 75 сек) для диагностики поражений сердца, так как он, аналогично калию, переходит из кровотока только в миокард. Его получают с помощью портативных генераторов, содержащих ^{82}Sr . Для детектирования опухолей широко используют соль блеомицина и индия (^{111}In , период полураспада 67 ч). Другой изотоп индия (^{113}In , период полураспада 99 мин), адсорбированный на сферах диаметром 30—60 мкм, используют для сканирования легких, так как капиллярами легких избирательно задерживаются частички именно такого размера. Для этих же целей применяют сильный, но безопасный для человеческого организма источник мягкого гамма-излучения — ^{99}Tc (период полураспада 6 ч), а растворы технеция — для установления локализации опухолей мозга, избирательно накапливающих его. Аналогично локализацию повреждений миокарда устанавливают с помощью ^{201}Tl (период полураспада 74 ч). Более подробно о высокой избирательности радиофармацевтических препаратов см. Reynolds (1982).

Нетривиальный подход к лечению опухолей мозга основан на использовании изотопа ^{10}B . Сам он не радиоактивен, но обладает необычайной способностью захватывать нейтроны. Соединения бора плохо проникают через гематоэнцефалический барьер, но в опухолях этот барьер нарушен, и поэтому они накапливаются в злокачественной ткани, что было впервые показано Кгюгер (1955) на мозге мышей. При облучении нейтронами атомы ^{10}B их захватывают и распадаются с излучением альфа-частиц, обладающих в 100 млн раз большей энергией, чем нейтроны. Нормальная ткань мозга не повреждается ни нейтронами, ни альфа-частицами, так как у них длина пробега в тканях всего около 10 мкм.

Обычно бор вводится больным в виде карборана — циклического соединения, имеющего формулу $\text{C}_2\text{H}_{12}\text{B}_{10}$. Для повышения сродства к белкам к карборану присоединяют две меркаптогруппы. Так как в природной борной кислоте всего 19% ^{10}B (а в основном ^{11}B), то для терапевтических целей ее приходится дополнительно обогащать. Спустя час после введения препарата через соответственно расположенное отверстие в черепе направляют пучок нейтронов из атомного реактора. Впервые в клинике этот метод применили в Токио [Hatanaka, Sano, 1973; ср. Wong, Tolpin, Lipscomb, 1974].

При рентгенокопии органов, избирательно накапливающих йод, в качестве рентгеноконтрастных средств применяют органические соединения, содержащие радиоактивный изотоп ^{127}I . Для контрастирования желчных путей и желчного пузыря

перорально назначают иопаноевую кислоту (3.1) или ее натриевую соль — [3-(3-диметиламинометиленамино-2,4,6-трийодфенил) пропионат натрия]. При исследовании мочевых путей применяют триомбрин (3.2) или его изомер — ноталамовую кислоту (5-ацетамидо-N-метил-2,4,6-трийодфталамовая кислота).



Различные N-замещенные производные фенотиазина, содержащие боковые цепи основного характера, например антигистаминный препарат дипразин (пипольфен) и транквилизатор амиказин, обладают способностью накапливаться в тканях глаза человека и других млекопитающих. Зачастую при этом их концентрация в глазах в 50 раз превышает таковую в других тканях [Potts, 1962]. Каждый природный стероид имеет свой транспортный белок, при помощи которого он достигает ядерной ДНК той клетки, на которую он избирательно действует (разд. 2.4).

Примеры избирательного распределения можно найти и среди противоопухолевых препаратов. С учетом того, что большинство опухолевых клеток захватывают урацил сильнее, чем здоровые, был синтезирован и вошел в клиническую практику 5-фторурацил [Heidelberger et al., 1958], применяющийся сегодня для лечения рака кожи (при чешуйчатой и базальной карциноме). Этот препарат настолько избирателен, что 5% мазь можно наносить на пораженные участки прямо незащищенной рукой и покрывать ею все лицо и тело в зависимости от степени поражения. При этом 5-фторурацил действует только на малигнизированную ткань, которая при этом разрушается и заменяется новой здоровой кожей [Williams, Klein, 1970; Klein et al., 1972]. Излечение при хирургическом или диатермическом вмешательстве наступает быстрее, но после них остаются шрамы. Биохимический механизм действия 5-фторурацила рассмотрен в разд. 4.0.

Дрожжи (включая поражающий людей *Candida albicans*) в отличие от бактериальных и животных клеток легко захватывают ди- и трипептиды, в том числе и обладающие фунгицидной активностью пептиды с ацетилированной концевой аминогруппой. Однако они не захватывают пептиды с этерифицированной концевой карбоксильной группой в отличие от бактерий, осуществляющих этот процесс с легкостью [Lichliter, Naider, Becker, 1976].

Избирательность распределения может определяться исключительно размерами частиц препарата. Так, при ингаляции лекарственного средства частицы диаметром приблизительно 5 мкм задерживаются в носоглотке, 2 мкм — проникают в крупные бронхи, а < 1 мкм — достигают мельчайших бронхов и альвеолярных сумок, что и необходимо для эффективного воздействия аэрозоля.

3.1. Всасывание, распределение и выведение лекарственных веществ

При инъекционном или пероральном введении лекарственного вещества в организм для попадания на соответствующий рецептор оно обычно должно преодолеть одну или несколько полупроницаемых мембран. Например, противсмалярийный препарат хингамин (10.31) при пероральном введении должен сначала преодолеть барьер между желудочно-кишечным трактом и кровотоком, затем пройти через мембрану эритроцитов и, наконец, через мембрану плазмодия (возбудителя малярии). По обе стороны мембраны концентрация лекарственного вещества непрерывно падает в результате его депонирования, выведения и инактивации. Где могут депонироваться лекарственные вещества? В липидах накапливаются жирорастворимые вещества (типа тиопентала); с нуклеиновыми кислотами и хондроитином связываются катионы (типа хингамина), а с сывороточным альбумином — анионы (типа сурамина и сульфамидов) [Brodie, Hogben, 1957].

Депонирование — легко обратимый процесс. В некоторых случаях оно оказывается благоприятным фактором — когда, например, обеспечивает поддержание постоянного уровня лекарственного препарата в крови (как при септицемии). Однако оно может играть и неблагоприятную роль, когда, например, после вечернего приема снотворного человек не может проснуться на следующее утро.

Выведение может осуществляться через почки, желчные пути (а затем в кишечник) или легкие (средства для наркоза). Примером лекарственных веществ, быстро выделяющихся из организма с мочой, не накапливаясь и не изменяясь химически, могут служить эфир и стрихнин. Для многих других лекарственных веществ выведению предшествует инактивация — практически необратимый процесс, включающий образование или

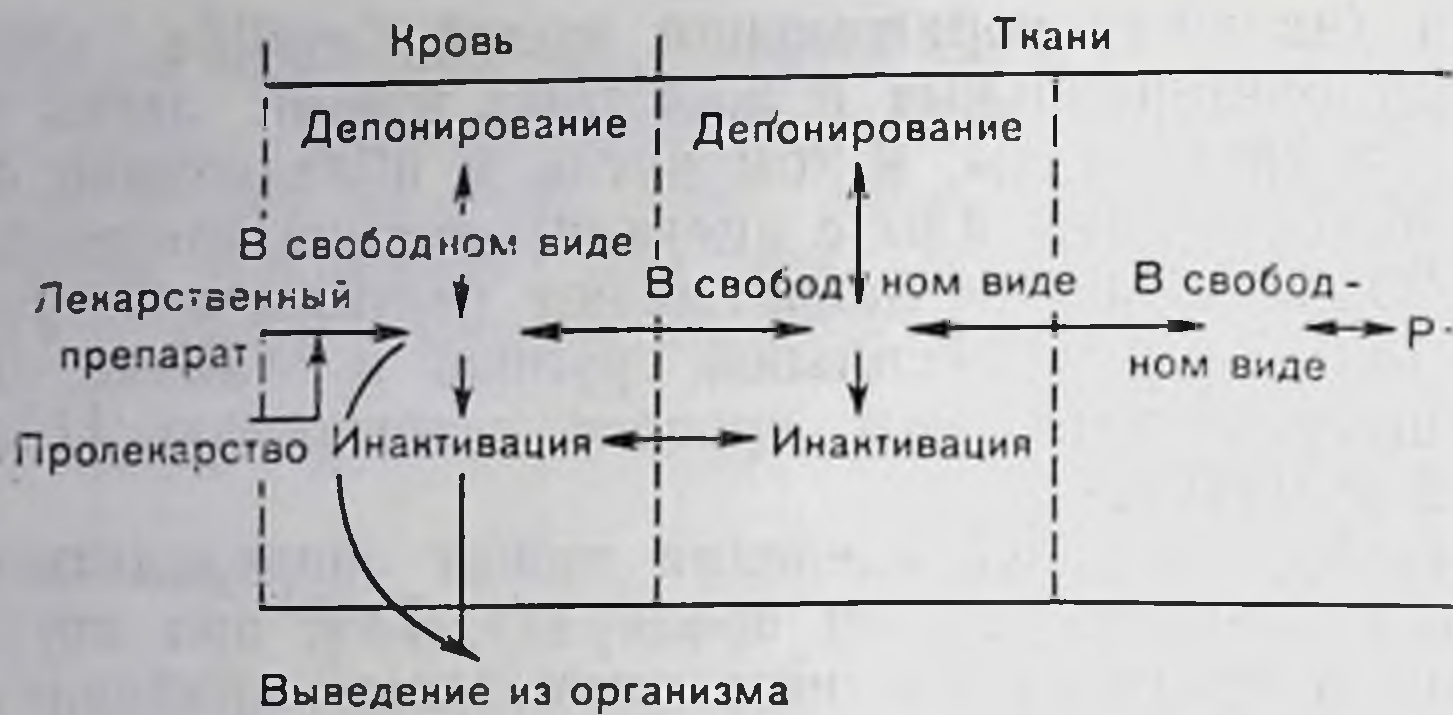


Рис. 3.2. Распределение лекарственного препарата или другого биологически активного вещества. Вертикальным пунктиром обозначены мембраны, Р — рецепторы.

разрыв ковалентных связей. После того как лекарственное вещество проникает через стенки кровеносных сосудов, в ткани опять происходят процессы его депонирования и инактивации, однако во многих случаях окончательное выведение возможно лишь после возвращения препарата в кровяное русло. После того как лекарственное вещество проникнет через последнюю мембрану на пути к рецептору, оно вступает с ним во взаимодействие и начинается реализация физиологического эффекта лекарственного вещества. Длительность его действия обычно зависит от времени поддержания концентрации вещества, необходимой для активации основной части рецепторов (разд. 7.5). Однако эта концентрация постепенно снижается и соответственно уменьшается активация рецепторов (если лекарственное вещество не вводится повторно).

Все эти конкурирующие взаимосвязи схематично представлены на рис. 3.2, где показано, что частота введения и доза лекарственного вещества определяются всеми упомянутыми выше факторами. Стрелками обозначено равновесие или устойчивое состояние (разд. 3.7). Иногда возникают дополнительные трудности — когда вводится не само вещество, действующее на рецепторы, а его пролекарство, превращающееся в лекарственное вещество в процессе метаболизма (разд. 3.6). Необходимо отметить, что большинство указанных на этом рисунке процессов обратимо.

Кажущийся объем распределения (V_D) лекарственного вещества определяется следующим образом:

$$V_D = \frac{\text{масса лекарственного вещества в организме}}{\text{равновесная концентрация вещества в плазме}}$$

Следовательно, V_D — это кажущийся объем жидкости, в котором растворено лекарственное вещество. Если величина V_D сравнима с известным объемом какой-либо системы организма, то это значит, что лекарственное вещество распределено по всем этим системам. Если же величины V_D превышают сум-

марный объем всех систем организма, это означает, что вещество накапливается в ткани [Goldstein, Aronow, 1974]. Объемы различных систем организма составляют: плазма циркулирующей крови — 3 л, эритроциты — 3 л, межклеточная вода (без учета объема крови) — 11 л, внутриклеточная вода — 24 л, всего 41 л, или около 58% массы тела (средние величины) [Goldstein et al., 1974].

Результаты исследования 133 различных лекарственных веществ показывают, что объем распределения связан с коэффициентом распределения (P) следующим уравнением [Ritschel, Hammer, 1980]:

$$V_D = 0,156P + 0,86.$$

Картина распределения лекарственного вещества будет неполной без упоминания некоторых циклических механизмов. Циркулирующее в крови лекарственное вещество по печеночной артерии и портальной вене попадает в печень. Из обеих долей печени лекарственное вещество (или его метаболит) вместе с желчью попадает в желчный пузырь. Через определенные промежутки времени желчь поступает в дистальную часть двенадцатиперстной кишки по желчному протоку (двенадцатиперстная кишка представляет собой тонкую трубку длиной около 30 см, соединяющую желудок с малым кишечником). Некоторые лекарственные вещества всасываются из тонкого кишечника в воротную вену и с током крови попадают в печень, а оттуда с желчью снова в тонкий кишечник. Примерами таких веществ являются фенолфталеин и биаламикол (камоформ). Биаламикол, кроме того, проходит дополнительный цикл: кишечник — легкие — бронхи — трахея — глотка — кишечник. При этом происходит постепенное уменьшение количества лекарственного вещества: в обоих случаях оно выводится с калом, а во втором — еще и при отхаркивании [Dill et al., 1957].

В растениях также протекают различные процессы распределения. При распылении токсических веществ значительная часть поверхности растений, защищенная другими частями этих же растений, остается необработанной. И все же влага и ветер способствуют перераспределению распыленного вещества. Так как поверхность растений заряжена отрицательно, то эффективное распределение достигается преимущественно для веществ, молекулы которых заряжены положительно (например, бордосская жидкость или стрептомицин) [Dimond, Horsfall, 1959].

Из сказанного выше следует, что при создании нового лекарственного вещества следует тщательно изучить его физико-химические свойства, чтобы по возможности избежать осложнений, связанных с депонированием, выведением или разрушением. Нередко удается получить лекарственные вещества, обладающие способностью накапливаться вблизи нужных ре-

цепторов. При комплементарности структуры рецептора и лекарственного вещества будет наблюдаться желаемое биологическое действие.

Высокие концентрации лекарственных веществ создаются не только на рецепторах, но и в печени и почках, которые в организме являются центрами детоксикации и выведения.

Компартментализация — слово, введенное А. Zaffaroni, означает чисто механическое подведение вещества непосредственно к ткани-мишени. Обычно кусочек специального пластика, пропитанный лекарственным веществом, прикрепляют к участку тела, где это вещество должно проявить свое действие. Такой метод «ограничения всасывания» (разд. 3.7) используют для самых различных препаратов. Существуют также таблетки, в оболочке которых проделаны небольшие отверстия, через которые постоянно выделяется лекарственное вещество (например, так называемые осмотические таблетки индометацина).

Помимо медицины, аналогичные методы, позволяющие создать высокую концентрацию действующего вещества в нужном месте, применяют в других областях, например для предотвращения зарастания днища кораблей морскими ракушками его покрывают резиновыми полосками, пропитанными органическими соединениями олова. В тропиках такие же полоски, но пропитанные соединениями меди, укрепляют в водных протоках для уничтожения зараженных шистосомами улиток. Этот метод может использоваться и для предотвращения свободного выделения вещества. Например, искусственные сладкие вещества, ковалентно связанные с полимером, придают пище сладкий вкус, но при этом не всасываются в желудочно-кишечном тракте.

Более подробно вопросы распределения лекарственных веществ рассмотрены в работах La Du, Mandel, Way (1971) и Saunders (1974).

3.1.1. Структура воды

Во всех явлениях распределения главная роль принадлежит воде. Она обладает сложной структурой. Вода незаменима во всех жизненных процессах и, не являясь просто инертной средой, участвует в них. Физико-химические свойства воды уникальны: она термодинамически стабильна в широком интервале температур, участвует в кислотно-щелочном равновесии в интервале рН более 16 ЕД, а также в окислительно-восстановительных процессах с разностью потенциалов до 2 В (разд. 11.4). На развитие жизни на Земле безусловно оказали влияние такие свойства воды, как ее максимальная плотность при 4°C и высокая теплоемкость. Структура воды сложнее, чем можно себе представить, глядя на простую формулу H₂O. Во всем интервале температур от точки плавления льда до

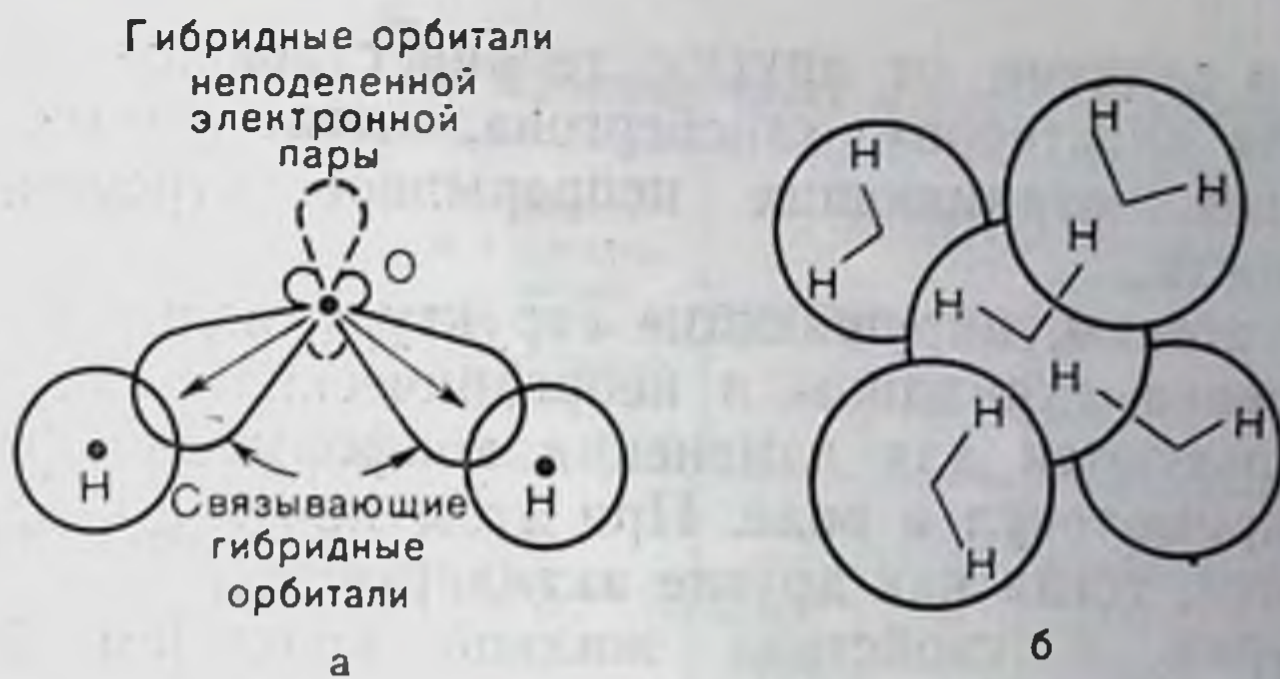


Рис. 3.3. Молекула воды. а — парообразное состояние; б — первичная ассоциация.

точки конденсации пара вода представляет собой полимер очень сложного строения.

Молекулы воды обладают ярко выраженной способностью к самоассоциации, поэтому изолированные молекулы могут быть обнаружены только в паре (рис. 3.3, а) Молекула воды имеет вид треугольника; расстояние О—Н равно 0,096 нм, а угол Н—О—Н составляет 105° . Электроны атомов водорода и двух неспаренных электронных пар кислорода занимают гибридные орбитали, направленные к вершинам тетраэдра.

Кристаллическая структура льда образована структурными единицами тетраэдрической формы, каждая из которых состоит из пяти молекул воды, связанных между собой водородными связями (рис. 3.3, б). Расстояние между атомами кислорода в комплексе равно 0,275 нм. Образованная такими тетраэдрами структура является достаточно рыхлой и имеет полости.

Жидкая вода уникальна по своей способности образовывать трехмерные структуры, так как она является полимером единственной молекулы, способной участвовать в четырех водородных связях, исходящих от одного атома (в двух связях атом кислорода — донор протона, а в двух — акцептор). Близкие по своему строению к воде гидриды типа NH_3 и HF могут образовывать только две водородные связи (одну — как доноры протона, другую — как акцепторы). Как правило, лишь равное число донорных и акцепторных связей обеспечивает энергетическую стабильность жидкости. Ассоциация молекул жидкой воды приводит к увеличению ее дипольного момента от 1,84 (пар) до 2,4 (жидкость).

Из многочисленных теорий строения жидкой воды с экспериментальными данными лучше всех согласуется теория Pople (1951), модифицированная Scaats, Stavola, Rice (1979). Согласно предложенной ими модели, вода представляет собой непрерывный полимер, в котором молекула H_2O объединена в цепь за счет образуемых ею водородных связей. Эти связи соединяют все молекулы в объеме жидкости, которая вследствие этого может рассматриваться как одна большая молекула. Такое предположение не противоречит всем физическим свой-

ствам воды в отличие от других теорий строения воды типа «распадающихся кластеров», «айсбергов», «мономерных включений» и других, отрицающих непрерывное строение всего объема жидкости.

Известны агенты, нарушающие структуру воды. К ним относятся мочевины, гуанидины и неорганические ионы, которые широко используются для изменения конформаций ферментов и других макромолекул в воде. При этом некоторые ферменты инактивируются, тогда как другие активируются.

О структурах и свойствах жидкой воды [см. Stillinger, 1980; Franks, 1972—82].

3.2. Проницаемость природных мембран

Совершенно очевидно, что распределение агента в большой степени зависит от его способности проникать через полупроницаемые мембраны. Плазматические мембраны обсуждаются в разд. 5.4. В классическом понимании плазматическая мембрана представлялась статичной структурой наподобие диализного мешка. Позднее были открыты ее динамические свойства — способность к фазовым переходам и ферментоподобная активность, например, действие пермеаз и транспорт, связанный с метаболизмом глюкозы. Мембраны делятся на четыре основных типа.

3.2.1. Мембраны первого типа

Через мембраны этого типа транспорт веществ осуществляется путем простой диффузии, и скорость переноса прямо пропорциональна разнице концентраций по обе стороны мембраны. При установлении равновесия концентрация лекарственного вещества по обе стороны такой мембраны одинакова. Скорость переноса веществ через нее зависит от их ОММ, растворимости в липидах, заряда и температуры.

Мембраны первого типа встречаются наиболее часто. Они препятствуют прохождению ионов и пропускают нейтральные молекулы. Через такие мембраны быстрее всего диффундируют молекулы веществ с высокими коэффициентами распределения в системе масло/вода, т. е. веществ, обладающих выраженными липофильными свойствами. Период полуустановления равновесия для таких мембран от 1 мин до 30 дней. В табл. 3.1 даны их характеристики.

Коэффициент распределения (Р) определяют как отношение равновесных концентраций вещества (В) в масле (В_м) и в воде (В_в):

$$P = [B_m] : [B_v].$$

Чем выше липофильность соединения, тем выше коэффициент Р.

Т а б л и ц а 3.1. Проницаемость природных мембран

Неэлектролиты	Коэффициент распределения (оливковое масло/вода) $\times 10^5$	Проницаемость живой клетки, моль/сек/мкм/разность молярных концентраций. $\times 10^2$				
		А	Б	В	Г	Д
1,2-Дигидроксипропан	570	—	13 200	13 000	4 000	24 000
Пропиоамид	360	2 200	—	23 000	—	36 000
Ацетамид	83	800	—	10 000	—	15 000
Гликоль	50	1 100	6 700	7 300	2 100	12 000
N-Метилмочевина	44	90	—	—	—	1 900
Мочевина	15	15	2 500	—	78 000	1 000
Глицерин	7	18	180	50	17	210
Эритрин	3	3,1	—	—	—	13
Сахароза	3	0,8	—	—	—	8

А — *Siuma* (цветковое растение) [Collander, 1937];

Б — *Gregarina* (протозоа) [Adcock, 1940];

В — яйца *Arabacia* (морское животное) [Stewart, Jacobs, 1936];

Г — бычьи эритроциты [Jacobs et al., 1935];

Д — *Chara* (зеленая водоросль) [Collander, 1937].

Прочерк в таблице означает, что показатель не рассчитывали.

Влияние химической структуры соединений и различных органических фаз на коэффициент распределения см. разд. 3.3.

Из табл. 3.1 видно, что вещества с наибольшими коэффициентами распределения липид — вода лучше проникают в клетки. Например, введение третьей гидроксильной группы в молекулу 1,2-дигидроксипропана (в результате чего получается глицерин) сопровождается значительным уменьшением коэффициента распределения и соответствующим уменьшением проникновения вещества в клетку. В действительности из молекул, содержащих более трех гидроксильных групп и имеющих ОММ более 150, лишь немногие способны проникать через мембраны [Davson, Danielli, 1952]. Следует отметить легкость захвата мочевины эритроцитами быка и других млекопитающих, но не птиц.

Толщина мембран первого типа примерно 5 нм; они состоят в основном из липидов, смешанных с белками. Идентифицировать мембраны этого типа можно по способности молекул веществ, близких по ОММ и диаметру, проникать через них со скоростями, пропорциональными их коэффициентам распределения. Следует отметить, что вещества с очень высоким коэффициентом распределения легко проникают в мембрану, но не могут выйти из нее.

Обсуждение проницаемости мембран и связанных с этим равновесий можно найти в работе Willbrandt (1959), кинетику диффузии см. Laidler, Shuler (1949) и Zwolinski, Eyring, Reese (1949)¹.

¹ См. также Котык А., Яначек К. Мембранный транспорт. — М., 1980, с. 342. — Примеч. ред.

В качестве количественного параметра проникновения лекарственного вещества в клетку был введен коэффициент проницаемости (следует помнить, что каждый коэффициент проницаемости относится к проникновению данного вещества в данную клетку). Скорость переноса можно определить с помощью закона диффузии Фика как dS/dt , где dS — микроскопическое количество вещества, проходящее через мембрану за бесконечно малое время dt .

В приложении к живой клетке математическое выражение закона Фика приобретает форму:

$$dS/dt = -DA(C_0 - C_1),$$

где D — коэффициент диффузии¹, A — стандартная площадь (обычно 1 мкм²), C_0 и C_1 — концентрации снаружи и внутри соответственно.

Не менее важны и другие свойства лекарственных веществ, например способность к образованию водородных связей. Медленный процесс проникновения в мембрану соединений типа глицерина требует затрат изрядного количества энергии, необходимой для разрыва водородных связей между молекулами глицерина и воды и внедрения в липидный слой. Этот медленный процесс сменяется быстрым: все негидратированные молекулы глицерина быстро выходят из мембраны во внутриклеточное пространство. Напротив, липофильные молекулы типа фенобарбитала быстро проникают в мембрану и медленно из нее выходят.

Имеющая практическое значение константа проницаемости (K) может быть вычислена для конкретного вещества и конкретной мембраны по следующему уравнению [Luesck et al., 1957], описывающему квазистационарный процесс диффузии через проницаемую для раствора мембрану, разделяющую две перемешиваемые жидкости:

$$\log(C_0 - 2C_1) = -\frac{2K}{2,303} t + \log C_0,$$

где C_0 — первоначальная концентрация растворенного вещества, C_1 — концентрация по другую сторону мембраны, t — время между измерениями. График зависимости $\log(C_0 - 2C_1)$ от времени представляет собой прямую линию с тангенсом угла наклона, равным $-2K/2,3$. Отсюда легко найти значения K . С другой стороны, $K = ADD_c/VL$, где A — площадь поперечного сечения мембраны, L — толщина мембраны, V — объем каждой из двух камер (по обе стороны мембраны), D — коэффициент диффузии, D_c — коэффициент распределения между рас-

¹ Коэффициент диффузии численно равен числу молекул растворителя, проходящих через единицу площади мембраны в единицу времени при разности концентраций, равной единице. Коэффициент диффузии является константой только для данной системы.

твором и мембраной. Эта формула дает возможность определять также и другие важные характеристики.

Для веществ с ОММ до 180 применим закон Грехема, согласно которому DVM является постоянной величиной, а скорость прохождения через мембрану пропорциональна квадрату ОММ вещества [Thoverf, 1910]. О количественных аспектах распределения см. также разд. 3.7.

На примере сердечных гликозидов можно проследить связь проницаемости мембраны с коэффициентом распределения. Из всех применяемых в клинике сердечных гликозидов активнее всего накапливается в организме дигитоксин, наиболее липофильное соединение из этой группы. Он медленно выделяется с желчью и в основном реабсорбируется из этой жидкости. Родственные дигитоксину гликозиды, более гидрофильные из-за наличия в стероидной части молекулы дополнительных остатков сахаров, а также гидроксильных или карбоксильных групп, выделяются в желчь еще быстрее. Например, дигоксин и ланатозид С могут быть примерами сердечных гликозидов, которые именно по этой причине оказались менее эффективными лекарственными веществами [Wright, 1960]. О механизме действия сердечных гликозидов см. разд. 14.1.

Результаты измерения пассивной диффузии лекарственных веществ через искусственную лецитиновую мембрану совпадают с полученными на природных мембранах первого типа [Misra, Hunger, Keberle, 1966]. О других работах с искусственными мембранами см. главу 14 (том 2).

3.2.2. Мембраны второго типа

Эти мембраны характеризуются наличием в них специфического переносчика, обеспечивающего облегченную диффузию (система переноса). Перенос лекарственного вещества через эти мембраны совершается быстрее, чем при простой диффузии, но при равновесии концентрация его внутри и снаружи клетки уравнивается (в отличие от мембран третьего типа). Мембраны второго типа способствуют всасыванию ряда пищевых продуктов и, кроме того, влияют на всасывание метаболитов, плохо проникающих через мембраны первого типа из-за высокой степени ионизированности или высокой гидрофильности. Транспортируемая молекула в мембране обратимо соединяется с переносчиком. Из-за малой толщины мембраны при связывании молекул снаружи и высвобождении внутри клетки переносчик может испытывать лишь незначительные конформационные изменения, поэтому даже простого изменения заряда может оказаться достаточным для того, чтобы молекула высвободилась. Для мембран второго типа характерно следующее: а) способность переносчика к насыщению, даже когда градиент концентрации благоприятствует диффузии, б) высокая химическая специфичность переносчика даже в случае

стереоизомеров, в) возможность ингибирования переносчика веществами, структурно напоминающими субстрат, и г) отсутствие потребления энергии метаболизма при транспорте. Проверка интенсивности дыхания служит тестом для отнесения мембран ко второму или третьему типам.

Наиболее полно изучен транспорт глюкозы в эритроциты человека [Wilbrandt, Rosenberg, 1961]. Показано, что кроме D-глюкозы переносчик транспортирует D-маннозу, D-ксилозу и, несколько менее активно, D-арабинозу, а также некоторые синтетические неметаболизирующие сахара, такие как 3-О-метил-D-глюкозу, 2-дезоксид-D-глюкозу, 5-тио-D-глюкозу, 3-дезоксид-3-хлор-D-глюкозу и галактозу, отличающуюся расположением ОН-группы в положении 4.

Для миоинозитола и фруктозы существуют собственные переносчики. Соответствующие L-сахара не переносятся. Хорошо переносятся все гликозиды, что свидетельствует о наличии свободного пространства в той части переносчика, где располагается область молекулы, образующая 1-гликозидную связь, в других частях переносчика такого пространства, видимо, нет [Barnett, Ralph, Munday, 1970].

Особый интерес представляет собой облегченная диффузия в клетку молекулы холина. Простая диффузия ионизированной гидрофильной молекулы холина через мембраны первого типа невозможна, однако специфический переносчик быстро доставляет его в эритроциты и другие клетки. С помощью этой же системы в клетки попадают тетраметиламмониевые катионы, но перенос высших гомологов, способных блокировать физиологический захват холина, затруднен [Martin, 1969].

Специализированная система переноса существует для многих аминокислот, пуриновых и пиримидиновых оснований и их нуклеозидов. Среди ингибиторов переноса нуклеозидов можно выделить 6-анилинопурин и коронарорасширяющий препарат дилпиридамол. О системе транспорта фолиевой кислоты и ее производных в клетки позвоночных, отсутствующей в одноклеточных организмах, см. разд. 4.2.

Транспорт через митохондриальную мембрану регулируется по меньшей мере семью носителями. Один из них способствует проникновению анионов сукцината, D- и L-малата, малоната и мезо-тартрата, но не тартрата, малеата или fumarата. Второй переносчик служит посредником для цитрата, цисаконитата, изоцитрата, а также D- или L-тартрата, но не fumarата или малеата. А третий транспортирует аденозиннуклеотиды. Из неорганических анионов в митохондрии может проникать только фосфат-ион [Chappell, 1966].

3.2.3. Мембраны третьего типа

Мембраны этого типа (наиболее сложные из всех) способны при необходимости переносить вещества против градиента концентрации. Эта так называемая система активного транс-

порта требует притока энергии, высокочувствительна к изменениям температуры и легко насыщается.

Примерами, иллюстрирующими проницаемость мембран третьего типа, могут служить: а) транспорт Na^+ и K^+ в клетки млекопитающих (разд. 14.2), б) всасывание и выведение различных ионизированных и неионизированных веществ почечными канальцами и, в меньшей степени, через мембраны эпителия желудочно-кишечного тракта, в) захват бактериями неорганических ионов, сахаров и аминокислот, г) накопление ионов йода щитовидной железой и д) накопление K^+ , Na^+ , Ca^{2+} и Mg^{2+} против градиента концентрации в митохондриях. Транспорт глюкозы в мембранах клеток почек и желудочно-кишечного тракта осуществляется по этому типу (в отличие от вышеупомянутого ее транспорта в эритроциты человека). Следует отметить, что в данном случае транспортируются только молекулы сахаров, содержащих гидроксильную группу в положении 2; предполагают, что при переносе происходит фосфорилирование этой гидроксильной группы. Этот переносчик транспортирует в почечных канальцах только глюкозу, но не маннозу или арабинозу, и легко ингибируется флоридзином — глюкозидом, выделяемым из коры грушевого дерева.

Активируемые процессы всасывания наблюдаются и для некоторых анионов. Более детально процесс переноса неорганических ионов через мембрану рассматривается в разд. 14.2.

На перенос каждых 18 ионов натрия через кожу лягушки потребляется одна молекула кислорода. То же самое происходит в мочевом пузыре жабы и в кишечнике морской свинки. Многие слабительные (например, крушина, фенолфталеин, подофиллин) ингибируют всасывание натрия мембраной, выстилающей просвет кишечника (у живых кроликов), в результате чего в толстой кишке накапливаются соли натрия, а следовательно, и большие количества воды [Phillips et al., 1965].

Часто мембраны второго и третьего типов бывают вкраплены в нормальную мембрану первого типа. До сих пор не ясно, каков механизм переноса различных веществ через мембраны второго и третьего типов. Некоторые переносчики были выделены из мембран эукариот, и оказалось, что они представляют собой димерные гликопротеины с ОММ около 100 000. Это дало возможность предположить, что к таким переносчикам относятся: а) K^+/Na^+ -АТФаза, осуществляющая активный транспорт ионов калия и натрия во всех клетках эукариот; б) $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -АТФаза, переносящая ионы кальция в мышечные клетки; в) ионообменный белок, регулирующий проницаемость мембран эритроцитов для CO_2 ; г) родопсин, ретинальсодержащий пигмент, обеспечивающий проницаемость в палочках сетчатки, и д) рецепторы АХ, при взаимодействии с ним изменяющие проницаемость мембран нервных и мышечных клеток (разд. 2.1). Транспорт глюкозы и гистидина из тощей кишки в кровь через щеточную каемку осуществляется белком с ОММ 50 000

[Faust, Shearin, 1974]. Есть данные о том, что трансмембранные переносчики в процессе переноса подвергаются некоторым конформационным изменениям [Kyte, 1981].

Однако процесс переноса может осуществляться и довольно простым способом, как, например, перенос аминокислот из мочи в проксимальные почечные каналы: под действием глутамилтрансферазы и глутатиона аминокислоты превращаются в γ -глутамилпроизводные, которые в клетке расщепляются с выделением глутатиона [Meister, Tate, 1976].

Мембраны третьего типа обнаружены и у высших растений. Так, корешки моркови поглощают хлористый натрий только при условии, что этот процесс сопровождается окислением глюкозы. Целый ряд подобных переносчиков был выделен из бактерий: переносчики углеводов, аминокислот и анионов типа сульфата. Есть основания предполагать, что все они представляют собой белки, не связанные с молекулами сахара, с ОММ примерно 30 000.

При поиске новых лекарственных веществ для обеспечения проникающей способности соединений через мембраны первого типа обычно используют постепенное увеличение липидной растворимости. Гораздо более высокую избирательность обеспечивает принцип создания лекарственных средств, обладающих определенными чертами структурного сходства с природными метаболитами, для которых осуществляется специфический транспорт внутрь клетки через мембраны второго и третьего типов. Такой подход был с успехом применен при создании противоопухолевых препаратов 6-меркаптопурина, 5-фторурацила и цитарабина (арабинозилцитозина). Эти соединения проникают в клетку с помощью специальных транспортных переносчиков для гипоксантина, урацила и дезоксицитидина соответственно. Для увеличения проникновения в клетку противораковых лекарственных веществ класса азотистых ипритов Bergel, Stock (1954) присоединяли к ним различные аминокислоты. Самый эффективный препарат из этой серии — сарколизин, содержащий фенилаланиновый остаток, с успехом применяется в клинике. Как и ожидалось, изомерное соединение, содержащее D-фенилаланиновый остаток, неактивно. Для достижения больших успехов следовало бы расширить работы в этом направлении. Сведения о проницаемости мембран второго и третьего типов приведены в обзоре [Wilbrandt, Rosenberg, 1961].

3.2.4. Мембраны четвертого типа

Эти мембраны отличаются от таковых первого типа наличием пор, диаметр которых можно оценить по размерам самых больших молекул, проникающих через них. По мере возрастания ОММ в гомологических рядах отмечается уменьшение способности молекул проникать через мембраны четвертого типа (и увеличение способности проходить через мембраны первого

типа). Один из наиболее изученных примеров мембран четвертого типа представлен почечным клубочком в капсулах Боумана (см. ниже). Клубочки пропускают все молекулы, меньшие по размеру, чем молекула альбумина (ОММ 70 000). Размеры пор составляют 3 нм, и инулин (ОММ 5000), например, проникает в них с легкостью. Мембраны четвертого типа встречаются в основном в капиллярах млекопитающих и в паренхиме почек.

3.2.5. Пиноцитоз и фагоцитоз

Это два процесса, происходящие с поглощением энергии, обеспечивают попадание в клетку еще более крупных частиц, чем проникающие через поры мембран четвертого типа.

А. Пиноцитоз. При пиноцитозе мембрана (обычно это мембрана первого типа) образует впячивания, которые в конечном итоге преобразуются в пузырьки. Таким образом осуществляется проникновение через мембрану молекул, размер которых слишком велик для того, чтобы они могли диффундировать обычным путем, особенно белков. Благодаря пиноцитозу вещества, находившиеся вне клетки, оказываются внутри нее и наоборот.

Б. Фагоцитоз. За счет фагоцитоза, обладающего известным сходством с пиноцитозом, происходит перемещение еще более крупных частиц. Так, методом электронной микроскопии было отчетливо показано, что твердые частицы проходят через клеточные мембраны капилляров у млекопитающих, причем для этой цели, по-видимому, может использоваться вся поверхность капилляра. Ферменты и гормоны зачастую как бы выдавливаются из клеток в виде пузырьков, заключенных в липидную мембрану. Именно таким образом пять гидролитических проферментов поджелудочной железы выдавливаются все вместе в виде так называемых «зимогеновых гранул». Таково же происхождение и пузырьков, в которых АХ выделяется нервными окончаниями [Whittaker, 1963], а также гранул в виде которых норадреналин выделяется из мозгового вещества надпочечников [Blaschko, 1959].

3.2.6. Проницаемость различных тканей млекопитающих

Механизмы всасывания и распределения чужеродных органических веществ оказались значительно более простыми, чем таковые для природных субстратов и компонентов клетки. Например, роль простых липидных барьеров первого типа для многих чужеродных молекул выполняют следующие структуры: эпителий желудочно-кишечного тракта и эпителий почечных канальцев, гематоэнцефалический барьер и барьер между кровью и спинномозговой жидкостью [Schanke, 1961].

Таблица 3.2. Зависимость всасывания лекарственных веществ в желудке от степени их липофильности

Препарат	pK_a	$A, \%$	P_c
Барбитал	7,8	4	0,001
Хинобарбитал (секобарбитал)	7,9	30	0,10
Тиопентал	7,6	46	3,30

A — количество вещества, всосавшегося в желудке крысы из раствора (pH 1), введенного перорально; P_c — коэффициент распределения в системе гептан — вода (pH 1); чем выше значение P_c , тем липофильнее вещество.

А. Желудок. Установлено, что в желудке крыс многие лекарственные вещества всасываются только в неионизированном виде. Так, при повышении pH содержимого желудка улучшается всасывание лекарственных веществ основного характера, так как в этих условиях большее число молекул этих веществ находится в неионизированном состоянии. С другой стороны, при таком изменении pH уменьшается всасывание кислых лекарственных веществ, так как в неионизированном состоянии остается меньшее число молекул (об ионизации см. разд. 10.0). Тот факт, что липофильность веществ способствует их всасыванию, был доказан на примере трех барбитуратов с одинаковыми значениями pK_a , но с разными коэффициентами распределения в системе липид — вода (табл. 3.2): всасывание усиливается пропорционально повышению коэффициента распределения [Schanker et al., 1957; Brodie, Kurz, Schanker, 1960]. Характер всасывания в желудке человека (pH 1) и животных схожи. Лекарственные вещества, обладающие слабыми кислыми свойствами, например салициловая кислота, ацетилсалициловая кислота, тиопентал и многие другие барбитураты с липофильными свойствами, всасываются легко, потому что при pH 1 они не ионизированы, тогда как вещества основного характера, например хинин, эфедрин и амидопирин, не всасываются из-за того, что они полностью ионизированы при этом значении pH [Hogben et al., 1957].

Б. Тонкий кишечник. Всасывание многих лекарственных веществ происходит главным образом из тонкого кишечника. Эпителий, выстилающий стенки тонкого кишечника, проницаем для лекарственных веществ в неионизированной форме и задерживает соответствующие ионы [Hogben et al., 1959]. В процессе всасывания лекарственное вещество должно преодолеть три барьера: сначала пройти через мембрану клетки эпителия, обращенную в просвет кишечника, затем мембрану той же клетки, обращенную к капилляру, и, наконец, базальную мембрану капилляра. Для изучения этих процессов используют два экспериментальных приема. Один из них состоит в том, что отрезок кишки извлекают, завязывают его дистальный конец и

помещают в специальную ванну. Или же извлекают весь кишечник из тела живой крысы и погружают в стеклянный сосуд, содержащий раствор Рингера. Оба метода дают одинаковые результаты [Misra et al., 1966]. Сведения о кинетических и физико-химических основах процессов всасывания приводятся в работе Nogami, Matsuzawa (1963). Начальная и средняя величина рН в мембранах тонкого кишечника выше, чем в желудке (8,0 и 6,6 соответственно), поэтому из тонкого кишечника возможно всасывание ароматических, но не более основных алифатических аминов. Обнаружено, что в тонком кишечнике жирорастворимые лекарственные вещества с высокой ОММ всасываются быстрее, чем такие нерастворимые в жирах соединения, как мочевины или окись дейтерия. Из этого следует, что всасывание лекарственных веществ в тонком кишечнике происходит, по-видимому, через участки с высоким содержанием липидов, а не через водные каналы. Так же как и в желудке, с повышением рН всасывание оснований усиливается, а всасывание кислот уменьшается. Для веществ, степень ионизации которых не зависит от рН, скорость всасывания при различных значениях рН остается постоянной.

Скорость всасывания ионов из тонкого кишечника (у крыс) очень мала и с течением времени уменьшается. Всасывание из тонкого кишечника природных субстратов, например L-аминокислот, глюкозы и урацила, происходит с участием различных систем активного транспорта, действующих против градиента концентрации и способных к насыщению.

В. Толстая кишка. Всасывание лекарственных веществ из толстого кишечника (у крыс) осуществляется таким же образом, как из тонкого [Schankeg, 1959]. Атропин может замедлять всасывание из желудочно-кишечного тракта, снижая подвижность мышечной выстилки.

После всасывания из кишечника следует так называемая фаза первого прохождения: лекарственные вещества через портальную вену поступают в печень, где многие из них метаболизируют. Если они обладают свойством дезактивироваться в печени или стенках кишечника, их обычно вводят парентерально.

Г. Распределение между плазмой крови и тканями происходит в основном по тем же законам, что и описанное выше распределение между желудочно-кишечным трактом и плазмой крови [Waddell, Butler, 1959]. Однако свободно диффундировать может только фракция лекарственного вещества, не очень прочно связанная с альбуминами плазмы. Непрочно связанное лекарственное вещество может вытесняться из комплекса с белками крови другим веществом, обладающим большим сродством к этим белкам.

Д. Кожа. Проникновение лекарственных веществ через кожу ограничено главным образом из-за наличия внешнего орогового слоя, состоящего из отмерших, плотно примыкающих друг к другу клеток. Следующий слой — эпидермис, состоящий

в основном из мембран первого типа, служит барьером проницаемости для кожи.

Разнообразные органические вещества диффундируют через кожу в количествах, пропорциональных их коэффициентам распределения в системе липид — вода [Treherne, 1956]. О проницаемости кожи см. Schaefer, Zesch, Stüttgen (1982).

Е. Эритроциты. Проницаемости эритроцитов посвящены многочисленные исследования. Мембраны эритроцитов относятся к первому типу, но у некоторых видов животных наблюдается облегченная диффузия ряда веществ, например глюкозы (у человека и приматов) [Le Fevre, 1961]. Особенностью эритроцитов является их высокая проницаемость для неорганических анионов, обменивающихся на бикарбонат-ион, который в дальнейшем теряет воду и превращается в неионизированный диоксид углерода.

Ж. Капилляры кровеносной системы, так же как и капилляры почечных клубочков и печени, представляют собой пористые мембраны четвертого типа. В отличие от них мембраны капилляров мозга структурированы гораздо плотнее (см. ниже).

З. Легкие представляют собой часть организма, в которой происходит наиболее активное всасывание жирорастворимых веществ, включая общие анестетики. Высокая проницаемость ткани легких обусловлена наличием хорошо развитой поверхности легочных альвеол (200 см^2), снабженных большим количеством капилляров.

И. Почки состоят примерно из 1,2 млн нефронов — основных структурных единиц почки. Если скрученный нефрон вытянуть в одну линию, то его длина составит примерно 80 км. Нефрон имеет U-образную форму (см. рис. 3.4) и представляет собой пористую трубку внутри другой трубки, имеющей непористую структуру. Началом каждого нефрона служит пучок кровеносных капилляров — клубочек. Кровь попадает в эти клубочки, состоящие из пористых мембран четвертого типа и задерживающие все низкодисперсные вещества и большую часть белков; остальное переходит в нефрон. Почечные канальцы возвращают полезные вещества в кровь и направляют отходы (в моче) через мочеточники в мочевой пузырь. Почка человека ежедневно вырабатывает почти 185 л клубочкового фильтрата, но почти вся вода (за исключением 1,5 л) и многочисленные растворенные в фильтрате вещества (некоторые из них играют важную роль в организме) реабсорбируются. Мембраны почечных канальцев, через которые осуществляется ресорбция, относятся к первому типу: они пропускают жирорастворимые вещества в любом направлении, например в кровоток или из него, в зависимости от градиента концентрации. В этих мембранах есть также специализированные участки активного транспорта различных органических ионов против градиента концентрации. О транспорте катионов см. Peters (1960), анионов — Sperber (1959). Механизма, обеспечивающего соответствующую ресорб-

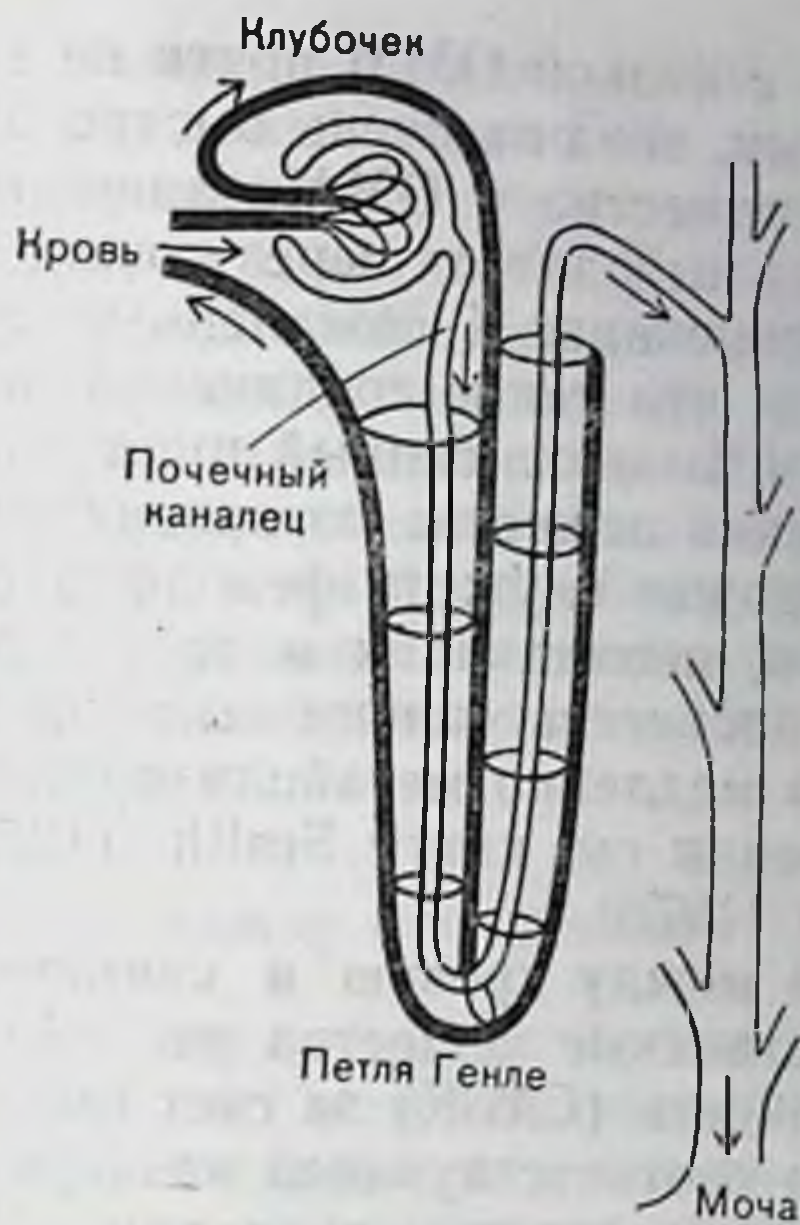


Рис. 3.4. Структурный элемент почки человека.

цию органических ионов, не существует. Важнейшая физиологическая функция канальцев — ресорбция воды, бикарбонат-иона, хлорид-иона и других неорганических ионов.

Из двух похожих лекарственных препаратов через клубочки труднее фильтруется тот, который прочнее связан с альбумином крови. Это означает, что пористость мембран значительно менее важна, чем силы, связывающие лекарственное вещество с белками крови (электростатические, ван-дер-ваальсовы, водородные связи). Но связь с белками почти теряет свое значение, когда лекарственное вещество из-за структурных особенностей оказывается объектом действия механизмов активного транспорта в почечных канальцах. Все эти обстоятельства следует учитывать при поисках новых эффективных лекарственных средств.

К. Печень. В мембранах паренхиматозных клеток печени поры очень большие (в других животных клетках поры такой величины не встречаются) [Schankeg, 1961]. Механизм выделения лекарственных веществ с желчью почти неизвестен. Лекарственные вещества проходят следующий путь: кровь → интерстициальная жидкость в печени → паренхиматозные клетки печени → желчь → тонкий кишечник. Для переноса ионов существует система активного транспорта, тогда как жирорастворимые нейтральные молекулы диффундируют через мембраны первого типа. Молекулы соединений с ОММ более 250 и даже инулин (ОММ 5000) легко проникают из крови в желчь, что позволяет, по-видимому, обеспечить транспорт билирубин-β-глобулинида [Schankeg, 1961]. Способность к выведению с желчью у веществ с ОММ от 350 до 500 зависит от того, к какому классу они от-

носятся. Соединения с низкой ОММ почти не выводятся с желчью, возможно, потому, что они очень быстро выделяются через почки. Чужеродные вещества с ОММ слишком высокой для того, чтобы они могли выводиться через почки, вместе с желчью могут вернуться в кишечник. К сожалению, существует большая вероятность того, что такие соединения вторично всасываются из кишечника и вышеописанный цикл повторяется, в результате чего выведения вещества из организма почти не происходит (примером может служить фенолфталеин). Концентрация в крови веществ, попадающих в круг энтерогепатической циркуляции, может достигать опасно высоких величин, особенно если эти вещества медленно метаболизируют.

О желчной экскреции см. книгу Smith (1973), а также Nigam, Millburn, Smith (1976).

Л. Распределение между кровью и спинномозговой жидкостью. Многие лекарственные вещества из крови попадают в спинномозговую жидкость (СМЖ) за счет простой диффузии со скоростью, примерно соответствующей коэффициенту распределения веществ в системе липид — вода при рН 7,4 (для собак и кроликов) [Brodie et al., 1960; Mayer, Maickel, Brodie, 1959; Mark et al., 1958]. Меняя рН плазмы, можно изменить и градиент рН между кровью и СМЖ. В таких случаях для лекарственных веществ, степень ионизации которых возрастает, отношение концентраций СМЖ/плазма понижается [Rall, Zubrod, 1960]. Катионы и анионы проникают в СМЖ и в мозг очень медленно. К числу немногих исключений относятся фениларсеновые кислоты, применяемые для лечения трипаносомоза. Возможно, их перенос осуществляется по механизму транспорта фосфатов (разд. 6.2). Независимо от скорости проникновения в СМЖ лекарственные вещества часто исчезают из нее очень быстро. Причины этого явления остаются невыясненными [Rappeneimer, Heissey, Jordan, 1961].

М. Гематоэнцефалический барьер. Еще в конце прошлого столетия П. Эрлих обнаружил, что при внутривенном введении красителя трипанового голубого прокрашиваются все ткани, за исключением ЦНС. И наоборот, при введении красителя в СМЖ происходит быстрое прокрашивание мозга, а в кровь краситель не проникает. Диффузия лекарственных веществ из крови в мозг затруднена более, чем в любые ткани организма, что объясняется наличием барьера, носящего название гематоэнцефалического, который представляет собой эндотелий капилляров с очень узкими межклеточными щелями. Во всем организме наиболее плотное перекрывание клеток наблюдается именно в этой структуре [Raroport, 1976]. Липиды легко проникают через этот барьер, совершенно непроницаемый для ионов. Однако если в барьерных мембранах идет воспалительный процесс, то целый ряд веществ может проходить через него. Проницаемость ГЭБ для лекарственных веществ пропорциональна их коэффициенту распределения в системе октанол —

вода и обратно пропорциональна ОММ (до 400). Вещества с большей ОММ проникают через ГЭБ медленно и лишь через редкие щели, образующиеся в местах соединения эндотелиальных клеток капилляров (разд. 15.0) [Levin, 1980].

Н. Мозг. Пройдя через ГЭБ, лекарственное вещество должно еще проникнуть через мембраны в самом мозге и распределиться между различными отделами мозга. Высоколипофильные вещества (такие как тиопентал, аминазин и ДДТ) вскоре после перорального введения в организм обнаруживаются в пронизанном капиллярами сером веществе головного мозга, однако через несколько часов они накапливаются в богатом липидами белом веществе.

3.2.7. Распределение между органеллами

Проницаемые барьеры, существующие внутри клеток, — это мембраны митохондрий и эндоплазматического ретикулума (ЭР). Они относятся в основном к первому типу с включением участков мембран второго и третьего типов. Ядерная мембрана принадлежит к четвертому типу.

3.2.8. Проницаемость других типов клеток

Поверхностная мембрана бактерий, ограничивающая их цитоплазму и являющаяся единственным барьером проницаемости у бактерий, относится к мембранам первого типа. Ее проницаемость исследовалась на бактериях *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Sarcina lutea* [Mitchell, Moyle, 1959]. Органические соединения, содержащие более четырех групп, способных к образованию водородных связей (например, ОН-группа), а также ионы, несущие с собой более четырех молекул воды, не могут проникать со сколько-нибудь значительной скоростью через эти мембраны. В то время как лизин просто диффундирует через мембраны, более гидрофильные аминокислоты, например глутаминовая кислота и гистидин, как и глюкоза, могут проникать через них только с помощью активного транспорта [Gale, 1947].

Мембраны диатомовых водорослей и хитиновый покров членистоногих относятся к четвертому типу.

Существующее мнение о том, что хлорсодержащие инсектициды проникают через наружный покров насекомых быстрее, чем через кожу млекопитающих, по сути своей неверно [O'Brien, 1967].

Мембраны растительных клеток в значительной мере похожи на таковые животных клеток. Плазматическая мембрана не является таким эффективным барьером, как митохондриальные мембраны или мембраны эндоплазматической сети и вакуолей (которых, кстати, нет в животных клетках). Проникновение в корни растений в большинстве, если даже не во всех случа-

ях, — это простая физическая диффузия, не связанная с какими-либо биологическими процессами. По-видимому, плазматическая мембрана корней растений имеет специализированную структуру с необычайной избирательностью.

Гидразид малеиновой кислоты повреждает хромосомы только в растительных клетках. Так как химический состав хромосом растений и млекопитающих одинаков, то надо полагать, что эта избирательность действия гидразида связана с различиями в проницаемости [Barnes et al., 1957].

О природе мембран см. разд. 5.4; о движении молекул через мембраны — Bittar (1980—1981), Stein (1967).

3.3. Значение коэффициента распределения

Коэффициенты распределения привлекли внимание ученых после того, как в начале столетия Overton, H. Meyer при изучении наркотических свойств химических соединений разных классов обнаружили корреляцию между наркотическим действием и тенденцией веществ в системе масло — вода распределяться преимущественно в липидном слое. Продолжив эту работу с применением более тонкой техники, Meyer, Hemmi (1935) получили для исследованных рядов еще более точные корреляции.

Затем интерес к коэффициенту распределения несколько угас, но возрос вновь в начале 60-х годов, когда работами группы Хэнша (Калифорния) было показано, что зависимость между коэффициентом распределения и биологическим действием может носить параболический характер, и, следовательно, после достижения оптимума липофильности дальнейшее ее повышение приводит к снижению биологической активности вещества [Hansch, Fujita, 1964; Hansch, 1971]. Более того, в этих работах подчеркивалось, что независимо от того, электронные или стехиометрические свойства вещества обуславливают его биологическую активность, коэффициент распределения всегда имеет большее значение для доставки лекарственного вещества к месту действия. Даже если коэффициент распределения играет второстепенную роль, им не следует пренебрегать, так как соблюдение определенного баланса между липофильными и гидрофильными свойствами лекарственных веществ обеспечивает их доставку к рецептору.

Анализируя опубликованные данные по биодепрессантам, Хэнш совместно с сотрудниками вывели следующее регрессионное уравнение, адекватно описывающее экспериментальные данные (квадратичность свидетельствует о параболическом виде зависимости):

$$\log 1/C = k(\log P) - k'(\log P)^2 + k'',$$

где C — это концентрация препарата, вызывающая стандартный биологический ответ, P — коэффициент распределения, k , k' и

k'' — константы, рассчитанные методом наименьших квадратов для достижения лучшей аппроксимации с экспериментальными данными [Hansch et al., 1968; Hansch, Anderson, 1967]. Это уравнение описывает процесс в состоянии равновесия, поэтому можно сказать, что существует линейная зависимость между логарифмами двух переменных: дозы и липофильности. Следует отметить, что для лучшей аппроксимации экспериментальных данных в уравнение требуется ввести по меньшей мере три рода констант: h — число измерений; s — стандартное отклонение регрессии; r — коэффициент корреляции, в идеале равный 1.

Для лекарственных веществ, не относящихся к классу биодепрессантов, при проведении множественного регрессионного анализа в вышеуказанное уравнение обязательно вводят один или более дескрипторов (таких как электронные или стерические константы) (см. главу 16 и работы Hansch, 1968, 1971).

А. Методы и растворители. Для определения коэффициента распределения обычно используют метод интенсивного встряхивания двух несмешивающихся растворителей (разд. 17.1). Некоторые авторы используют хорошо коррелирующие с $\log P$ коэффициенты удерживания, получаемые для веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Köpetz et al., 1979; Minglees et al., 1976].

В поисках идеального растворителя для определения коэффициента распределения Meyer, Hemmi (1935) заменили традиционное оливковое масло олеиловым спиртом, считая, что его свойства близки к таковым компонентов природных мембран. С современной точки зрения, у этого спирта по сравнению с маслом лучшее соотношение гидрофильных и липофильных свойств, а наличие гидроксильной группы придает способность к образованию водородных связей. Большое число неводных фаз исследовал Collander (1933, 1937, 1947, 1954). Он установил, что существует линейная зависимость между логарифмами коэффициентов распределения органических веществ в двух различных парах растворителей (один из которых всегда вода):

$$\log P' = a \log P + b,$$

где P и P' — коэффициенты распределения одного вещества в двух разных парах растворителей, a и b — константы. С уменьшением способности липидного растворителя смешиваться с водой, увеличивается его «дискриминирующая» способность, при этом изменяются абсолютные величины коэффициентов распределения при сохранении их отношения [Leo, Hansch, 1954]. Продолжив эти исследования, Leo, Hansch (1971) опубликовали таблицы значений a и b .

Если для октанола принять $a=1$, то для хлороформа и эфира ее величина равна 1,13, для бутанола 0,7, а для большинства других растворителей величины a лежат между этими значениями.

Значение константы b меняется в более широких пределах: для октанола она равна 0, гептана —2,85, хлороформа —1,34, олеилового спирта —0,58, эфира —0,17 и +0,87 для циклогексанола. Для вещества с $P=2$ в системе октанол — вода при замене октанола гексаном P становится равным —0,14.

Исключение из этого правила представляют собой те случаи, когда растворенное вещество способно образовывать водородные связи только с одним из двух органических растворителей. Так, например, фенол образует водородные связи с олеиловым спиртом, но не с додеканом [Burton, Clarke, Gray, 1964]. Аналогично карбоновые кислоты образуют димеры в углеводородах, но не образуют таковые в водных спиртах [Biagi et al., 1974].

Выбор октан-1-ола в качестве стандартного неводного растворителя обусловлен относительной простотой обращения с ним, сравнительно редкими аномалиями результатов и близкой дискриминирующей способностью октанола и некоторых природных мембран. Типичные значения $P_{\text{октанола}}$ для ряда веществ: бензол 2,13 ($\pm 0,01$), нитробензол 1,85, анилин 0,90, фенол 1,46, бензиловый спирт 1,10. В работе Leo, Hansch, Elkins (1971) представлена таблица, содержащая 5806 экспериментально определенных значений коэффициента распределения для различных органических растворителей. Однако октанол считается универсальным растворителем для определения коэффициента распределения.

Изменение температуры (например, на 5°C) мало влияет на коэффициент распределения. При значении P около 4 определение коэффициента распределения методом встряхивания дает недостоверные результаты и в этом случае следует использовать хроматографический метод или рассчитать коэффициент распределения по фрагментарным константам Реккера (см. ниже).

В ряду общих анестетиков и наркотических веществ для млекопитающих максимальный биологический эффект достигается при значении $\log P$ 2,0 (см. табл. 15.1).

Б. $\log P$ и регрессионные уравнения. Решение регрессионных уравнений дает значения трех коэффициентов k , k' и k'' . Их получают, используя для решения этих уравнений только половину данных. Затем полученные решения проверяют, подставляя в эти уравнения вторую половину данных и используя значения трех коэффициентов k , k' и k'' , вычисленные по первой половине данных. При этом коэффициент корреляции r , рассчитанный по второй части результатов, не должен заметно отличаться от 1,0.

Для получения статистически достоверных значений коэффициентов при расчетах следует использовать данные не менее чем по пяти соединениям. Уравнение

$$\log 1/C = k(\log P) - k'(\log P)^2 + k'',$$

в котором используется один дескриптор ($\log P$), содержит три коэффициента, которые и следует найти. Это значит, что выборка должна содержать 15 соединений для экспериментального и 15 — для исходного рядов.

В ряде случаев могут быть получены результаты, для описания которых член регрессионного уравнения $(\log P)^2$ не нужен. Это может означать, что в эксперименте были использованы только соединения с низкими значениями $\log P$; поэтому начальная ветвь параболы аппроксимируется к прямой линии. В модельных экспериментах, проведенных на рыбах, при оценке воздействия промышленных выбросов в озера наблюдали линейную корреляцию токсичности (наркотического действия) с $\log P$. В одном из таких экспериментов использовали 50 токсических агентов алифатических и ароматических углеводородов, включая соединения, содержащие хлор, гидроксигруппы и незамещенные соединения. Наркотическое действие коррелировало с $\log P$ в интервале $\log P$ от $-1,3$ до $6,4$ (октанол — вода), при этом коэффициент корреляции был необычайно высок: $0,988$ [Köpetann, 1981].

В. Влияние ионизации. Для веществ, хотя бы частично ионизированных, при определенных значениях рН $\log P$ является функцией двух составляющих, как следует из формулы:

$$P = \frac{V_0 + VH_0^+}{V_B + VH_B^+}$$

Это уравнение составлено для некоего вещества V , протонирующегося в катион (VH^+); оно может быть легко превращено в соответствующее уравнение для веществ, ионизирующихся с образованием аниона. В этом уравнении концентрация катионов в октаноле $[VH^+]_0$ обычно столь мала, что ею можно пренебречь, но она становится значимой для лекарственных веществ, в молекулы которых вводится липофильная боковая цепь, так как катион, образующийся при этом, липофилен.

При ионизации соединения его липофильность уменьшается примерно в 10 000 раз [Hansch, Leo et al., 1973]. Если ион и молекула поглощают в разных областях УФ-спектра, то указанное выше уравнение легко решается. Можно использовать и следующее уравнение Fujita, Iwasa, Hansch (1964):

$$P = C_{\text{октаanol}} : C_{\text{вода}} (1 - \alpha),$$

где α — степень ионизации, которую можно вычислить из значений pK_a и данных, приведенных в разд. 17.0.

Schegger, Howard (1977) опубликовали несколько биологических корреляций, найденных путем разделения вкладов, вносимых в коэффициент распределения ионизированными и неионизированными образцами.

Г. Связь между растворимостью в воде и P . Жидкость разделяется с водой точно так же, как она распределяется между

водой и октанолом; поэтому коэффициенты распределения нейтральных жидкостей изменяются параллельно изменению растворимости последних в воде. Однако к насыщенным углеводородам это правило не применимо [Hansch, Quinlan, Lawrence, 1968].

Довольно часто вместо $\log P$ используют величину растворимости жидкостей в воде (с целью упрощения), однако этого нельзя делать в случаях жидкостей, смешивающихся с водой в любых соотношениях (типа этанола) или плохо растворяющихся в воде, когда трудно точно определить их растворимость (в этом случае для разделения слоев и отделения нерастворившихся частичек необходимо ультрацентрифугирование). Недопустимо заменять $\log P$ показателем растворимости в воде и для соединений типа карбоновых кислот, существующих в водных растворах в виде димеров, а в липидных растворителях — в виде мономеров, так же как и в случае твердых веществ, растворимость которых зависит от структуры кристаллов. Поэтому для твердых веществ Banerjee, Yalkowsky, Valvoni (1980) предложили использовать следующее уравнение:

$$\log P = 6,5 - 0,89(\log S) - 0,015 \text{ mpt},$$

где S — растворимость в воде в микромолях на литр, а величина температуры плавления (mpt) — показатель энергии разрушения кристаллической решетки.

Д. Величина π . Hansch и соотр. предложили использовать константы π , представляющие собой величины, пропорциональные свободной энергии перехода заместителя из водной фазы в другую и определяемые по формуле:

$$\pi = \log P_x - \log P_H,$$

где P_H — коэффициент распределения в системе октанол — вода для исходной молекулы, а P_x — для производного [Fujita, Iwasa, Hansch, 1964]. В работе Hansch, Leo и соотр. (1973) приведена таблица, содержащая аддитивные значения π для 128 ароматических соединений. Пользуясь этой таблицей, можно вычислить коэффициент распределения вещества, суммируя значения P ядра и величин π заместителей (если нельзя определить его экспериментально) [Hansch, 1971].

При изучении факторов роста растений Hansch и соавт. для определения величин π использовали аналогичный прием, что и Гаммет, для определения σ -констант. К сожалению, аналогия была неполной, и это лишило значения π термодинамической значимости, что видно из следующего примера:

$$\pi_{\text{метил}} = \log P_{\text{толуол}} - \log P_{\text{бензол}},$$

хотя эта разность в действительности представляет собой только $\pi_{\text{метилена}}$. Уже в ранних работах принимали $\pi_{\text{метил}} = \pi_{\text{метилена}}$

(около 0,5), а $\log P_{\text{бензола}} = \log P_{\text{толуола}}$, откуда следует, что $\pi_H = 0$.

Е. Значения фрагментарных констант Реккера. Для избежания подобной ошибки Реккер ввел гидрофобную фрагментарную константу f , заменив ею гидрофобную константу заместителя π . Тогда:

$$f_{\text{метил}} = \log P_{\text{толуол}} - f_{\text{фенил}}$$

Фрагментарные константы были рассчитаны на компьютере с использованием программы множественного регрессионного анализа, при этом статистически обрабатывались 128 значений $\log P$, определенные экспериментально для октанола [Nys, Rekker, 1973; Rekker, 1977]. Сравнение полученных величин f с соответствующими π -константами показало, что первые, как правило, выше на 0,2—0,3. Значение $f_{\text{метил}} > f_{\text{метилен}}$ на 0,17, а вклад атома водорода в липофильность примерно 0,2. Leo и соотр. (1975), оценив преимущества применения фрагментарных констант f , опубликовали свою таблицу экспериментальных значений. Так как экспериментальное значение P для газообразного водорода 0,45, они считали, что f_H равна половине этой величины (0,225), и при вычитании значения f_H из $P_{\text{метана}}$ (1,09) получили $f_{\text{CH}_3} = 0,865$. Позже было получено более точное значение $f_{\text{CH}_3} = 0,89$. Аналогичным образом была определена константа $f_{\text{CH}_2} = 0,66$. О выборе значений величин f см. разд. 17.1.

Использование величин f позволило исправить некоторые имевшиеся неточности. Например, в случае омега-замещенных фенилпропанов из-за отмечавшихся аномалий значений f ошибочно считали, что их молекулы существуют в сложенной конформации. К сожалению, другие аномалии остались (например, обсуждаемые ниже).

Значение π и f для мета- и пара-заместителей в ароматических соединениях примерно одинаковы, но для орто-заместителей часто резко отличаются: например, если существует возможность внутримолекулярной водородной связи, то липофильность возрастает. Однако Fujita и Nishioka (1975), проделав чрезвычайно сложные математические расчеты, составили специальную таблицу значений этих величин для орто-заместителей, согласующихся с таковыми для мета- и пара-заместителей. Особый случай представляет собой зависимость π и f от полярного окружения. Например, для такого заместителя, как атом хлора, величина π в бензоле равна 0,71. Это значение становится (во всех случаях атом хлора в мета-положении) 0,61 в нитробензоле, 0,68 в фенилуксусной кислоте, 0,83 в бензойной кислоте, 0,98 в анилине и 1,04 в феноле (для веществ, способных к ионизации, сделана на нее поправка). Разность значений увеличивается от 0,43 до 0,90 в случае, если в том же самом цикле нитрогруппа замещает хлор [Hansch, Leo et al., 1973]. Два высокополярных заместителя, особенно если они оба нуклеофилы, повышают липофильность вещества на 0,8 (если их разде-

ляет один углеродный атом) и примерно вполовину — если два атома [Leo, Hansch, Elkins, 1971; Rekker, 1977, с. 49, 98, 298]¹.

Следует отметить, что очень часто отклонения значений ρ и f встречаются в случае малых молекул, таких как этан [Leo et al., 1975]. Необъяснимо увеличивается гидрофильность пиридиниевых солей при алкилировании атома азота [Leo, Hansch, Elkins, 1971; Rekker, 1977]. При расчетах не учитывается также ковалентная гидратация, приводящая к появлению гидроксильной группы (разд. 2.5). Дополнительные трудности возникают и в случае соединений, содержащих длинные углеводородные цепи и способных образовывать мицеллы в водной фазе.

Leo и сотр. (1975) рекомендуют при поиске новых лекарственных средств, прежде чем приступать к синтезу новых соединений, рассчитать по таблице значений V величину P молекулы, чтобы быть уверенным в том, что она будет находиться в интервале значений, соответствующем желаемой биологической активности.

Ж. Биологическая значимость коэффициента распределения. При определении величин P для ряда применяющихся лекарственных веществ оказалось, что противобактериальные сульфамидные препараты являются низкогидрофильными веществами, чья биологическая активность сначала слегка усиливается при небольшом повышении липофильности, а затем при дальнейшем ее повышении снижается. Действие пенициллинов и цефалоспоринов, напротив, несколько усиливается при небольшом увеличении их гидрофильности [Biagi et al., 1974], но уменьшается при дальнейшем увеличении последней. Если липофильность не является главным фактором, определяющим биологическое действие лекарственного вещества, а лишь обеспечивает для него дополнительные преимущества, то эта ситуация довольно типична. Как указано в разд. 15.0, липофильность наиболее важна для таких лекарственных веществ, как наркотические, общие анестетики и слабые неизбирательные инсектициды.

На коэффициент распределения влияет и расположение заместителей, особенно в жестких молекулах. Например, бензамиды с объемным углеводородным заместителем в положении 4 — мощные ингибиторы алкогольдегидрогеназы, однако эта же группа в положении 3 не обеспечивает молекуле ингибирующей способности [Hansch, Kim, Sarma, 1973]. Из этого примера видно, насколько важно, кроме величины P заместителя, учитывать его расположение в молекуле.

Очень важно знать величину P при моделировании проникновения лекарственных веществ через мембраны, но получение информации такого рода связано с большими эксперименталь-

¹ Реккер (частное сообщение) отмечал, что разница между предполагаемыми и экспериментальными значениями фрагментарных констант часто составляет 0,29 (или кратную величину), молекула оказывается менее гидрофильной, чем ожидалось (как будто одна из водородных связей с водой не образуется).

ными трудностями. По крайней мере известно, что для серии спиртов коэффициент распределения между тенью эритроцитов и водой дает значение свободной энергии переноса групп C_nH_2 около -690 кал/моль, что примерно соответствует величине, полученной при определении коэффициента распределения в системе октанол/вода [Seeman, Roth, Schneider, 1971].

Из всех мембран живого организма лучше всех изучена мембрана слизистой оболочки рта. Здоровых добровольцев просили держать лекарственный препарат во рту и через определенные промежутки времени измеряли его уровень в крови [Beckett, Boyes, Triggs, 1968]. Эти авторы считали, что полученные ими результаты типичны для такой высоко дискриминирующей системы, как гептан — вода. Однако строгий статистический анализ [Rekker, 1977] показал, что эта система менее дискриминирующая, чем октанол — вода, и более похожа на систему бутанол — вода. Реккер полагал, что мембраны желудочно-кишечного тракта сравнимы с системой октанол — вода, тогда как гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) (наиболее дискриминирующая из всех мембран, существующих в организме) сходен с системой гептан — вода [Rekker, 1977].

3.4. Механизмы потерь, накопление и выведение

Активное вещество может частично теряться, прежде чем достигнет места своего действия, т. е. рецептора. Известно три основных механизма потерь: депонирование, выведение и химическая инактивация (см. рис. 3.2), которые Veldstra (1956a) определил как «места потерь». Он высказал предположение, что в основе хорошо известного синергического действия биологически инертных веществ лежит блокирование этих «мест потерь», в результате чего большее количество лекарственного вещества может достичь рецептора.

3.4.1. Накопление

Химические вещества в организме могут депонироваться: нейтральные соединения — в липидах, катионы — в рибонуклеиновых кислотах и α_1 -кислых гликопротеинах и анионы — в альбумине. В жировых клетках (липидах) скапливаются такие высоколипофильные лекарственные вещества, как тиобарбитураты (например, тиопентал) и дибенамин. Депонирование в данном случае связано просто с различиями в распределении этих веществ в системах липиды — вода [Vlodie, Hogben, 1957]. Стимуляторы роста растений, такие как α -нафтилуксусная кислота, связываются в проростках гороха резервными жировыми веществами; эти потери можно предотвратить воздействием биологически инертных, но более жирорастворимых аналогов этих соединений, например декагидронафтилуксусной кислотой [Veldstra, 1956b].

Таблица 3.3. Связывание лекарственных веществ сывороточным альбумином

Вид	Количество лекарственного вещества, оставшегося несвязанным, %			
	Бензилпенициллин	Клоксациллин	Сульфазин	Сульфазоксазол
Человек	49	7	67	16
Лошадь	59	30	—	—
Кролик	65	22	45	18
Крыса	—	—	55	16
Мышь	—	—	93	69

Рибонуклеиновая кислота обладает сродством к ионизированным веществам с сильно выраженными основными свойствами. Так, противомаларийное средство акрихин (6.10.) при внутривенном введении накапливается, не причиняя вреда, в основном в ядрах клеток легочных капилляров, откуда постепенно поступает в кровь [Necht, 1936]. Хондроитин, кислый гликопротеид, и другие анионные биополимеры служат местом накопления катионов.

Некоторые белки, содержащиеся в крови млекопитающих, способны связывать лекарственные вещества, но самый эффективный из них в этом смысле — альбумин. Ни фибриноген, ни γ -глобулины не соединяются с лекарственными веществами; α - и β -глобулины — это ферменты, обладающие сродством практически только к своим субстратам (хотя β_1 -глобулин соединяется с железом, цинком и медью). Липопротеиды, близкие по структуре к глобулинам, соединяются со стероидными гормонами (липид-липидное взаимодействие). Однако все перечисленные вещества — природные метаболиты, а из лекарственных веществ с глобулином связывается, по-видимому, только сурамин.

В то же время сывороточный альбумин служит местом депонирования многих лекарственных веществ, большинство из которых слабые кислоты. Из табл. 3.3 видно, что сродство к альбумину варьирует не только от вида к виду, но и между двумя рядами химически близких друг к другу соединений. У человека сывороточный альбумин связывается с лекарственными веществами прочнее, чем у других млекопитающих, а метаболизм лекарственных веществ происходит у него с меньшей интенсивностью.

В крови человека сывороточный альбумин ОММ составляет около 4% всех белков. Он содержит 109 катионных и 120 анионных групп. Хотя при рН 7,3 молекула альбумина несет суммарный отрицательный заряд, этот белок связывает главным образом анионы (в соотношении 1:1), что свидетельствует о достаточной доступности одной катионной группы альбумина.

К лекарственным веществам подобного анионного типа, взаимодействующим с единственным высокоаффинным местом связывания альбумина, относятся сульфамиды, пиразолоновые анальгетики, диуретики ряда тиазидов и пенициллина [Phillips et al., 1970]. По-видимому, это место связывания — остаток аргинина [Jonas, Weber, 1971]. Связывание анионов лекарственных веществ с сывороточным альбумином усиливается по мере повышения ароматичности их молекул и осуществляется главным образом за счет взаимодействия ван-дер-ваальсовых сил между бензольными кольцами ароматических молекул лекарственных веществ и плоским кольцом остатка триптофана в молекуле альбумина, так как флюоресценция, обусловленная присутствием триптофана, исчезает при связывании альбумина, например, с зоокумарином (9.40) или кумарином (9.35) [Chignell, 1970]. С повышением коэффициента распределения усиливается связывание лекарственных веществ с альбумином. Взаимосвязь константы связывания вещества с альбумином (K) и коэффициента распределения представлена следующими уравнениями: $\log K = 1,32 \log P + 0,37$ для пенициллина и $\log K = 1,15 \log P + 1,23$ для противобактериального стрептоцида [Scholtan, 1968, 1978]. Связывание анионов с альбумином подчиняется закону действия масс. О пенициллинах см. Bird, Marshall (1967).

Число молекул лекарственного вещества, связавшегося с одной молекулой белка, рассчитывается по формуле:

$$r = \frac{nKS}{1 + KS},$$

где n — число связывающих мест на одной молекуле белка, S — концентрация лекарственного вещества, K — константа связывания. Это уравнение может быть преобразовано следующим образом:

$$r/C = nK - rK,$$

а на графике в системе координат « r/C — r » ему будет соответствовать прямая линия с углом наклона $-K$. При $r/C = 0$, r равно n [Baglow, 1980].

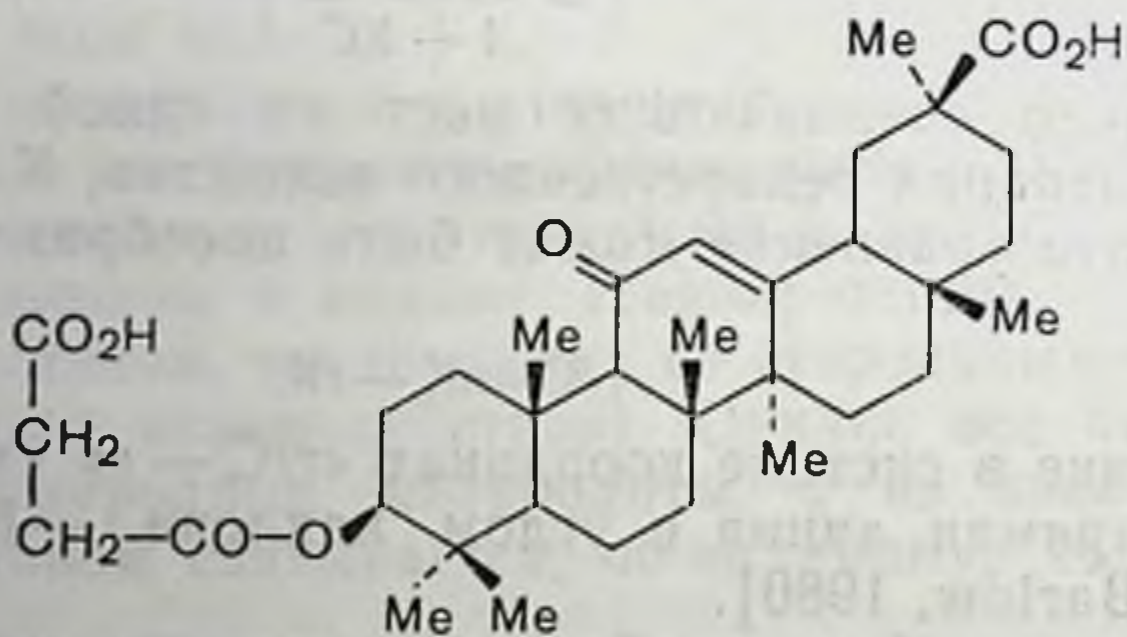
Часто для работы удобнее использовать константу диссоциации (K_D), равную $1/K$. Значения K_D колеблются от 900 для сульфазина, связывающегося с альбумином очень слабо, до 11 для сульфадиметоксина (разд. 9.3), связывающегося очень прочно и поэтому малоэффективного. До тех пор пока с альбумином не будет связано более 90% введенного лекарственного препарата, почечный клиренс этого препарата не уменьшится и сывороточный белок будет играть роль депо, а не «места потерь».

На практике концентрацию свободного лекарственного вещества определяют методами ультрафильтрации, равновесного диализа или УФ-спектром, изменяющимся в зависимости от степени связывания. Применение меченых лекарственных препаратов повышает точность этих методов.

Эффект лекарственного вещества возрастает, иногда в угрожающей степени, если другое лекарственное вещество вытесняет первое из его комплекса с сывороточным альбумином [Oliver et al., 1963]. Так, ацетилсалициловая кислота вытесняет антикоагулянт фенилиндандион, создавая опасность кровотечения.

Процент связывания лекарственного вещества с альбумином уменьшается по мере увеличения концентрации первого в плазме, т. е. когда большинство мест связывания в альбумине занято, дальнейшее связывание идет с трудом. При определении степени связывания следует указывать общую концентрацию лекарственного вещества как связанного, так и свободного.

Из лекарственных веществ с сывороточным альбумином легче всего связываются алифатические и ароматические кислоты (в том числе салициловая кислота и близкие противовоспалительные препараты), сульфаниламиды и барбитураты. Хорошо связываются анионы йодсодержащих соединений, используемых в качестве рентгеноконтрастных веществ (например, иопаноевая кислота). Нейтральные вещества с локализованным дробным отрицательным зарядом также соединяются с альбумином. К ним относятся нафтахиноны, кумарины (варфарин 9.40), индандионы, лактоны, в том числе сердечные гликозиды, и порфирины. Из многочисленных простых по структуре соединений, как лекарственных веществ, так и метаболитов, не связывающихся с альбумином, можно назвать эфир, глюкозу и мочевины.



Карбеноксолон
(3.4)

Очень высокое сродство к альбумину ($K=10^{-7}$ мол/л) имеет высоколипофильный противоязвенный препарат класса тритерпенов — карбеноксолон (3.4).

Более подробно о связывании лекарственных веществ с белками см. в работе Anton, Solomon (1973).

3.4.2. Перенос и выведение лекарственных веществ

Исследование распределения различных лекарственных веществ в плазме крови и тканях показало, что во многих случаях уровень содержания в них свободного лекарственного веще-

ства одинаков, что позволяет с успехом использовать плазму для аналитических целей [McQueen, 1968; Robinson, 1966].

Многие гидрофильные вещества выводятся из организма человека в неизменном виде (разд. 3.2), но большая часть выделяется только после метаболических превращений.

Для обнаружения, определения концентрации лекарственного вещества и изучения его превращений в организме человека и животных часто используют радиоактивную метку. Меченые соединения выделяют из физиологического материала при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии или электрофореза. Строение метаболитов можно установить масс-спектрометрически. Количественное определение радиоактивной метки проводят с помощью сцинтиляционного счетчика, сканирования или автордиографически. Наиболее часто применяют изотоп ^{14}C , реже — ^3H . Иногда в молекулу вводят сразу две радиоактивные метки. При синтезе меченых соединений положение метки в молекуле лекарственного вещества выбирают в соответствии с поставленной задачей. Величина специфической активности должна соотноситься с предполагаемой дозой. Можно использовать спектроскопию ^{13}C — ЯМР, хотя она менее специфична.

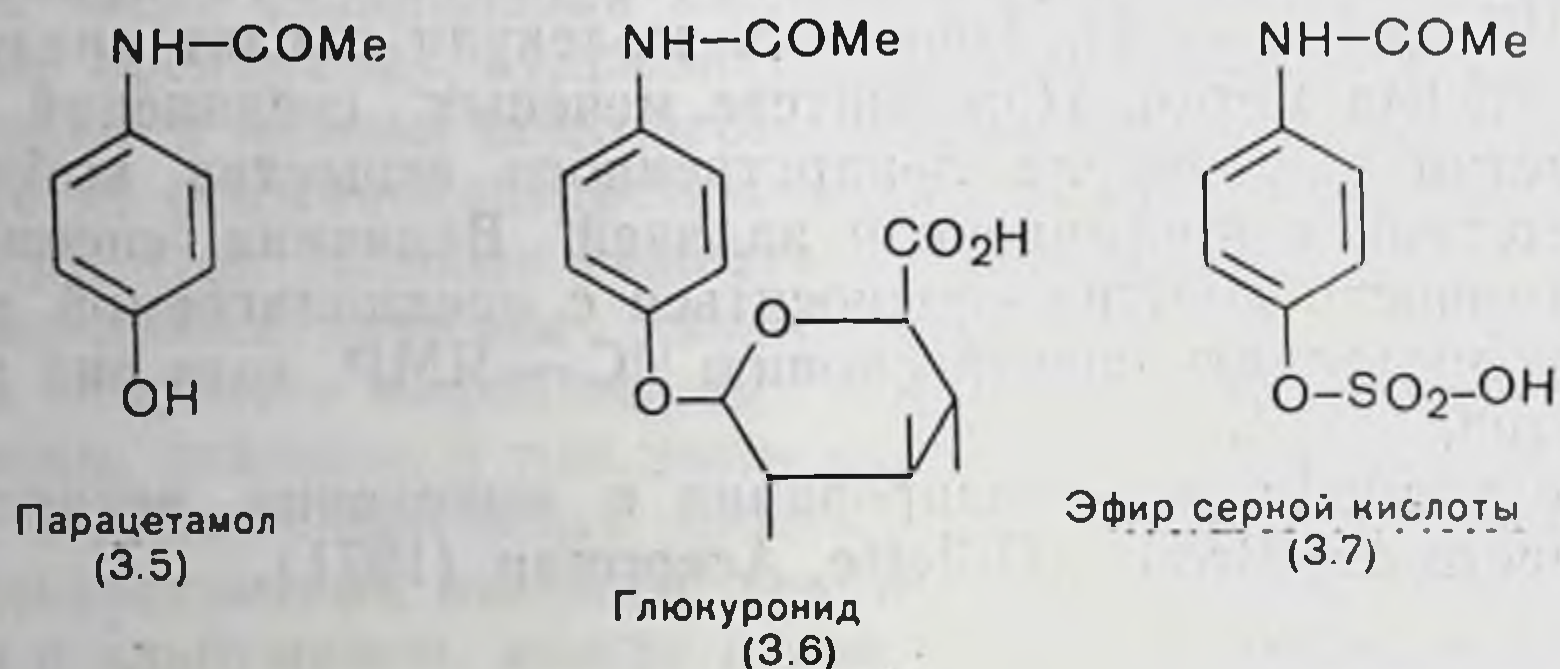
Более подробно о деонировании и выведении лекарственных веществ см. Brodie, Gillette, Ackerman (1971).

3.5. Метаболические изменения как первая стадия выведения лекарственных веществ, синергизм и антагонизм

3.5.1. Метаболизм

Метаболические изменения лекарственных веществ сводятся к образованию или разрыву ковалентных связей (определение см. в разд. 8.0), а это означает, что они мало обратимы. Хотя многие гидрофильные лекарственные вещества выделяются из организма млекопитающих в неизменном виде, но существуют и образующие «конъюгаты», т. е. соединяющиеся с низкомолекулярными метаболитами, в комплексе с которыми и выделяются. Эти изменения почти всегда приводят к повышению гидрофильности ксенобиотиков (чужеродных веществ), облегчающему выведение их из организма. Например, слабые органические кислоты не ионизируются при низких значениях рН мочи и, если бы они не связывались с глицином в митохондриях почек, их выведение было бы затруднено. Так, бензойная кислота образует N-бензоилглицин, легко выводимый почками. Некоторые амины в организме ацетируются ацетил-КоА в цитозоле печени (клеточной жидкости). При ацетилировании в организме лекарственные вещества теряют свою терапевтическую активность. Этот процесс в организмах разных людей идет с разной скоростью, что может влиять на эффект лекарственного

препарата (см. разд. 3.7 — о сульфаниламидных препаратах, разд. 9.9 — о изониазиде). Однако большинство аминов конъюгируют с глюкуроновой или серной кислотой. Так, парацетамол (3.5), применяемый при головной боли, в организме частично превращается в глюкуронид (3.6) и частично — в эфир серной кислоты (3.7). Глюкурониды образуются в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) печени, почек и кишечника. Амины, спирты, фенолы, амиды и карбоновые кислоты превращаются в соответствующие глюкурониды, если их липофильность достаточно высока для того, чтобы они могли проникнуть в ЭР. Сульфирование стероидов осуществляется в цитозоле почек, а гидрофильных спиртов и фенолов — в печени и клетках кишечника.



Глюкурониды аминов и фенолов легко гидролизуются в кишечнике и мочевом пузыре β -глюкуронидазами. Образование глюкуронидов может в определенной степени замкнуть цикл превращений. Так, орто-аминофенолы, являющиеся канцерогенными соединениями, обезвреживаются печенью, превращаясь в соответствующие глюкурониды. Однако если активность β -глюкуронидазы в тканях мочевого пузыря достаточно высока, то орто-аминофенол регенерирует и соответственно возрастает вероятность малигнизации [Boylard, Wallace, Williams, 1955].

Лекарственные вещества с более выраженными липофильными свойствами, чем описанные выше соединения, всасываются в почечных канальцах. Если бы они подвергались метаболической деструкции, то после однократного введения оставались бы в организме в течение многих недель. Обычно эти вещества аккумулируются в печени в особой мембранной органелле — эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), которая содержит множество разнообразных обезвреживающих ферментов, химически изменяющих лекарственные вещества, превращая их в более гидрофильные соединения. Такие метаболиты выделяются либо в неизменном виде, либо в конъюгированной форме (если в них была введена окси-, карбокси- или первичная аминогруппа). Так, например, толуол окисляется ферментами ЭР до бензилового спирта, из которого в результате дальнейшего окис-

ления в цитозоле образуется бензойная кислота, взаимодействующая в митохондриях с глицином с образованием бензоил-глицина (гиппуровой кислоты), быстро выводящегося с мочой.

Из этого примера видно, что процессы метаболической деградации протекают не только в ЭР, хотя он обладает в этом отношении наиболее разнообразными функциями. ЭР можно выделить из печени с помощью дифференциального центрифугирования гомогенатов печени. В процессе очистки он расщепляется на небольшие сферические образования (микросомы), но не утрачивает своей ферментативной активности. Многочисленные ферменты, связанные с микросомами, способны осуществлять реакции окисления, восстановления, гидролиза и, по меньшей мере, один синтез [Fouts, 1962; Gillette, Mitchell, 1975].

Axelrod (1955) показал, что в организме кролика фенамин (9.44) распадается с образованием метилбензилкетона и аммиака, а в ЭР печени присутствует целый набор ферментов, ответственных за превращение химических веществ в более гидрофильные (а значит, и более легко элиминирующиеся) соединения. Эти превращения химических веществ происходят в основном в ЭР, и только в присутствии NADPH и молекулярного кислорода.

Несколько позже были найдены и другие примеры микросомного метаболизма [Brodie, Gillette, LaDu, 1958] и было установлено, что именно микросомные ферменты регулируют скорость выведения химических веществ из организма [Quinn, Axelrod, Brodie, 1958]. Большинство этих ферментных реакций нуждается для своего осуществления в специальном цитохроме, названном P-450 (по длине волны главного максимума поглощения) [Omiga et al., 1965]. В настоящее время известно, что P-450 представляет собой набор ферментов (по мнению некоторых авторов, их не менее восьми), которые можно разделить электрофоретически. Их особенность — индуцибельность различными химическими веществами: фенобарбиталом, 2-нафтофлавоном, цианопрегненолоном и изосафролом [Guengerich et al., 1982; Ryan et al., 1982].

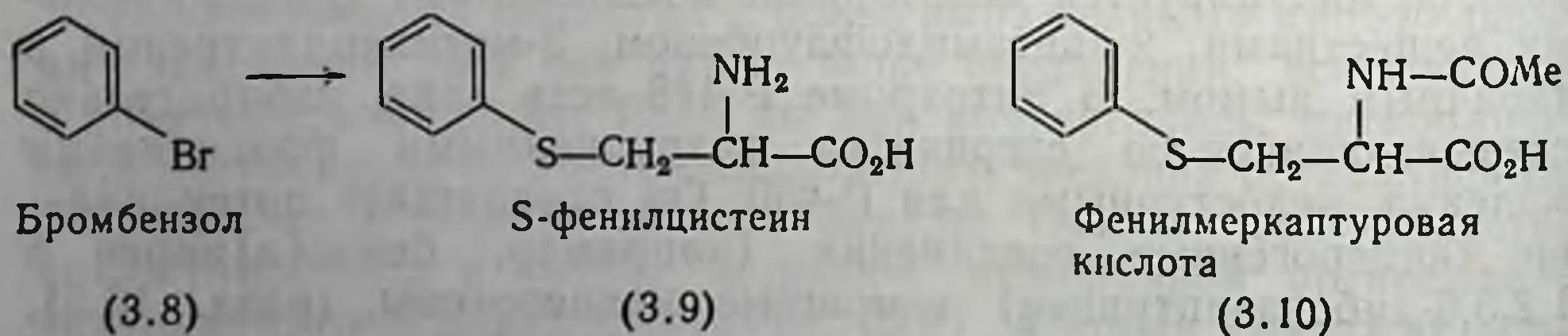
Цитохром P-448, в норме ответственный за биосинтез стероидов, индуцируется некоторыми потенциально канцерогенными веществами: 2-ацетамидофлуореном, 3-метилхолантеном и табачным дымом. В цитохроме P-448 есть сайт, избирательно связывающийся со стерически затрудненными фрагментами молекул, недоступными для P-450. Он превращает потенциально канцерогенные соединения (например, бензо[а]пирен и 1,2,5,6-дибензоантрацен) в мощные канцерогены (разд. 13.5). В злокачественных клетках цитохрома P-448 больше, чем цитохрома P-450 [Ioannides, Lum, Parke, 1983]. Подробнее о P-450 см. Schenkman, Kupfer (1982).

Ниже приведены типичные окислительные реакции, протекающие с участием микросомных ферментов (в каждом процессе участвует по крайней мере один фермент):

- 1) С-гидроксилирование алифатических соединений ($RCH_3 \rightarrow RCH_2OH$), обычными субстратами служат боковые цепи барбитуратов;
- 2) С-гидроксилирование ароматических соединений, например превращение ацетанилида в пара-оксиацетанилид. Ароматическая гидроксилаза детоксицирует некоторые углеводороды, окисляя их в фенолы, однако в других случаях образуются канцерогенные эпоксиды;
- 3) N-окисление ($R_3N \rightarrow R_3NO$), подходящими субстратами служат и алифатические, и ароматические третичные амины;
- 4) S-окисление ($R_2S \rightarrow R_2SO$), например, окисление аминазина;
- 5) O- и N-дезалкилирование ($ROC_2H_5 \rightarrow ROH + CH_3-CHO$), хорошо известным субстратом служит фенацетин;
- 6) N-дезалкилирование ($RNH \cdot CH_3 \rightarrow R \cdot NH_2 + H-CHO$), например, превращение метиланилина в анилин;
- 7) дезаминирование ($R-CH(NH_2)-CH_3 \rightarrow RCOCH_3 + NH_3$), например, метаболическое превращение боковых цепей фенамина.

В ЭР могут, кроме того, протекать и такие процессы, как дехлорирование хлорсодержащих углеводородов. Этот процесс может быть как окислительным — образование кетонов, так и восстановительным — например, превращение четыреххлористого углерода в высокотоксичный свободный радикал $CH_2 \cdot$ [Salton, Jones, Maskrodt, 1981]. Следует подчеркнуть, что в ЭР присутствует по меньшей мере два восстанавливающие фермента: нитроредуктаза и азоредуктаза; оба образуют первичные амины.

Многие галогенсодержащие углеводороды, алифатические и ароматические, в печени образуют связи с $-SH$ группами глутатиона, при этом высвобождается галогенводород. Такой конъюгат бромбензола (3.8), например, превращается в S-фенилцистеин (3.9), выводящийся из организма в неизмененном виде или ацетилирующийся с образованием «фенилмеркаптуровой кислоты» (3.10). Этот процесс может идти не только в ЭР, но и в цитозоле и митохондриях [Higom, Millburn, 1981].



Wroble (1956) убедительно показал, что в функции ферментов ЭР входит разложение токсичных веществ, в норме попадающих в организм с пищей или образующихся в результате жизнедеятельности бактерий в кишечнике. Возможно, что эти ферменты, кроме того, участвуют в метаболизме стероидов, в ча-

стности в реакции гидроксилирования эстрадиола, тестостерона, прогестерона и кортикостероидов [Conney et al., 1968]. Они не обнаруживают строгой специфичности в отношении субстрата и поэтому способны воздействовать на многие лекарственные вещества. В этом состоит отличие NADP-зависимых ферментов от NAD-зависимых ферментов, играющих столь важную роль в промежуточном обмене. Более того, ферменты ЭР не оказывают действия ни на нормальные первичные субстраты, ни на промежуточные продукты их метаболизма из-за неспособности двух последних групп гидрофильных веществ проникать в ЭР.

Среди возможных избирательных ингибиторов ЭР можно назвать 6-аминохризем, подавляющий N-деметирующий фермент, но повышающий активность гидроксилаз и O-деметирующего фермента [Russo et al., 1976]. Ферменты метаболизма лекарственных веществ сосредоточены преимущественно (но не полностью) в ЭР печени. Чужеродные вещества, попадающие в дыхательные пути, претерпевают аналогичные превращения в ЭР легких [Matsubaga, Nakamiga, Tochino, 1975].

Устойчивость лекарственного вещества к действию ферментов ЭР можно повысить введением группы, ухудшающей его способность быть субстратом. Так, введение в положение 17 эстрадиола этинильной группы ($-\text{C}\equiv\text{CH}$) удлиняет время его контрацептивного действия от минуты до одного дня.

Метаболические изменения чужеродных веществ часто называют детоксикацией, однако в некоторых случаях ферменты ЭР, атакуя молекулы этих веществ, могут вызывать увеличение их токсичности (разд. 3.6).

Обзор по микросомному окислению и восстановлению см. Gillette и сотр. (1969) и Gillette, Mitchell (1975)¹.

В качестве источника ферментов ЭР в различных экспериментах чаще всего используют печень крыс. Доказано, что у человека и крыс эти ферменты качественно схожи, но функционируют с различными скоростями [Kunitzman et al. 1966]. Предполагают, что значительная разница величин эффективной дозы для человека и лабораторных животных обусловлена различиями скоростей деструктивных реакций, а не чувствительностью соответствующих органов-мишеней. Из этого следует, что данный фармакологический эффект должен реализоваться у всех млекопитающих при одном и том же уровне лекарственного вещества в крови, хотя дозы, необходимые для достижения этого уровня, у разных видов значительно разли-

¹ О микросомном окислении и его роли в метаболизме ксенобиотиков см. также Арчаков А. Н. Микросомальное окисление. — М., 1975, 327 с.; Головенко Н. Я. Механизмы реакций метаболизма ксенобиотиков в биологических мембранах. — Киев, 1981, 219 с. — *Примеч. ред.*

Таблица 3.4. Сходство и различие в действии миорелаксанта изопротана (3.11) (внутрибрюшинное введение 0,2 г/кг) в опытах на разных видах животных

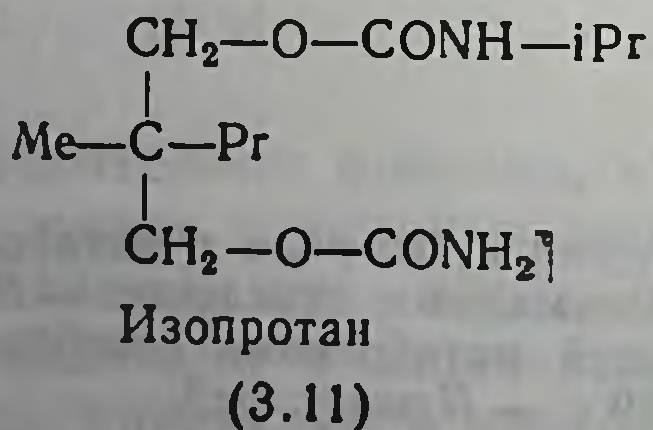
Вид	Длительность эффекта (потеря рефлекса выпрямления), ч	Содержание в плазме после прекращения действия, мкг/мл
Кошка	10	125
Кролик	5	100
Крыса	1,5	125
Мышь	0,2	130

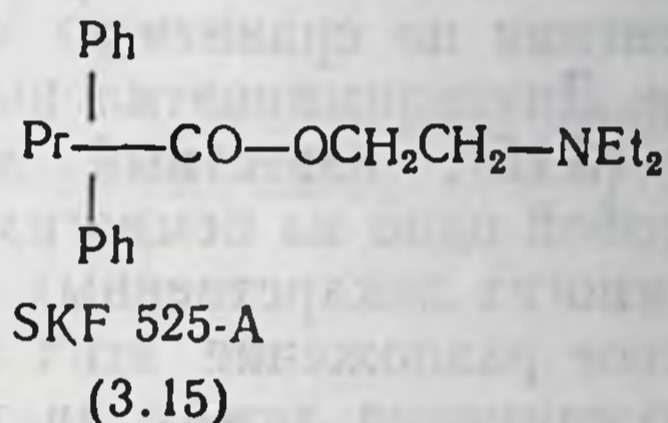
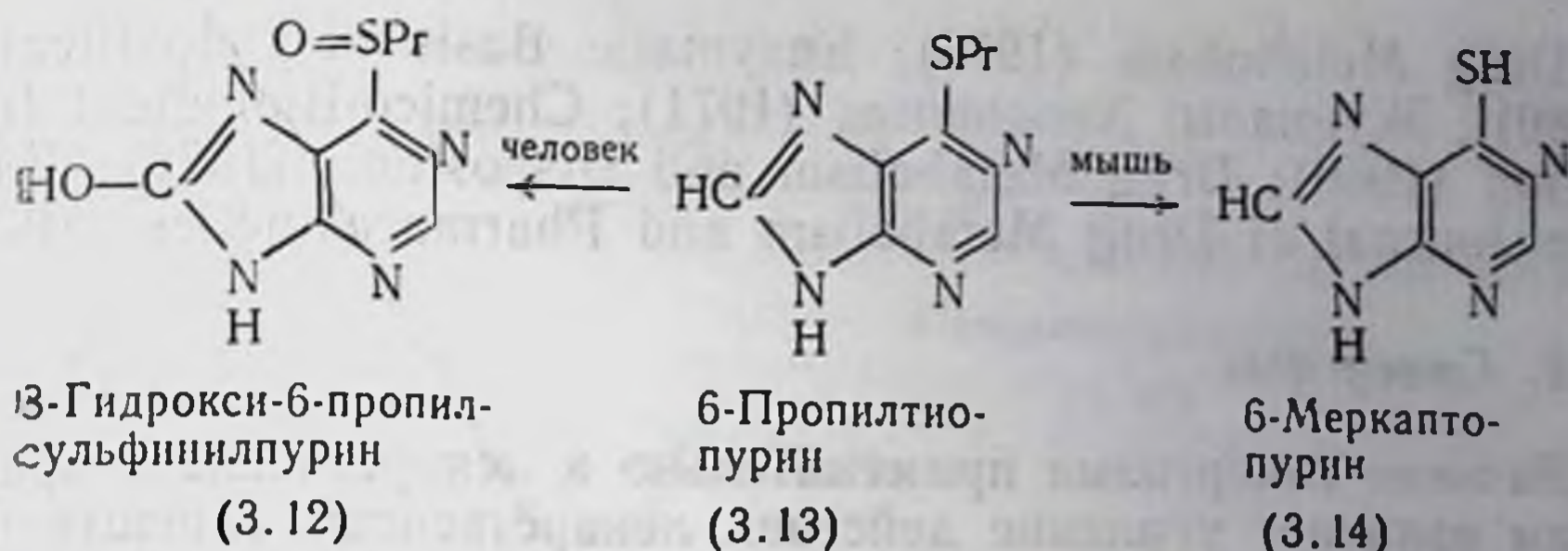
чаются [Brodie, 1964]. Количественные данные, полученные в опытах с применением миорелаксанта изопротана (табл. 3.4), подтверждают эту гипотезу; однако их слишком мало, чтобы судить, справедлива ли эта гипотеза для более широкого круга явлений.

В рамки этой гипотетической схемы, безусловно, не укладываются случаи (возможно, редкие), когда у двух разных видов основной метаболический путь оказывается неодинаковым. Так, например, у мышей 6-пропилтиопурин (3.13) гидролизуетс с образованием 6-меркаптопурина (3.14) и поэтому обладает для них выраженным канцеростатическим действием. В организме человека происходит двукратное окисление 6-пропилпурина без гидролиза, и образующийся в результате продукт (3.12) неканцерогенен [Elion et al., 1963].

Видовые различия в действии лекарственных веществ связаны также с особенностями реакций конъюгации у разных животных. Например, фенилуксусная кислота у человека и шимпанзе (только) конъюгирует с глутамином, у большинства других млекопитающих — с глицином и глюкуроновыми кислотами, а у кур — с орнитином [Williams, 1959]. Основной путь метаболизма фенамина у крысы — парагидроксилирование, а у человека, обезьяны и морской свинки — дезаминирование [Dring, Smith, Williams, 1970].

К числу превращений лекарственных веществ, осуществляющихся в цитозоле печени (а не в ЭР), относятся: окисление циклогексана в бензол, спиртов — в альдегиды: окисление и восстановление альдегидов, а также конъюгация желчных кислот (и арил-, и арилоксиуксусных) с таурином (2-аминоэтансульфоновой кислотой), частично осуществляющаяся в организме собак [Caldwell, 1982].





Хотя печень безусловно основной метаболизирующий орган, метаболическая деградация лекарственных веществ происходит во всем организме. Например, в кровяном русле присутствуют неспецифические эстеразы, быстро гидролизующие эфиры почти всех классов, а наряду с ними — несколько менее активная неспецифическая амидаза. Множество ферментов метаболизма в стенках кишечника и в почках. Инактиватор катехоламинов, катехол-О-метилтрансфераза (КОМТ), найден во многих тканях; в нервно-мышечных волокнах обнаружен фермент, гидролизующий АХ (разд. 2.5).

Как правило, в результате метаболических изменений молекула лекарственного вещества становится более гидрофильной, однако в некоторых редких случаях гидрофильность вещества в процессе метаболизма уменьшается. Так, если для снижения содержания липидов в крови применяют лекарственные вещества типа 4-бензилоксибензойной кислоты, то происходит следующее: эти соединения в цитозоле печени вступают в реакцию с коферментом А, образуя тиоэфиры. Фермент диглицеридацетилтрансфераза превращает тиоэфиры в триглицериды, накапливающиеся в жировых тканях организма [Fears, Richard, 1981].

В промышленности при создании всех потенциальных лекарственных веществ и пестицидов, как правило, изучают метаболизм этих соединений и определяют токсичность каждого индивидуально выделенного продукта (разд. 4.8).

Обширная литература посвящена специальной области науки, изучающей метаболизм ксенобиотиков.

Монографии: Williams (1959); Gillette, Mitchell (1975); Goodwin (1976); Jenner, Testa (1981); Parke, Smith (1976); Aito (1978). Периодические издания (указан первый год издания): Foreign Compound Metabolism in Mammals (London: The Chemical Society, 1970); Drug Metabolism Reviews (1972); Progress

in Drug Metabolism (1975); Enzymatic Basis of Detoxification (1980)¹. Журналы: Xenobiotica (1971); Chemico-Biological Interaction (1969); Drug Metabolism and Disposition (1973); European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics (1976).

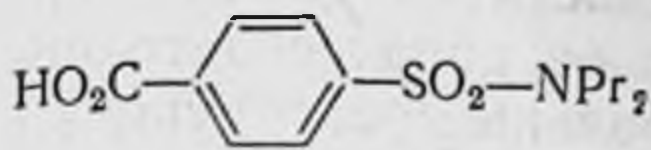
3.5.2. Синергизм

Явление синергизма применительно к лекарственным препаратам означает усиление действия лекарственных веществ при совместном их применении по сравнению с суммой эффектов отдельных препаратов. Диэтиламиноэтиловый эфир дифенилпропилуксусной кислоты (3.15), известный под названием SKF 525-A, представляет собой одно из немногих соединений, являющихся синергистами многих лекарственных веществ. Он предотвращает метаболическое разложение этих веществ в ЭР. В основе действия этого соединения лежит, видимо, неконкурентное торможение гидролитических реакций [Gillette, 1966], а не уменьшение проницаемости мембраны для липофильных веществ. Блокирование мест потерь соединением — SKF 525-A — проявление синергизма обычного типа [Veldstra, 1956]; в клинической практике оно не применяется.

Независимо от того, где происходит метаболическая инактивация, ее можно ингибировать и другими лекарственными средствами. Известно немало случаев, когда больные погибали после того, как им одновременно вводили какой-либо ингибитор моноаминоксидазы (МАО) и лекарственное вещество, содержащее аминогруппу, само по себе нетоксичное для организма. Такие ингибиторы МАО, в частности, назначают в качестве антидепрессантов, например трансамин (9.47). До того как было открыто синергическое свойство этих соединений, их применение было причиной смерти многих больных после того, как они принимали в обычных дозах фенамин, промедол и амитриптилин или же употребляли в пищу богатые аминами продукты — красное вино, мясной бульон, дрожжевой экстракт, бобы и особенно сыр. Однако известны случаи и более благоприятного действия синергистов.

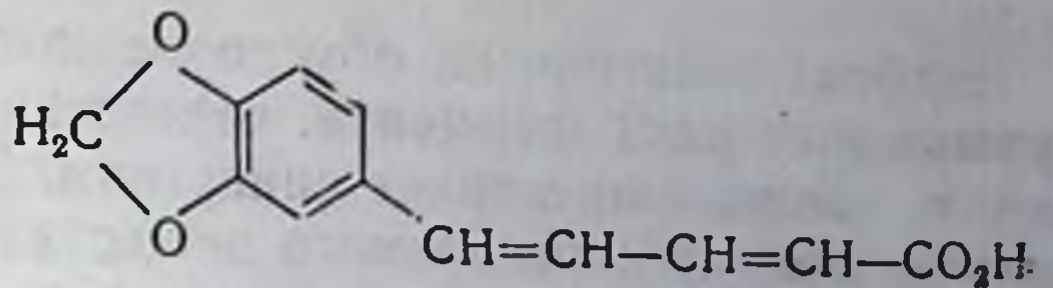
Потери лекарственного вещества в результате выделения иногда можно предотвратить, используя аналоги лекарственных веществ со сходным распределением зарядов. Так, пенициллины принадлежат к классу кислот, обладающих умеренной растворимостью в липидах и легко проникающих через проксимальные почечные канальцы. Их выведение может в большой степени блокироваться физиологически инертными аналогами, такими как пробенецид (3.16), 4-дипропиламиносульфонилбензойная кислота. Это соединение применяют в клинике для повышения эффективности пенициллинов.

¹ См. также *Лакин К. М., Крылов Ю. Ф.* Биотрансформация лекарственных веществ. — М., 1981. — 341 с. — *Примеч. ред.*



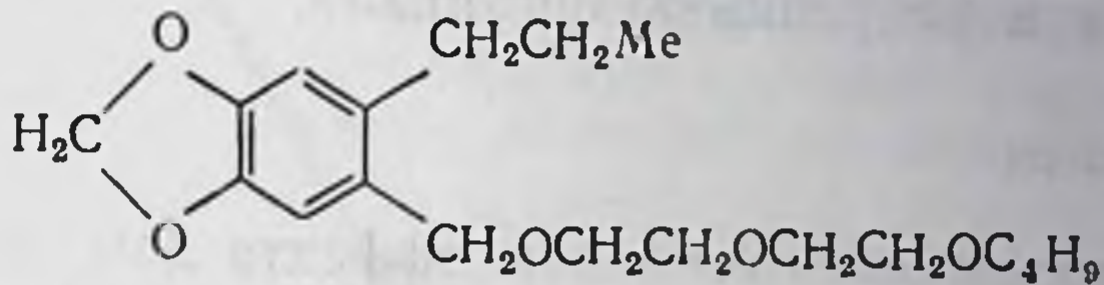
Пробенцид

(3.16)



Пипериновая кислота

(3.17)



Пиперонилбутоксид

(3.18)

Потери в результате ферментативной деструкции можно во многих случаях предотвратить, применяя вещества-синергисты. Например, в состав аэрозолей с пиретринами (для уничтожения мух) обычно вводят синергист — производное пипериновой кислоты, относящееся к классу метилendioксибензолов (3.17). Из синергистов этого класса широко используют пиперонилбутоксид (3.18), хотя более простые метилendioксипроизводные бензола (например, сафрол) обладают аналогичным действием. Метаболиты вышеуказанных соединений связываются с цитохромом Р-450 (терминальной оксидазой микросомальной системы транспорта), останавливая таким образом метаболическую деструкцию пиретринов, карбаматов и органических фосфатов [Franklin, 1972]. Эффект, аналогичный синергизму, можно получить также введением в молекулы соединений группы, блокирующей процесс метаболизма. Так, для пролонгирования действия стероидов в их молекулы вводили метильную или трифторметильную группу [Ringold, 1961; Briggs, Christie, 1977].

Кроме синергизма, обусловленного блокированием «мест потерь», известны другие типы синергического действия, прежде всего последовательное блокирование — ингибирование двух или более последовательных стадий метаболических превращений (разд. 9.6).

Другой тип синергизма — использование двух или более лекарственных веществ для подавления роста бактерий-мутантов, так как установлено, что у мутанта, приобретшего резистентность к одному лекарственному веществу, вероятность еще одной мутации, приводящей к появлению резистентности к другому лекарственному веществу, чрезвычайно мала. Именно по этой причине в комплекс лекарственных средств при лечении туберкулеза изониазидом включают второй противотуберкулезный препарат (разд. 6.5). Еще один тип синергизма проявляют пенициллины и стрептомицин: пенициллин ингибирует синтез клеточной стенки, ослабляя механическую прочность мембраны и обеспечивая тем самым доступ аминогликозидам.

Эффект генетически обусловленного недостатка (у индивидуумов или рас) фермента, ответственного за процесс детоксикации, также напоминает синергизм. Эти больные реагируют на низкую дозу лекарственного вещества так, как будто она высокая (разд. 9.9). Это явление следует отличать от сенсбилизации к определенным лекарственным препаратам, представляющей собой иммунную реакцию организма.

3.5.3. Антагонизм

В противоположность усилению эффекта дозы возможно его ослабление, обусловленное индукцией синтеза ферментов ЭР лекарственным веществом [Conney, Burns, 1962], например, противоревматическим препаратом бутадиином (10.37), обычная суточная доза которого с течением времени дает прогрессивно уменьшающийся эффект, что связано с возрастанием скорости распада лекарственного соединения. Так, через 25 ч после введения 0,1 г/кг бутадиина его концентрация в плазме крови собаки составляла 100 мкг/мл; однако через 5 дней (при ежедневном введении той же дозы) его уровень в крови понизился до 15 мкг/мл. Перерыв в приеме препарата на неделю или более восстанавливает его лечебное действие.

Аналогично в опытах на мышах и крысах было показано, что в результате регулярного введения одних и тех же доз различных барбитуратов сон у животных становится все менее продолжительным. Подобная индукция синтеза фермента, разрушающего барбитураты, происходит в организме человека и обнаруживается уже через неделю при постоянном приеме малых доз препарата. Увеличение дозы восстанавливает привычное снотворное действие, но лишь на несколько ночей, что объясняется усилением индукции синтеза фермента, разрушающего барбитураты в ЭР. При дальнейшем увеличении дозы возможны привыкание к препарату и отдаленные нежелательные эффекты. Если больной при первых признаках ослабления действия лекарственного препарата прекратит его прием, то через 1—2 нед избыток фермента расходуется, и эффект данной дозы восстанавливается. Применение малых доз барбитуратов не вызывает никаких отдаленных эффектов.

В специальных экспериментах было показано, что количество соответствующего фермента в ЭР действительно возрастает: животным вводили азокраситель в течение нескольких дней вплоть до того момента, когда его экскреция резко уменьшилась; затем выделяли ЭР печени и определяли содержание фермента [Porter, Gruni, 1959]. В одном из экспериментов на собаках было обнаружено, что количество фермента достигало нормы только по истечении 10 нед.

Примерами других соединений, усиливающих процессы собственного метаболизма, могут служить такие лекарственные вещества, как хлорциклизин, пробенецид, бутамид, амидопирин,

мепробамат, ноксирон, аминазин, хлордиазепоксид, метоксифлуран, 3,4-бензпирен и ДДТ.

Более того, введение массивных доз какого-либо лекарственного вещества может стимулировать синтез фермента, способного расщеплять другое лекарственное вещество, введенное одновременно с первым или много дней спустя [Remmer, 1962]. Так, например, бутадиион и барбитураты увеличивают скорость метаболизма антикоагулянтов, относящихся к группе кумаринов, в организме человека. В связи с этим нередко случается, что у больных, проходящих лечение антикоагулянтами, при одновременном введении им барбитуратов наступает ухудшение состояния. Например, у больного, сначала получавшего ежедневно только 75 мг дикумарина, а позже — в сочетании с одновременным введением 60 мг фенобарбитала наблюдали резкое уменьшение содержания дикумарина в плазме крови и ослабление его антикоагулянтного действия. При отмене фенобарбитала концентрация дикумарина и протромбиновое время вскоре возрастали до первоначального уровня [Cucinell et al., 1965; Robinson, MacDonald, 1966]. Примерами таких пар веществ, в которых одно соединение вызывает метаболическое расщепление другого, могут служить фенобарбитал и дифенин, бутадиион и амидопирин, фенобарбитал и дигитоксин. Аналогичным образом расщепление стероидных гормонов вызывают следующие лекарственные вещества: фенобарбитал, хлорциклизин, бутадиион [Conney, 1967].

Наиболее сильными индукторами синтеза ферментов, расщепляющих лекарственные вещества, оказались некоторые хлорированные инсектициды. Небольшие дозы ДДТ и гексахлорбензола могут способствовать выработке высокой резистентности к действию других лекарственных препаратов у лабораторных животных. Поэтому, если предполагается проводить испытания каких-либо лекарственных препаратов на животных, то применять на них эти инсектициды нельзя. Кроме того, известно, что некоторые инсектициды ускоряют метаболизм прогестерона, эстрадиола и тестостерона.

Антагонисты-индукторы, такие как фенобарбитал и 3-метилхолантрен, воздействуют непосредственно на ДНК РНК-полимеразы. По мере возрастания активности РНК-полимеразы происходит ускорение синтеза РНК и в конечном счете образуется больше ферментов метаболизма [Gelboin, Wortham, Wilson, 1967].

Хорошо известно, что под воздействием ДДТ понижается прочность костей у рыб, а птицы несут яйца с очень тонкой скорлупой. Предполагают, что при действии ДДТ хлорированные углеводороды индуцируют избыточное образование цитохрома Р-450 за счет уменьшения синтеза аскорбиновой кислоты, дефицит которой ведет в свою очередь к снижению содержания коллагена в костях. При этом возрастает процентное содержание фосфата кальция относительно коллагена, что и яв-

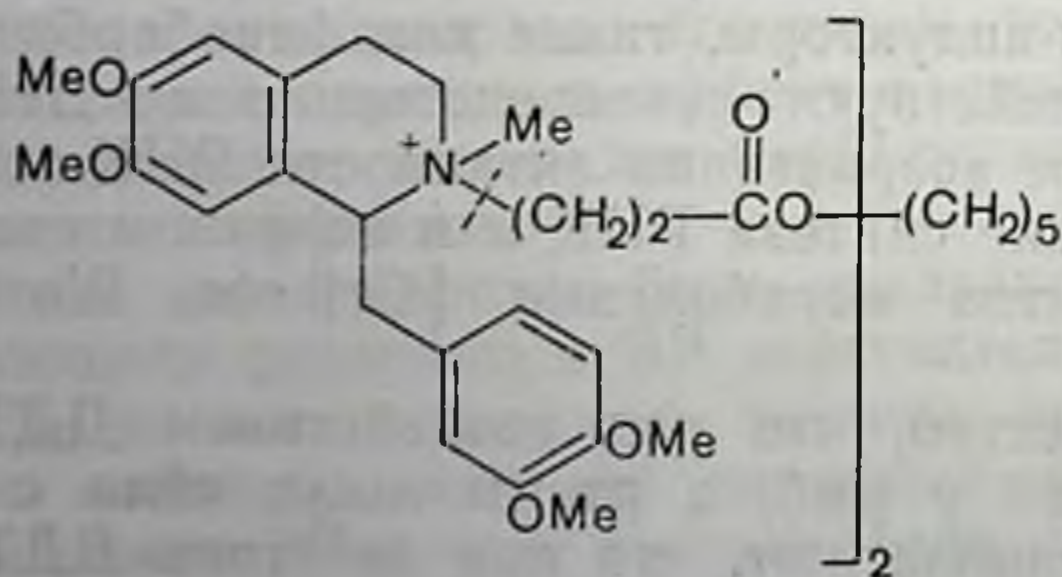
ляется причиной хрупкости костей. О соотношении фосфата кальция и коллагена в костях рыб, создающемся при введении: а) полихлорбифенилов см. Mehrle и сотр. (1982) и б) токсафена (хлоркамфена) см. Mayer, Mehrle, Crutcher (1978).

Более подробно об индукции ферментов см. Jenner, Testa (1981).

3.5.4. Самораспадающиеся лекарственные вещества

Новую группу лекарственных веществ представляют собой самораспадающиеся лекарственные вещества, спонтанно разрушающиеся в организме с образованием продуктов, не обладающих биологической активностью в данных концентрациях. Распад таких соединений не зависит от наличия ферментов, что приобретает особую важность в тех случаях, когда из-за фармакологических нарушений (разд. 9.9) или при нарушениях функций печени или почек в организме не хватает ферментов метаболизма. Самораспадающиеся вещества легко разрушаются в присутствии воды; скорость распада зависит от их структуры с учетом σ -констант Гаммета (разд. 17.2).

Примером может служить атракуриум, бензолсульфонат 2,2' - (4,10-диокса-3,11-диоксотридецилен)-бис-6,7-диметокси-(3,4-диметоксибензил)-2-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина (3.19), миорелаксант, применяемый для общей анестезии [Hughes, Sharple, 1981], синтезированный J. Stenlake (Шотландия). Внутривенное введение водного раствора препарата (средняя доза) обеспечивает хирургическую стадию наркоза продолжительностью 30 мин, при необходимости возможно повторное введение. Атракуриум, как и тубокурарин (2.6), относится к антидеполяризующим миорелаксантам. В воде из молекулы атракуриума в результате расщепления Гофмана образуются два инертных соединения (что обозначено пунктирной линией в формуле (3.19)). Применение препарата в хирургической практике показало, что он является эффективным нетоксичным средством с быстрым периодом восстановления мышечной активности [Payne, Hughes, 1981].

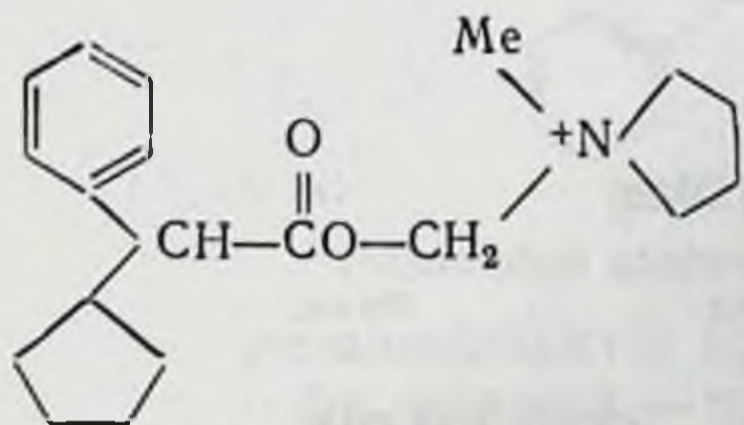


Атракуриум
(3.19)

К числу самораспадающихся лекарственных средств относится соединение 1-(α -циклопентил- α -фенилацетокси)метил-1-метилпирролидиний хлорид (3.20), предложенное для лечения боль-

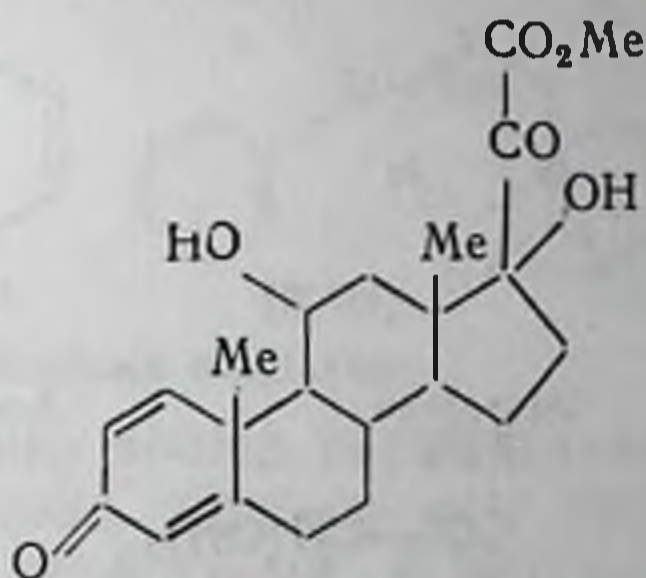
ных, страдающих гипергидрозом (неконтролируемым потоотделением) [Vodog et al., 1980]. Период полураспада этого лекарственного вещества при нанесении на кожу 20 ч. Оно обладает м-холинолитической активностью (разд. 7.5) и, будучи четвертичным соединением, не проникает через кожу. Кватернизацию проводили эфиром хлорметилового спирта, для этерификации из ряда липофильных кислот была выбрана циклопентилфенилуксусная кислота. О самораспадающихся лекарственных веществах см. обзор Vodog (1982).

Самораспадающийся противовоспалительный лекарственный препарат метиловый эфир преднизолон-21-карбоновой кислоты (11,17-дигидрокси-3,20-диоксо-1,4-диенпрегнан-21-карбоновой кислоты) (3.21) при нанесении на кожу (например, при atopическом дерматите) диффундирует через воспаленные участки и гидролизуется в крови, благодаря чему не имеет нежелательного общего эффекта, присущего первым кортикостероидам пролонгированного действия [Lee, Soliman, 1982].



Местный холинолитик

(3.20)



Метиловый эфир преднизолон-21-карбоновой кислоты

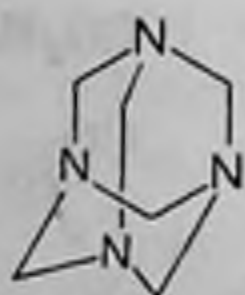
(3.21)

3.6. Метаболические изменения веществ, ведущие к их активации, пролекарства

Наряду с целенаправленным созданием пролекарств бывает и так, что полученное предполагаемое лекарственное вещество в действительности оказывается пролекарством и только после введения в организм превращается в истинно активный агент (см. рис. 3.2).

Первым целенаправленно созданным пролекарством был уротропин (3.22), выпущенный берлинской фирмой «Шеринг» еще в 1899 г., но до сих пор широко применяющийся в качестве уроантисептика. Это соединение — гексаметилентетрамин (гексамин), легко образуется при смешивании аммиака и формальдегида; структура молекулы гексамина относится к типу «клетки». Уротропин — источник формальдегида, образующегося из него под действием кислоты в мочевых путях. Препарат принимают натощак, чтобы предотвратить его расщепление в желудке и обеспечить беспрепятственное прохождение в мочевыделительную систему.

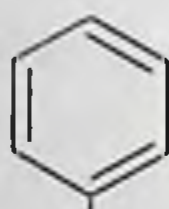
Некоторые пролекарства были открыты случайно. С давних пор производные антраценогликозидов применяли как слабительные (крушина, кассий, ревень) и только недавно было установлено, что истинно активное вещество — содержащиеся в них агликоны (например, эмодин) [Straub, Triendl, 1937]. Касторовое масло (действующее начало — рицинолевая кислота) и цитрат натрия, часто окисляющийся в организме в бикарбонат натрия и тем самым определяющий щелочную реакцию мочи, также можно считать примерами первых пролекарств. К ним же относятся ацетанилид (3.23) и фенацетин (3.24), приобретающие анальгезирующую и противовоспалительную активность после превращения в пара-ацетаминофенол. В связи с тем что ацетанилид способствует образованию метгемоглобина, а фенацетин повреждает почки [Brodie, Axelrod, 1949], в медицинской практике применяют истинное лекарственное вещество — пара-ацетаминофенол (парацетамол).



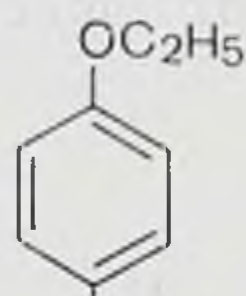
Уротропин
(3.22)



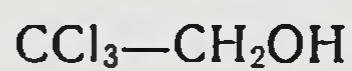
Хлоралгидрат
(3.25)



Ацетанилид
(3.23)



Фенацетин
(3.24)



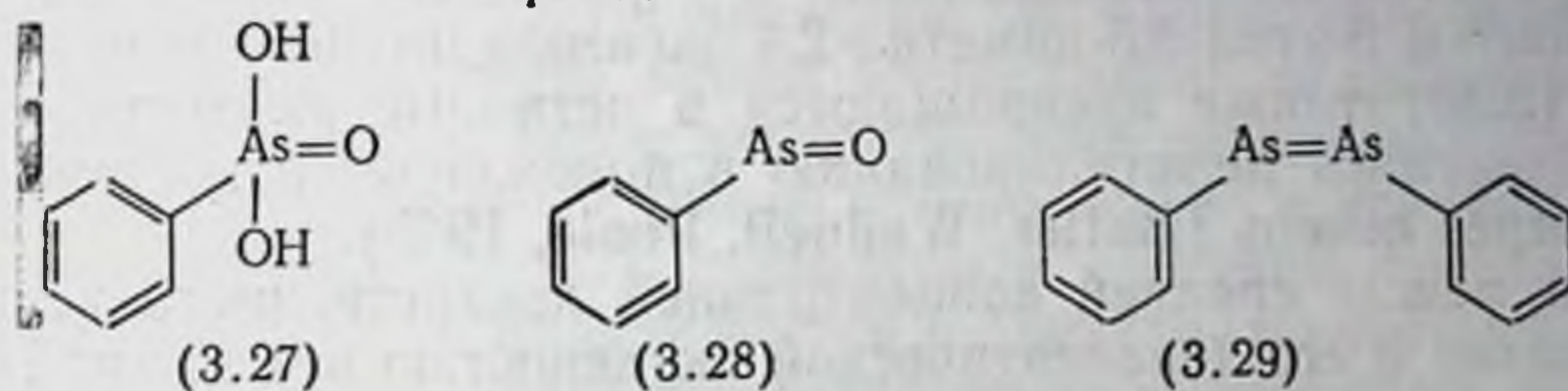
Трихлорэтанол
(3.26)

Препарат хлоралгидрат в организме восстанавливается до трихлорэтанола (3.26) [Butler, 1948], при этом оба вещества оказывают наркотическое действие.

С давних пор известно противолихорадочное действие коры ивы (*Salix alba*), обусловленное наличием в ней гликозида салицина. В желудочно-кишечном тракте салицин гидролизруется с образованием глюкозы и салицилового спирта, а последний окисляется в цитоплазме до салициловой кислоты, представляющей собой истинное лекарственное вещество. Для перорального применения Buss предложил салицилат натрия (1875), который в связи с его раздражающим действием был постепенно вытеснен ацетилсалициловой кислотой (аспирин) [Dresser, 1899], также относящейся к пролекарствам.

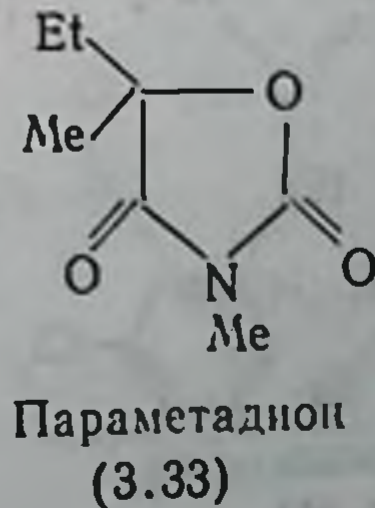
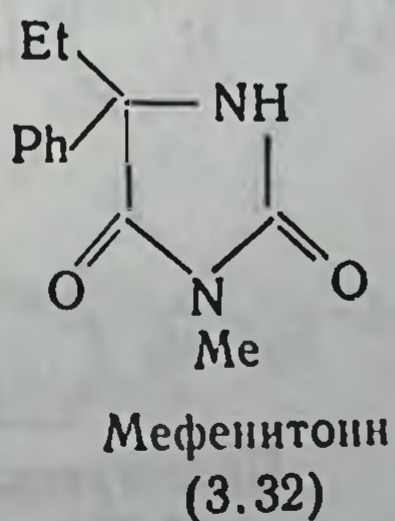
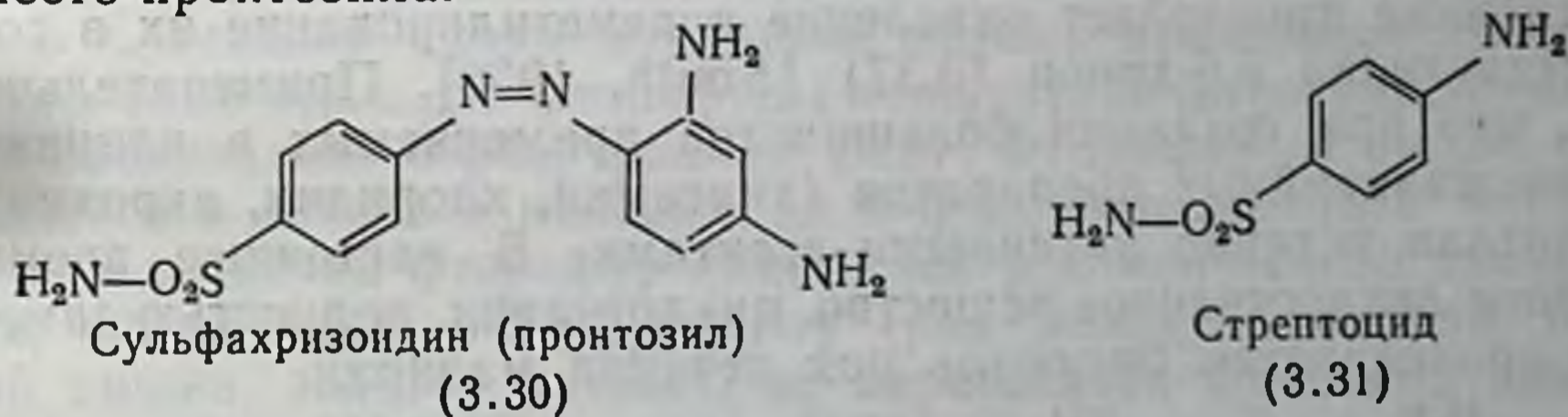
При изучении органических соединений мышьяка — фениларсенокислот (3.27), фениларсенокислов (3.28) и арсенобензолов (3.29), Пауль Эрлих установил, что фениларсенокислоты превращаются в живой клетке в соответствующие активные арсеноксиды [Ehrlich, 1909]. Позже Carl Voegtlin (1925) показал, что знаменитый препарат Эрлиха сальварсан (арсфенамин) также является пролекарством и приобретает активность только после окисления в арсеноксид. С учетом этого в США было

создано лекарственное вещество оксофенарсин (мафарсен) (6.4), применяемый для лечения сифилиса вместо арсфенамина (сальварсана), что позволило достичь лечебного эффекта при значительно меньших терапевтических дозах, а следовательно, уменьшило побочное действие этого препарата [Tatum, Cooper, 1934]. Его применяли для лечения сифилиса чрезвычайно широко вплоть до 40-х годов, когда в медицинскую практику вошел пенициллин, полностью заменивший препараты мышьяка. Однако при трипаносомозе и нейросифилисе приходится назначать пролекарство меларсопрол (13.3), несмотря на явное преимущество истинного лекарственного вещества, оксофенарсина, так как арсеноксиды не проходят через ГЭБ, а пролекарство проникает в пораженные участки нервной системы и там превращается в активное лекарственное вещество. Подробнее о препаратах мышьяка см. разд. 13.0.



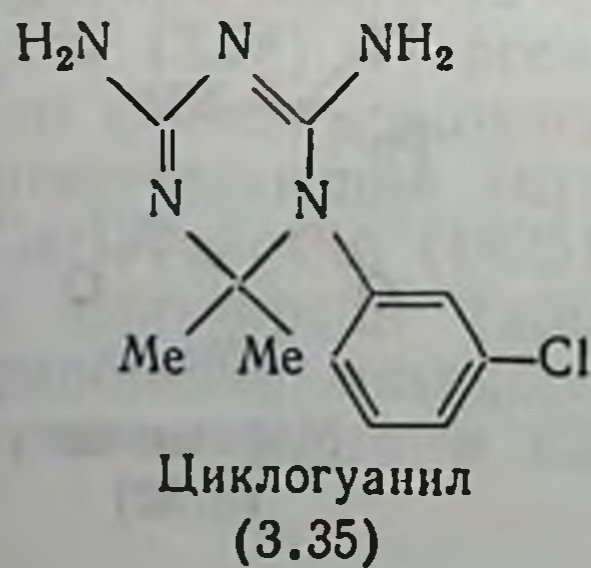
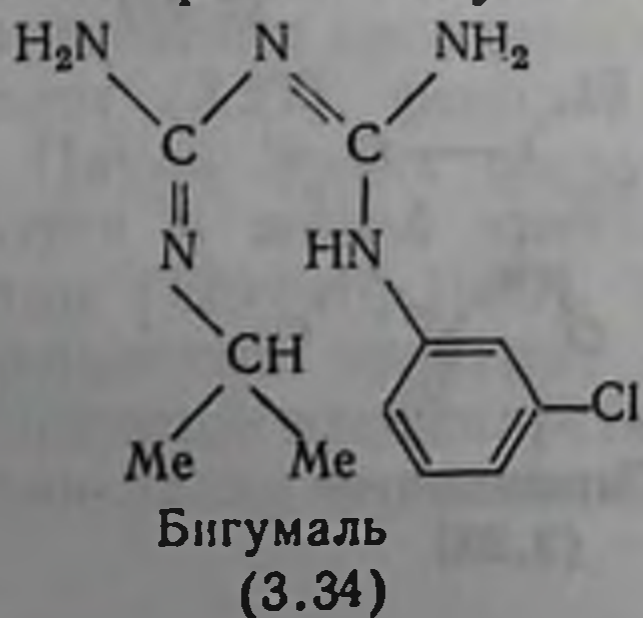
Различные степени окисления мышьяка

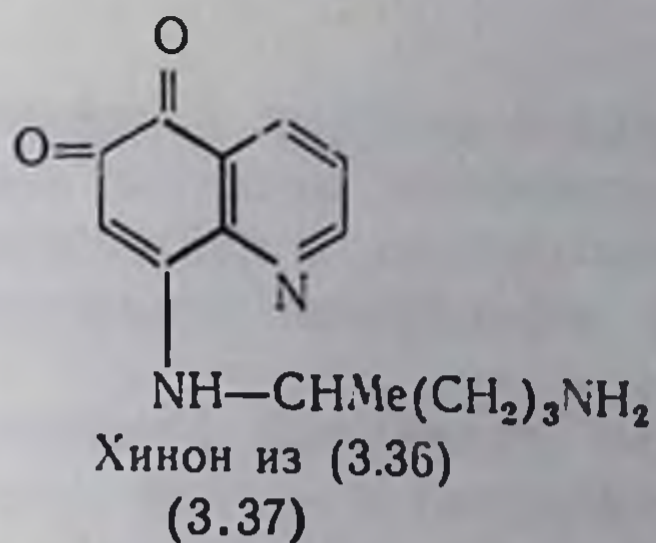
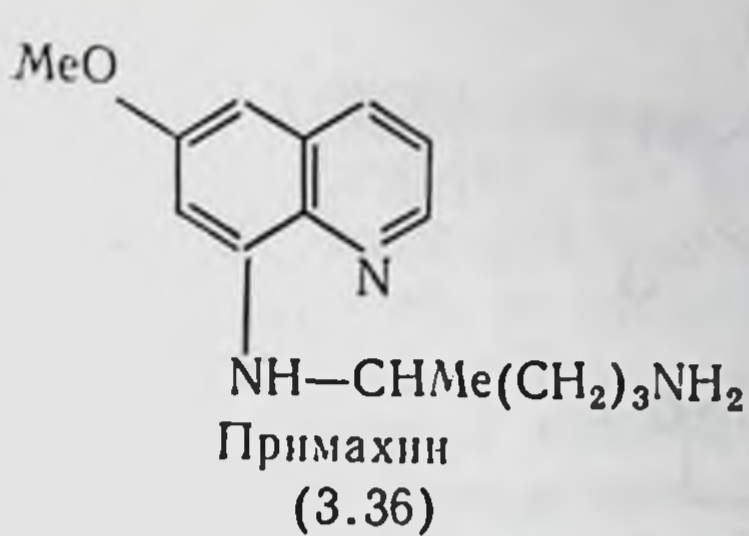
В 1935 г. в медицинскую практику вошел первый антибактериальный сульфаниламид — пронтозил. Однако сам пронтозил не обладает антибактериальными свойствами, а истинным лекарственным веществом является продукт восстановительного расщепления пронтозила — пара-аминобензолсульфамид (3.31) (сульфаниламид, стрептоцид). Превращение пронтозила в стрептоцид происходит в кишечнике под действием кишечной флоры и клеток стенки кишечника [Trefoïle et al., 1935; Gingell, Bridges, 1973]. Быстрота и направленность действия стрептоцида были причиной того, что он стал применяться в клинике вместо пронтозила.



В ЭР печени очень легко идет процесс N-деметилирования. Поэтому при создании лекарственных веществ для увеличения липофильности, а следовательно, и всасываемости вещества, в его молекулу вводят N-метильную группу. Такое N-метильное производное превращается в истинное лекарственное вещество после первого прохождения через печень [Butler, 1955]. Пролекарства этого типа вошли в фармакопеи разных стран и относятся главным образом к классу противоэпилептических средств. Примерами могут служить мефобарбитал (1-метилфенобарбитон), который деметируется в положении 1 и превращается в фенобарбитал (15.2); метонин (мефенитонин) (3.32), 5-этил-3-метил-5-фенилгидантонин, теряет метильную группу в положении 3 и превращается в нирванол, который не применяется в деметилированном виде из-за высокой токсичности [Butler, 1953]. 3,5,5-Триметил-2,4-оксазолидиндион (триметин, троксидон, триметадион) и 5-этил-3,5-диметил-2,4-оксазолидиндион (параметадион) (3.33) также превращаются в истинные активные агенты, подвергаясь деметилированию в положении 3 при прохождении через печень [Butler, Waddell, Poole, 1965].

Если между средней концентрацией лекарственного вещества в плазме и его терапевтической активностью нет прямой корреляции, то можно предположить, что этот препарат представляет собой пролекарство. Именно так было установлено, что противомаларийное средство бигумаль (3.34) приобретает активность только после того, как в организме произойдет его циклизация с образованием соответствующего дигидротриазина (циклогуанил) (3.35) [Crowther, Levy, 1953]. Бигумаль не оказывает почти никакого действия на культуру малярийных плазмодиев *in vitro*, тогда как циклогуанил в этих условиях высоко активен. На основании аналогичных предпосылок было установлено, что гаметоцидные препараты, созданные на основе 8-амино-6-метоксихинолина, такие как примахин (3.36), приобретают антибактериальную активность только после того, как в организме произойдет окисление и деметилирование их в соответствующий 5,6-хинон (3.37) [Smith, 1956]. Примечательно и то, что при создании большинства применяемых в клинике противомаларийных препаратов (хингамин, хлоридин, акрихин) их считали истинно активными агентами. В настоящее время истинное лекарственное вещество, циклогуанил, полностью заменило пролекарство бигумаль при лечении малярии.





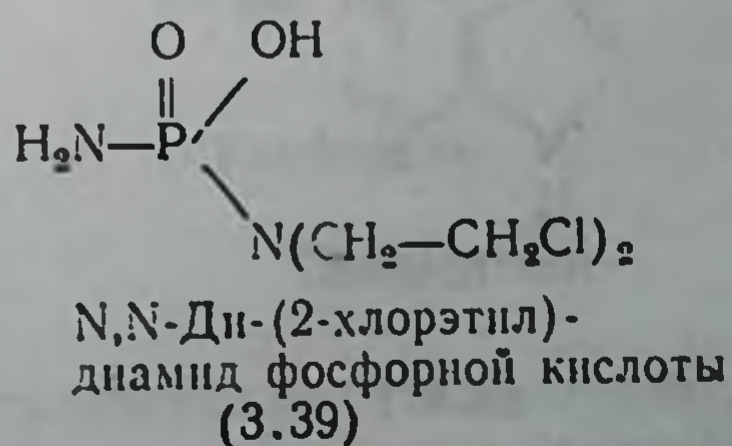
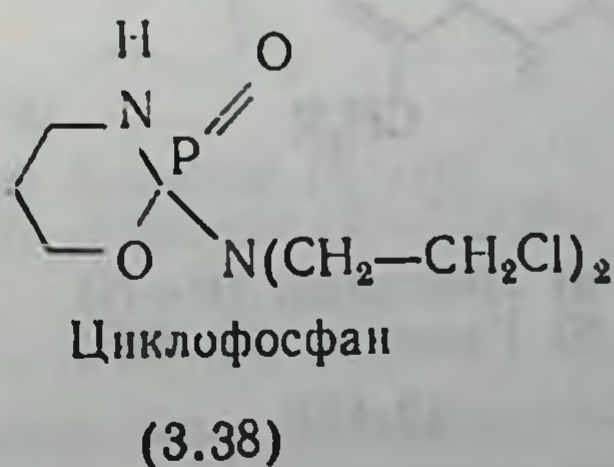
3.6.1. Пролекарства в ряду антибиотиков

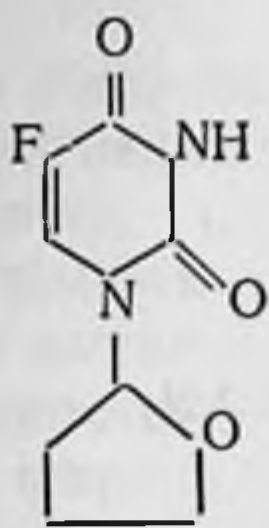
Пролекарствами ампициллина являются его эфиры: например, бакампициллин, талампициллин, пивампициллин (разд. 13.1). Эти эфиры обладают более высокой липофильностью, чем ампициллин, что обеспечивает их лучшую всасываемость при пероральном введении. В крови под действием неспецифических эстераз эфиры ампициллина гидролизуются с высвобождением истинного лекарственного вещества. Стеариновый или этилсукциновый эфиры эритромицина в отличие от самого эритромицина (4.47) стабильны к действию соляной кислоты в желудке, но гидролизуются в двенадцатиперстной кишке и превращаются в активное лекарственное вещество. Горький вкус левомицетина резко ограничивает его применение в детской практике. Поэтому был разработан левомицетина сукцинат, при гидролизе которого образуется левомицетин.

3.6.2. Пролекарства в терапии рака

Наиболее избирательный противоопухолевый препарат из класса азотистых ипритов (или алкилирующих агентов), циклофосфан (3.38), также представляет собой пролекарство. Это соединение претерпевает в организме ряд метаболических изменений и превращается в азиридиновое производное соединение (3.39), которое и является истинным активным началом.

В Советском Союзе и Японии широко применяют противоопухолевый препарат фторафур (тегафур), N-тетрагидрофурильное производное 5-фторурацила (3.3). Фторафур медленно распадается в печени и мышцах до 5-фторурацила. При внутривенном введении фторафур имеет спектр клинического применения, аналогичный 5-фторурацилу (рак молочной железы, прямой кишки, толстой кишки), но переносится больными значительно лучше [Valdivieso et al., 1976].



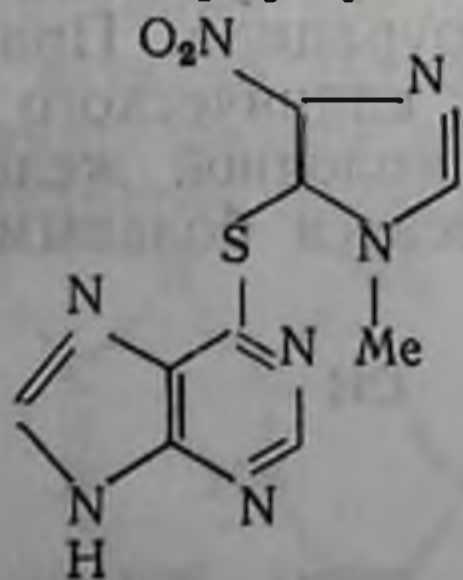


Фторафур
(3.40)

Один из разрабатываемых в настоящее время подходов к созданию пролекарств противоопухолевого типа действия — это синтез веществ, гидролизующихся при значениях рН в опухолевых клетках (около 6). Возможен и совершенно иной подход — синтез противоопухолевых препаратов, в которых азотистые нитриты присоединены к антисыворотке к лимфоидным клеткам. Предполагают, что антитела могут управлять механизмом «наведения» лекарственных веществ таким образом, что лечебный эффект этих веществ проявляется в очень узкой зоне при высокой концентрации активного препарата в ней. В экспериментах на мышах эти вещества проявили очень высокую противоопухолевую активность [Rowland, O'Neill, Davies, 1975].

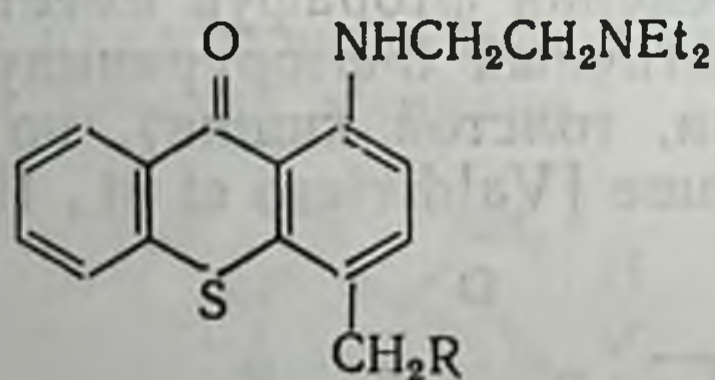
3.6.3. Различные примеры

6-Меркаптопурин относится к лекарственным средствам, угнетающим иммунологические реакции организма, и может предупреждать отторжение донорских трансплантатов. Однако соединение (3.14) слишком быстро выводится из организма, и поэтому не может обеспечить устойчивый эффект. В поисках производных 6-меркаптопурина, обладающих пролонгированным действием, был создан азатиоприн (6-1'-метил-4'-нитроимидазол-5'-илтиопурин). В молекулу азатиоприна входит нитрогруппа, электроноакцепторные свойства которой придают лабильность С—S связи; в организме азатиоприн медленно без участия ферментов расщепляется до 6-меркаптопурина, представляя собой его депо-форму.



Азатиоприн

(3.41)



а) Лейкантон (R=H)
б) Гикантон (R=OH)

(3.42)

Метилдофу (12.50) широко применяют в клинике в качестве гипотензивного средства. Но истинное активное вещество — это α -метилнорадреналин (12.52), образующийся в организме при декарбоксилировании и гидроксилировании метилдофы [Iversen, 1967].

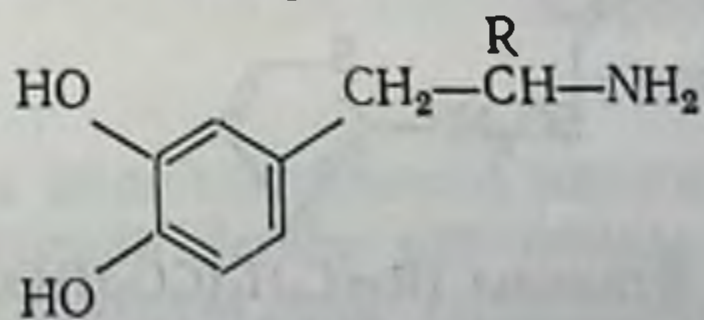
Ацетилсалициловый эфир парацетамола, бенорилат, медленно всасывается из желудочно-кишечного тракта и гидролизуется в крови, образуя два активных метаболита. Замедленное всасывание препарата пролонгирует время анальгетического действия.

Оригинальным примером использования метода маскировки для решения проблемы транспорта лекарственного вещества может служить применение липидорастворимого 2', 3', 5'-триацетильного производного 6-азауридина для пероральной терапии (разд. 4.0). В отличие от самого 6-азауридина его триацетильное производное хорошо всасывается в кишечнике и деацетируется в крови, превращаясь в истинное лекарственное вещество [Welch, 1961]. Этот препарат, азарибин, успешно применяют при псориазе [Crutchler, Moschell, 1975].

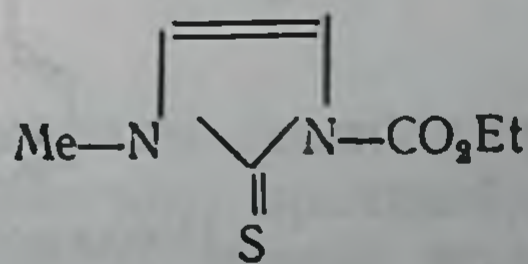
Органический фосфат, метрифонат (6.28), используют в клинике для лечения шистосоматоза. Это соединение представляет собой пролекарство, из которого в организме высвобождается истинный лекарственный агент — дихлорфос (13.29) (разд. 6.3.3).

Лейкантон (3.42,а), применяемый для лечения шистосоматоза, *in vitro* совершенно не оказывает противоглистного действия. Когда было обнаружено, что при метаболическом гидроксилировании лейкантон превращается в соединение (3.42,б) (гикантон), проявляющее противоглистную активность, в медицинской практике стали использовать истинное лекарственное вещество — гикантон.

Известно, что болезнь Паркинсона характеризуется дефицитом дофамина в мозге. Восполнить дефицит дофамина введением самого нейромедиатора невозможно, так как дофамин не проходит через гематоэнцефалический барьер. В клинике используют леводопу, аминокислоту, структурно похожую на дофамин. Леводопа (3.43, б) проникает в мозг с помощью специальной транспортной системы и декарбоксилируется в мозге с образованием дофамина (3.43, а).



а) Дофамин (R=H)
б) Леводопа (R=COOH)
(3.43)



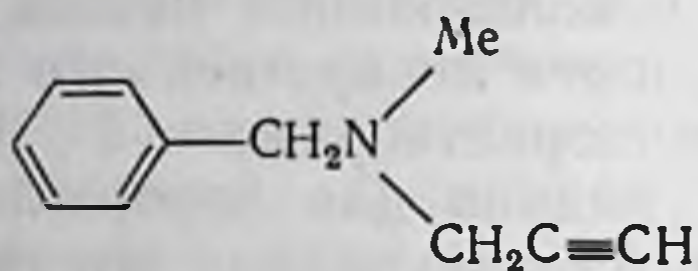
Карбимазол

(3.44)

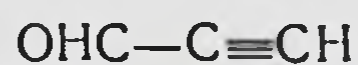
Мерказолил, 2-меркапто-2-метилимидазол, назначают при тиреотоксикозе обычно в виде 2-этоксикарбонилпроизводного

(карбимазол, неомерказол), представляющего депо-форму мерказолила.

При лечении алкоголизма для подавления влечения к алкоголю применяют паргилен (3.35), который ингибирует альдегиддегидрогеназу, что приводит к неприятным ощущениям у пациентов из-за повышения концентрации ацетальдегида в крови. Оказалось, что сам паргилен не оказывает прямого лечебного действия, а претерпевает в печени ряд метаболических превращений, в результате которых образуется истинное активное вещество — пропиолальдегид (3.46).

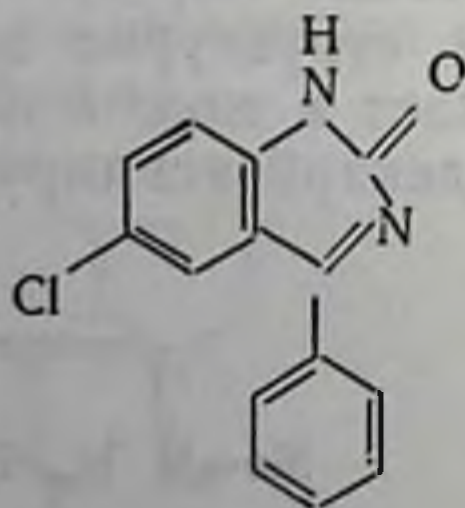


Паргилен
(3.45)

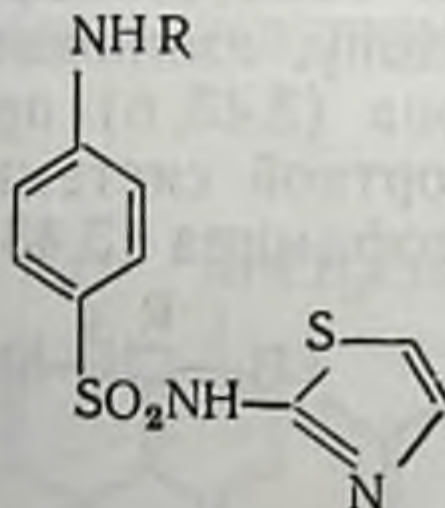


Метаболит паргилена
(3.46)

Пути метаболизма ряда бензодиазепиновых транквилизаторов различны. Например, сибазон (диазепам) (12.95) деметилируется в положении 1, хлордиазепоксид (либриум) восстанавливается в положении 4 с одновременным гидролизом метиламиногруппы в положении 2 до карбонильной группы, а хлоразепат (транксен) декарбоксилируется в положении 4. Однако метаболизм всех выше названных соединений приводит к образованию одного истинного агента — нордазепана (3.47), обладающего всей широтой терапевтического действия и действующего быстрее предшественников; однако опыт клинической работы с последними больше. Следует упомянуть о различии в фармакокинетике пролекарств нордазепана: диазепам быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, а хлордиазепоксид — медленно. Подробнее о транквилизаторах бензодиазепинового ряда см. разд. 12.7 [Garattini, Mussini, Randall, 1973; Nicholson et al., 1976; Hollister, 1978].



Нордазепам
(3.47)



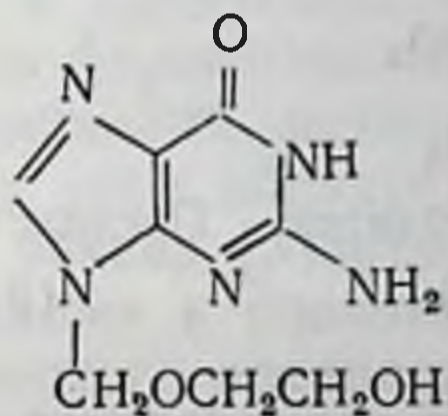
а) Фталазол ($\text{R}=\text{C}_6\text{H}_4(\text{CO}_2\text{H})\text{CO}-$)
б) Сукцинил — сульфатиазол
 $\text{R}=\text{HO}_2\text{C}-(\text{CH}_2)_2\text{CO}-$
(3.48)

Для лечения бактериальной дизентерии широко применяют N-4-ацилпроизводные норсульфазола, при этом его фталилпроизводное (3.48, а) обладает более высокой активностью, чем

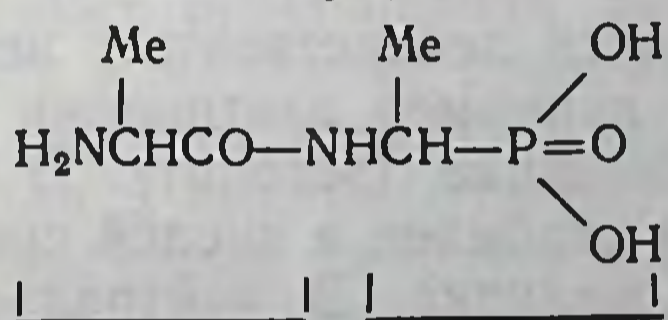
сукцинилпроизводное (3.48, б). Все эти вещества не всасываются в желудке и тонком кишечнике. Они гидролизуются бактериями в толстой кишке, высвобождая активное антибактериальное вещество — норсульфазол. Из-за распространенной резистентности кишечных бактерий к сульфаниламидным препаратам клиницисты при лечении больных диареей предпочитают назначать такие антибактериальные средства, как триметоприм, ампициллин или тетрациклин (для аэробов) или метронидазол (для более распространенных анаэробов).

3.6.4. Современные тенденции в дизайне пролекарств

В последние годы в дизайне пролекарств развиваются новые направления. С появлением ацикловира в терапии вирусных заболеваний началась новая эра. Ацикловир (3.49), 9-[(2-гидроксиэтокси)метил]-гуанин, превращается в активное лекарственное вещество непосредственно в пораженной клетке. Этот препарат, эффективный против целого семейства вирусов герпеса, проникает в пораженные клетки и в них трифосфорилируется вирусспецифической киназой. Фосфорилированное производное не оказывает вредного воздействия на здоровые клетки, но высокотоксично по отношению к вирусу (разд. 4.0) [Elion et al., 1977].



Ацикловир (3.49)



L-Аланин

L-Аминоэтилфосфоная кислота

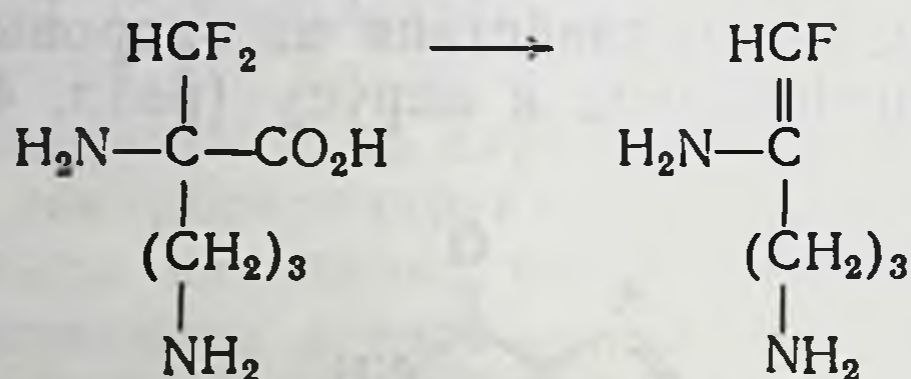
Алафосфалин

(3.50)

Из-за дополнительной наружной мембраны грамположительные бактерии более устойчивы к воздействию противобактериальных средств, чем грамотрицательные. С учетом этого был создан новый лекарственный препарат алафосфалин (3.50), транспорт которого в клетку осуществляется пептидной пермеазой дополнительной наружной мембраны. В клетке он гидролизуется в L-аминоэтилфосфоновую кислоту, сильный ингибитор L-аланинрацемазы. При этом нарушается синтез D-аланина, входящего в состав муреина, являющегося структурной основой

бактериальной клеточной стенки (разд. 5.3) [Allen et al., 1978; Allen, Lees, 1980].

Другое чрезвычайно перспективное новое направление создания пролекарств — ФАНИ, или ферментативно-активируемый необратимый ингибитор. Пролекарства этого типа под действием фермента превращаются в его же необратимый ингибитор [Abeles, Maucosk, 1976]. В молекулы ФАНИ входит фрагмент, сходный с той частью природного субстрата, которая обеспечивает связывание с ферментом. Под действием фермента образуется двойная связь; к ней присоединяются нуклеофильные группы (например, —SH) ферментативного белка — таким образом этот фермент необратимо дезактивируется. Более подробно этот тип лекарственных веществ рассмотрен в разд. 9.7. В качестве еще одного примера ФАНИ можно привести 2-дифтометилорнитин (3.51), который необратимо блокирует орнитиндекарбоксилазу (фермент, декарбоксилирующий орнитин до путресцина). Под действием фермента происходит отщепление атома фтора с образованием двойной связи (промежуточный продукт (3.52)), а затем вступает в действие описанный выше механизм ингибирования [Prakash et al., 1980].



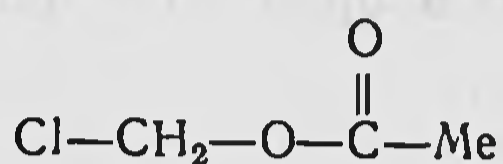
2-Дифтометилорнитин (3.51) Предшественник акцептора Михаэля (3.52)

3.6.5. Самораспадающиеся пролекарства

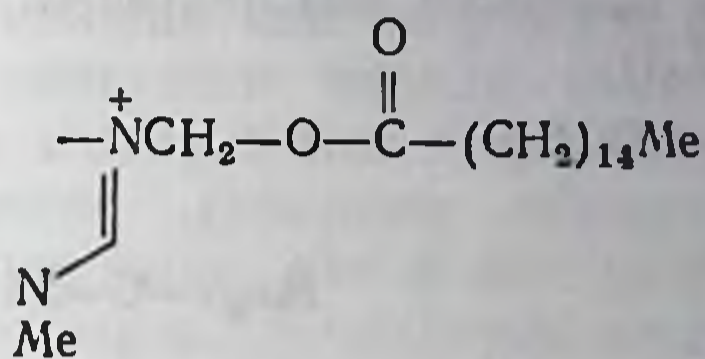
У самораспадающихся лекарственных веществ есть аналоги и среди пролекарств, например азатиоприн (3.41) или пропионильный эфир эритромицина (эстолат). В отличие от эритромицина (4.47) эстолат стабилен в кислой среде и быстро всасывается через стенку желудка. В нейтральном буфере период полураспада ($t_{0,5}$) эстолата около 45 мин. Поэтому превращение эстолата в эритромицин в крови не зависит от ферментов [Tagdew, Mao, Kenney, 1969].

Новый тип самораспадающихся пролекарств предложен Bodor и сотр. Они кватернизировали активные лекарственные вещества алкилирующими агентами, как правило, эфирами хлорметилового спирта (например, 3.53), содержащими соответствующее лабильное звено. Быстрая кватернизация третичных аминов проходит при комнатной температуре; можно алкилировать также спирты, первичные и вторичные амины [Renshaw, Wage, 1925]. Если введенная группа стерически объемна, то пролекарство обычно малоактивно. Расщепляются такие четвертичные производные под действием воды [Bodor, 1982].

Для создания пролекарств, способных адсорбироваться на биологической поверхности, целесообразно использовать более высокие гомологи (3.53). Например, пилокарпин (12.81) после кватернизации хлорметилпальмитатом образует соединение, структура которого частично представлена ниже (3.54). Этот аддукт вызывает в 10 раз более сильное и продолжительное сужение зрачка (миоз), чем пилокарпин. Медленное высвобождение пилокарпина дает возможность применять такой препарат для лечения глаукомы [Vodor, 1981].



Хлорметилацетат
(3.53)



Аддукт пилокарпина
(3.54)

3.6.6. Метаболические изменения, приводящие к образованию токсических веществ

Кроме метаболических изменений, благоприятных для организма, возможны случаи превращения нетоксичных веществ в токсичные под действием ферментов. Так, диметилнитрозамин в ЭР превращается в соединение, метилирующее гуанин, входящий в состав РНК. При этом образуется 7-метилгуанин, вызывающий острый некроз печени [Magee, 1964]. Токсическое действие метанола, приводящее к слепоте, обусловлено действием продукта его метаболического превращения в организме — формальдегида [Kini, Cooper, 1962].

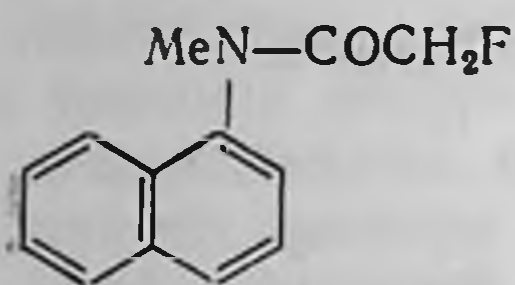
Другие случаи таких превращений описаны в разд. 13.5. Фторуксусная кислота в организме превращается во фторлимонную, блокирующую фермент аконитазу. Некоторые амины (например, бензидин или 2-аминонафталин) гидроксилируются с образованием канцерогенных гидроксиламинов, а такие полициклические углеводороды, как бензпирен, превращаются в канцерогенные эпоксиды. Из четыреххлористого углерода образуется в печени свободный радикал, вызывающий некроз печени [Slater, 1966].

Химические соединения, содержащие на конце углеродной цепи изолированную двойную или тройную связь, в ЭР окисляются цитохромом Р-450 с образованием токсических агентов, дезактивирующих порфирины. Примерами могут служить этилен, ацетилен, винилхлорид или обладающий гипнотическим действием этхлорвинол (3-гидрокси-1-хлор-3-этилпент-1-ен-4-ин-3-ол). Известно, что этилен образует N-2-гидроксиэтилпроизводное Р-450. Возможен еще более отдаленный эффект токсического

воздействия — встраивание ксенобиотика в обычный цикл метаболических превращений, идущих в организме [Ortiz de Montelano, Beilan, Matthews, 1982].

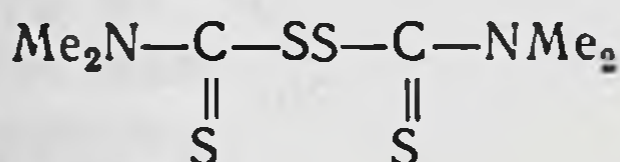
3.6.7. Активация пестицидов

Многие из широко применяющихся фосфорорганических инсектицидов, такие как малатион и диазинон (13.28), создавались как нетоксичные вещества, превращающиеся в токсичные агенты в процессе метаболизма только в организме насекомых (разд. 13.3).



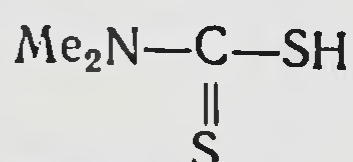
Ниссол

(3.55)



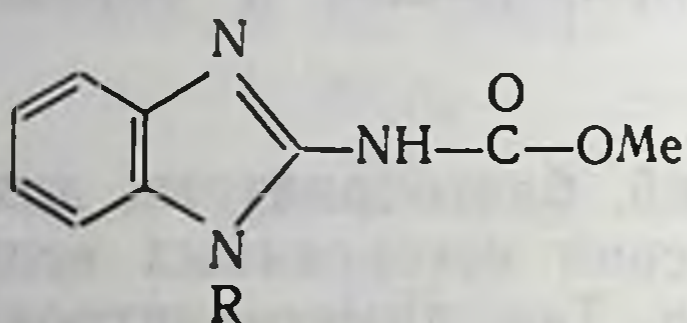
Тетраметилтиурам дисульфид

(3.56)



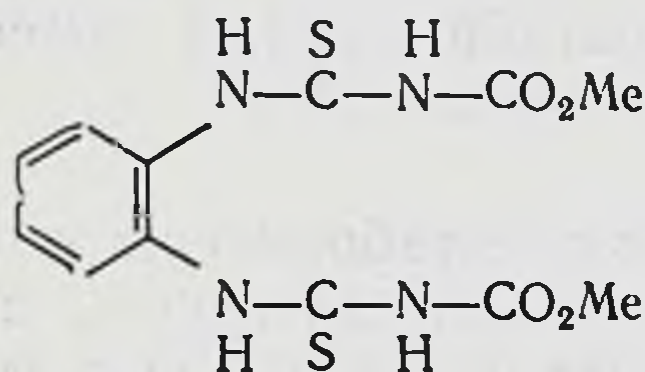
Диметилдитиокарбамниновая кислота

(3.57)



а) $\text{R} = -\text{C}(\text{O})\text{NHBu}$ (беномил)
б) $\text{R} = -\text{H}$

(3.58)



Метилтиофанат

(3.59)

Обладающий высокой селективностью ниссол (3.55), N-метил-N-(1-нафтил)-фторацетамид, — прекрасное средство против клещей, в организме которых при его деградации высвобождается убивающая их фторуксусная кислота, тогда как в организме млекопитающих такой деградации ниссола не происходит и поэтому он для них малотоксичен [Hashimoto, 1968].

Тетраметилтиурам дисульфид (3.56) — широко распространенный фунгицид хелатообразующего типа действия (разд. 11.7.3), превращается в активное соединение после восстановления в диметилдитиокарбамининовую кислоту (3.57).

Созданный в 1966 г. фунгицид беномил (3.58, а) по активности в десятки раз превосходит все другие известные фунгициды. Это соединение (метилловый эфир N-1-бутилкарбамоилбензимидазол-2-ил карбаминовой кислоты) легко отщепляет в растениях бутилкарбамоильную группу, облегчающую его проникновение в них, и превращается в метилловый эфир N-бензимидазол-2-ил карбаминовой кислоты (3.58, б), обладающий такой же активностью [Clemons, Sisler, 1969]. В работе Peterson, Edgington (1969) указывается, что при применении беномила истинным фунгицидным началом является именно соединение (3.58, б).

Оно же является истинным началом и другого фунгицида, метилтиофаната [1,2-бис-(3-метоксикарбонилтиоуреидо)бензол] (3.59), легко образуясь из него под действием влаги [Vonk, Sijpesteijn, 1971].

Для повышения избирательности гербицидного действия производных феноксиуксусной кислоты был применен своеобразный прием, названный маскировкой. При исследовании гомологического ряда семи ω -2,4-дихлорфеноксиалкилкарбоновых кислот было обнаружено, что способностью влиять на рост растений, возрастающей при переходе от низших членов ряда к высшим, обладают только соединения с нечетным числом метиленовых групп в молекуле. Это навело на мысль о том, что в этих соединениях идет реакция β -окисления (впервые обнаруженная Кпорр в 1904 г.). Далее было показано, что в клетках многих сорняков боковые цепи нетоксичных ω -2,4-дихлорфеноксипроизводных алифатических кислот разрушаются β -алифатической оксидазой с образованием токсичной для них 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты. Однако у многих полезных злаков этот фермент отсутствует [Waip, 1955, 1964]. Это дало возможность, используя принцип маскировки, получать гербициды с исключительно высокой избирательностью, например γ -2-метил-4-хлорфеноксимасляную кислоту (МСРВ), уничтожающую сорняки на полях бобов или очищающую посеvy клевера от льна, выступающего в данном случае в качестве сорняка.

2-Хлорэтанфосфоновая кислота выступает как скрытый источник этилена (природного индуктора роста в растениях), ускоряющего цветение, созревание и опадание фруктов [Edgerton, Blaupied, 1968].

3.6.8. Заключение

Хотя в настоящее время установлено, что многие лекарственные вещества представляют собой только пролекарства, большинство токсических агентов, введенных в организм тем или иным путем, взаимодействует с рецептором в неизменном виде. Опытный исследователь, учитывая проницаемость различных мембран в организме и механизмы действия ферментов, может создать эффективные пролекарства. Однако не следует забывать, что при этом значительно усложняются все проблемы, связанные с распределением вещества в организме от момента его введения до момента взаимодействия с рецептором. Иными словами, в случае создания пролекарств фармакокинетика вещества, по меньшей мере, вдвое более сложна. Поэтому пролекарства создаются в тех случаях, когда само лекарственное вещество слишком быстро выводится из организма или же слишком быстро метаболизирует и поэтому не успевает оказать лечебного эффекта. В медицинской практике врачи предпочитают иметь дело с истинными лекарственными веществами, так как в этом случае

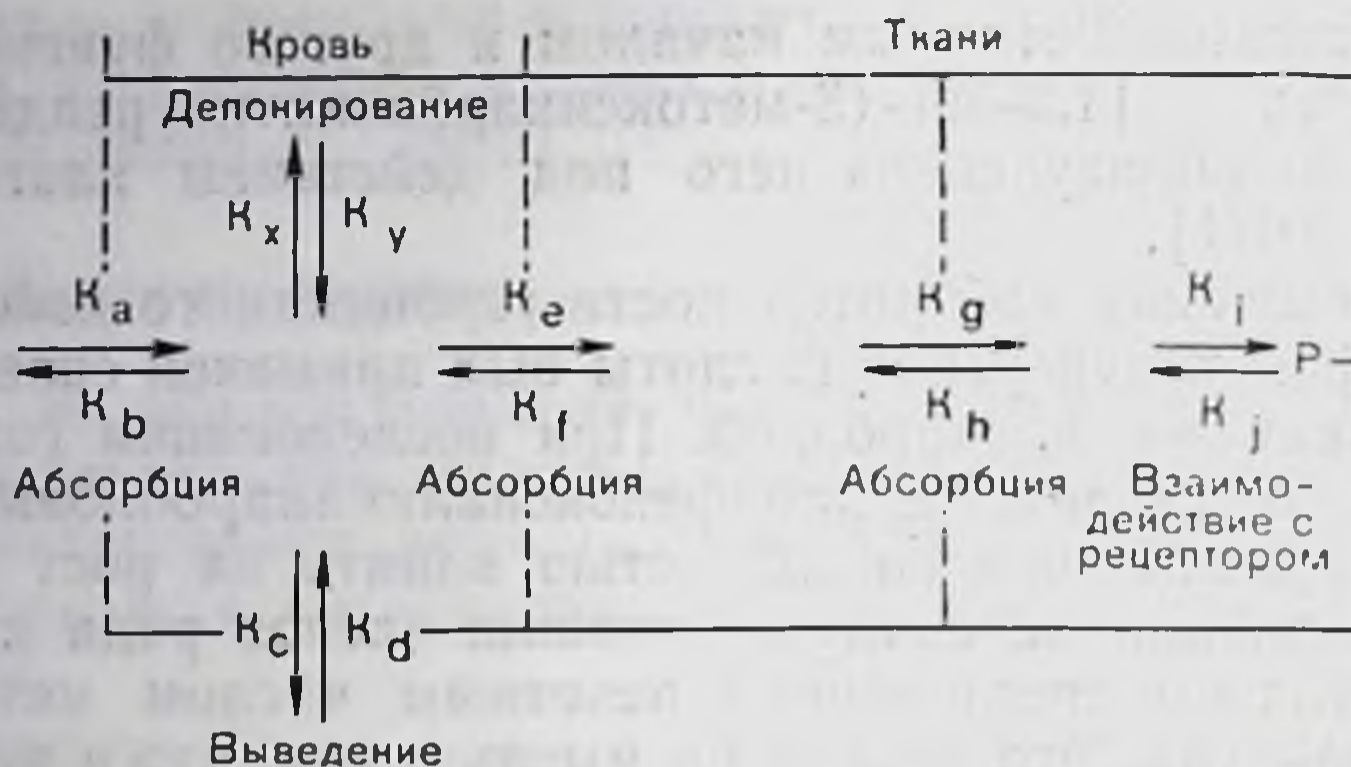


Рис. 3.5. Количественные аспекты распределения.

легче регулировать дозировку препарата в зависимости от физиологической реакции больного.

Более подробно о пролекарствах см. Higuchi, Stella (1975).

3.7. Количественные аспекты распределения, фармакокинетика, замедленное высвобождение

Количественные аспекты распределения схематически представлены на рис. 3.5. Переход к количественному описанию любого процесса требует проведения соответствующих экспериментов, позволяющих определить константы, характеризующие каждую стадию общего процесса. При этом определяются две группы констант: кинетические (или константы скоростей) и равновесия, характеризующие соответственно скорость процесса и процентный состав смеси в момент достижения равновесия. В живых организмах обычно более простым оказывается определение кинетических констант, необходимых для расчета дозировки препарата. На рис. 3.5 приведена схема процессов распределения лекарственного вещества в организме и указаны константы скоростей этих процессов. Каждая пара констант (для прямого и обратного процессов) определяется обычно как одна общая константа, которая в случае необходимости может быть разложена на микроскопические константы.

3.7.1. Фармакокинетика

Так называется область науки, изучающая кинетику процессов всасывания, распределения, метаболизма и выведения лекарственных веществ. Самые ранние исследования по фармакокинетике общих (ингаляционных) анестетиков [Wildmark, 1920; Dominguez, 1933] неприменимы для изучения других соединений. Изучая действие инсулина, Teogell (1937) вывел основные уравнения фармакокинетики. Он предложил использовать обычные формулы химической кинетики для определения концентрации лекарственного препарата в месте его введения, затем в

крови и тканях и, наконец, после инактивации или элиминации. Применение этих уравнений получило дальнейшее развитие в работах Krüger-Thiemer (1960) и Nelson (1961). На сегодняшний день фармакокинетику лекарственного вещества считают его важнейшей характеристикой, подлежащей обязательному изучению. Знание фармакокинетики позволяет установить необходимую для больного дозу лекарственного вещества и оптимизировать режим его введения. Контролируя концентрацию лекарственного препарата и его метаболитов на каждой стадии распределения, по данным фармакокинетики можно определить стадию, на которой следует повысить избирательность.

Даже для соединений, близких друг к другу по химическому строению, на разных стадиях распределения (см. рис. 3.2) существуют фармакокинетические различия, во многом определяющие избирательность действия лекарственных веществ. Метаболизм каждого лекарственного препарата в организме описывается суммой констант, значения которых обусловлены особенностями химической структуры этих соединений (для разных видов животных эти константы различны).

Отсутствие у клиницистов данных по фармакокинетики может приводить к двум крайностям: применению недостаточной дозы (не дающей эффекта) и передозировке (приносящей вред больному). Для создания оптимальной схемы лечения необходимо контролировать: а) эффективность действия лекарственного вещества и б) продолжительность его действия. Время проявления лечебного эффекта зависит от скорости всасывания и распределения препарата, продолжительность действия определяется скоростью метаболизма и выведения, а величина дозы в сочетании с этими параметрами определяют эффективность лекарственного вещества.

Данные о распределении вещества, полученные в экспериментах на животных, только приблизительно отражают его истинные фармакокинетические свойства, поэтому необходимо проводить клинические испытания.

Время нарастания концентрации лекарственного вещества в крови при внутривенном и пероральном введении резко отличается (рис. 3.6). Очевидно, что при внутривенном введении в крови сразу создается максимальная концентрация препарата, тогда как при пероральном она нарастает постепенно, достигая более низкого уровня. Скорость уменьшения действия препарата в том и другом случае одинакова.

Скорость прохождения лекарственного вещества через мембрану может быть представлена в дифференциальной форме как dS/dt , где dS — микроскопическое количество вещества, прошедшее через мембрану за очень малый промежуток времени (разд. 3.2). Скорость переноса лекарственного вещества через мембрану прямо пропорциональна его количеству (S) на внешней поверхности мембраны:

$$-dS/dT = kS,$$

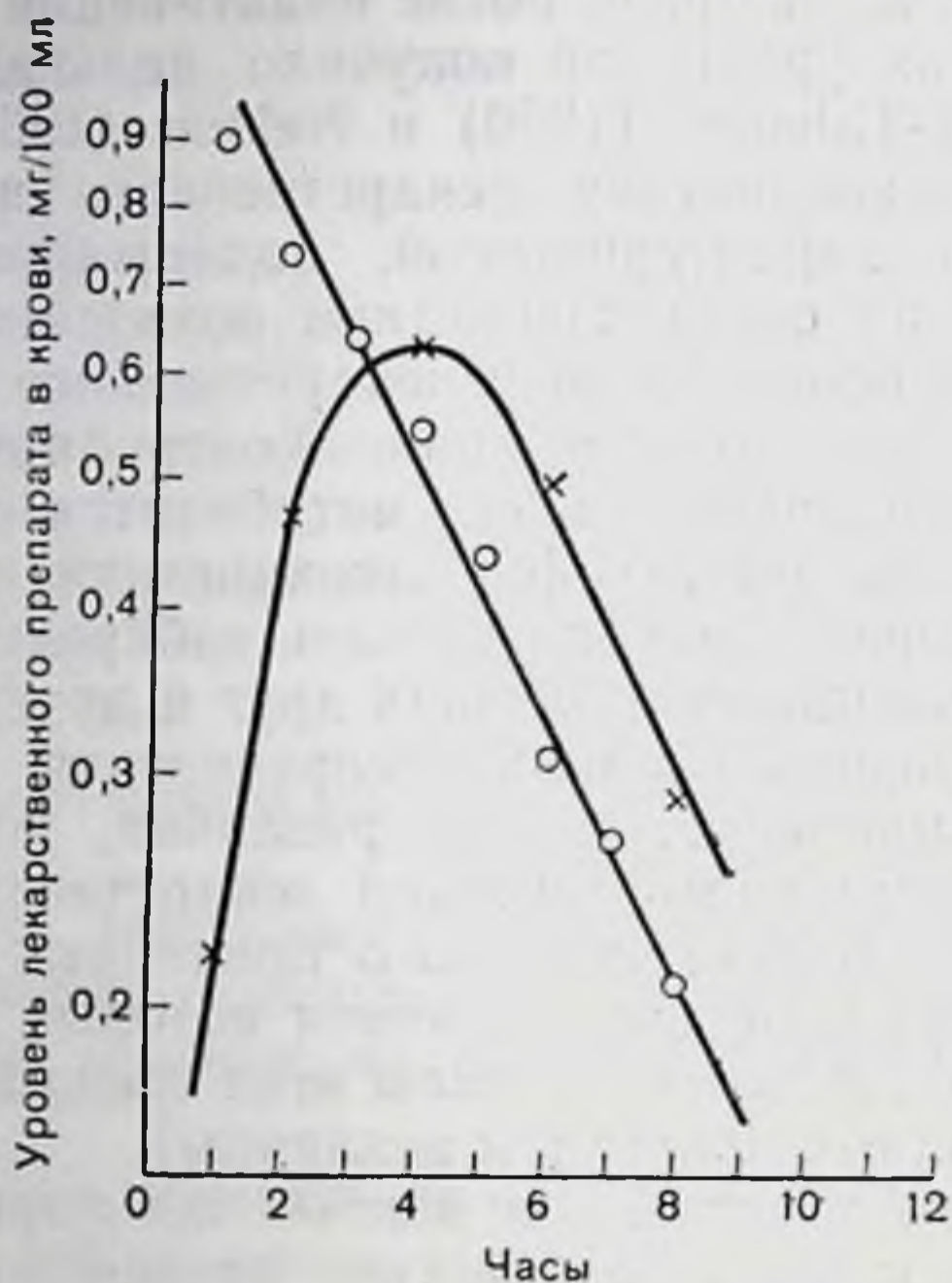


Рис. 3.6. Средний уровень теофиллина в крови человека при внутривенном (кружки) и пероральном (крестики) введении.

где k — константа проницаемости мембраны, S_0 — количество вещества в нулевой момент времени (до всасывания), т. е. доза (разд. 3.2).

Кажущийся объем распределения (V_D) (разд. 3.1) определяется либо для одной камеры организма (обычно, для крови), либо для двух — при переходе лекарственного вещества из крови, например, в ткани. В связи с тем что инфекционный процесс развивается в основном в тканях, а не в крови, распределение лекарственного вещества между кровью и тканями способствует проявлению его химиотерапевтического действия. Двухфазный характер кривой зависимости концентрации лекарственного вещества от времени (первого порядка) подтверждает распределение его между двумя камерами организма. Константа k_{12} характеризует переход агента из камеры 1 в камеру 2, тогда как k_{21} относится к обратному процессу.

Кинетику двухкамерного всасывания изучали Loo, Riegelman (1968). Сердечный гликозид дигоксин — типичный представитель препаратов, фармакокинетика которых может быть описана двухкамерной моделью. В случае барбитуратов периферической камерой является липоидная ткань.

В отличие от константы проницаемости, связанной с вводимой дозой, все остальные константы, независимо от того, относятся они к переходу лекарственного вещества из одной камеры в другую или к выведению его из организма, определяются его

концентрацией. Если внести небольшие изменения в приведенное выше уравнение, то оно приобретет вид:

$$-dC/dt = \beta C,$$

где C — концентрация вещества перед прохождением через мембрану, β — константа выведения или всасывания, а $-dC/dt$ — «скорость исчезновения». Константа выведения обычно берется как сумма констант — метаболической и экскреции. Наряду с наиболее часто встречающимися константами первого порядка существуют константы нулевого порядка, т. е. не зависящие от количества (или концентрации) присутствующего лекарственного вещества [Nelson, O'Reilly, 1960, 1961].

Для того чтобы установить оптимальную схему дозировки, определяют период полураспада лекарственного вещества, представляющий собой время, за которое половина его количества выводится из кровяного русла ($t_{0,5}$). Зная скорость выведения лекарственного вещества, можно рассчитать $t_{0,5}$ по формуле: $t_{0,5} = 0,693/\beta$.

Идеальный интервал доз (τ) равен $3,32 t_{0,5} \times \log(1 + C_0/C_{min})$, где C_0 представляет собой исходную концентрацию в крови, а C_{min} — минимальную терапевтическую эффективную концентрацию. Однако рассчитанные по этому уравнению интервалы времени между введениями препарата практически трудно соблюдать (например, 19 ч), поэтому обычно устанавливают более удобный режим приема лекарственных веществ (через 4, 8, 24 или 48 ч). Подставляя эти значения τ в следующее уравнение, находят оптимальную дозу (D) [Wagner, 1957]:

$$D = \tau \times V_D \times C_{av} / 1,44 t_{0,5} F,$$

где C_{av} — средний необходимый уровень в крови, F — абсорбированная фракция (в идеале 1,0), а остальные константы имеют свое прежнее значение. Ниже приведен список наиболее широко применяемых препаратов и периоды их полураспада в организме человека в часах [подробнее см. Gilman, Goodman и Gilman, 1980, p. 1675].

Алпренолол	3
Ампициллин	1,3
Анаприлин	4
Апрессин	2
Аспирин	0,3
Варфарин	37
Гентамицин	2
Дигитоксин	7
Дигоксин	42
Изониазид	2
Имизин	13
Индометацин	2
Клонидин	9
Левомецетин	30
Метилдофа	1,8
Метотрексат	8
Морфин	3

Преднизолон	2
Рифампицин	2
Сибазон	50
Сульфаметоксозол	9
Тетрациклин	10
Теофиллин	9
Триметоприм	11
Тубокурарин	2
Фенобарбитал ¹	86
Хинидин	6
Хлортиазид	1,5
Цефалексин	0,9
Циметидин	2
Эритромицин	1
Этанол	0,2

¹ Этот препарат заменил бромид-пон ($t_{0,5}=7$ дней).

Оптимальный режим приема лекарственных препаратов можно определить также, построив кривую, параллельную основной фармакокинетической кривой данного вещества, через точку, соответствующую минимальной эффективной концентрации препарата в крови (см. рис. 3.6).

При пероральном применении первичная доза должна обеспечивать максимально быстрое достижение эффективного уровня лекарственного вещества в крови. Если период полураспада препарата длительный, то величина первичной дозы существенна, поскольку только в течение времени, равном пятикратному периоду полураспада, уровень концентрации вещества в крови достигает плато. Определение величины поддерживающей дозы (см. выше).

В идеале индивидуальная доза должна определяться для каждого больного в зависимости от результатов анализа крови, выполняемого перед лечением. При этом учитывают непереносимость препарата, основанную на особенностях метаболизма или распределения в организме больного. Если это невозможно, то следует использовать обычные средние значения, определенные для группы больных.

В ранних исследованиях Kгүйer-Thiemeг были установлены интервалы между дозами и соотношение первичной и поддерживающей доз для большого числа сульфаниламидных противобактериальных препаратов; частично эти данные приведены в табл. 3.5 [Kгүйer-Thiemeг, Bүnger, 1961, 1965]. В начале применения сульфаниламидных препаратов клиницисты не придавали значения широкому диапазону величин их периода полураспада, в связи с чем многие препараты с большой константой были дискредитированы, так как их высокие дозы наносили вред больным.

Иногда пишут, что лекарственное вещество обладает «кумулятивным эффектом», однако накопление вещества в организме обычно определяется схемой введения, а не свойствами препарата. Любое лекарственное вещество, принимаемое часто или в

Т а б л и ц а 3.5. Рекомендуемые интервалы между дозами и соотношение первичной дозы (D^*) к поддерживающей (D) для получения устойчивого уровня концентрации в крови

	Средний период полураспада, ч	Интервал времени между дозами, ч	D^*/D
Норсульфазол	3,5	4	1,8
Сульфанзоксазол	6,1	6	2,0
Стрептоцид	8,8	8	2,1
Ацетилсульфанзоксазол	13,1	12	2,1
Сульфазин	23,5	24	3,0
Сульфамеразин	23,5	24	3,0
Сульфадиметоксин	41,0	24	3,0

больших дозах, будет накапливаться в организме, особенно если его $t_{0,5}$ велико.

Данные о режиме дозировки сульфамидов, приведенные в табл. 3.5, были получены следующим образом: лекарственный препарат вводили перорально здоровым добровольцам и через небольшие промежутки времени брали у них пробы крови и мочи для анализа. Таким же образом были определены константы скоростей метаболизма и выделения (рис. 3.7). Сложная константа выделения β_1 может быть представлена в виде суммы двух микроскопических констант, характеризующих выведение вещества почечными клубочками и обратное всасывание его из почечных канальцев в кровь.

Исследования противобактериальных сульфаниламидов показали, что их фармакокинетические свойства улучшаются с повышением липофильности: увеличивается всасываемость, а также кажущийся объем распределения, хотя в последнем случае ионизация играет незначительную роль. Скорость выведения в равной степени зависит от липофильности вещества и его способности к ионизации. С повышением липофильности увеличивается связывание вещества с белками (исключение составляют только орто-изомеры, что связано со стерическим влиянием заместителя), но затрудняется их метаболизм (например, ацетилирование). В противоположность вышесказанному, в экспериментах *in vitro* противобактериальные свойства сульфаниламидов мало изменяются с изменением липофильности, но значительно зависят от электронных эффектов, особенно от способности молекул к ионизации (разд. 10.5), и усиливаются при введении орто-заместителей [Seydel, 1981]. Эти исследования, равно как и изучение других групп лекарственных веществ, представляют особый интерес с точки зрения проблемы избирательности, так как свидетельствуют о том, что действие лекарственных веществ определяется разнообразными, подчас совершенно неожиданными независимыми параметрами. Отсюда следует, что на характер распределения лекарственных веществ можно воздействовать, даже незначительно изменяя их молеку-

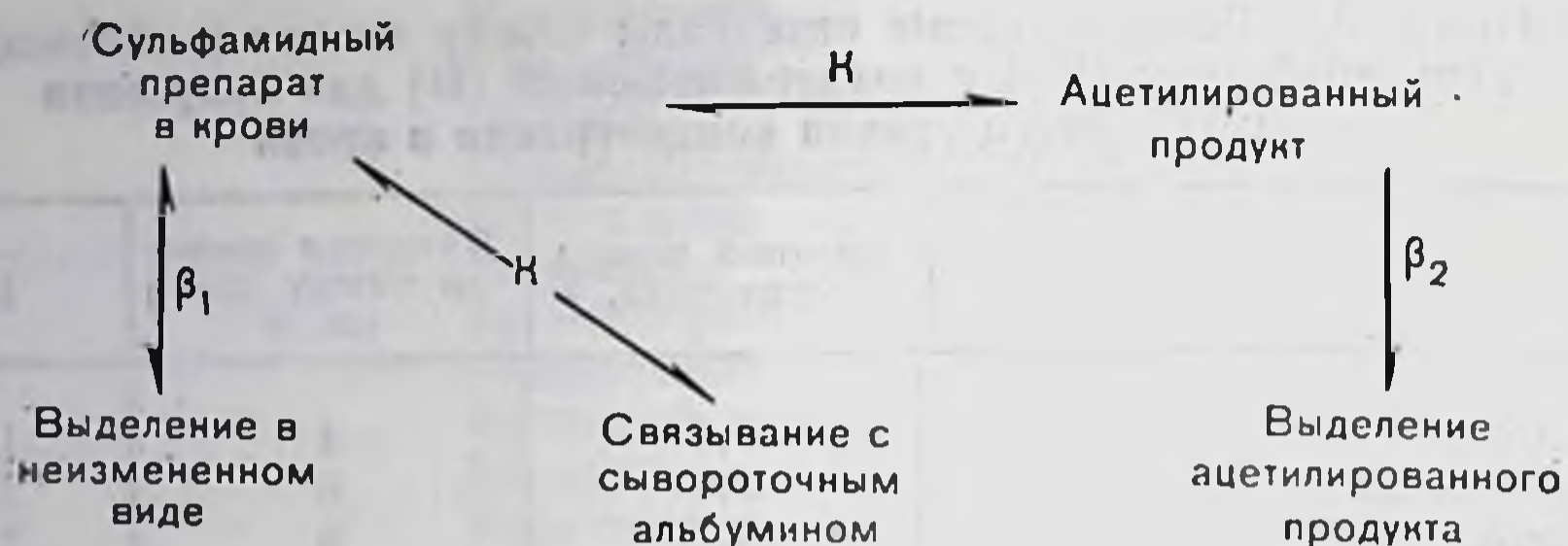


Рис. 3.7. Кинетика метаболизма и выведения сульфамидных препаратов из организма человека.

лярную структуру. Таким образом, перед исследователями открываются новые возможности повышения избирательности действия лекарственных препаратов путем регуляции распределения (подробнее см. разд. 9.3).

Использование пролекарств требует определения фармакокинетических констант как для пролекарств, так и для лекарственного вещества [Martin, 1967]. Если скорость выведения предшественника меньше таковой самого лекарственного вещества, то концентрация последнего в крови при введении его в виде пролекарства снижается медленнее, чем при введении самого препарата. Аналогично влияет на уровень содержания лекарственного вещества в крови скорость превращения пролекарства в истинное лекарство. В результате настойчивых поисков может быть создано пролекарство с исключительно удачным сочетанием значений констант скоростей обоих вышеуказанных процессов. Такое лекарственное вещество можно будет вводить через большие промежутки времени, одновременно поддерживая постоянный уровень его концентрации между введениями.

Всасывание твердых лекарственных препаратов при пероральном введении — медленный и экспоненциальный процесс. Скорость всасывания пропорциональна величине поверхности и убывает в ряду: растворы, суспензии, капсулы, прессованные таблетки, таблетки, покрытые оболочкой. Натриевые соли слаборастворимых кислот создают в крови более высокую концентрацию, чем свободные кислоты, так как при взаимодействии этих солей с соляной кислотой желудочного сока соответствующая слабая кислота выделяется в значительно более дисперсной форме, чем та, в которой выпускаются лучшие из имеющихся в продаже препаратов. Кинетика растворения лекарственных соединений рассмотрена в обзоре Wagner (1961).

Биодоступность слаборастворимых препаратов при пероральном введении значительно варьирует из-за разного размера их частиц. Измерение увеличения концентрации лекарственных веществ в плазме выявило разницу между различными формами аспирина, дифенилгидантоина, сердечных гликозидов (особенно дигоксина), тетрациклина, левомицетина и дикумарина.

3.7.2. Замедленное поступление лекарственных веществ

В некоторых случаях медленное всасывание лекарственного вещества является недостатком, однако оно может быть и достоинством, особенно при регулярности этого процесса. В разд. 3.6 говорилось об использовании пролекарств, обеспечивающих медленное высвобождение истинного лекарственного вещества. Однако при замедленном высвобождении лекарственного вещества его химическая структура не изменяется, а оно заключается в некую физическую оболочку, через которую свободно диффундирует. Изучение кинетики диффузии через такие оболочки дает возможность контролировать этот процесс.

Вначале желаемое замедление достигалось заключением каждой дозы лекарственного вещества в капсулу из шеллака, воска или эфиров целлюлозы с целью предохранения его от воздействия кислотности желудочного сока и обеспечения высвобождения в мягких щелочных условиях тонкого кишечника. Чувствительный к действию кислоты антибиотик эритромицин часто назначают именно в такой форме, но можно вводить и его эфир (т. е. пролекарство), устойчивый к действию кислоты желудка и гидролизующийся при дальнейшем прохождении через желудочно-кишечный тракт.

Иногда лекарственное вещество заключается в несколько концентрических оболочек, обеспечивающих высвобождение первичной дозы и замедленное высвобождение поддерживающих доз. Альтернативой является помещение в одну капсулу крошечных шариков лекарственного вещества, каждый из которых покрыт оболочкой с различной растворимостью. Этот метод отмечается индивидуальной вариабельностью и приемлем не для всех больных. Существуют и иные способы введения лекарственных веществ. Так, стероиды в виде крошечных шариков имплантируются под кожу; данные о кинетике их медленного растворения приведены в работе Ballard и Nelson (1962). Примером медленного высвобождения лекарственного препарата из депо может быть процесс выделения бензилпенициллина из водной суспензии его нерастворимой соли с прокаинам при глубоком внутримышечном введении (в течение 12 ч и более). При замене прокаина другим основанием — бензатином, (N,N'-дибензилэтилендиамином) время высвобождения антибиотика из депо увеличивается до нескольких дней.

Инъекции пропионата тестостерона в арахисовом масле можно привести в качестве примера комбинирования пролекарства и замедленного поступления. Эфиры аналогичных стероидов, применяемые для лечения больных раком молочной железы, также вводят в виде масляных растворов (например, деканоат нандролона).

Широкий простор для творчества представляет область поиска лекарственных веществ пролонгированного действия. Использование микрокапсулирования, предложенное в самых послед-

них работах, обеспечивает получение микрокапсул диаметром до нескольких мкм, в которые заключены лекарственные вещества в виде супермелких частиц или супермаленьких капель. Для формирования этих макрокапсул применяется коацерват из желатина и gum асасіа [Luzzi, 1970]. Лекарственные вещества внутривенно вводят также в липосомах, представляющих собой капельки масла диаметром 20 нм, наполненные гидрофильными или липофильными лекарственными веществами [Gregoriadis, 1977]. Липосомы обладают специфической аффинностью к селезенке и печени, в клетки которых они высвобождают заключенные в них лекарственные вещества посредством эндоцитоза или слияния с плазматической мембраной. Введение в липосомах органических препаратов сурьмы увеличивает в 300 раз их эффективность при лечении больных висцеральным лейшманиозом благодаря тому, что паразит и лекарственное вещество концентрируются в одних и тех же клетках печени [Alving et al., 1978]. Были сделаны попытки нанести на поверхность липосом «наводящие вещества», с тем чтобы обеспечить их доставку в другие органы.

Изобретение силиконового каучука (Silastic Polymer) еще больше расширило возможности обеспечения замедленного высвобождения [Zaffaroni, 1974]. Лекарственное вещество вводится в полимер на стадии полимеризации и затем при смачивании медленно и равномерно диффундирует из него [уравнение диффузии см. Roseman и Higuchi, 1970]. Введение в конъюнктивальный мешок мембраны из силиконового каучука, импрегнированной пилокарпином, предложено для лечения глаукомы, но многие больные не переносят этой процедуры. В лабораториях проводятся опыты с микронасосами, закрепляющимися на спине животных и подающими маленькие постоянные дозы лекарственных веществ. Разрабатываются микронасосы, реагирующие по принципу обратной связи на изменение состава крови. После имплантации в организм человека они могли бы при изменении биохимических показателей подавать в кровь необходимые лекарственные вещества.

Подробнее о модификации структуры лекарственных веществ для улучшения их фармакокинетических свойств см. Notari (1973), теории и кинетических расчетах — Krüger-Thieme (1966), режиме дозировке — Gilman, Goodman, Gilman (1989, стр. 1675); монографии, посвященные фармакокинетике — Gibaldi, Perrier (1975) и Notari (1980) и обзор Gilman, Goodman, Gilman (1980)¹.

¹ См. также Соловьев В. Н., Фирсов А. А., Филон В. А. Фармакокинетика. — М., 1980; Холодов Л. Е., Яковлев В. П. Клиническая фармакокинетика. — М., 1985. — Примеч. ред.

Глава 4

БИОХИМИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ: ВТОРОЙ ФАКТОР ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ

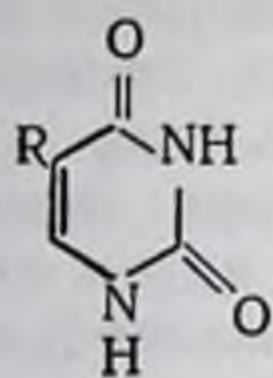
На сегодняшний день из трех подходов к достижению избирательности действия лекарственных веществ, перечисленных в разд. 1.2, наиболее плодотворным оказался биохимический. Процесс развития сравнительной биохимии шел медленно из-за недопонимания биохимиками того, что все живые клетки устроены одинаково. Книга «Введение в сравнительную биохимию» [Baldwin, 1937], открывшая многим глаза на возможности и значение этой области науки, вышла впервые в 1937 г. Однако только в течение последних 10—15 лет в области сравнительной биохимии развернулись серьезные исследования. В настоящее время ее развитие набрало такие темпы, что даже семитомная монография Flogkin и Mason (1960—1964) представляет собой только перечень его основных этапов. Рассмотрение биохимических различий как основы избирательности мы начнем с нуклеиновых кислот, играющих определяющую роль в жизни клетки.

4.0. Нуклеиновые кислоты

В 1944 г. Oswald, Avery и сотр. открыли, что дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) пневмококков является носителем генетической информации, а ДНК одного штамма бактерий может передавать наследственную информацию другому (процесс трансформации) [Avery, MacLeod, McCarty, 1944].

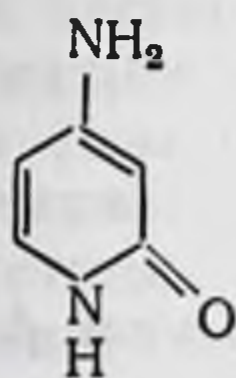
А. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Эта наиболее важная из нуклеиновых кислот встречается в митохондриях и хлорпластах, но большая часть ее содержится в ядре. ДНК является носителем всей генетической информации клетки. В зависимости от обстоятельств клетка использует определенную часть закодированной информации, хранящейся в ДНК в виде последовательности пиримидиновых — тимин (4.1, б), цитозин (4.2) и пуриновых — аденин (4.3), гуанин (4.4) оснований. Цепь ДНК имеет остов, состоящий из остатков рибозы и фосфорной кислоты; к этому остову прикреплены азотистые основания. Молекула ДНК представляет собой двойную спираль, образованную двумя спирально закрученными цепями и скрепленную водородными связями между основаниями [Watson, Crick, 1953].

О значениях длины связей и величины их углов см. Wing и соотр. (1980).



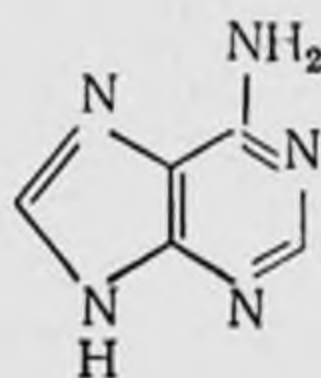
а) R=H (урацил)
б) R=CH₃ (тимин)

(4.1)



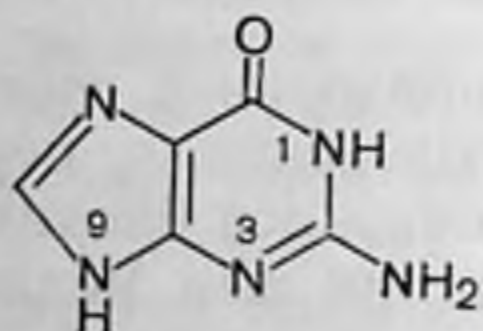
Цитозин

(4.2)

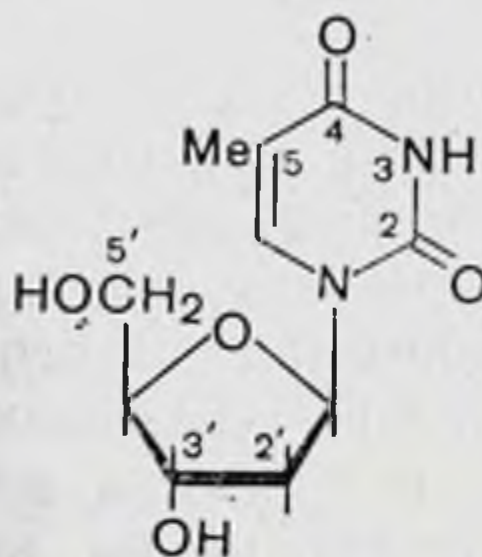


Аденин

(4.3)



Гуанин
(4.4)



Тимидин
(4.5)

ОММ ДНК, полученной из различных источников, включая млекопитающих и бактерий, колеблется от 10 до 109 млн. Молекулы ДНК, содержащиеся в ядрах позвоночных, обычно образуют палочки около 3 мкм в длину и 0,18 нм в поперечнике. Неядерная ДНК (в митохондриях и бактериях), как правило, имеет циклическую структуру, причем у бактерий она одноцепочечная. Расстояние между плоскостями пиримидиновых и пуриновых оснований по вертикали около 0,33 нм (измеренные от центра до центра молекул), так что свободного пространства между ними нет [Jordan, 1968]. Пуриновые и пиримидиновые основания планарны, причем парные основания расположены в одной плоскости друг с другом и с С—1' и С—4' атомами сахара, с которыми они связаны, а плоскость рибозного цикла расположена почти под прямым углом к плоскости оснований.

Структура ДНК тесно связана с двумя ее главными функциями: репликацией генов (удвоение генов при синтезе ДНК) и транскрипцией (экспрессия генов при синтезе РНК) (рис. 4.1).

ДНК синтезируется в ядрах из мононуклеотидов ДНК-полимеразой. Этот процесс происходит на матрице, которой является другая молекула ДНК. Известны вещества, ингибирующие синтез ДНК благодаря своей способности связываться с матрицей, выводя ее таким образом из строя (например, акридины). Многие онковирусы, у которых РНК единственная нуклеиновая кислота, содержат обратную транскриптазу — полимеразу, синтезирующую ДНК на вирусной РНК [Temin, Mizutani, 1970]. В настоящее время ведутся поиски веществ, способных избирательно ингибировать этот фермент.



Рис. 4.1. Функции нуклеиновых кислот в живой клетке.

ДНК высших форм жизни в основном составляют перечисленные выше четыре основания. Единственное исключение 5-метилцитозин — в ДНК растений он может заменять до 25% всего цитозина, однако в ДНК животных его значительно меньше, а в бактериальной ДНК всего 0—2% [Vanuyship et al., 1968]. Бактериальная и вирусная ДНК могут содержать и другие метилированные основания, такие как 6-метиладенин, 2-метиладенин или 5-гидроксиметилурацил. В некоторых фагах весь цитозин может быть заменен на 5-гидроксиметилцитозин, синтезируемый вирусиндуцируемым ферментом в бактерии-хозяине [Cohen, 1963].

В бактериальных ДНК при переходе от вида к виду может значительно изменяться соотношение оснований: отношение двух бифункциональных оснований (Г+Ц) к сумме двух монофункциональных (А+Т) может меняться в интервале 0,45—2,80. Следует отметить, что у высших растений и животных этот интервал 0,6—0,9 [Belozersky, Spirin, 1958].

Б. Хроматин. В ядре ДНК входит в состав длинных нитей плоских клинообразных нуклеосом. Каждая нуклеосома представляет собой двойную спираль из 150 пар оснований, в свою очередь закрученную вокруг 8 молекул основных белков (гистонов). Очевидно, наружная часть нуклеосом доступна для РНК-полимеразы и кислых белков-репрессоров. В митозе эти нити нуклеосом сливаются в хромосомы. Приведенный пример относится к клеткам печени крысы и типичен для эукариот. Бактериальный хроматин имеет совершенно иную структуру [Finch et al., 1977].

В. Рибонуклеиновые кислоты (РНК). ДНК не только выполняет функцию самовоспроизведения, но и служит матрицей для синтеза рибонуклеиновых кислот. Существуют три основных типа РНК: матричная (мРНК), транспортная (тРНК), иногда называемая растворимой РНК, и рибосомная (рРНК). Структуры ДНК и РНК очень схожи, но в РНК заспирализована только часть каждой молекулы и вместо дезоксирибозы в состав РНК входит рибоза, а вместо тимина — урацил. Все три типа РНК содержат также и метилированные основания. ОММ РНК всегда меньше, чем у исходной ДНК: у мРНК она обычно около 1 млн, а у тРНК — около 25 000. Все типы РНК участвуют в процессе синтеза белков, различающегося у бактерий и высших организмов.

Матричные РНК — это фактически целое семейство РНК, и каждая из них содержит ту часть генетической информации, заложенной в ДНК, которая требуется клетке в данный момент ее жизнедеятельности (см. рис. 4.1). мРНК образует комплекс с рибосомами, где она определяет синтез специфичной для данного белка последовательности (см. ниже), после завершения которого комплекс мРНК с рибосомой распадается и сама мРНК разрушается. Выбор аминокислоты определяется последовательностью расположения триплетов азотистых оснований в молекуле мРНК (кодоны), определяющей включение данной аминокислоты в полипептидную цепь. Набор кодонов составляет генетический код, одинаковый для всего живого.

Существует целая группа транспортных РНК (тРНК), каждая из которых специфически этерифицирует только одну определенную аминокислоту. Эфиры аминокислот связываются с рибосомами в порядке, определяемом мРНК, проходящей в этот момент через рибосому (см. рис. 5.7). Рибосома способна, используя энергию гуанозинтрифосфата, присоединять каждую новую аминокислоту к концевой карбоксильной группе растущей полипептидной цепи. Освободившаяся тРНК при этом возвращается в цитоплазму за другой молекулой аминокислоты.

Более подробно этот процесс может быть представлен следующим образом: 3'-гидроксильная группа рибозы (на концевом остатке аденозина молекулы тРНК) ферментативно ацилируется специфической к данной тРНК аминокислотой. Затем под контролем мРНК происходит амидирование этого эфира пептидил-тРНК. После этого растущий пептид, связанный с тРНК на «донорном» участке рибосомы, оказывается связанным с аминоацильной тРНК на «акцепторном» участке. Это передвижение катализируется ферментом пептидилтрансферазой. Далее под действием транслокационного фермента происходит сдвиг растущей пептидной цепи вновь на донорный участок рибосомы. К освободившемуся акцепторному участку присоединяется следующая аминоацил-тРНК, и процесс повторяется. Концевой участок тРНК всегда представлен последовательностью ЦЦА, где Ц — остатки цитидиловой и А — адениловой кислоты.

Некоторые нуклеотиды тРНК содержат необычные основания. Например, аланиновая тРНК содержит гипоксантин, 1-метилгипоксантин, 1-метилгуанин, 2-диметилгуанин, тимин (связанный с рибозой), дигидроурацил (три остатка) и два остатка псевдоурацила (ψ), т. е. урацила, связанного с рибозой по атому С—5, а не по атому азота. В тРНК обнаружены и другие минорные основания: 5-метилцитозин, 7-метилгуанин, 2-метилгуанин и 1-метил-, 2-метил- и 6-метиладенины. В состав предшественников тРНК входят обычные пуриновые и пиримидиновые основания; под действием фермента метилазы, переносящей метильную группу от метионина, они метилируются *in situ*, в результате чего повышается специфичность тРНК. У млекопитающих метилирование азотистых оснований происходит толь-

ко в удрах и специфично для каждой ткани. В злокачественных опухолях скорость метилирования резко возрастает, при этом образуются тРНК, не свойственные здоровой ткани [Kuchino, Bogek, 1978].

Рибосомная РНК (рРНК) связывается более чем с 50 различными белками в рибосомных субъединицах (разд. 5.4). Ее предшественник синтезируется в ядрышке и там же частично метилируется. Более подробно о химии нуклеиновых кислот см. Davidson (1976) и Neidle (1982)¹.

Многие эффективные противобактериальные, противопротозойные, противовирусные и противоопухолевые лекарственные вещества прямо или косвенно ингибируют синтез ДНК. Вполне понятно, что большинство из них вошло в клиническую практику до того, как стало известно их воздействие на генетический материал клетки — главный регулятор ее жизнедеятельности и наследственности. Строго направленное воздействие на вредную клетку очень долго оставалось недостижимой мечтой из-за существующей опасности повреждения генов полезной клетки. В настоящее время принято правило, разрешающее применение химического вещества в качестве лекарственного препарата, только если оно почти не влияет на синтез и устойчивость ДНК полезных клеток и не образует с ней ковалентных связей. Это предупреждает возможность мутаций в здоровых клетках при применении большинства существующих избирательных лекарственных веществ, которые обычно разделяют на пять классов.

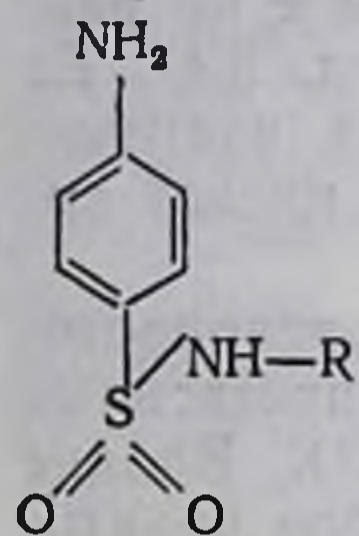
4.0.1. Вещества, ингибирующие начальные стадии синтеза ДНК

Начальные стадии синтеза ДНК наиболее сильно ингибируются такими противобактериальными и противомаларийными препаратами, как сульфаниламиды и 2,4-диаминопиримидины.

Все применяемые в химиотерапии сульфаниламиды от простого стрептоцида (4.6, а) до его сложных гетероциклических производных (4.6, б), включая и сульфадиазин, конкурентно ингибируют дигидрофолатсинтетазу, встраивающую пара-аминобензойную кислоту (ПАБ) в молекулу дигидрофолиевой кислоты (2.14), благодаря сходству стерических и электронных свойств ПАБ (2.12) и сульфаниламидов (4.6) (разд. 2.1). Два фактора, определяющие избирательность противобактериальных сульфаниламидов, взаимно усиливают друг друга: 1) у млекопитающих отсутствует фермент, синтезирующий дигидрофолиевую кислоту, и поэтому они толерантны к сульфаниламидам и 2) у патогенных бактерий отсутствуют мембранные белки, с помощью которых дигидрофолиевая кислота попадает в клетки млекопитающих из пищи (см. также разд. 9.3). Дигидрофолие-

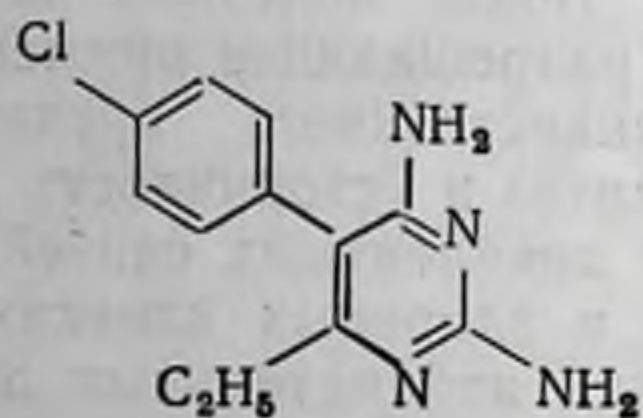
¹ См. также Общая органическая химия, т. 10. Нуклеиновые кислоты, аминокислоты, пептиды, белки/Под ред. Н. К. Кочеткова и М. А. Членова. — М., 1986, 703 с. — Примеч. ред.

вая кислота является предшественником кофермента, необходимого для биосинтеза тимина и всех пуриновых оснований. Без этих субстратов бактерии быстро погибают, так как им не из чего синтезировать ДНК.



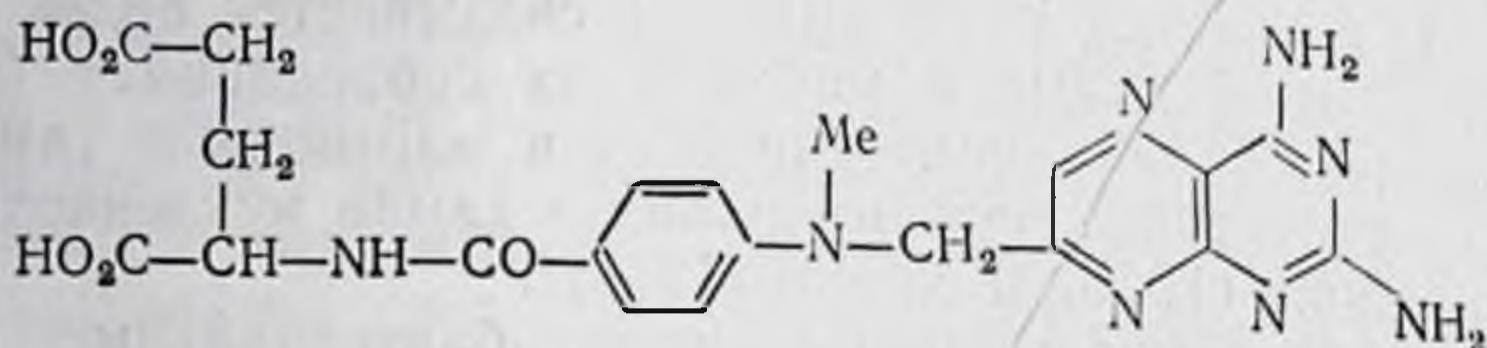
Стрептоцид и его производные
а) R=H
б) R=гетероцикл

(4.6)



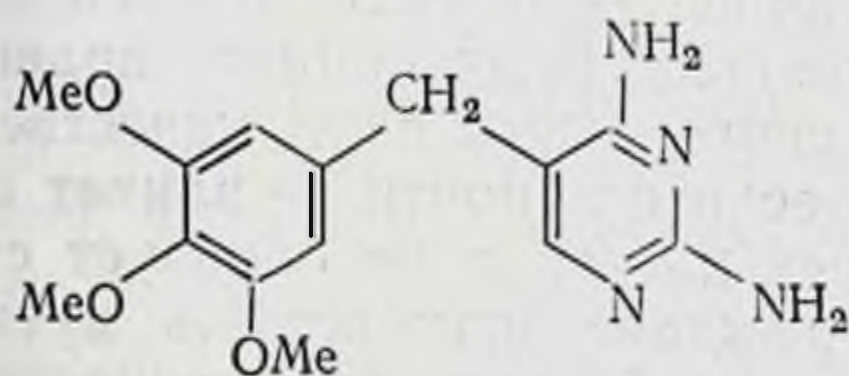
Хлоридин

(4.8)



Метотрексат

(4.7)



Триметоприм

(4.9)

Второй тип лекарственных веществ, вмешивающихся в синтез ДНК, — ингибиторы дигидрофолатгидрогеназы. Этот фермент восстанавливает дигидрофолиевую кислоту до 5,6,7,8-тетрагидрофолиевой кислоты, превращающуюся в одну стадию в кофермент для синтеза тимина и пуринов. Аналоги фолиевой кислоты — производные 2,4-диаминоптеридина типа метотрексата (4.7) — используются в качестве противоопухолевых средств (разд. 9.3.3), однако подобные молекулы не проникают в микроорганизмы. Hitchings показал, что ингибирование дигидрофолатгидрогеназы обусловлено наличием остатка 2,4-диаминопиримидина в молекуле. Введение нескольких липофильных групп в 2,4-диаминопиримидиновый остаток привело к созданию эффективного противомаларийного препарата хлоридина (4.8) [2,4-диамино-6-этил-5-(пара-хлорфенил)-пиримидин], широко используемого для профилактики малярии [Falco et al., 1951]. Наличие липофильных групп обеспечивает проникновение вещества в ткани и в паразита [Hitchings, 1952] и увеличивает степень связывания его с ферментом за счет ван-дер-ваальсовых сил [Walker, Shapiro, 1966].

Избирательность этого типа лекарственных веществ определяется наличием ферментов-аналогов, т. е. ферментов, выполняющих внешне идентичные функции в разнородных организмах.

Таблица 4.1. Концентрация ингибитора дигидрофолатредуктазы ($\times 10^8$ М), необходимая для 50% ингибирования фермента, выделенного из шести различных источников

Соединение	Печень человека	Печень крысы	Эритроциты мыши	<i>Pl. berghei</i>	<i>Tryp. equiperdum</i>	<i>E. coli</i>
Хлоридин (4.8)	180	70	100	0,05	20	2 500
Триметоприм (4.9)	30 000	26 000	100 000	7,0	100	0,5
Метотрексат (4.7)	9	0,2	—	0,07	0,02	0,1

[Burchall, Hitchings, 1965; Ferone, Burchall, Hitchings, 1969; Jaffe, McCormack, 1967].

Фермент плазмодий ингибируется хлоридином в концентрации, в 2000 раз меньшей, чем необходимо для ингибирования фермента-аналога млекопитающих (табл. 4.1). Это свидетельствует о том, что избирательность действия хлоридина обусловлена сверхчувствительностью к нему фермента-паразита по сравнению с ферментом-аналогом хозяина [Burchall, Hitchings, 1965]. Циклогунил (3.35), противомаларийный препарат триазинового ряда, образующийся в организме из пролекарства бигу-маля, также ингибирует дигидрофолатгидрогеназу [Wood, Hitchings, 1959].

Замена хлорфенильной группы в молекуле хлоридина на бутильную почти не уменьшает его ингибирующей способности [Baker, Sharigo, 1966]. Однако необходимы заместители совершенно другого типа для того, чтобы производные 2,4-диамино-пиримидина проявили противобактериальное действие. Так, в клинике успешно применяют эффективный при системном введении противобактериальный препарат триметоприм (4.9), содержащий более гидрофильный заместитель [Roth, Falco, Hitchings, 1962]. Из табл. 4.1 видно, что из трех ингибиторов дигидрофолатгидрогеназы хлоридин наиболее избирательно действует на фермент малярийного плазмодия, а триметоприм — на бактериальный фермент. Проникающий через мембраны метотрексат, тем не менее, не обладает избирательным действием на микроорганизмы. Клиническое применение триметоприма, избирательно действующего на дигидрофолатредуктазу как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, но не влияющего на фермент-аналог млекопитающих (табл. 4.2), описано в разделе 9.6.

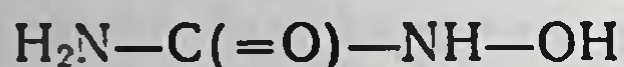
Гидроксилмочевина (4.10), производное гидроксиламина, хорошо переносится больными в высоких дозах, необходимых для лечения хронического миелолейкоза, резистентного к другим препаратам. Это соединение не влияет на синтез РНК. Его избирательность проявляется на молекулярном уровне: гидроксилмочевина захватывает ион железа, необходимый для железозависимого фермента рибонуклеозиддифосфатредуктазы, осуществляющей превращение рибонуклеозидов в дезоксианалоги [Kraakoff, Brown, Reichard, 1968]. Гуаназол (4.11), 3,5-диамино-

Таблица 4.2. Действие триметоприма (4.9) на изолированную дигидрофолатредуктазу, концентрация (нМ), вызывающая 50% ингибирование фермента

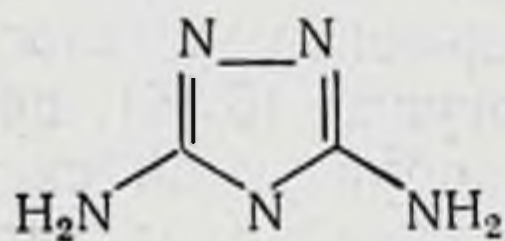
Источник	Печень млекопитающих	Бактерии	Соотношение
	Крыса 1200 Бык 2400	Strept. faecalis 0,96 E. coli 1,3	1250 1840

[Roth, Cheng, 1982].

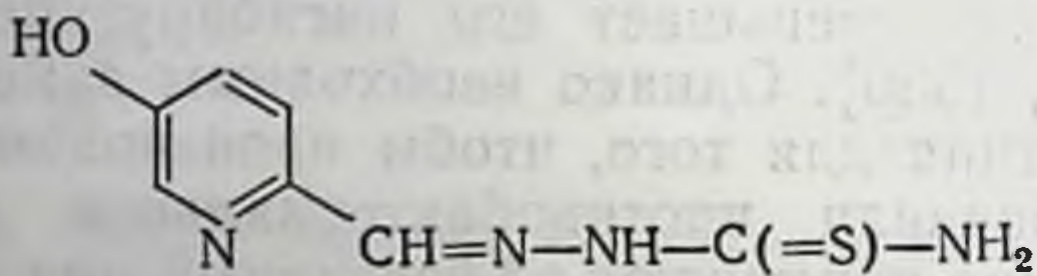
1,2,4-триазол [Levi, Wiegnik, 1976] и тиосемикарбазон 5-гидрокси-пиколинового альдегида (4.12) [Agrawal, Sartorelli, 1975] тоже ингибируют этот фермент, действуя в S-фазе клеточного цикла (разд. 5.1). О других противоопухолевых семикарбазонах см. разд. 11.9.



Гидроксимочевина
(4.10)



Гуаназол
(4.11)



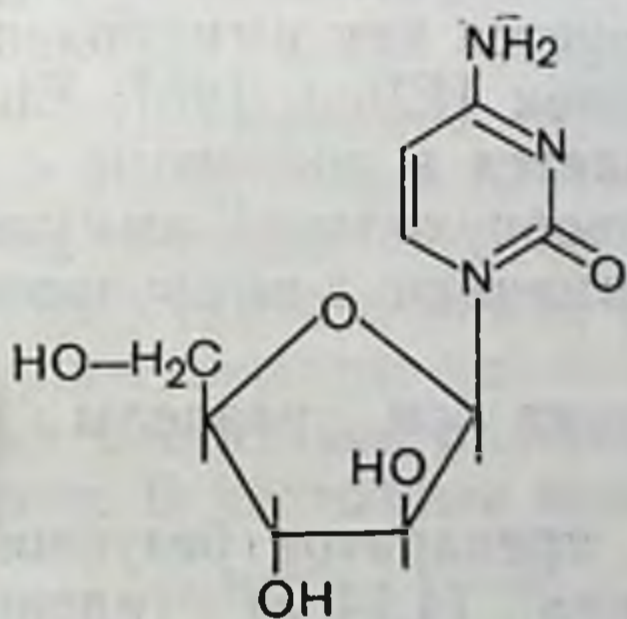
Тиосемикарбазон
5-гидрокси-пиколинового
альдегида
(4.12)

4.0.2. Вещества, вмешивающиеся в биосинтез ДНК

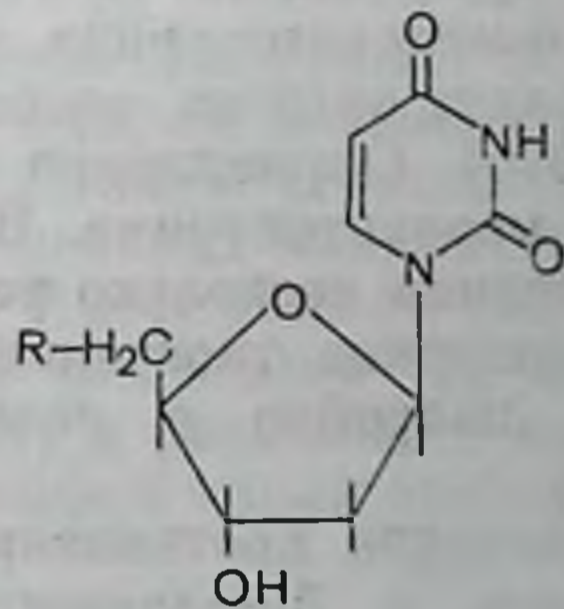
Аналоги пиримидинов и пуринов представляют собой класс веществ, ингибирующих синтез ДНК на последней стадии. Эти лекарственные вещества — антиметаболиты применяют как свободные основания или нуклеозиды, но не как нуклеотиды, которые не могут проникнуть в клетку. Для каждого основания или рибозида существует своя система захвата, не зависящая от последующих реакций фосфорилирования. Свободные основания в клетке превращаются в дезоксирибозиды или дезоксириботиды, конкурирующие с нормальными нуклеозидами или нуклеотидами [Langen, 1975]. Основными ферментами синтеза нуклеотидов являются аденозинкиназа, аденинфосфорибозилпирофосфаттрансфераза, гипоксантингуанинфосфорибозилпирофосфаттрансфераза, уридинфосфорилаза, уридинцитидинкиназа, тимидиндезоксиуридинкиназа, дезоксицитидинкиназа и оротатфосфорибозилпирофосфаттрансфераза [Nakala, 1973]. Еще одно звено,

обладающее потенциальной возможностью воздействовать на синтез ДНК, — восстановление рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды рибонуклеотиддифосфатредуктазой. Некоторые соединения этого класса успешно применяют для лечения больных раком, другие — как противовирусные препараты.

Известный противоопухолевый препарат из класса антиметаболитов, 5-фторурацил (3.3), применяемый внутривенно для лечения больных раком молочной железы, толстого кишечника и прямой кишки, обладает кратковременным действием. Ранее уже отмечалась его высокая избирательность при лечении рака кожи (разд. 3.0.), обусловленная прежде всего его распределением. Однако при парентеральном введении избирательность 5-фторурацила проявляется на биохимическом уровне, поскольку в результате последовательных ферментативных реакций он превращается в 5-фтордезоксиуридиловую кислоту, которая проявляет высокую цитостатическую активность, так как обладает в несколько тысяч раз большим сродством к тимидилатсинтетазе, чем природный субстрат — дезоксиуридиловая кислота. Вытеснение природного субстрата с фермента останавливает синтез ДНК [Reyes, Heidelberger, 1965]. Этот фермент в норме переносит метильную группу с метилентетрагидрофолиевой кислоты на дезоксиуридиловую кислоту, что является ключевой стадией синтеза производных тимина из производных урацила. На лейкозных клетках мыши, содержащих фермент-аналог вместо нормальной фосфорибозилтрансферазы, избирательность действия 5-фторурацила еще выше, так как сам урацил сродством к ферменту-аналогу не обладает [Kessel, Hall, Reyes, 1969]. 5-Фторурацил в значительной степени нарушает и синтез РНК.



Цитарабин
(4.13)



(a) Идоксуридин (R=OH)
(б) АИУ (R=NH₂)
(4.14)

Цитарабин (4.13), известный также под названиями Ага-С цитозинарабинозид и 1-β-D-арабинофуранозилцитозин, — это изомер цитозина, промежуточного продукта синтеза РНК, в молекуле которого 2'- и 3'-гидроксильные группы в отличие от природного изомера имеют транс-конфигурацию. Слабо включаясь в ДНК, препарат в здоровых клетках превращается в трифосфат, ингибирующий ДНК-полимеразу. Цитарабин классифи-

цируют как специфический ингибитор S-фазы клеточного цикла (разд. 5.1) [Skipper, Schabel, 1973].

Применение цитарабина требует постоянного наблюдения за состоянием элементов костного мозга, поскольку связано с возможностью их репрессии из-за легкости его дезаминирования цитидилдезаминазой. Рекомендуются медленное внутривенное введение препарата. Наиболее ценное лечебное действие цитарабина — способность вызывать ремиссии острого лейкоза у детей и взрослых, после чего его заменяют такими препаратами, как метотрексат, 6-меркаптопурин и их адьюванты. На сегодняшний день цитарабин, видимо, является единственным эффективным средством для лечения острых миелозов у подростков [Kremer, 1975]. В противовирусной терапии чаще применяют его аналог видарабин (см. ниже).

6-Меркаптопурин (3.14), впервые полученный Elion, Burgi и Hitchings (1952), применяют перорально для лечения острых лейкозов [Brule et al., 1973]. Механизм его действия очень сложен и, возможно, обусловлен синергическим эффектом. Небольшая часть 6-меркаптопурина превращается в тиогуанидиловую кислоту, включающуюся в ДНК клетки [Tidd, Paterson, 1974; Parks et al., 1975], однако не ясно, имеет ли этот процесс терапевтическое значение. Большая часть 6-меркаптопурина в клетке превращается в 6-тиоинозин-5'-фосфат (ТИФ) [Brockman, 1963], ингибирующий превращение инозин-5'-фосфата в аденозин-5'-фосфат, обрывая тем самым биосинтез пуринов [Salser, Balis, 1965]. По механизму обратной связи он ингибирует также и биосинтез фосфорибозиламина, продукта первой «определяющей» стадии в синтезе пуринов [Bennet et al., 1963].

Азатиоприн (3.41), S-(1-метил-4-нитромидазол-5-ил) — производное 6-меркаптопурина, используется как иммунодепрессант при пересадке органов, особенно почек [Elion, 1967; Elion, Hitchings, 1975]. Он медленно распадается в организме с образованием 6-меркаптопурина. В противоопухолевой иммуносупрессивной терапии несколько реже применяют 2-аминопроизводное 6-меркаптопурина, тиогуанин.

Более подробно о лечении рака см. разделы 1.1, 5.1, 6.3.6, 15.1.

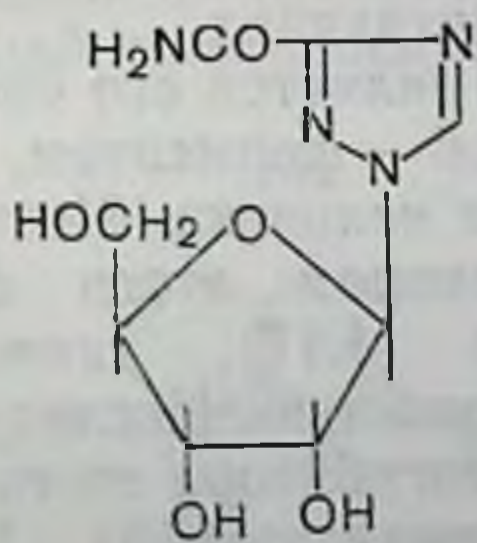
Рассмотрение противовирусных препаратов безусловно следует начать с 5-йоддезоксисуридина (4.14, а) (идоксуридин, ИДУР). Он вошел в историю как первое эффективное лекарственное средство для лечения герпетического кератита, инфекционного заболевания глаз, вызванного вирусом герпеса. Идоксуридин быстро вылечивает это тяжелое хроническое заболевание, ранее иногда приводившее к слепоте [Kaufman, 1962]. Он превращается в клетках в соответствующий 5-монофосфат, нарушающий утилизацию тимидина. К сожалению, 5-йоддезоксисуридин включается не только в ДНК вирусов, например вируса осповакцины и вируса герпеса [Welch, Prusoff, 1966], но и в ДНК клеток млекопитающих (вместо тимина). Поэтому для

предотвращения возможности мутаций его не применяют системно, а вводят в конъюнктивальный мешок, изолированный от остальных тканей и мало проницаемый для идоксуридина, что и обеспечивает безопасность применения.

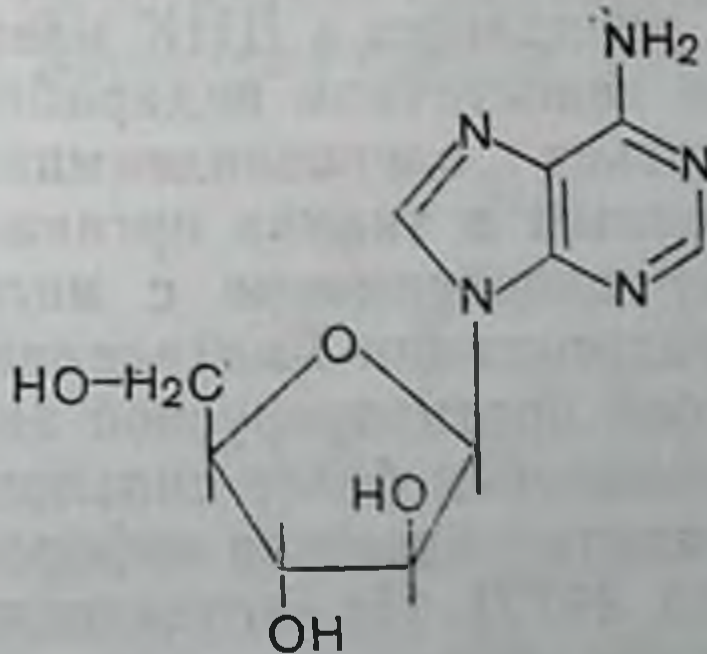
Некоторую ясность в вопрос о механизме действия этого соединения внесли следующие опыты: при действии идоксуридина на вирус псевдобешенства почти весь тимин вирусной ДНК замещается на 5-йодурацил. Если таким вирусом инфицировать клетки почек млекопитающих в культуре, то в них идет только синтез вирусной ДНК, однако не синтезируются белки оболочки, и поэтому новые вирусные частицы не образуются. Было показано, что новая ДНК обладает потенциальной инфицирующей способностью: после обработки тимидином, когда большая часть йодурацила вновь замещается тимидином, инфекционность ДНК восстанавливается [Kaplan, Ben-Porat, 1966].

Позднее по тем же показаниям стали применять растворимый аналог идоксуридина — трифлуридин (5-трифторметилдезоксидеоксиуридин), близкий по механизму биохимического действия, но более эффективный [Pavan-Langston, Langston, 1975].

Особое место среди противовирусных препаратов занимает превосходящий по терапевтическому индексу все другие препараты аминоидоксуридин (АИУ) (4.14, б) (5'-амино-2',5'-дидезокси-5-йодуридин), отличающийся от идоксуридина заменой аминогруппой одной гидроксильной группы в положении 5 остатка сахара [Chen, Prusoff, 1979]. Это изменение химической структуры приводит к совершенно иному метаболизму аминоидоксуридина. Под действием киназы вируса герпеса образуется его трифосфат, обладающий цитостатическими свойствами (киназы здорового человека, мыши или обезьяны такой способностью не обладают). Поэтому аминоидоксуридин может избирательно ингибировать вирусы герпеса, не оказывая значительного токсического воздействия на хозяина. В клетках, инфицированных вирусом герпеса, этот препарат включается в ДНК как вируса, так и хозяина [Chen, Ward, Prusoff, 1976], что не имеет существенного значения, так как в этом случае инфицированная клетка все равно погибает и репликация вируса прекращается. В настоящее время появился новый препарат анало-



Рибавирин
(4.15)



Видарабин
(4.16)

гичного типа действия — ацикловир (см. ниже), что, по-видимому, ограничит применение АИУ.

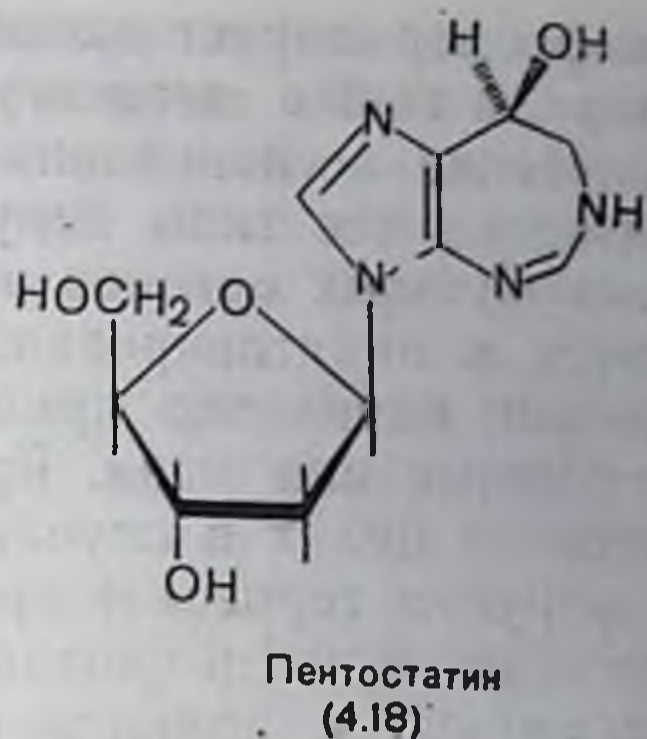
Рибавирин (4.15) (1- β -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид), обладающий широким спектром действия, эффективен как против ДНК-, так против РНК-содержащих вирусов. In vivo он превращается в 5'-монофосфат, ингибитор инозинатдегидрогеназы. В результате этого прекращается синтез гуаниловой кислоты, необходимой для синтеза ДНК и РНК. Рибавирин с переменным успехом применяют для лечения больных вирусной пневмонией и корью [Smith, Kirkpatrick, 1980].

Говоря о рибавирине, уместно упомянуть еще три противоопухолевых препарата, являющихся ингибиторами инозинатдегидрогеназы: серосодержащий аналог рибавирина 2- β -D-рибофуранозилтиазол-4-карбоксамид, применяющийся для лечения рака легких [Plowman, Paull, 1982]; селенсодержащий аналог, проявивший высокий терапевтический индекс в опытах на мышах [Srivastava, Robins, 1983] и 3-дезазагуанин, предложенный для клинических испытаний при солидных опухолях [Khawaja, 1982; Allen et al., 1977].

Видарабин (4.16) (АгаА, 9- β -D-арабинофуранозиладенин) отличается от аденозина так же, как цитарабин от цитидина — в нем природная рибоза заменена на арабинозу, но в отличие от цитарабина у него более выражены противовирусные, а не противоопухолевые свойства. Препарат имеет высокий терапевтический индекс [Müller et al., 1977] и успешно применяется для лечения вирусного энцефалита, ежегодно поражающего в США по несколько тысяч человек, причем смертность достигает 70% [Whitley et al., 1977]. Применение видарабина в клинике для лечения герпетического кератита показало, что он не уступает по эффективности идоксуридину, но обладает менее выраженным раздражающим действием и в отличие от ацикловира (см. ниже) эффективен против других заболеваний, вызванных вирусом герпеса.

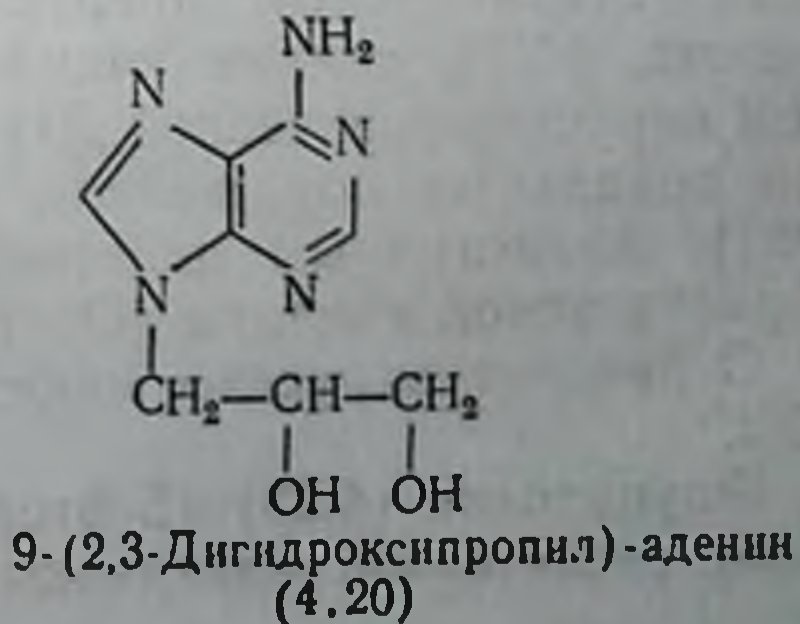
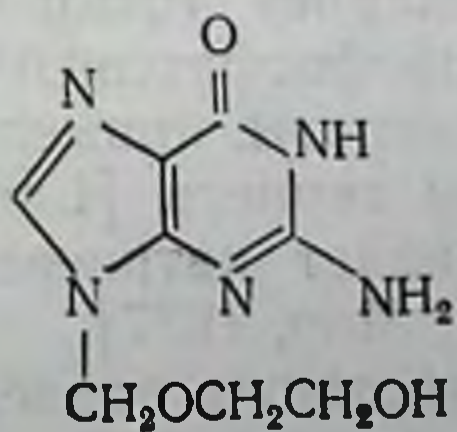
Видарабин in vivo трифосфорилируется [Cohen, 1976] и ингибирует ДНК-полимеразу, воздействуя при этом на фермент вируса герпеса гораздо сильнее, чем на фермент хозяина. Он вводится внутривенно, и при введении доз, превышающих терапевтические, внедряется в ДНК млекопитающих.

Основным недостатком видарабина является его способность дезаминироваться аденозиндеаминазой — ферментом, широко распространенным в тканях организма человека. Поэтому препарат вводят одновременно с ингибитором этого фермента, эритро-9-(2-гидроксинон-3-ил)аденином (4.17), также обладающим слабой противовирусной активностью. Исследуется возможность применения более сильного ингибитора этого фермента — пентостатина (дезокси-коформидина) (4.18) [Agarwal, Spector, Parks, 1977]. На сегодняшний день терапевтический индекс видарабина ниже, чем ацикловира, и неясно, повысится ли он с увеличением стабильности препарата.



Ацикловир (4.19) — противовирусный препарат, имеющий высокий терапевтический индекс; он в 3000 раз более токсичен для вируса *Herpes simplex*, чем для клеток млекопитающих. Подобно аминоксосуридину (4.14, б), ацикловир монофосфорилируется вирусспецифической тимидинкиназой. Затем этот монофосфат превращается в трифосфорилированное производное, конкурирующее в инфицированных клетках с дезоксигуанозинтрифосфатом за вирусспецифическую ДНК-полимеразу [Fuje et al., 1978], что приводит к ингибированию синтеза ДНК в клетке. Избирательность действия ацикловира обусловлена главным образом тем, что в здоровых клетках млекопитающих фосфорилирования ацикловира почти не происходит [Elion, 1980].

Ацикловир («Зовиракс», ациклогуанозин) представляет собой 9-(2-гидроксиэтоксиметил)гуанин. Он получается взаимодействием 2,6-дихлорпурина с 2-бензоилоксиэтоксиметилхлоридом с последующей обработкой продукта конденсации аммиаком, азотистой кислотой и вновь аммиаком [Schaeffer et al., 1978]. Химическая структура молекулы ацикловира сходна со структурой таких ингибиторов аденозиндеамины, как (4.17) [Schaeffer, Schwender, 1974]. Из-за высокой субстратной специфичности тимидинкиназы к этим соединениям, особенно к соединениям с «разомкнутым рибозильным циклом» в положении 9, их противовирусная активность долго оставалась незамеченной; у ацикловира она была впервые обнаружена только в 1977 г. [Elion et al., 1977]. Субстратная специфичность вирусспецифичной тимидинкиназы настолько высока, что она практи-

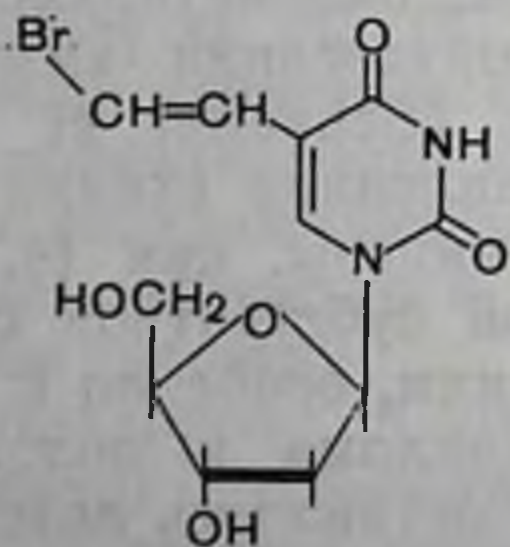


чески не фосфорилирует адениновый и пириимидиновый аналоги ацикловира, а также дезоксигуанозин [Elion, 1980].

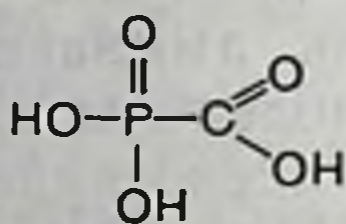
Клинические исследования показали, что ацикловир действует только на все типы вируса герпеса. Преобладающий при инфекциях половых органов вирус герпеса тип II ацикловиром переводится в инактивированную форму, но не уничтожается. Как правило, ацикловир применяют парентерально, но иногда в виде таблеток или мази. Кроме того, его применяют в профилактических целях в случае повышенной опасности инфицирования вирусом герпеса — при пересадке органов, приеме иммунодепрессантов или в противораковой терапии.

Одновременно с ацикловиром изучались и некоторые его производные. Так, в Чехословакии Holy синтезировал ряд аналогов ацикловира, в том числе дигидропроизводное (4.20), биологические испытания которого были проведены в Бельгии. Было показано, что эти соединения обладают широким спектром противовирусной активности [de Clercq et al., 1978; de Clercq, Holy, 1979]. Однако в клинической практике они не используются.

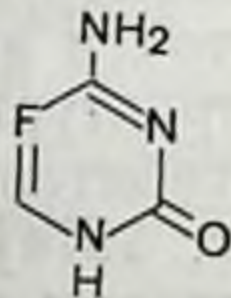
БВДУ — транс-5-(2-бромвинил)-2'-дезоксинуридин (4.21) имеет сходный с ацикловиром биохимический механизм действия, но более эффективен при пероральном применении. По сравнению с ацикловиром он обладает более мощным воздействием на вирус ветряной оспы, но совершенно неактивен против вирусов герпеса II типа. О лабораторных исследованиях этого соединения см. de Clercq и сотр. (1979); Baгг и сотр. (1981); о клинических испытаниях — de Clercq и сотр. (1980); de Clercq (1983).



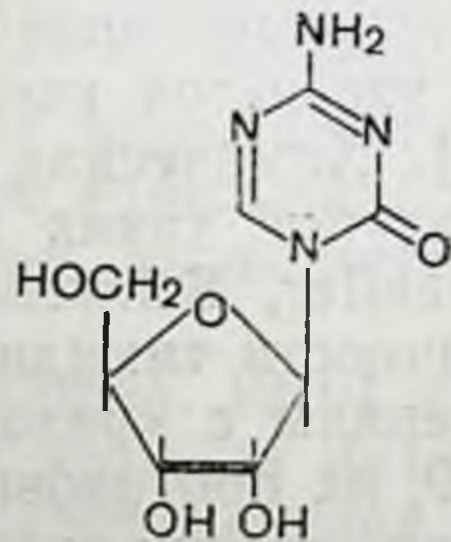
5-Бромвинил-2'-дезоксинуридин
(4.21)



Фоскарнет
(4.22)



Флуцитозин
(4.23)



5-Азацитидин
(4.24)

Противовирусный препарат фоскарнет (фосформуравьиная кислота, 4.22), связывающийся с пиррофосфатсвязывающим местом вирусспецифической ДНК-полимеразы, применяется местно при локальных поражениях вирусом герпеса [Larsson, Oberg, 1981]. Аналогичным действием обладает натриевая соль фосфорноуксусной кислоты [Oberg, Duff, Mao, 1977].

О лечении вирусных инфекций см. также разделы 1.1, 5.5 и 6.3.2.

Флуцитозин (4.23) (5-фтор-цитозин), обладающий фунгицидными свойствами, назначают перорально больным такими си-

стемными заболеваниями, как кандидоз и криптококковый менингит [Bennett, 1977]. Он избирательно действует на грибы, превращаясь в них в 5-фторурацил и затем в нуклеотид, обладающий цитостатическим действием, тогда как из организма млекопитающих выводится в неизменном виде, так же как и цитозин.

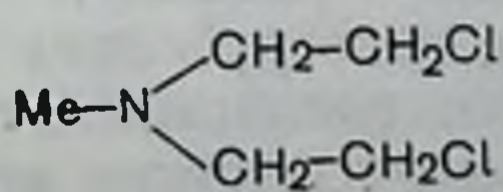
5-Азацитидин (4.24), выделенный впервые из *Streptovercillium ladakanis*, сначала применяли для лечения лейкозов. В последнее время он вызывает особый интерес в связи с его способностью активировать ген, продуцирующий γ -глобулин, обычно «молчащий» у взрослых. Препарат может найти применение для лечения больных β -талассемией, при которой происходит исчезновение β -глобулиновой цепи в гемоглобине [Ley, 1982].

О метаболических изменениях аналогов пуринов и пиримидинов, позволяющих использовать их в качестве лекарственных препаратов, см. [Langen, 1975].

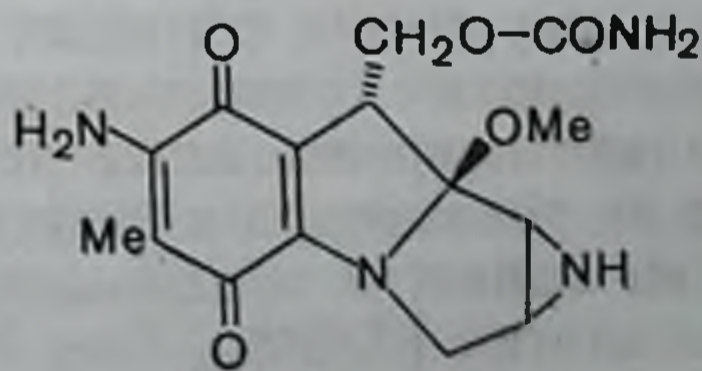
4.0.3. Лекарственные вещества, взаимодействующие с ДНК

Среди ряда веществ — ингибиторов расплетения ДНК, останавливающих как ее репликацию, так и транскрипцию — наиболее избирательными, видимо, являются интеркалирующие агенты (разд. 2.2 и 10.3). Эти вещества вклиниваются между плоскостями пар азотистых оснований ДНК и удерживаются ван-дер-ваальсовыми силами. Дополнительная стабилизация такого комплекса обеспечивается образованием сильных ионных связей с фосфатными группами остова ДНК [Legman, 1961]. К типичным представителям класса интеркаляторов можно отнести противоопухолевые препараты амсакрин, эллиптицин, антрамицин, актиномицин D (дактиномицин, см. разд. 4.0.6), даунорубицин и доксорубицин (адриамицин) (см. разд. 4.0.5); противомалярийные препараты акрихин и хингамин, а также лекарственные средства для лечения трипаносомоза этидиум и хинапирамин. Подробнее об интеркаляторах см. разд. 10.3.2.

Менее избирательно действует хлорметин (эмбихин) (4.25). Этот первый представитель класса азотистых ипритов был и первым, вошедшим в клиническую практику [Gilman, Phillips, 1946; Goodman et al., 1946]. Химические свойства ипритов позволяют им связывать цепи ДНК по остаткам гуанина [Goldacre, Loveless, Ross, 1949; Lawley, Brookes, 1967]. В целом избира-



Хлорметин
(4.25)



Митомицин
(4.26)

тельность этих агентов не очень велика. Наиболее широко применяется циклофосфан (3.38), имеющий самый высокий терапевтический индекс.

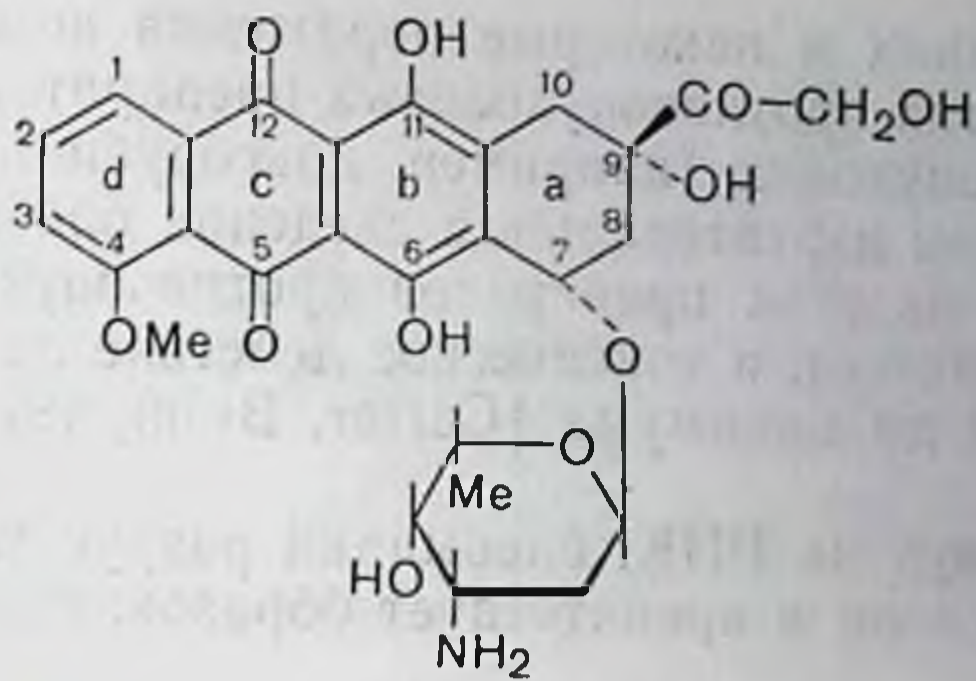
Митомицин (4.26), называвшийся ранее митомицином С — производное пирролизидина, содержащее сконденсированные с пирролизидином азиридиновый и бензохиноновый циклы. Предполагают, что раковые клетки, находящиеся в состоянии сильной гипоксии, восстанавливают хинон, и образовавшийся продукт может сшивать две цепи ДНК [Kennedy, Rockwell, Sartogelli, 1980]. Митомицин обладает низкой избирательностью, являясь мутагеном у человека и канцерогеном у мышей, и применяется для паллиативного лечения карциномы желудка в конечной стадии [Crooke, Brandner, 1976].

Цисплатин (11.48), цис-диаминодихлорплатина (II), используемый для лечения солидных опухолей, предположительно сшивает два гуаниновых основания из противоположных цепей ДНК (разд. 11.10).

4.0.4. Лекарственные вещества, разрушающие ДНК

Доксорубин (4.27), называвшийся ранее адриамицином, антибиотик ряда антрациклинов, широко используется для лечения карциномы и саркомы. В присутствии доксорубина у природной ДНК повышается температура плавления и вязкость, уменьшается плавучая плотность и константа седиментации. Это указывает на его принадлежность к интеркаляторам. Об этом же свидетельствует смещение видимого спектра и спектра флуоресценции доксирубина в комплексе с ДНК, а также легкость его восстановления. В результате изучения серии его производных было установлено, что их карциноостатическая активность падает при уменьшении способности соединения и интеркаляции, а также при снижении основности. Был сделан вывод о том, что высокоосновная аминогруппа в углеводной части молекулы доксорубина образует ионную связь с фосфатной группой ДНК (так же как это было показано кристаллографически для дауномицина), а плоский антрахиноновый цикл вклинивается между слоями оснований [di Marco, Argamone, 1975]. Доксорубин ингибирует ДНК-зависимую РНК- и ДНК-полимеразу (последнюю — на 50% в концентрации 7,4 мг/мл).

Как считают некоторые авторы, кроме интеркалирующих свойств, доксорубин обладает способностью разрушать ДНК путем активации супероксиддисмутазы [Oberley, Buettner, 1979], однако повреждающее действие доксорубина на ДНК пока еще не доказано, и в качестве противоположной точки зрения можно привести предположение о воздействии его на поверхность клетки [Tritton, Yee, 1982; Israel, Potti, 1982]. О клиническом использовании доксорубина см. Blum, Carter (1974) и Gottlieb, Hill (1974).



Доксорубицин
(4.27)

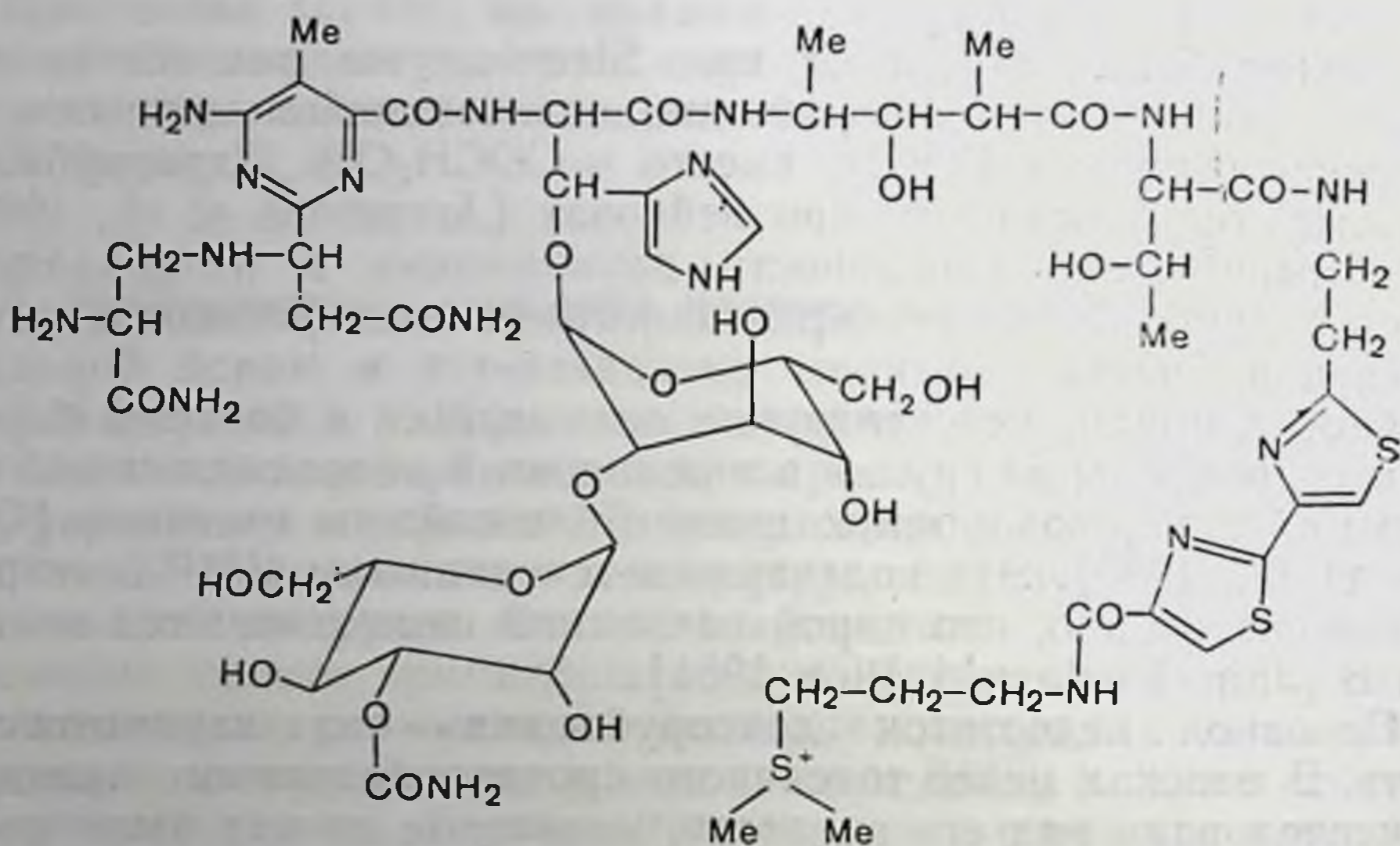
Доксорубицин выделяют из *Streptomyces peucetius*, при этом выделяется и даунорубицин, отличающийся наличием в молекуле группы $-\text{COCH}_3$ вместо $-\text{COCH}_2\text{OH}$. Даунорубицин используется в основном при лейкозах [Arcamone et al., 1969]. Ярко выраженная способность дауномицина к интеркаляции изучена наиболее полно. Кристаллографически установлено, что углеводная часть молекулы располагается в малой бороздке двойной спирали, метоксигруппа оказывается в большей бороздке, а гидроксильная группа в положении 9 антрациклиновой системы образует водородную связь с ближайшим гуанином [Quigley et al., 1980]. Это подтверждается данными ЯМР-спектров, из которых видно, что парой оснований перекрываются кольца С и В [Jain, Kozlowski, Rice, 1981].

Основной недостаток доксорубицина — его кардиотоксичность. В поисках менее токсичного противоопухолевого препарата исследовали ряд его аналогов, некоторые из них были получены синтетическим путем (4'-тетрагидропиранилдоксорубицин) или выделены из родственных видов растений (карминомицин или аклациномицин А) [Carter, Sacurai, Umezawa, 1981]. О действии доксорубицина см. обзоры Schwartz (1983); Neidle, Sanderson (1983) и El Khadem (1982).

Блеомицины — семейство антибиотиков, выделенных в Японии из *Streptomyces verticillus* [Umezawa, 1973]. Фармакопейный блеомицин — это смесь блеомицина А₂ (4.28) и блеомицина В₂, отличающегося от А₂ тем, что триметиленсульфониевая группа (на формуле снизу справа) замещена тетраметиленгуанидиновой ($-\text{NH})(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ [Oppenheimer, Rodrigues, Hecht, 1979]. При добавлении различных аминов в ферментационный бульон было получено около 400 других блеомицинов. Из них наиболее перспективный, по-видимому, пепломицин, так как он более устойчив к метаболическому гидролизу и менее токсичен по отношению к легочной ткани. Блеомицин широко применяют в клинической практике, он быстро купирует солидные формы рака и входит в небольшое число препаратов, не повреждающих костный мозг. Побочные эффекты блеомици-

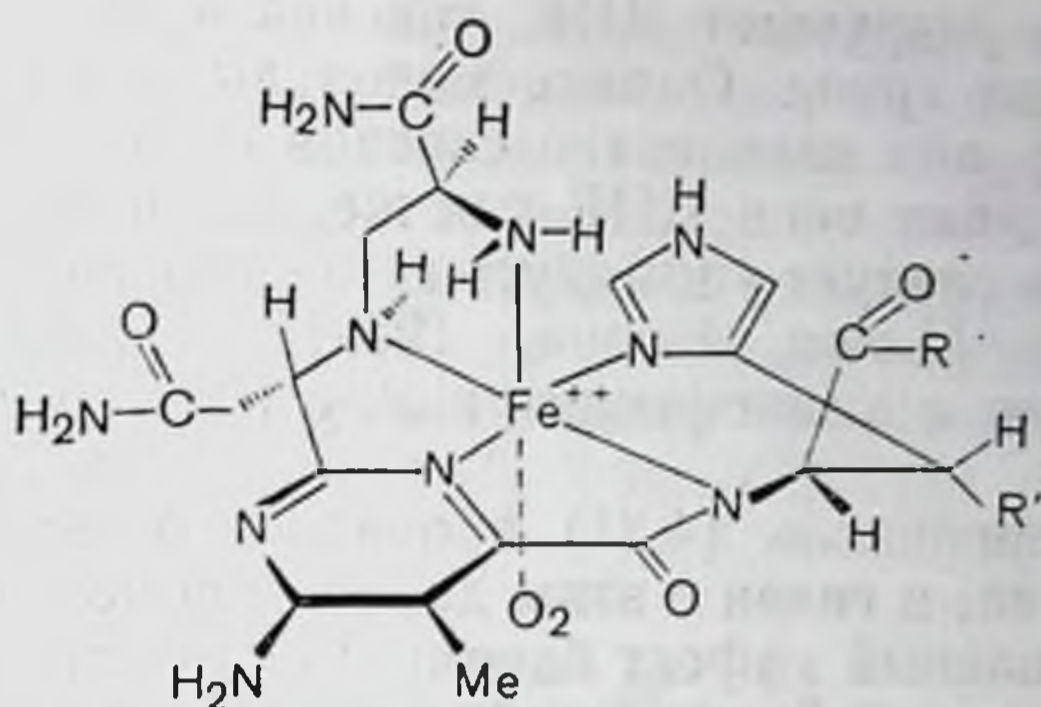
на (фиброз легких и некоторые поражения кожи) отличаются от таковых других противоопухолевых препаратов, применяемых при солидных опухолях (например, доксорубицина и цисплатина). Поэтому при парентеральном введении блеомицина в комплексе с одним из этих препаратов противоопухолевый эффект аддитивно возрастает, а токсическое действие на здоровье клетки уменьшается до минимума [Carter, Blum, 1976; Carter et al., 1976].

Не воздействуя на РНК, блеомицин разрушает одноцепочечные ДНК в опухоли и препятствует образованию пар [Nagai et al., 1969].

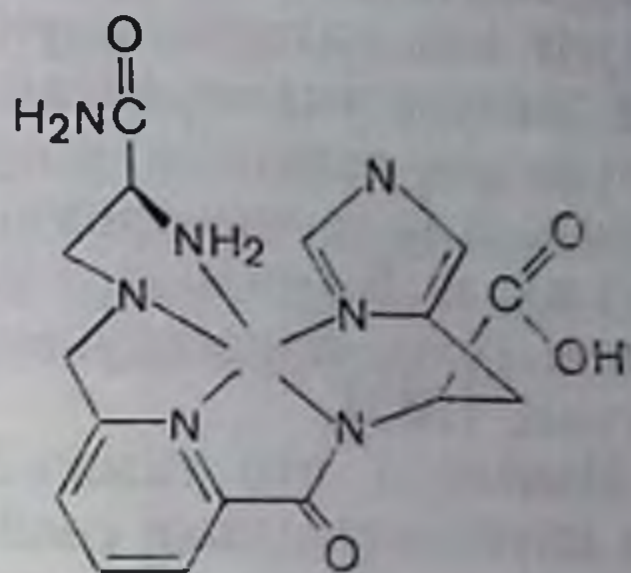


Блеомицин А₂
(4.28)

Структура молекулы блеомицина (ОММ более 1500) на первый взгляд довольно сложна. Однако при ее рассмотрении становится понятным, что активность блеомицина определяется наличием в молекуле двух областей: интеркалирующей (справа на формуле 4.28) и хелатирующе-окисляющей (слева). Так же как и молекулы аминоакридинов (разд. 2.2), молекула блеомицина за счет своей высокоосновной группы (сульфониевой или гуанидиниевой) связывается с фосфатным анионом в ДНК. При сближении двух молекул плоский битиазолиловый фрагмент блеомицина проскальзывает между парами оснований ДНК. Интеркаляция приводит к тесному соединению молекул, что обеспечивает активность второй части молекулы блеомицина [Takita et al., 1978; Chien, Grollman, Horowitz, 1977].



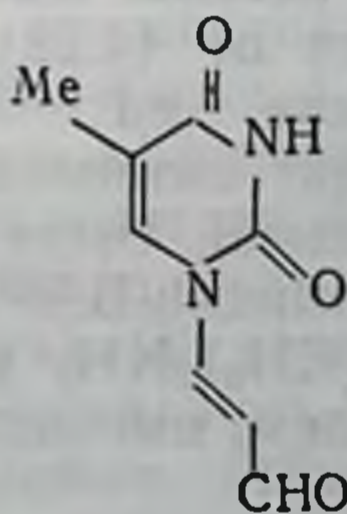
Координирование Fe^{2+} и O_2 блеомицином
(4.29)



Упрощенный аналог (4.29)
(4.30)

В организме блеомицин связывается с ионом железа. Пять атомов азота блеомицина образуют с ним координационные связи (4.29), а шестая связь железа захватывает молекулу кислорода, превращая ее в гидроксид-анион-радикал ($\cdot\text{O}^-$)¹ [Sausville, Peisach, Hogowitz, 1978]. К сожалению, ни сам блеомицин, ни его соль с железом пока не удается получить в кристаллическом состоянии, приемлемом для рентгеноструктурного исследования, хотя из блеомицина легко получают хорошо кристаллизующиеся медные соли. Рентгеноструктурный анализ показывает расположение шести тяжелых атомов из левой части молекулы рядом с атомом меди (4.28).

Активированный комплекс (4.29) окисляет атом углерода в положении 4'-дезоксирибозильного остатка в ДНК раковых клеток [Grollman, Takeshita, 1980]. В результате происходит окислительное расщепление связи между атомами С-3 и С-4 дезоксирибозы и образуются четыре 3-замещенных пропенала, например тимин-3-пропеналь (4.31) [Giloni et al., 1971].



Тимин-3-пропеналь
(4.31)

Синтезированный группой Umesawa аналог (4.30) обладает, подобно блеомицину, способностью связывать ион железа и ак-

¹ Вначале предполагалось образование пероксидильного анион-радикала ($\cdot\text{OO}^-$), однако он менее реакционноспособен.

тивировать кислород, но не разрушает ДНК, так как в его молекуле нет интеркалирующих групп. Однако молекулы, в которых железосвязывающая группа ковалентно связана с интеркалирующим остатком, разрушают цепи ДНК так же, как и блеомицин. В качестве примеров следует упомянуть гемин, присоединенный к 9-аминоакридину [Lown, Joshua, 1982], и ЭДТА (разд. 11.6), присоединенную к аминофенантридину [Hertzberg, Dergvan, 1982].

Известно, что тимин-3-пропеналь (4.31) проявляет отчетливые цитотоксические свойства; в связи с этим до сих пор неясно, обусловлен ли противоопухолевый эффект блеомицина образованием при распаде ДНК опухолей 3-замещенных пропеналей оснований.

Флеомицины, выделенные из тех же *Streptomyces*, отличаются от блеомицинов только наличием двух дополнительных атомов водорода в тиазольном цикле (при этом гетероцикл остается плоским). При окислении флеомицина образуются соответствующие блеомицины [Umezaw, 1973]. Противоопухолевые свойства этих соединений еще только начинают изучать.

Высокоактивные «усилители» действия флеомицина и блеомицина, азотсодержащие гетероциклы, были открыты Brown и Grigg (1982). Наиболее активным, видимо, является 2-(5',7'-диметил-S-триазоло[1,5-c]пиримидин-2-илтио)ацетамид [Allen et al., 1983]. Действие «усилителей», вероятно, отчасти обусловлено тем, что они расплетают двойную спираль ДНК, делая ее более доступной для антибиотиков [Grigg, Edward, Brown, 1971]. Возможно также, что они блокируют энергетический обмен в митохондриях до завершения распада ДНК.

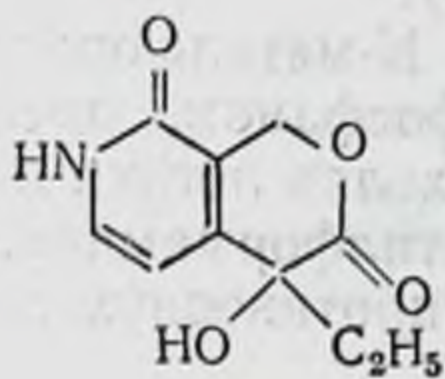
Добавляя в среду к бактерии-продуценту различные амины, можно получать более эффективные аналоги блеомицина. Соединения, в которых сульфониевая или гуанидиниевая группы заменены менее основной аминогруппой, значительно сильнее повреждают опухоли, чем легкие. Одно из таких производных, лепломицин, отличающийся от (4.28) только тем, что группа $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{S}^+\text{Me}_2$ заменена на $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHCH}(\text{Me})\text{Ph}$, в настоящее время проходит интенсивные клинические испытания в Японии [Carter, Saccgai, Umezawa, 1981]. В США тщательно изучают блеомицин-ВАРР, имеющий группу $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}$, и таллисомицин—флеомицин с таким же заместителем, имеющий еще один остаток аминокислоты.

Зиностатин (неокарциностатин) и ауромицин — два других антибиотика, разрывающих ДНК. Однако не нашли они широкого клинического применения.

Молекулярные аспекты противоопухолевой терапии на примере алкилирующих агентов рассмотрены в разд. 13.4, а также в работе Neidle, Waring (1983).

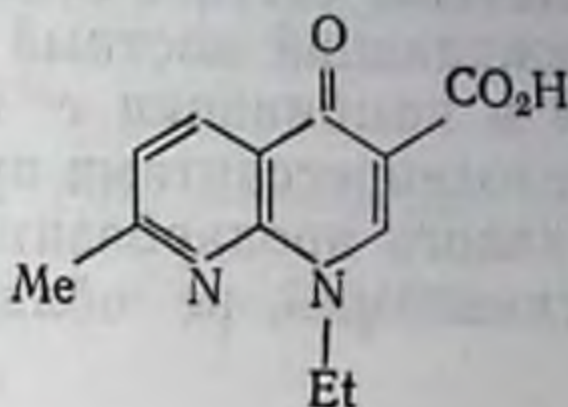
Камптотецин, алкалоид из тибетского кустарника *Camptotheca acuminata*, разрезает ДНК таким образом, что она может

быть сшита клеточными лигазами [Hogowitz, Brayton, 1970]. Его молекула содержит пять конденсированных циклов, активность определяется наличием пиридинового лактона (4.32). Камптотецин используют главным образом в биохимических исследованиях, так как он ингибирует биосинтез рибосомной и матричной ДНК, но не влияет на синтез митохондриальной РНК [Abelson, Penman, 1972]. Противолейкозные свойства камптотецина описаны Wall, Wani (1977).



Активная область
камптотецина

(4.32)



Налидиксовая кислота

(4.33)

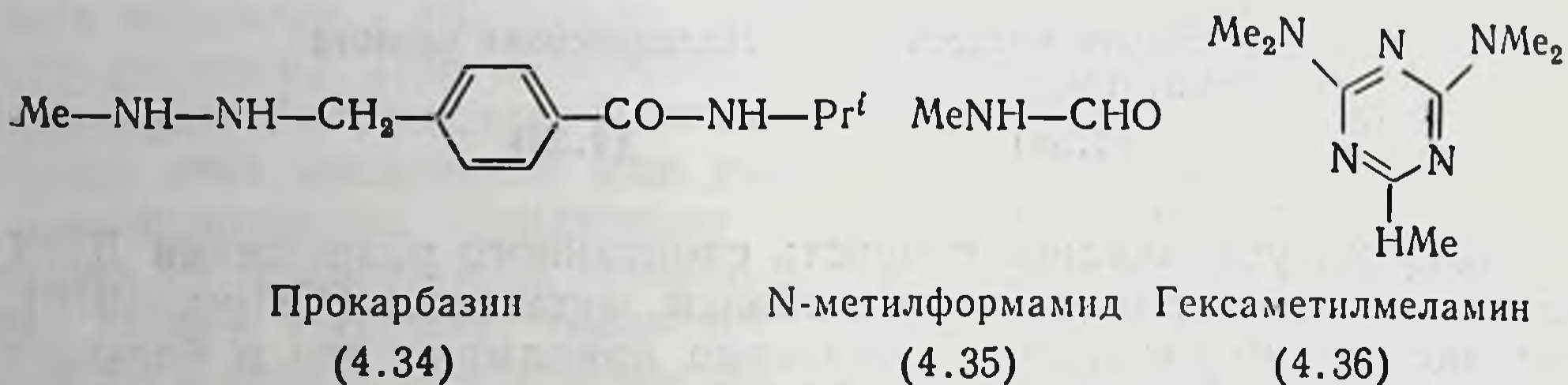
Кофеин увеличивает скорость спонтанного разрушения ДНК *E. coli* и является для нее сильным мутагеном [Grigg, 1970], однако миллионы людей ежедневно принимают его в больших количествах. Согласно правилам регистрации лекарственных веществ, существующим в развитых странах, этого побочного эффекта кофеина достаточно, чтобы запретить потребление чая и кофе. Однако следует иметь в виду, что большинство мутировавших клеток нежизнеспособно, а небольшой процент мутаций в действительности полезен.

4.0.5. Различные лекарственные вещества, действующие на ДНК

Высокоизбирательный антисептик мочевых путей налидиксовая кислота (4.33) (7-метил-4-оксо-1-этил-1,8-нафтиридин-3-карбоновая кислота), особенно эффективен в отношении грамотрицательных и не оказывает действия на грамположительные бактерии (хотя для противобактериальных препаратов обычно характерна обратная картина). Он успешно применяется в клинике при инфекционных заболеваниях мочевых путей, вызванных палочкообразными бактериями (обычно трудно поддающихся лечению). Налидиксовая кислота ингибирует синтез ДНК только у бактерий, но не у человека. При этом она не влияет ни на ДНК, ни на синтез РНК и белков [Goss, Deitz, Cook, 1965]. Наличие ионизированной карбоксильной группы обеспечивает выведение этого препарата с мочой. Показано, что для усиления взаимодействия налидиксовой кислоты с ДНК необходимо, чтобы ее карбоксильная и оксо-группы хелатировали ионы тяжелых металлов [обзор Crumpton, Midgley, Smith, 1980].

Прокарбазин (4.34), производное N-метилгидразина, повреждает ДНК, по-видимому, за счет образования формальдегида из N-метильной группы. Препарат применяют при болезни Ходжкина, так как в комбинации с другими препаратами он не вызывает перекрестной резистентности [Kreiss, 1977]. Аналогично действует на ДНК N-метилформамид (4.35) [Sartorelli, Le Page, 1958]. Его метаболизм в настоящее время изучается [Gescher et al., 1982], а препарат проходит клинические испытания (профессор М. Stevens, частное сообщение).

Не повреждающий костный мозг N-метилформамид может применяться в комбинации с циклофосфаном, цисплатином и другими миелодепрессантами при опухолях легких и кишечника. Этильные аналоги прокарбазина и метилформамида, так же как и гексаметилмеламин, не обладают противоопухолевой активностью.



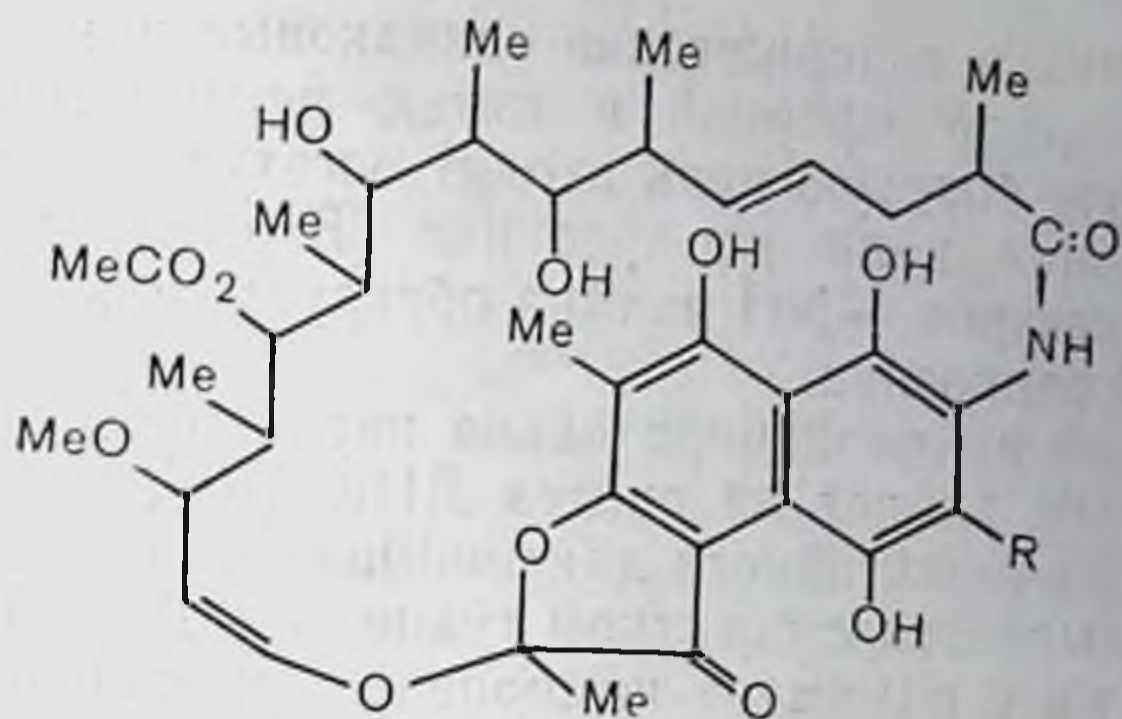
Гексаметилмеламин (4.36) действует аналогично прокарбазину, метаболизируя с образованием пентаметиленмеламина; применяется при карциноме яичников [Wharton, 1979].

В заключение следует подчеркнуть, что при использовании новых препаратов, влияющих на ДНК, во время лечения необходимо регулярно проводить исследования крови; применение этих препаратов в критические месяцы беременности противопоказано.

4.0.6. Лекарственные вещества — ингибиторы синтеза РНК

Родоначалники антибиотиков ряда рифамицина были выделены из *Streptomyces mediterranei*. Избирательность действия этих соединений можно повысить химическими модификациями, и поэтому вместо природного рифамицина (3.47, а) в основном применяют его производное рифампицин (3.47, б). В сочетании с изониазидом (разд. 11.9) он широко используется при некоторых формах туберкулеза, но его применение ограничено высокой стоимостью препарата [American Thoracic Society, 1980]. Рифампицин является наиболее избирательным из всех известных противобактериальных препаратов и может с успехом применяться при многих инфекционных заболеваниях, но обычно его назначают при стафилококковых инфекциях, устойчивых к пенициллину.

По химическому строению рифамицины относятся к группе



- а) Рифамицин SV, R=H
- б) Рифампицин R=—CH=N—N—CH₂—CH₂NMe

(4.37)

природных соединений, называемых ансамицинами (от латинского *ansa* — ручка). Название анса-соединения было введено Lüttringhaus и Gralheer для соединений, содержащих ароматическое кольцо (в данном случае нафталиновое), с огибающей его «ручкой», образованной присоединенной к циклу в двух местах алифатической цепью [Maggi et al., 1966, 1968]. Для того чтобы такие соединения обладали биологическим действием, необходимо наличие по меньшей мере трех гидроксильных групп в их молекуле. Синтетические модификации рифамицина сводятся преимущественно к введению заместителя в положение 3. Восстановление двойных связей в алифатическом цикле снижает активность пропорционально уменьшению жесткости молекулы.

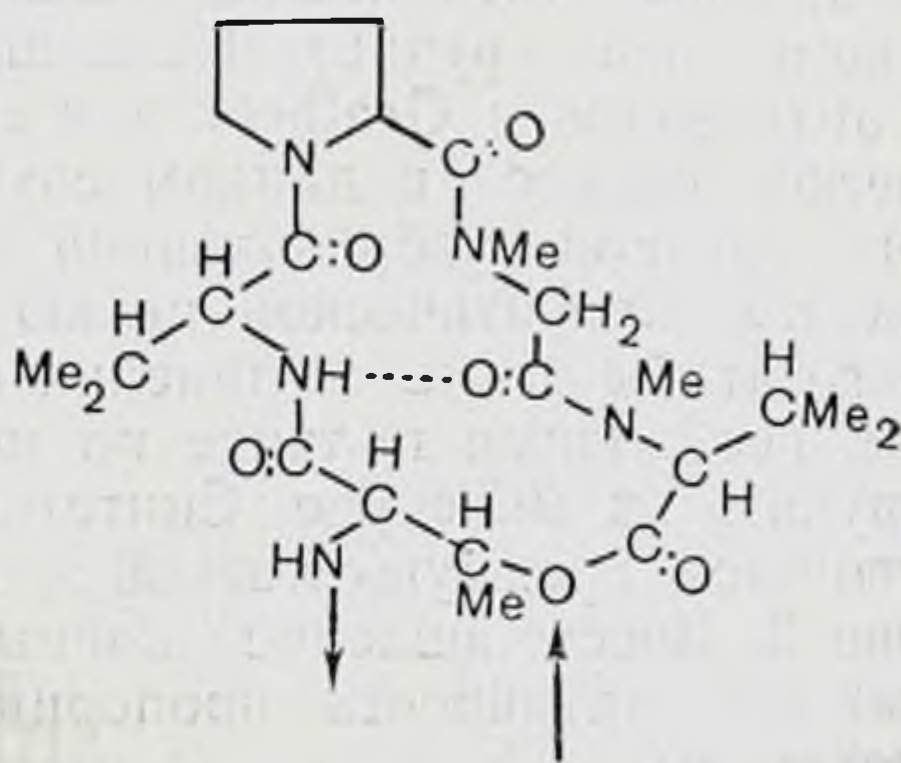
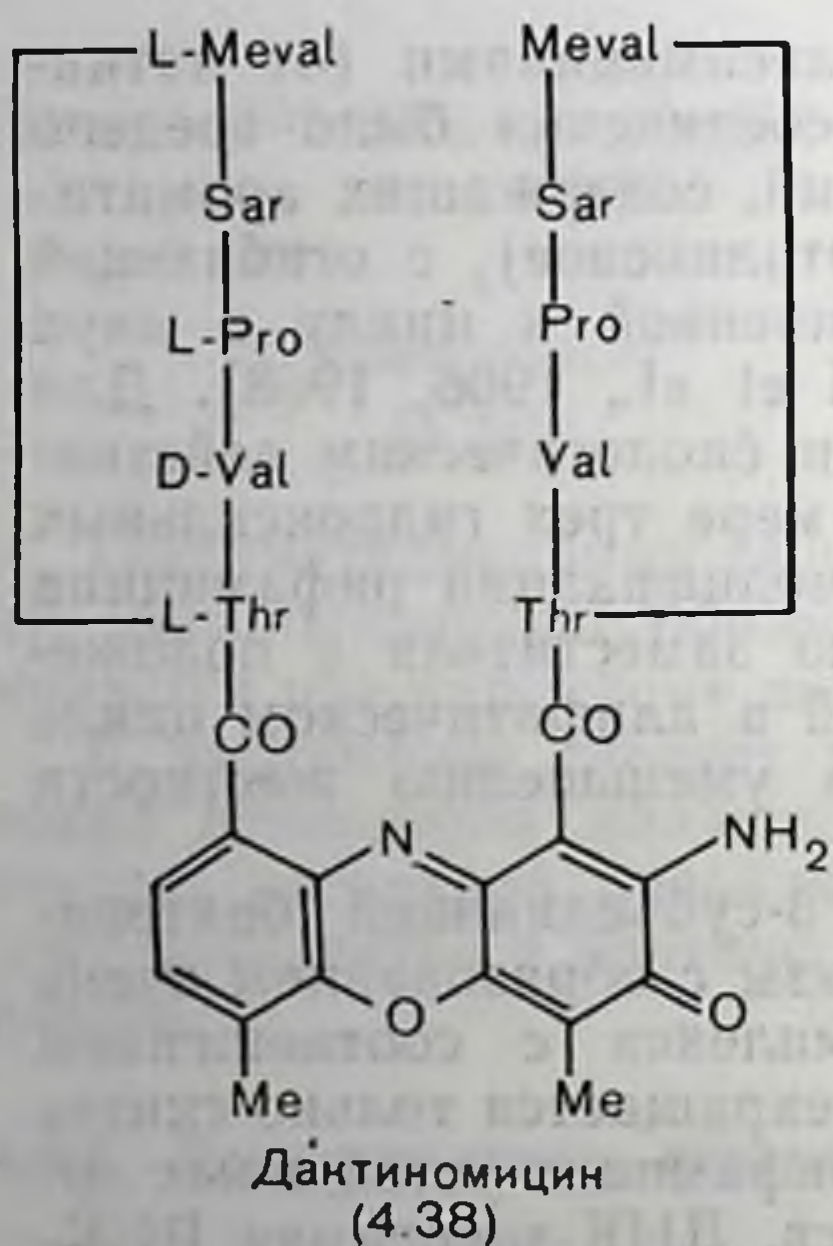
Рифамицины взаимодействуют с β -субъединицей бактериальной ДНК-зависимой РНК-полимеразы с образованием очень прочного нековалентносвязанного комплекса с соотношением компонентов 1 : 1, в результате чего прекращается только синтез РНК, но не ДНК и белков. В случае рифамицин-устойчивых организмов такой комплекс не образуется. ДНК-зависимая РНК-полимераза млекопитающих не имеет β -субъединицы, и поэтому избирательность действия рифамицинов так высока [Toschini-Valenti, Magino, Colvill, 1968].

В природе существуют и другие ансамицины, например стрептоварицин, выделяемый из другого вида *Streptomyces*, действие которого аналогично действию рифамицина, но менее избирательно; аманитин (из гриба *Amanita phalloides*), в отличие от рифамицина действующий только на ДНК-зависимую РНК-полимеразу эукариот и не влияющий на этот фермент у прокариот; и маутансин (из коры африканского цветкового растения), противоопухолевые свойства которого клинически не исследованы.

Дактиномицин (4.38), антибиотик ярко-красного цвета, выделенный Waksman и Woodruff в 1940 г., является производным

аминофеноксазина и содержит две одинаковые циклические боковые цепи с одной эфирной и пятью пептидными связями (4.39). В каждую боковую цепь входят остатки N-метилвалина, саркозина, пролина, валина и треонина [Brockmann, 1960]. По данным ЯМР-спектров —NH валина образует сильную водородную связь с СО саркозина.

Дактиномицин высокоизбирательно ингибирует синтез рибосомной РНК и не влияет на синтез ДНК [Reich et al., 1962]. Использование радиоактивного дактиномицина показало, что он ковалентно связывается с остатком гуанина в ДНК и не соединяется больше ни с одним из компонентов клетки при концентрациях, блокирующих синтез РНК. Феноксазиновый цикл интеркалирует в ДНК около Г-Ц пары, а пептидная часть молекулы располагается в малой бороздке [Müller, Crothers, 1968] (подробнее об интеркаляции см. разд. 10.3.2).



Боковая цепь дактиномицина

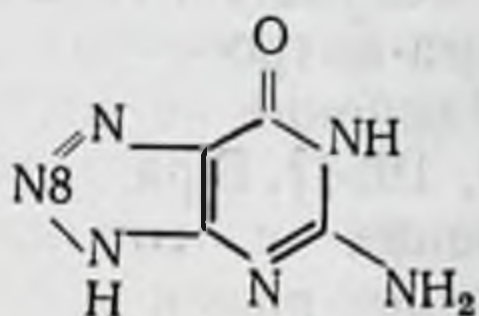
- ↓ — место соединения с кольцом
- ↑ — эфирная связь

(4.39)

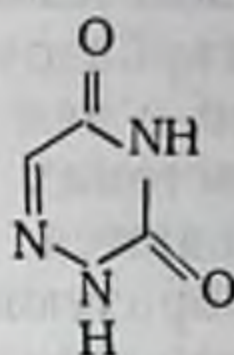
Дактиномицин (актиномицин D) обладает ярко выраженным эффектом против опухоли Вильмса почки, одной из наиболее распространенных злокачественных опухолей у детей. Под его действием рассасываются даже легочные метастазы этой опухоли [Farber, Mitus, 1968]. При формах рака, требующих длительного лечения, дактиномицин не применяют в связи с его сравнительно невысокой избирательностью действия.

8-Азагуанин (4.40) впервые был получен синтетическим путем, однако позже оказалось, что ему идентичен антибиотик па-тоцидин, выделенный из *Streptomyces albus* [Anzai, Suzuki, 1961]. 8-Азагуанин применяют при опухолях мозга, почек и печени, так как в этих органах содержится много фермента гуаназы, деаминирующей этот препарат до безвредного 8-азаксанти-

на, который обычно отсутствует в клетках опухолей этих органов [Levine, Hall, Haggis, 1963]. 8-Азагуанин, сильный ингибитор синтеза белка, не включается в ДНК *E. coli* и бактериофага T₂ [Smith, Matthews, 1957], культуры опухолевых клеток или интактных мышей [Nelsen et al., 1975]. Гуанозин-5'-фосфатпирофосфорилаза превращает его в нуклеотид, включающийся в матричную РНК. Такая мРНК вызывает диссоциацию полисом до мономеров, останавливая тем самым синтез белка [Kwapp, Webb, 1967]. 8-Азагуанозин-5-фосфат вмешивается в биосинтез пуринов, блокируя на ранних стадиях синтеза фермент фосфорибозилпирофосфатамидотрансферазу [McCollister et al., 1964].



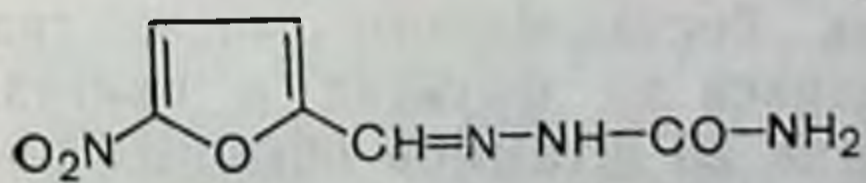
8-Азагуанин
(4.40)



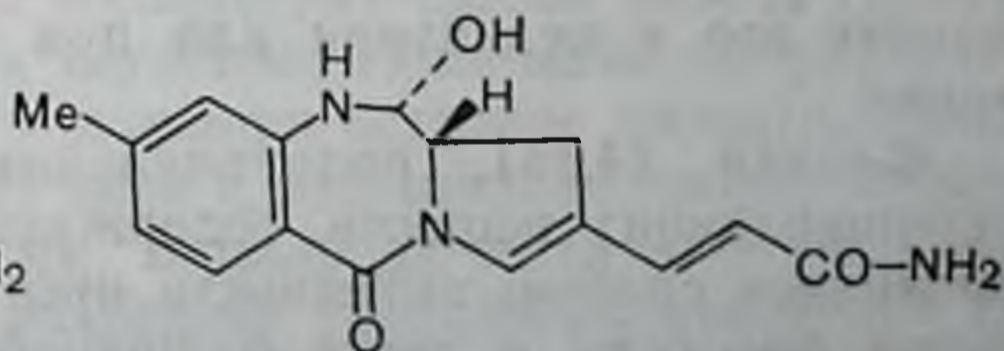
6-Азаурацил
(4.41)

6-Азаурацил (4.41) используют в сельском хозяйстве в качестве фунгицида для борьбы с мучнистой росой (например, у огурцов). В клетках грибов он превращается в риботид, являющийся аналогом оротидиловой кислоты и блокирующий оротидилдекарбоксилазу [Dekker, 1968]. В медицинской практике он запрещен из-за побочного действия на ЦНС. Однако триацетилпроизводное этого риботида, азарибин (разд. 3.6), применяется при псориазе [Calabresi, Turner, 1966].

Митрамицин, производное тетрагидроантрацена с двумя присоединенными пиранозными кольцами, выделен из грибов *Streptomyces*. Он ингибирует синтез РНК, не влияя при этом на синтез ДНК. Митрамицин может вызвать гипокальциемию и в целом не очень избирателен, однако применяется при опухолях семенников [Hill et al., 1972].



Фурацилин
(4.42)



Антрамицин
(4.43)

Фурацилин (4.42) (семикарбазон 5-нитрофурфурола) противобактериальное средство широкого спектра действия. Эффек-

тивен на последних стадиях трипаносомозов с резистентностью к препаратам мышьяка. В разбавленных растворах фурацилин ингибирует образование всех типов РНК в *E. coli* [Tu, McCalla, 1976]. Он не действует на мутагенов, не имеющих «нитрофуран-редуктазы», что свидетельствует о том, что биологической активностью обладает восстановленная форма фурацилина (возможно, гидроксиламинопроизводное или его ближайший аналог). Фурацилин с потенциалом восстановления — 0,425 в (определен со стандартным каломельным электродом при рН 7) является акцептором электронов с высоким отрицательным потенциалом, находящимся на нижней границе биологически значимой области. Потенциал восстановления соответствующего производного бензола, семикарбазона пара-нитробензальдегида, равен —0,580 в, в связи с чем это соединение не восстанавливается в биологических системах [Sasaki, 1954]. В ряду нитрофуранов легче восстанавливаются соединения с сопряженной боковой цепью, так как образующийся анион-радикал стабилизируется в этом случае сопряжением [Lindberg, 1970]. См. также разд. 5.4.3 (гидрогеносомы). К лекарственным веществам подобного типа относятся антисептик мочевых путей фурадонин (6.15) и метронидазол (6.22), производное нитромидазола, применяющееся при амебиазах и трихомонадозе.

Антрамицин (4.43), легко подвергающийся ковалентной гидратации (разд. 2.5), присоединяется к ДНК-связывающему месту РНК-полимеразы и ингибирует синтез РНК. Возможно, что именно с этим связано его противоопухолевое и антимикробное действие [Hogwitz, Grollman, 1968; Kohn, Spears, 1970].

Гикантон (3.42, б), 4-гидроксиметил-1-(2-диэтиламиноэтиламино)-тиоксантен-9-он, применяют при шистосомозах. При однократном введении он мешает включению уридина в РНК клеток хозяина и червей, причем и чувствительных, и резистентных форм. Однако в клетках хозяина и резистентных форм червей этот эффект быстро пропадает, что и обеспечивает избирательность его действия [Mattocchia, Lelli, Cioli, 1981]. Гикантон обладает некоторыми побочными эффектами, например вызывает тошноту, а в модельных экспериментах показано его канцерогенное и мутагенное действие, в связи с чем не рекомендуется применять его в педиатрии или при риске повторного инфицирования.

Флаван (4.44), родоначальник бесчисленного множества окрашивающих веществ, содержащихся во фруктах и цветах, проявляет слабую активность против 20 штаммов обычных вирусов простуды в тесте бляшкообразования. Его высоколипофильный аналог — 4,6-дихлорпроизводное — более активен. Это соединение ингибирует синтез РНК в клетках паразита и обладает высоким терапевтическим индексом (мыши) [Baueg et al., 1981]. Однако эффективный способ введения такого водонерастворимого соединения в организм человека представляет собой проблему.

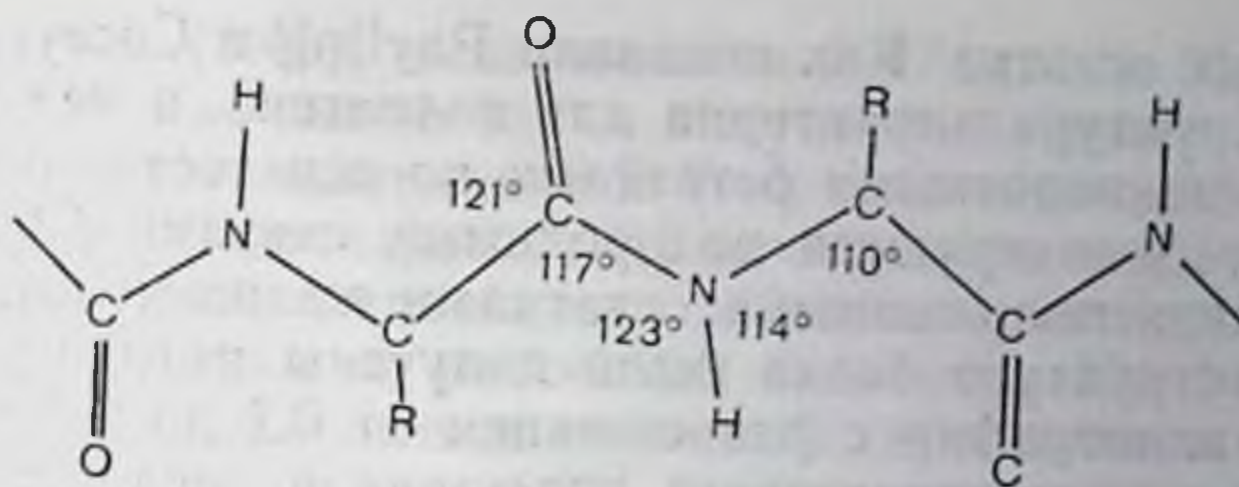
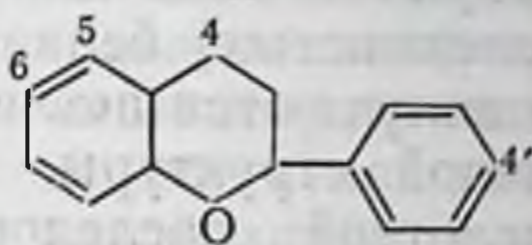


Рис. 4.2. Участок полипептидной цепи.



Флаван

(4.44)

4.1. Белки

В любой живой клетке белки синтезируются в рибосомах приблизительно из 20 различных аминокислот L-конфигурации. ОММ белков варьирует от 6000 до миллиона и более, но все они имеют общую структуру (рис. 4.2), где R — довольно простые заместители, например метильная (для аланина) или пара-гидроксибензильная (для тирозина) группы. Регулярно издающийся в США Атлас последовательности и структуры белков (Atlas of Protein Sequence and Structure, Washington, D. C.) содержит сведения об аминокислотной последовательности для многих сотен белков (разд. 17.4).

Аминокислотная последовательность белка определяется генетической информацией, заложенной в клеточной ДНК, и реализуется через посредство мРНК и тРНК. Последовательность аминокислот в белке называется первичной структурой. Полипептидные цепи всегда образуют вторичную структуру, которая стабилизируется множеством водородных связей между группами —СО и —NH различных остатков. Изменение направления цепи происходит в месте расположения остатков пролина. Полипептиды образуют вытянутые цепи с расстоянием между аминокислотными остатками 0,72 нм. В природе из-за наличия боковых цепей у аминокислот неизбежно происходит некоторое искажение этой структуры, и поэтому периодичность составляет около 0,70 нм, как, например, в фиброне шелка.

При объемных боковых цепях в аминокислотных остатках вместо образования уложенных рядом цепей (β -структуры) происходит спирализация молекулы с образованием правозакрученной α -спирали, в которой на каждый виток приходится 3,6 ами-

нокислотных остатка. Как показали Payling и Corey, такая спиральная структура характерна для коллагена, в ней расстояние между аминокислотными остатками по оси составляет 0,15 нм, а витки стабилизируются водородными связями $\text{CO} \cdots \cdots \text{NH}$ между близрасположенными остатками аминокислот. Данные о вторичной структуре белка были получены методом рентгеновской кристаллографии с разрешением от 0,2 до 0,3 нм, определением дисперсии оптического вращения и числа атомов водорода, которые медленно обмениваются на дейтерий из D_2O (т. е. участвующих в образовании межспиральных связей).

Эти спирали существуют в виде длинных нитей, которые в глобулярных (т. е. неволоконистых) белках (включая ферменты) складываются так, что получаются петли неправильной формы, характерные для третичной структуры. Форма петель обычно определяется аминокислотной последовательностью [Perutz, Kendrew, Watson, 1965]. Связи, стабилизирующие третичную структуру, могут быть ковалентными (дисульфидными), ионными, ван-дер-ваальсовыми и водородными. Например, активная конформация рибонуклеазы (белка, состоящего из 124 аминокислотных остатков) закреплена связями $\text{S}—\text{S}$ между следующими парами аминокислотных остатков (считая от NH_2 конца цепи): 28—84, 65—72, 40—95, 58—110. Молекула белка получается компактной, но содержит внутри несколько молекул воды. Почти все полярные группы ($—\text{OH}$, $—\text{NH}_2$, $—\text{COOH}$) обращены наружу, благодаря чему глобулярные белки растворимы в воде.

Рентгеноструктурное исследование кристаллов глобулярных белков показало, что структурная организация их молекул может быть трех типов: спирализованная, складчатая и беспорядочная. Беспорядочность структуры пептидной цепи может быть вызвана наличием остатков аспарагина, аспарагиновой кислоты и фенилаланина. Обычно кислые остатки расположены преимущественно около NH_2 конца цепи, а основные (лизин, аргинин, гистидин) находятся ближе к CO_2H концу [Cook, 1967].

Некоторые пептиды синтезируются в живой клетке и без участия РНК, например трипептид глутатион в животных и растительных клетках. Бактерии без участия РНК могут синтезировать полипептиды, содержащие до 20 аминокислотных остатков.

Структура и функции ферментов рассматриваются в разд. 9.0. Более подробную информацию о структуре белков можно найти у Neurath, Hill (1975) и в периодическом издании *Advances in Protein Chemistry*. В приложении к книге «Структура и действие белков» [Dickerson, Geis, 1969] описан метод стереоскопической визуализации трехмерной структуры моделей белков.

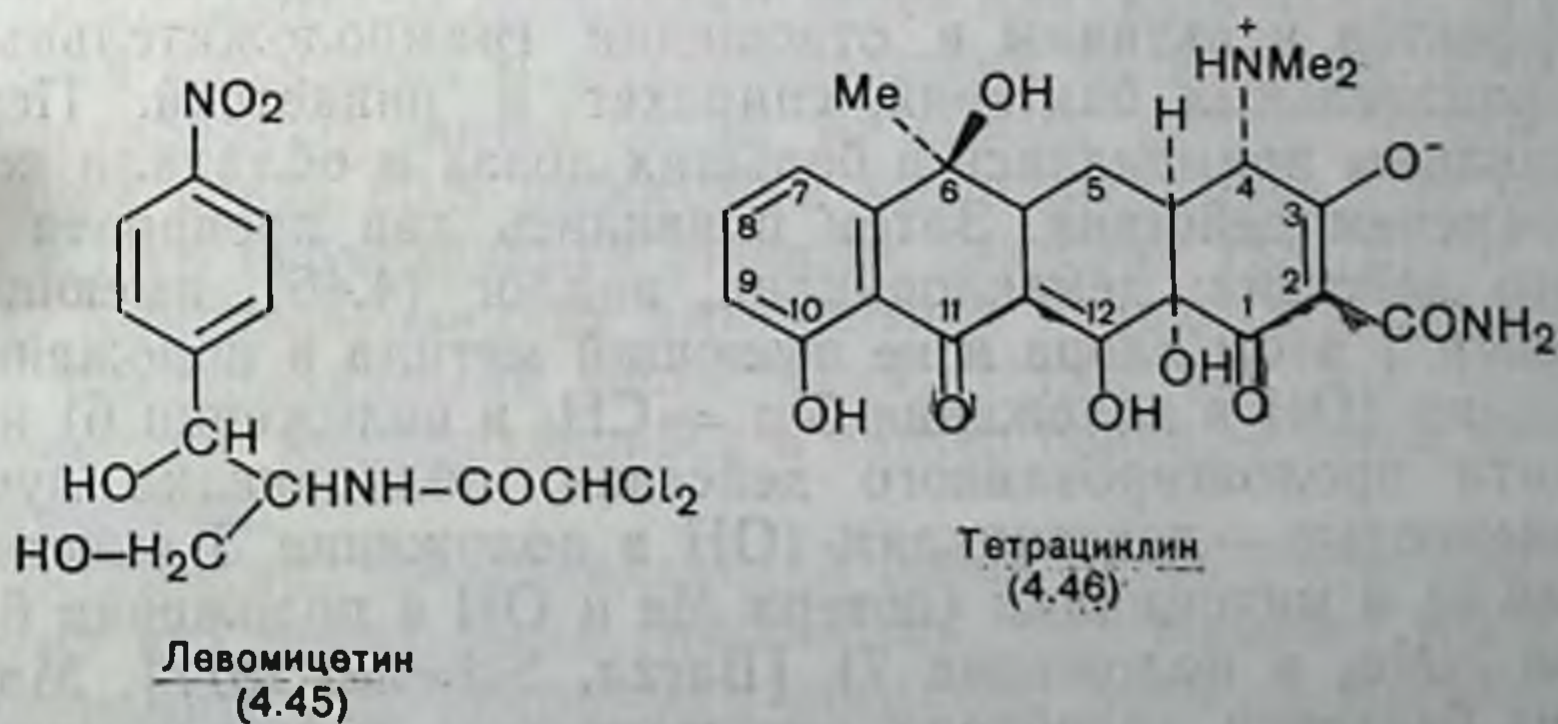
4.1.1. Лекарственные вещества — ингибиторы синтеза белков

Рибосомы бактерий (70S) и животных (80S) отличаются друг от друга.

Левомицетин (4.45), выделенный в 1947 г. из *Streptomyces venezuelae*, а в настоящее время получаемый только синтетическим путем, представляет собой D-(—)-трео изомер N-(2-гидрокси-метил-2-(4-нитрофенил)этил)-2,2-дихлорацетамид. Избирательность его антибактериального действия связана с ингибированием синтеза белка на рибосомах бактерий. На рибосомный синтез белка млекопитающих он не действует даже в бесклеточной системе [Rendi, Ochoa, 1962]. Три других стереоизомера этого соединения не влияют на синтез белка.

По данным рентгеноструктурного анализа две гидроксильные группы левомицетина расположены очень близко друг к другу, амидная же группа направлена в противоположную сторону, а вся алифатическая часть молекулы находится в плоскости, составляющей почти прямой угол с плоскостью бензольного кольца [Dunitz, 1952]. Благодаря амидной связи в молекуле левомицетин похож на дипептид. Полагают, что это сходство определяет стереоспецифичность его действия [Das, Goldstein, Каппер, 1966].

Противобактериальные свойства левомицетина лишь незначительно меняются при замене нитрогруппы в его молекуле другими сильными электроноакцепторными группами: метилтио- (MeS—), азидо- (—N₃) или метилсульфонил (MeSO₂), следовательно, роль нитрогруппы связана только с ее электроноакцепторными свойствами. Метилсульфонильное производное, под названием тиамфеникол, применяют в клиниках Англии, Италии и Японии (в отличие от левомицетина оно выделяется почками в неизмененном виде, что расширяет область его использования). И у левомицетина, и у его производных биологически активна только D-трео конфигурация [Freeman, 1970]. Алифатическая часть молекулы очень чувствительна к изменениям структуры: например, замена любого из водородных атомов метильной группой приводит к полной потере активности.



Левомицетин быстро поглощается бактериями и накапливается в 50 S субъединице типичных для бактерий 70 S рибосом, останавливая синтез белка. Это было показано с помощью ме-

ченного [^{14}C]-левомицетина, который вводился в клетку перед тем, как клеточную оболочку разрушали ультразвуком. На рибосоме левомицетин ингибирует пептидилтрансферазу в А-сайте, прерывая тем самым рост пептидной цепи [Jacobi, Gorini, 1967]. Из всех рибосомных белков он наиболее специфично связывается с белком L-16 [Roth Nierhaus, 1975].

Левомицетин был первым антибиотиком широкого спектра действия, примененным в медицине. Однако позже было показано, что его длительное применение вызывает опасное заболевание — апластическую анемию. Поэтому в настоящее время его назначают только при заболеваниях, против которых при минимально коротком курсе лечения из всех известных препаратов он наиболее эффективен. Левомицетин применяют при брюшном тифе, бактериальном менингите и анаэробных инфекциях мозга, типа вызываемых *V. fragilis*. Он (единственный из антибиотиков) хорошо проникает в СМЖ через ГЭБ и применяется вместо тетрациклина при холере или заболеваниях, вызываемых риккетсиями, таких как тиф или пятнистая лихорадка Скалистых гор.

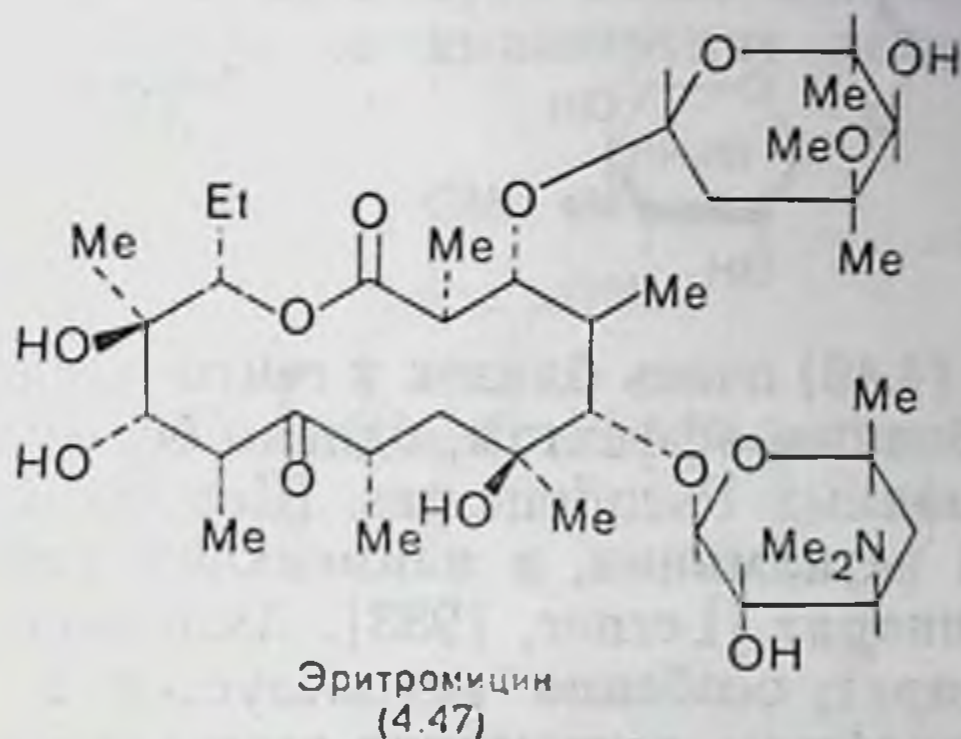
Тетрациклин (4.46) и его производные — наиболее широко применяемые антибиотики широкого спектра действия. Как уже указывалось в разд. 3.0, избирательность их действия связана с преимущественным накоплением в бактериях. Важную роль в проявлении биологического действия играет его способность хелатировать ион магния (разд. 11.8). Тетрациклин получают деchlorированием его 7-хлорпроизводного (ауреомицин), выделенного в 1947 г. из *Streptomyces aureofaciens*.

В опытах с мечеными производными было показано, что тетрациклины связываются с 30 S субъединицей рибосомы [Coppetacher, Mandel, 1965] и ингибируют мРНК-зависимое связывание аминоксил-тРНК [Sagar, Thach, 1968], блокируя тем самым синтез бактериальных белков. При пероральном применении тетрациклины практически не вызывают серьезных побочных эффектов и активны в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, спирохет и риккетсий. Первые тетрациклины применялись в больших дозах и обладали коротким временем действия. Затем появились два препарата длительного действия: демеклоциклин, аналог (4.46), имеющий в положении 7 атом хлора и не имеющий метила в положении 6, метациклин (ОН в положении 5 и $=\text{CH}_2$ в положении 6) и два препарата пролонгированного действия, обладающие лучшей всасываемостью — доксоциклин (ОН в положении 5 вместо положения 6) и миноциклин (потеря Me и ОН в положении 6, появление NMe_2 в положении 7) [Bagza, Scheife, 1977]. Многие штаммы бактерий приобрели резистентность к тетрациклинам.

Эритромицин (4.47) — макролидный антибиотик, выделенный из *Streptomyces erythraeus*, найденных в почве на Филиппинах, активен при пероральном применении. С использованием ^{14}C -эритромицина было показано, что он ингибирует синтез белка

только на бактериальных 70 S рибосомах. При транслокации он препятствует сдвигу петидил-тРНК с сайта А в сайт D на 50 S рибосомальной субъединице [Мао, Putterman, Wiegand, 1970].

Спектр противобактериального действия эритромицина и пенициллина одинаков. Из-за распространенности эритромицин-резистентных штаммов различных бактерий применение этого антибиотика ограничено тремя заболеваниями — микоплазматической пневмонией, дифтерией и болезнью «легионеров».

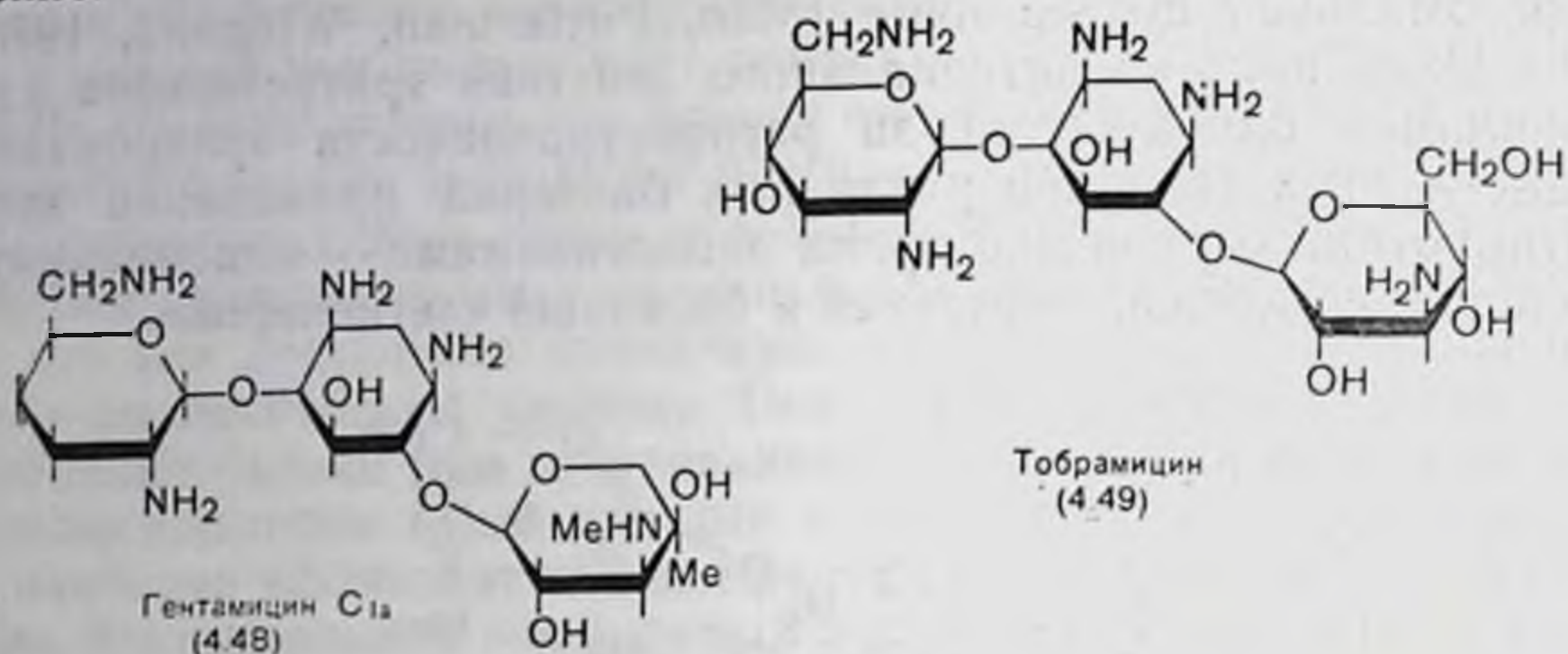


Из аминогликозидных антибиотиков первым был открыт стрептомицин [Schutz, Bugie, Waksman, 1944], который применялся при туберкулезе и инфекционных заболеваниях, вызванных грамотрицательными бактериями. Однако при длительном лечении он повреждает почки и вызывает неизлечимую глухоту. Поэтому вместо стрептомицина теперь применяют другие гликозидные антибиотики. Все они состоят из остатков аминсахаров, присоединенных к кольцу циклитола, и являются сильными основаниями. При пероральном введении они не всасываются и поэтому применяются только внутримышечно.

Аминогликозиды проникают через плазматическую мембрану бактерий сложными и разнообразными путями, см. разд. 14.3. Они ингибируют синтез белка на самых ранних стадиях. Не причиняя вреда 80 S рибосомам млекопитающих, они связываются с 30 S субъединицей рибосом бактерий [Le Coffic et al., 1979]. Аминогликозидные антибиотики являются в действительности бактерицидными веществами, тогда как все остальные антибиотики, вмешивающиеся в синтез белка, — лишь бактериостатическими.

Гентамицин, представляющий собой смесь соединения (4.48) с двумя его метильными гомологами, был выделен в 1963 г. из актиномицета *Micromonospora purpurea*. Хотя он высокоактивен против большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий, применяют гентамицин при инфекционных заболеваниях мочевых путей, вызванных грамотрицательными палочками. Он более избирателен, чем стрептомицин [Milanesi, Ciferri, 1966], но также может повреждать почки (хотя и обратимо) и

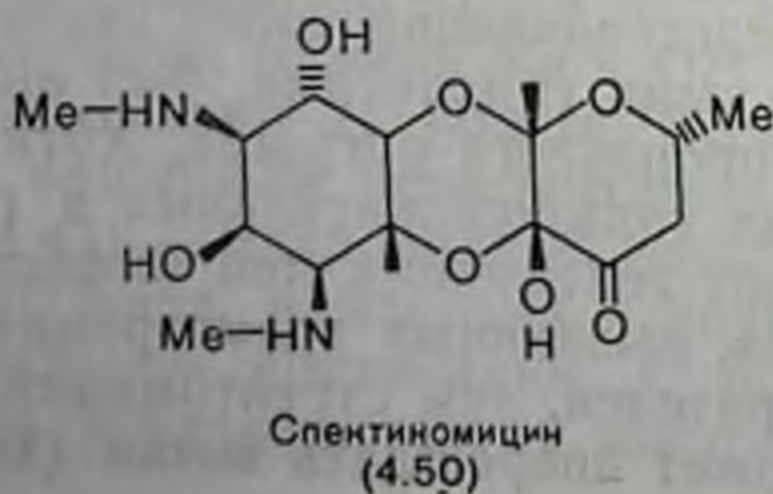
вызывать необратимую глухоту, что ограничивает его применение.



Тобрамицин (4.49) очень близок к гентамицину как по активности, так и побочным эффектам, однако более эффективен при инфекциях, вызванных *Pseudomonas*. Широко применяется полусинтетический нетилмицин, в наименьшей степени поражающий слуховой аппарат [Legner, 1983]. Амикацин, тоже полусинтетический препарат, особенно используется в тех больницах, где пациенты заражены гентамицин-резистентными организмами (нозокомиальные инфекции); паромомицин, обладающий прямым действием на простейших, назначают при амёбной дизентерии [Woolfe, 1965]; канамицин уступил дорогу тобрамицину, а неомицин, малоизбирательный при системном введении, широко используется в виде мазей. Обзор по аминогликозидным антибиотикам см. Umezawa, Nooper (1982).

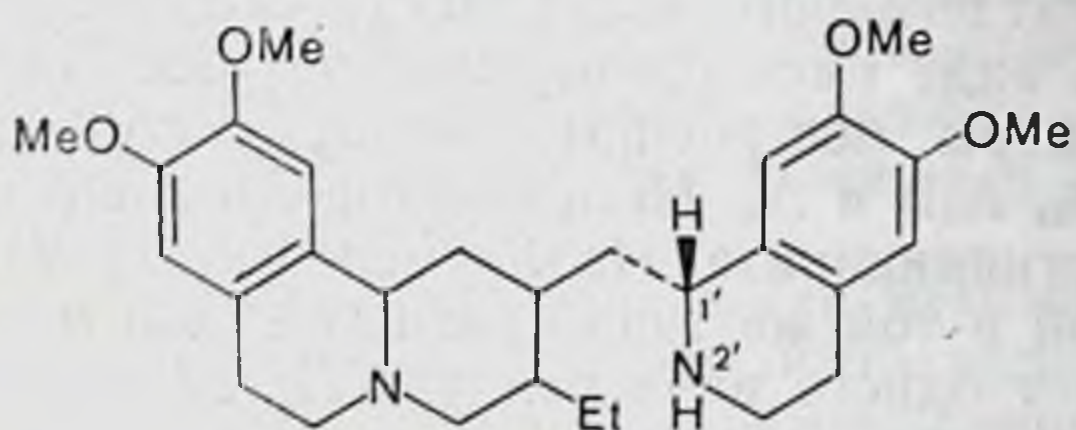
Клиндамицин, по химической структуре являющийся замещенным пирролидином, применяют только при абсцессах кишечника, вызванных анаэробами типа *Bacterioides*; родственный ему линкомицин в настоящее время уже вышел из употребления.

Фузидиевая кислота (выделенная из грибов стероидкарбоновая кислота) применяется главным образом в педиатрии при пневмониях и других кокковых инфекциях, резистентных к большинству распространенных антибиотиков. Она примерно одинаково ингибирует рибосомы бактерий и млекопитающих, а ее избирательность вызвана неспособностью проникать через цитоплазматическую мембрану млекопитающих [Franklin, Snow, 1981].

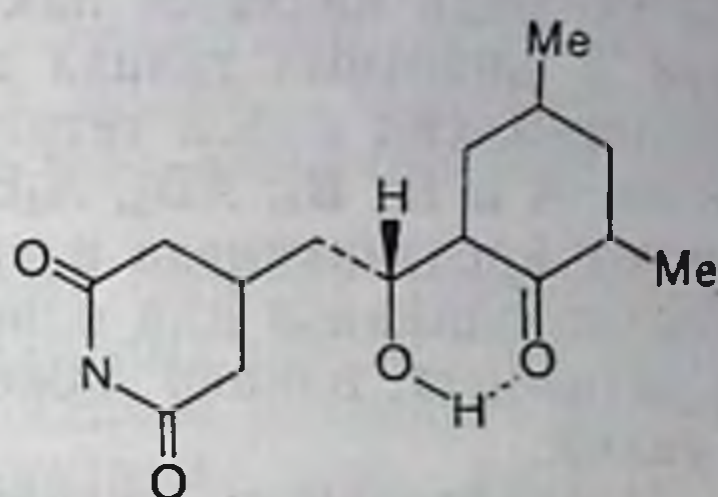


Спектиномицин (4.50) (декагидро-6,8-бисметиламино-2-метил-4а,7,9-тригидроксипирано [2,3-в]бензодиоксин-4-он) ингибирует синтез белка, связываясь с 30 S субъединицей рибосом. Он малоизбирателен и обычно используется только для внутримышечного введения при гонорее, устойчивой к пенициллину и тетрациклинам [Reyn et al., 1973].

Туникамицин, биохимический реагент, не применяющийся в медицине, нарушает функционирование ионных каналов плазматической мембраны, ингибируя гликозилирование выступающих их белков (обычно по аминогруппе аспарагина) [Olden, Pratt, Yamada, 1978].



Эметин
(4.51)



Циклогексимид
(4.52)

Алкалоид эметин (4.51), первый из амeboцидов (разд. 6.0), в настоящее время вытеснен высокоэффективными препаратами метронидазолом и хлорохином, не обладающими его побочными эффектами. Но иногда эметин все же применяется в составе различных смесей. Он препятствует транслокации пептидил-тРНК в рибосоме с акцепторного на донорное место, нарушая тем самым синтез белка у паразита и хозяина [Huang, Grollman, 1970]. Наиболее вероятно, что его избирательность связана с неспособностью амeб, в отличие от клеток печени млекопитающих, быстро восстанавливаться в промежутках между курсами препарата [Grollman, 1966].

Циклогексимид (4.52), выделяемый вместе со стрептомицином из *Streptomyces griseus*, ингибирует синтез белка только в клетках млекопитающих, но не бактерий. Он широко применяется биохимиками для ингибирования белкового синтеза в тех случаях, когда им необходимо доказать, что данный биохимический эффект связан с синтезом нового белка. В ограниченных масштабах используется в качестве фунгицида в сельском хозяйстве. Молекула циклогексимиды, в которой есть образованный водородной связью цикл [Siegel, Sisler, Johnson, 1966], во многом напоминает молекулу эметина [Grollman, 1966, 1968]. При изучении серии активных и неактивных аналогов эметина было установлено, что для наличия активности существенны R (правая) конфигурация атома C-1' и вторичный атом азота в положении 2'.

Обзор работ по созданию лекарственных веществ, ингибирующих синтез белка, см. Grollman (1971).

4.2. Ферменты- и коферменты-аналоги

Известно немало примеров различия ферментов, выполняющих в разных клетках или у разных видов одинаковую функцию. Если химические различия между ними невелики, то мы говорим об изоферментах, а если они велики, то о ферментах-аналогах.

А. Изоферменты. Многие ферменты при электрофорезе разделяются на некоторое число изоферментов, отличающихся друг от друга по физическим свойствам, но обладающих одинаковой специфичностью. Одним из наиболее известных примеров такого рода является лактатдегидрогеназа (ЛДГ), существующая в животных тканях в виде пяти изоферментов. Все они представляют собой тетрамеры, построенные из двух полипептидов А и В: V_4 , AV_3 , A_2V_2 , A_3V и A_4 . Несколько изоферментов имеют креатинкиназа и аргининкиназа. Изоферментный состав обычно одинаков для одной и той же ткани разных видов млекопитающих, однако даже у одного вида отличается от ткани к ткани.

Избирательное ингибирование отдельных изоферментов описано в разд. 9.4.6 (МАО) и 9.7.1 (лактатдегидрогеназа). Тимидинкиназа, катализирующая фосфорилирование тимидина, имеет два изофермента, один из которых находится в цитоплазматической, а другой в митохондриальной фракциях клетки млекопитающих. В тканях здорового взрослого человека преобладает митохондриальная форма, тогда как цитоплазматический изофермент преобладает в опухолях [Lee, Cheng, 1976].

Б. Ферменты-аналоги. Если изоферменты отличаются друг от друга величиной электрического заряда, то отличия ферментов-аналогов (выполняющих одну и ту же функцию в разных организмах) более существенны. Эти ферменты называются также изофункциональными, эквивалентными или гомологичными. Их отличия друг от друга позволяют создавать избирательные лекарственные вещества. Ферменты-аналоги могут отличаться по кинетическим параметрам, электрофоретической подвижности и специфичности (по субстратам, коферментам или ингибиторам). В качестве примера ферментов, отличающихся по субстратной специфичности, можно привести гексокиназы: для некоторых из них субстратом служит только одна гексоза, тогда как другие могут фосфорилировать несколько углеводов. Существуют различия и в коферментах, особенно металлах. Так, железо необходимо для кристаллической альдолазы дрожжей, плесени [Warburg, Christian, 1943] и бактерий *Clostridium perfringens* [Bard, Gunsalus, 1950], а ферменты-аналоги млекопитающих, растений и трипаносом в нем не нуждаются [Taylor, Green, Cogi, 1948]. Семейство ферментов — супероксиддисмутазы, существующие как у прокариот, так и у эукариот, — отличаются друг от друга тем, что у одних в активном центре фермента находится магний, а у других — медь; более того, некоторые

имеют изоэлектрическую точку около 4,5, другие — около 8 [Oberley, 1982].

Существуют два различных класса ферментов, известных под названием ФДФ- (фруктозо-1,6-дифосфат) альдозазы, действующих на различных стадиях гликолиза: ферменты животных и высших растений расщепляют ФДФ через основания Шиффа, тогда как ферменты бактерий и грибов требуют наличия металла (обычно Zn^{2+}), связанного с карбонильной группой фермент-субстратного комплекса. Для второго типа ферментов существуют специальные ингибиторы [Lewis, Lowe, 1973]. О ферментах-аналогах см. разд. 11.1 и 4.4. Из табл. 4.6 видно, как лекарственные вещества, содержащие сурьму, по-разному взаимодействуют с двумя ферментами-аналогами, один из которых принадлежит червю-паразиту, а другой — хозяину-млекопитающему. Эти различия лежат в основе классического лечения шистосоматозов.

В основе избирательности некоторых лучших современных противомаларийных и противобактериальных препаратов лежит способность различных диаминопиримидинов различать формы-аналоги фермента дигидрофолатредуктазы (см. разд. 4.0, табл. 4.1 и 4.2 и разд. 9.3.3 и 9.6). Рассмотрим сначала различия между некоторыми нечувствительными к триметоприму (4.9) ферментами позвоночных, а затем перейдем к ферментам беспозвоночных, чувствительность которых к этому препарату очень высока. Аминокислотная последовательность фермента печени курицы только на 75% совпадает с таковой для фермента печени быка. Более того, гидроксид метилртути двенадцатикратно активирует фермент птицы, тогда как фермент быка он ингибирует. В ферменте птицы значительно больше основных аминокислот и его изоэлектрическая точка 8,4, а у фермента быка 6,8. Такое отличие вызвано тем, что в ферменте птиц в положениях 32, 106 и 154 находится остаток лизина, а в ферменте быка в этих положениях находятся соответственно остатки глицина, треонина и глутаминовой кислоты [Kumar et al., 1980].

Независимо от источника, дигидрофолатредуктаза (ДФР) имеет в 27-м остатке или рядом с ним кислотную группу: например, у *E. coli* это Асп-27. У прокариот это всегда аспарагиновая кислота, а у эукариот — глутаминовая. Это различие очень важно, так как в ферменте прокариот именно аспарагиновая кислота связывается с 2- NH_2 2,4-диаминопиримидиновых ингибиторов [Volin et al., 1982].

ДФР позвоночных содержит в положении 31 тирозин вместо менее объемного лейцина в положении 27 фермента бактерий; эти остатки образуют карман, в который входит птеридиновое кольцо. Ферменты позвоночных содержат около 185 остатков, тогда как ферменты бактерий — только около 165. К чему приводит это различие, хорошо видно на примере фермента печени курицы. На конце складчатой структуры этого фермента имеются три дополнительные петли, в которых не образуется нормаль-

ных межцепочечных водородных связей [Volz et al., 1982]. В отличие от ДФР фермент млекопитающих способен восстанавливать как фолат, так и дигидрофолат.

ДФР малярийного паразита имеет значительно большую ОММ (103 000—210 000), чем ферменты бактерий (17 000) и позвоночных (21 000). Более того, он обладает и другой ферментативной активностью — тимидилатсинтетазной (метилирование кольца урацила).

В работе Volz и сотр. (1982) приведена аминокислотная последовательность для семи молекул ДФР: трех ДФР бактерий, трех ДФР печени (курицы, свиньи и быка) и одной опухолевой (лимфома мыши). Ферменты бактерий и высших животных имеют только 25 общих остатков.

Различная локализация и связывание метотрексата и ингибиторов ряда диамино-пиримидинов и -триазинов с этими ферментами-аналогами описаны в разд. 9.3.3 и показаны на стереодиаграмме.

АХЭ червя *Haemonchus contortus*, паразитирующего в кишечнике овец, необратимо ингибируется широко применяемым антигельминтным препаратом фосфорорганического ряда галоксоном (13.36). В то же время АХЭ кишечника овец ингибируется незначительно и быстро восстанавливается. Было показано, что черви, устойчивые к действию галоксона, имеют фермент, отличный от фермента *Haemonchus* [Lee, Hodsden, 1963]. Структура чистой глутаматдегидрогеназы *Tyranosoma spizi* значительно отличается от структуры фермента млекопитающих [Juan et al., 1978].

Казалось бы, что одни и те же ферменты у двух различных видов млекопитающих должны быть идентичны, однако в действительности они только аналогичны. Например, аденилаткиназа мышцы кролика инактивируется 0,8 мМ N⁶-йодацетамидогексилладенозин-5'-фосфатом, однако на соответствующий фермент мышцы свиньи 2,8 мМ раствор этого соединения не действует [Hampton, 1976].

Кроме межвидовых различий, существуют различия и в соотношении ферментов в различных тканях одного организма, даже в таких родственных, как сердечная и скелетная мышцы (табл. 4.3).

Многие ферменты млекопитающих встречаются лишь в определенных органах (табл. 4.4). Чем больше специализирована ткань, тем более индивидуален набор ее ферментов. Например, АТФаза желудка блокируется только омепразолом [Gustavsson, 1983].

Между ферментами-аналогами имеются и химические различия. Так, фермент, гидролизующий циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), в различных тканях млекопитающих имеет разное молекулярное строение [Weiss, Fertel, 1977]. Отметим также, что пируваткиназа из здоровой печени (Пе) почек (По) и мышцы (М) крысы по-разному ингибируется различными ин-

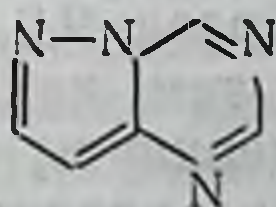
Т а б л и ц а 4.3. Соотношение ферментов в мышцах (крысы)
[Dixon, Webb, 1979]

Фермент	Сердечная мышца	Скелетная мышца
Цитратсинтаза	12	1
Енолаза	1	8
Фруктозодифосфатаза	45	1
NADH-дегидрогеназа	35	1
Пируваткиназа	1	8

Т а б л и ц а 4.4. Ферменты, встречающиеся преимущественно
в определенных органах млекопитающих (крыса)
[Dixon, Webb, 1979]

Фермент	Орган
Аргиназа	Печень
Кислая фосфатаза	Предстательная железа, почки, печень, сердце
Щелочная фосфатаза	Почки
Карбоксиэстераза	Поджелудочная железа
β -Глюкуронидаза	Селезенка
Глюкозаминфосфатизомераза	Кишечник
Маннозидаза	Эпидермис
Глутаминсинтетаза	Мозг, печень
Рибонуклеаза	Поджелудочная железа

гибиторами. Для 3'-метокси-АДФ соотношение ингибирующей активности (Пе) : (По) : (М) составляет 1 : 7,6 : 6, для 8-диэтиламиноАДФ 1 : 1,2 : 7,1 и для метил-(N-ацетил- ω -метиламинобутил) АДФ — 3 : 2 : 1 [Hai, Abo, Hampton, 1982]. Производные пиразоло[1,5-a]-1,3,5-триазина (4.53), даже незначительно различающиеся между собой, отличаются по способности ингибировать цАМФ-фосфодиэстеразу из различных тканей: мозга быка и его сердца и легких кролика [Senga et al., 1982].



Пиразолотриазин
(4.53)

Значительные различия встречаются между ферментами-аналогами опухолевых и нормальных тканей. Например, специфическая активность пурифосфорибозилтрансферазы клеток асцитной карциномы П. Эрлиха у мышей в 15—60 раз выше, чем активность этого же фермента в печени, мозге, селезенке, сердце или почках тех же животных [Muggau, 1966]. Аденилаткиназа гепатомы крыс в 22 раза сильнее ингибируется аналогом

АТФ Р¹—Р⁵-бис[8-(этилтио)аденозин-5'-]пентафосфатом, чем фермент-аналог из мышц здоровой крысы [Kappler et al., 1982].

Органоспецифичность многих ферментов представляет возможность разработки избирательных пролекарств за счет специфического расщепления в ткани-мишени. Примером здесь может служить фосфэстрол (дифосфат диэтилстильбэстрола), который приобретает биологическую активность только после гидролиза щелочной фосфатазой, появляющейся в предстательной железе при возникновении опухоли. Терапевтический эффект связан с подавлением роста опухоли выделяющимся диэтилстильбэстролом [Lambley, Wage, 1967].

В организме из-за разницы величин рН различных тканей, даже близлежащих, один и тот же фермент может быть активен только в одной из них. Например, рН опухолевых клеток, потребляющих глюкозу, обычно ниже (около 6), чем в окружающих здоровых клетках (рН 7,3) [Rauen, 1964; Schloegb et al., 1965]. В результате фермент β-глюкуронидаза (для которого оптимальный рН 5,2) значительно более активен в опухолевых клетках, чем в здоровых [Bicker, 1974]. Уже сделаны попытки использовать этот феномен для создания противоопухолевых препаратов (разд. 10.2). То, что некоторые опухолевые ткани человека по сравнению со здоровыми содержат необычайно высокие концентрации β-глюкуронидазы, было впервые продемонстрировано Fishman и Anlyan (1947); теперь известно, что это связано с различиями рН.

Действие ферментов в опухолевых клетках может отличаться от их действия в здоровых. Так, в клетках трех опухолей печени (мыши, крысы и человека) в отличие от здоровых клеток печени отсутствует контроль обратной связи синтеза холестерина. Оказалось, что это происходит из-за ингибирования ГМГ-редуктазы, восстанавливающей β-гидрокси-β-метилглутаровую кислоту в мевалоновую кислоту, превращающуюся далее в сквален [Siperstein, Fagan, 1964].

Различные внутриклеточные органеллы также имеют специфические ферменты (табл. 4.5) [Dixon, Webb, 1979].

О ферментах см. также разд. 9.0.

В. Коферменты. Перед тем как перейти к рассмотрению коферментов, следует подчеркнуть, что различия в ферментах-аналогах часто обусловлены различиями в апоферментах.

У коферментов довольно отчетливо выражены межвидовые различия. Большая часть растений и животных сами синтезируют аскорбиновую кислоту, необходимую в организме, в частности, для гидроксилирования пролина и лизина в биосинтезе коллагена. Человек, другие приматы и морские свинки являются исключением, поэтому им, и только им, необходимо получать этот витамин с пищей.

Биосинтез и абсорбция дигидрофолиевой кислоты (2.14) в организмах человека и бактерий настолько отличаются, что на этом основывается целая система сульфаниламидной химио-

Т а б л и ц а 4.5. Ферменты внутриклеточных структур (печень крысы)

Плазматическая мембрана	АТФаза; аденилатциклаза
Ядро	Никотинамид-мононуклеотидаденилилтрансфераза
Митохондрии	Аминооксидаза (наружная мембрана) Сульфитоксидаза (внутриклеточная мембрана) Сукцинат оксидаза и цитохром С оксидаза (внутренняя мембрана) Глутаматдегидрогеназа и пируватдегидрогеназа
Эндоплазматический ретикулум	Глюкозо-6-фосфатаза; NADPH-цитохромредуктаза; фруктозодифосфатаальдолаза
Аппарат Гольджи	Галактозилтрансфераза
Пероксисомы	Кислая фосфатаза; каталаза, уреатоксидаза; оксидаза D-аминокислот
Лизосомы	Кислая фосфатаза

терапии (разд. 9.3.1). Суть заключается в том, что патогенные бактерии синтезируют необходимую им фолиевую кислоту, но не могут абсорбировать ее из окружающей среды. В отличие от них, человеческий организм не способен сам синтезировать эту кислоту, а получает ее из пищи.

Фосфатные группы пиридоксинфосфата и пиридоксальфосфата не мешают действию этих коферментов в опухолевых клетках (асцидная гепатома печени крысы), однако клетки печени здоровых крыс обычно полностью дефосфорилируют эти формы витамина B₆ [Ito, Nakahara, Sakamoto, 1964].

Ранние работы по изучению цитохромов показали, что их наличие в различных видах значительно шире варьирует у бактерий, чем у эукариот. Например, анаэробный вид *Clostridium* вообще не содержит цитохромов [Keilin, 1933], а паразитические черви *Ascaris lumbricoides* и *suum* (нематоды) и *Moniezia expansa* (цестоды) не имеют цитохрома P-450. Это подсказывает направление создания противоглистных препаратов: они должны поражать паразита и разрушаться связанными с цитохромом P-450 оксидазами хозяина [Douch, 1976].

Сидерамины, железосодержащие соединения, найденные только в бактериях и являющиеся для них эквивалентом цитохромов, рассмотрены в разд. 11.1 вместе с ферредоксинами, белками бактерий и растений, содержащих железо, но не имеющих гема.

4.3. Метаболизм азота и фосфора

В этом и следующем разделе рассматриваются процессы катаболизма. В большинстве живых клеток они протекают одинаково, поэтому трудно ожидать каких-либо значительных отличий, которые могли бы стать основой избирательного действия токсических агентов. Однако такие различия все же существуют; ниже приведены примеры и указаны пути использования этих различий.

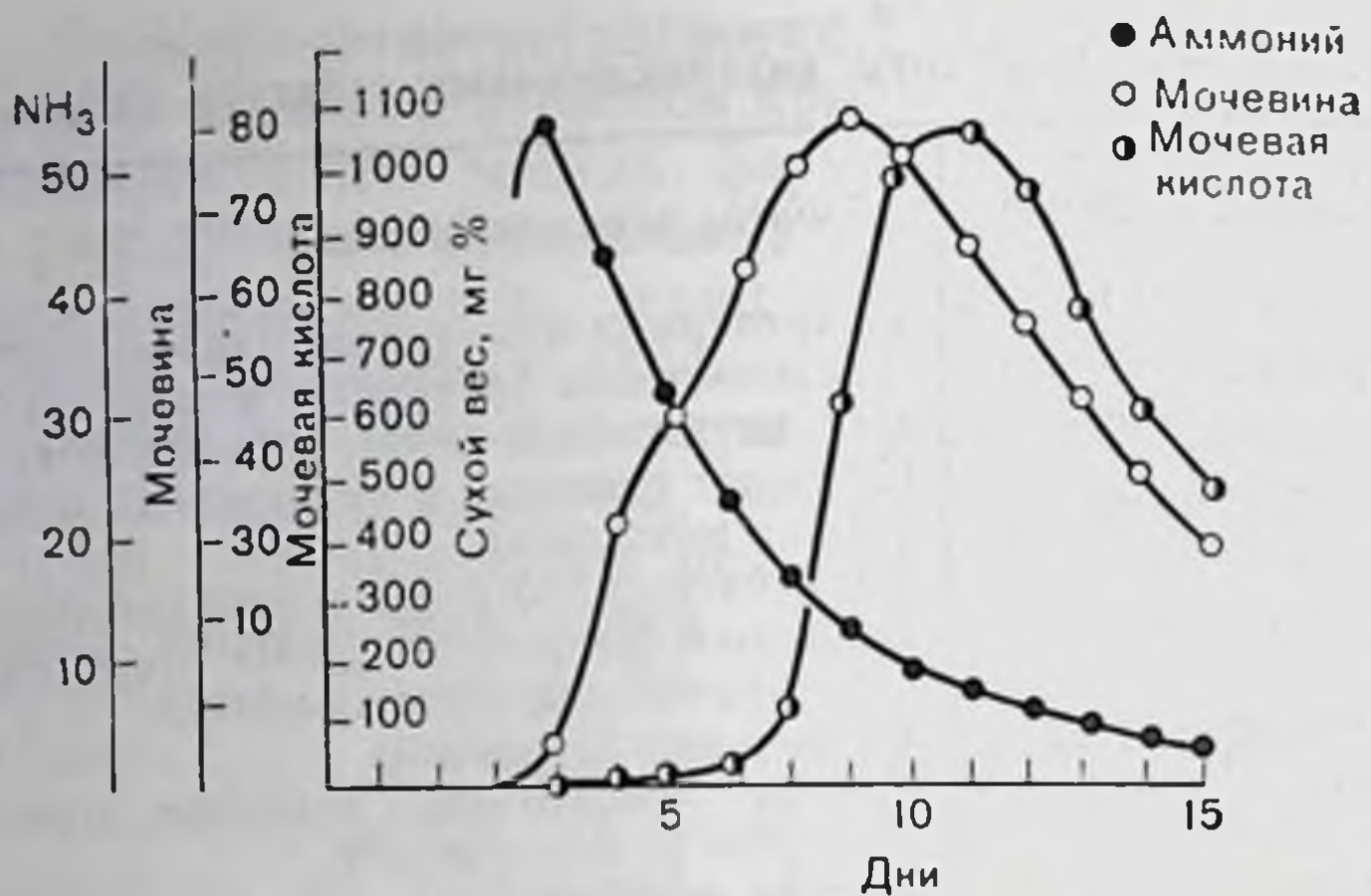


Рис. 4.3. Выделение азота (эмбрион цыпленка). Максимальное выделение азота в виде: аммиака на 4-й день после оплодотворения, мочевины — на 9-й день, мочевой кислоты — на 11-й день.

При метаболизме азота, в отличие от метаболизма жиров и углеводов, получается широкий набор конечных продуктов, от аммиака до алкалоидов. Наиболее примечательно то, что даже у одного вида в зависимости от стадии развития конечные продукты метаболизма могут быть разными. Куриный зародыш в яйце за несколько дней проходит ряд стадий развития (рис. 4.3), последовательно выделяя аммиак, мочевину и мочевую кислоту, что предположительно соответствует метаболизму рыб, лягушек и птиц. Эта последовательность объясняет, почему для борьбы с паразитом на разных стадиях его развития требуются различные избирательно токсичные агенты. Например, половую форму возбудителя злокачественной трехдневной малярии уничтожают только 8-аминохолины, например примахин (3.36), в то время как для уничтожения неполовых форм, также присутствующих в эритроцитах человека, необходимы препараты другой структуры: акрихин (10.30) и хингамин (10.31).

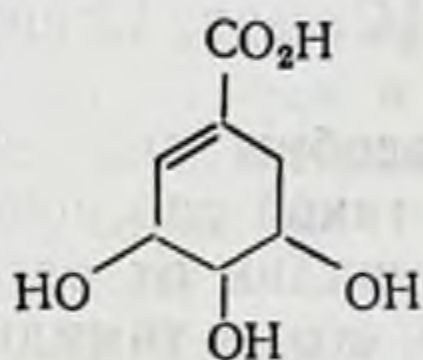
Примечательная особенность бактерий — то, что в их клеточной стенке встречаются необычные аминокислоты (разд. 5.3) и осуществляются необычные пути биосинтеза обычных аминокислот. Так, у растений и бактерий лизин образуется в результате декарбоксилирования диаминопимелиновой кислоты, а грибы и млекопитающие синтезируют его из 2-аминоадипиновой кислоты [Vogel, 1959]. Аминокислоты D-ряда не обнаружены в составе активных компонентов клетки ни у одного из живых организмов, занимающих в эволюционном ряду место выше земляного червя (*Lumbricus terrestris*), содержащего фосфаген ломбрицин (O-фосфодиэфиргуанидиноэтанола и D-серина) [Ennor et al., 1960].

У бактерий и растений ароматические аминокислоты фенилаланин и триптофан образуются из шикимовой кислоты (4.54)

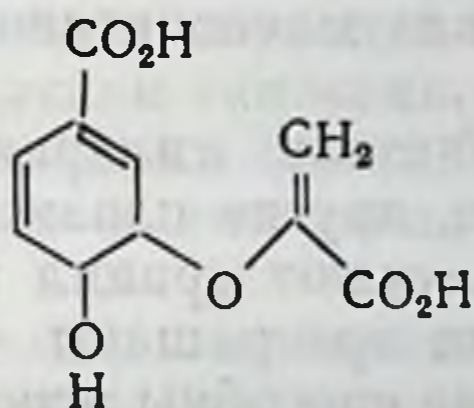
(3,4,5-тригидроксициклогекс-1-ен-1-карбоновой кислоты). Млекопитающие не способны синтезировать бензольное кольцо и поэтому вынуждены получать эти две аминокислоты с пищей [Gibson, 1964]. Из шикимовой кислоты растения вырабатывают галлотанины, а насекомые — протокатеховую (3,4-диоксибензойную) кислоту, окрашивающую белок наружного покрова.

Так как шикимовая кислота не участвует в метаболизме млекопитающих, ее биосинтез и метаболизм являются прекрасными мишенями для избирательно токсичных агентов. У бактерий шикимовая кислота образуется при циклизации углевода 7-фосфат-3-дезоксид-2-оксо-D-арабиногептулозоновой кислоты, в свою очередь образующегося при конденсации эритрозо-4-фосфата и фосфоенолпировиноградной кислоты. Шикимовая кислота превращается в хоризмовую кислоту (4.55), еноллирует транс-3,4-дигидроциклогекса-1,5-диен-1-карбоновой кислоты. Эта кислота расположена на развилке метаболических путей: один путь ведет к префеновой кислоте и дальше к фенилаланину и тирозину, другой — к анраниловой кислоте и к триптофану, а третий — к убихинону, витамину К и через пара-аминобензойную кислоту к фолиевой кислоте.

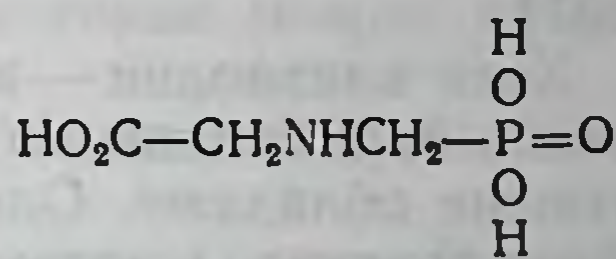
Активный гербицид глифосат (4.56) блокирует биосинтез хоризмовой кислоты; ведется поиск других веществ, ингибирующих синтез шикимовой, префеновой и хоризмовой кислот.



Шикимовая кислота
(4.54)



Хоризмовая кислота
(4.55)



Глифосат
(4.56)

Для переноса и накопления энергии все многоклеточные организмы используют аденозинтрифосфат (АТФ), однако некоторые бактерии и простейшие, например *Rhodospirillum rubrum*, *Proprionibacterium shermanii*, *Entamoeba histolytica*, используют для этих целей неорганический пирофосфат. Кроме АТФ, в энергетическом метаболизме клеток участвуют и фосфагены: креатинфосфат, единственный фосфаген позвоночных, крайне редко встречается у беспозвоночных, и аргининфосфат, фосфаген беспозвоночных. Некоторые виды беспозвоночных содержат оба фосфагена. В пределах каждого типа организмов существуют различия в распределении обоих фосфагенов, часто между близкими видами, и, более того, между различными тканями одного и того же организма [Flogkin, Mason, 1960]. Очень редко, лишь у некоторых видов беспозвоночных, встречаются такие фосфагены, как фосфогуанидинуксусная кислота, фосфогуанидинтаурин и ломбрицин (см. выше).

Метаболизм пуринов и птеридинов у простейших. Большинство простейших не могут *de novo* синтезировать пурины и поэтому должны получать их от организма-хозяина. Для удовлетворения своих потребностей в нуклеозидах простейшие содержат целый набор ферментов, часто обладающих необычной субстратной специфичностью. Эта их особенность открывает широкие возможности для создания избирательных химиотерапевтических агентов.

В качестве примера можно привести аллопуринол (9.51), ингибирующий рост некоторых видов *Leishmania*. В клетке-паразите он превращается в аллопуринолрибонуклеозид, стабильный в клетках хозяина, но быстро превращающийся в рибонуклеотид в клетке-паразите под действием бактерия-специфичной фосфотрансферазы. Затем заменой $=O$ на $-NH_2$ этот нуклеотид в клетке-паразите превращается в аналог адениловой кислоты, включение которого в РНК паразита приводит к летальному исходу [Nelson et al., 1979]. Точно так же аллопуринол действует на *Trypanosoma cruzi*.

Рост лейшманий ингибируется и антибиотиком формацином В, изомером аллопуринолрибозиды (он является производным пирозоло[4,3-d]пиримидина, а аллопуринол — пирозоло[3,4-d]пиримидина. Его лечебный эффект обусловлен активным фосфорилированным производным, образующимся только в простейших, но не в клетках млекопитающих [Carson, Chang, 1981].

Хотя плазмодии — возбудители малярии способны синтезировать пиримидины *de novo*, другие плазмодии такой способностью не обладают. Они получают урацил или уридин от организма-хозяина, а затем сами превращают часть его в тимидин [Kidder, 1967]. Плазмодии не способны использовать экзогенную фолиевую кислоту и синтезируют ее сами, однако для жгутиковых и реснитчатых бактерий необходима как раз экзогенная фолиевая кислота [Kidder, 1967]. Более подробно метаболизм пуринов у простейших рассмотрен у Hitchings (1982).

Черви-шистосомы нуждаются в уже готовых пуринах, которые они превращают в нуклеотиды [Senft, 1970].

4.4. Метаболизм углеводов и липидов

А. Центральным звеном метаболизма углеводов является гликолиз, т. е. превращение глюкозы (или гликогена) в молочную кислоту, протекающий во всех живых клетках по схеме, открытой Meyerhof, Embden, Parasz и Cori. Кислород в этом процессе не участвует, а никотинамидадениндинуклеотид (НАД) восстанавливается за счет окисления аниона глицеральдегид-3-фосфата до фосфоенолпирувата. Образующийся при этом НАДН используется затем для восстановления пирувата в лактат. Процесс гликолиза состоит по меньшей мере из 11 стадий, на каждой из которых действует особый фермент. При

окислении одной молекулы глюкозы (или соответственно гликогена) образуется две или три молекулы АТФ.

За счет анаэробного обмена животные клетки могут существовать недолго. При свободном доступе кислорода превращение пировиноградной кислоты происходит уже по схеме Meueghof — она включает цикл трикарбоновых кислот (разд. 4.5), окисляясь до диоксида углерода и воды. Распад молекулы глюкозы происходит и через стадию образования пентозофосфата (у позвоночных), причем эти реакции протекают в разных тканях по-разному (см. ниже). Все молекулы рибозы, необходимые клетке для синтеза нуклеиновых кислот, образуются из пентозофосфата.

Сравнительные биохимические исследования здоровых и злокачественных клеток выявили довольно незначительные отличия между ними. Что касается гликолиза, то ферменты здоровых и опухолевых клеток даже иммунологически не отличаются друг от друга. Однако Warburg (1927) показал, что в опухолевых клетках окислительное фосфорилирование протекает менее интенсивно, а гликолиз, приводящий к повышенной выработке молочной кислоты, более интенсивно, чем в здоровых клетках. Важным отличием быстро делящихся опухолевых клеток является отсутствие в их цитоплазме глицерин-3-фосфатдегидрогеназы НАД-зависимого типа [Criss, 1973]. Оболочка солидных злокачественных опухолей обычно состоит из клеток, находящихся в состоянии гипоксии, на которые можно воздействовать нитроимидазолами (разд. 5.1).

Какие же отличия в гликолизе наблюдаются у беспозвоночных?

В мышцах насекомых гликолиз идет по схеме Meueghof лишь до стадии образования пирувата: НАДН, образовавшийся в процессе окисления триозофосфата, по-видимому, вновь окисляется в результате восстановления диоксиацетонфосфата в глицерофосфат [Chance, Sacktor, 1958]. Из сахаров в протоплазме насекомых содержится главным образом α,α -трегалоза (дисахарид глюкозы), играющая основную роль в системе транспорта глюкозы у насекомых [Wyatt, Kalf, 1957]. Обзор по биохимии насекомых см. Candy (1975).

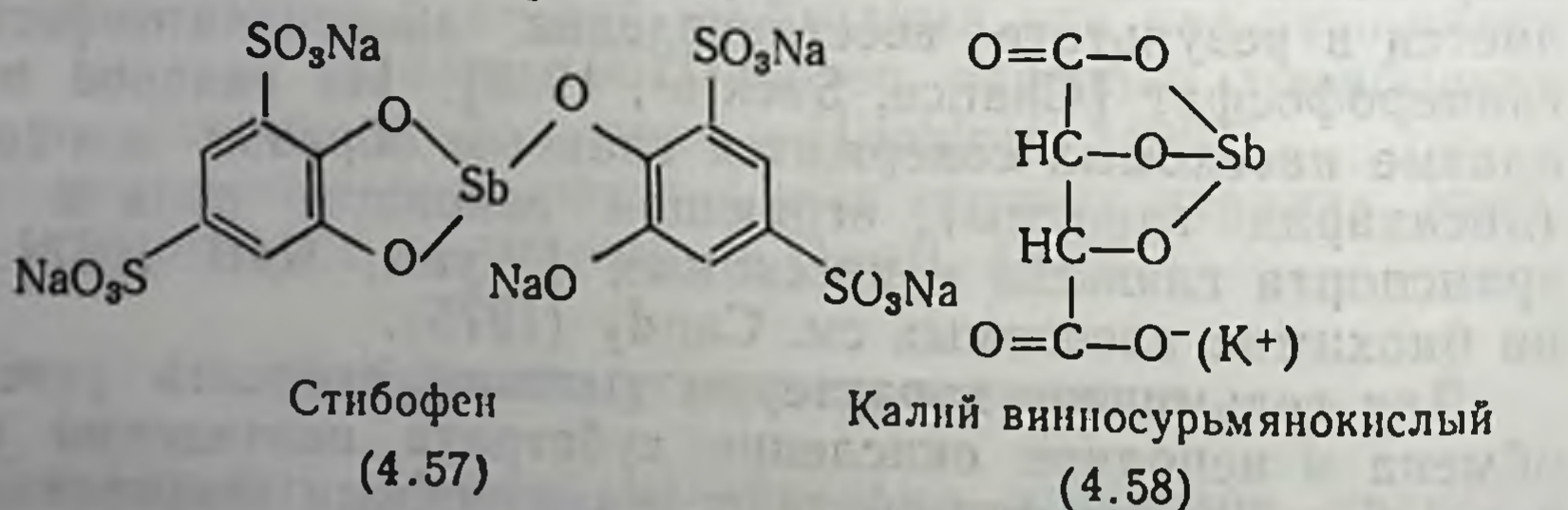
Для гельминтов характерны высокая скорость углеводного обмена и неполное окисление субстрата, независимо от того, в каких условиях они обитают — анаэробных (паразитирующие в кишечнике глисты) или аэробных (шистосомы). Метаболизм углеводов у нематод (например, *Ascaris*) и цестод (*Hymenolepis*), в отличие от их хозяев, доходит до образования сукцината (получающегося из пирувата через фумарат). Этот процесс сопряжен с образованием АТФ [Scheibel, Saz, 1966]. В метаболизме углеводов у гельминтов важную роль играют трегалозы. Обзор по биохимии гельминтов см. von Brand (1974).

Кинетические исследования лактатдегидрогеназы шистосом и мышцы кролика показали значительные различия в скоростях

Таблица 4.6. Ингибирование активности фосфофруктокиназы соединениями сурьмы [Mansour, Bueding, 1954]

Концентрация соединения сурьмы, М	Калий винносурьмянокислый (4.58)		Стибофен (4.57)	
	Фермент из <i>Schistosoma mansoni</i>	Фермент из мозга крыс	Фермент из <i>Schistosoma mansoni</i>	Фермент из мозга крыс
1×10^{-3}	100	32	100	0
5×10^{-4}	100	4	100	0
3×10^{-4}	100	0	85	0
1×10^{-4}	70	0	44	0
3×10^{-5}	32	0	0	0
1×10^{-5}	2	0	0	0

катализируемых этими ферментами реакций [Mansour, Bueding, 1953]; кроме того, оптимум рН для фермента шистосом ниже, чем для фермента кролика. Константа диссоциации комплекса фермент — пируват в 6—12 раз выше у шистосом, чем у млекопитающих. В табл. 4.6 приведены данные, указывающие на важное отличие еще одной пары ферментов-аналогов шистосом и млекопитающих: фосфофруктокиназа шистосом (фермент, превращающий фруктозо-6-фосфат в соответствующий дифосфат) значительно более чувствительна к действию соединений сурьмы, чем фермент-аналог млекопитающих. Успешное применение соединений сурьмы в терапии шистосомозов связано с избирательным блокированием этого фермента (более подробно о сурьме см. разд. 13.0). Фосфофруктокиназа определяет скорость гликолиза, поэтому ее блокирование приводит к накоплению субстрата (фруктозо-6-фосфата) и ингибированию всего процесса гликолиза, являющегося у паразита основным источником энергии [Mansour, Bueding, 1954; Bueding, Fisher, 1966]; другие методы лечения шистосомозов см. разд. 6.3.5.



Большинство простейших получают энергию при утилизации экзогенных кислот, а не из углеводов. У них отсутствует гексокиназа, а энергетическим резервом служит накопленный крахмал. Однако энергетика паразитирующих в кровяном русле форм африканских трипаносом полностью зависит от гликолиза глюкозы хозяина. Интенсивный анаэробный гликолиз живущих в крови высокоподвижных форм трипаносом обусловлен необычной дыхательной системой — в ней отсутствуют цитохромы, нет цикла лимонной кислоты и не генерируется АТФ. Вместо этого

паразиты окисляют образующийся при гликолизе NADH и превращают дигидроксиацетонфосфат в глицерин-3-фосфат. Конечный продукт гликолиза, пировиноградная кислота, образуется в результате действия двух ферментов — α -глицерофосфатдегидрогеназы (находящейся в микротельцах) и α -глицерофосфатоксидазы, находящейся в кинетопластах (одиночных митохондриях) [Fairlamb, Bowman, 1975]. Для первого фермента коферментом является, по-видимому, спермидин, представляющий удобную мишень для действия химиотерапевтических веществ в связи с тем, что он отсутствует у человека и животных [Vacchi, 1981] (см. также разд. 9.7 о химиотерапевтических средствах, подавляющих синтез спермидина).

Другой особенностью биохимии простейших является способность *Entamoeba histolytica* использовать в качестве кофермента фосфофруктокиназы пиродифосфат вместо привычного АТФ [Deeves, Serrano, South, 1976]. Основной путь утилизации глюкозы у этого паразита — образование пировиноградной кислоты из фосфоглюконата и из 3-дезоксид-2-оксо-6-фосфоглюконата [Flogkin, Mason, 1960].

У растений гликолиз также идет по пути Meueghof, однако существует не менее трех различных глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназ: одна из них реагирует с NAD, а две — с NADP (эти процессы связаны с фотосинтезом). В более старых растительных тканях существует и пентозофосфатный путь, по которому метаболизирует не менее 50% углеводов.

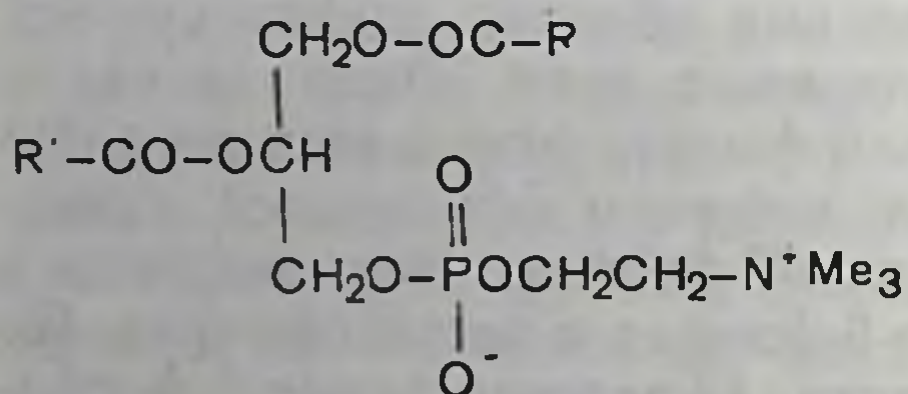
У бактерий путь Meueghof весьма обычен, однако существуют как минимум два альтернативных пути. Один из них — пентозофосфатный цикл: глюкозо-6-фосфат окисляется до рибулозо-5-фосфата, из двух молекул которого образуются глицеральдегид-3-фосфат и седогептулозо-7-фосфат. Эти фосфаты в свою очередь образуют фруктозо-6-фосфат и тетрозафосфат. По второму, более примитивному пути (3-дезоксид-2-оксо-6-фосфоглюконатный путь), глюкоза окисляется до глюконата без предварительного фосфорилирования. У бактерий, не способных утилизировать глюкозо-6-фосфат (например, у псевдомонад и аэробактера), предположительно используются пути, отличные от пути Meueghof.

При избытке питательных веществ многие бактерии запасают их в форме гликогена или β -гидроксимасляной кислоты, использующихся впоследствии в качестве источника энергии [Wilkinson, 1966]. Дрожжи и некоторые виды бактерий превращают пировиноградную кислоту не в молочную кислоту, а в этанол.

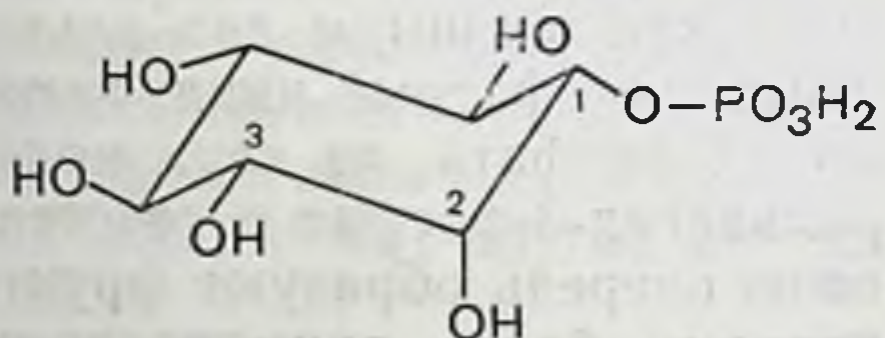
Б. Метаболизм липидов. Липиды можно разделить на жиры (триглицериды, сложные эфиры глицерина с тремя молями жирных кислот), стероиды и фосфолипиды, например фосфатидилхолин (лецитин) (4.59). Все природные фосфолипиды имеют L-конфигурацию атома C-3 глицерина. Каждый фосфолипид представляет собой не индивидуальное соединение, а целый на-

бор родственных по структуре веществ. Положение 2 лецитина обычно этерифицировано ненасыщенной, а положение 1 — насыщенной жирными кислотами с длиной цепи от C₁₆ до C₁₈. В положении 2 часто встречается кислота с двумя ненасыщенными связями (например, линолевая). Структурные изомеры лецитина — это встречающиеся в мозге фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин. В грибах, высших растениях и у животных присутствуют инозитолфосфаты, например (4.60). Около 35% липидов мозга и нервных волокон млекопитающих представлено плазмалогенами: по своей структуре они напоминают фосфатидилэтаноламин, однако в положении 1 находится остаток α,β -ненасыщенной кислоты, из которого при гидролизе образуется альдегид. Многие бактерии содержат фосфолипиды, этерифицированные аминокислотами [Macfarlane, 1962]. В жирных боковых цепях бактериальных фосфолипидов часто встречаются циклопропановое кольцо и разветвления.

У млекопитающих фосфолипиды синтезируются (из малых молекул, приносимых кровотоком) преимущественно в тех же тканях, в которых они используются. Разрушаются они целым набором фосфолипаз, секретируемых поджелудочной железой и кишечником. Плоские черви для синтеза своих триглицеридов и фосфолипидов используют липиды организма-хозяина, так как сами не способны синтезировать жирные кислоты. Их единственный стероид, холестерин, заимствован у хозяина [Meuer et al., 1970].



Фосфатидилхолин (лецитин)
(4.59)



Миоинозитол фосфат
(4.60)

Насекомые, так же как и плоские черви, не способны синтезировать стероиды и получают холестерин из растительных стероидов — стигмастерина и ситостерина. Так как большинство живых организмов синтезирует стероиды *de novo*, ферменты насекомых, превращающие растительные стероиды в холестерин, представляют собой очень удобную мишень для избирательного воздействия.

Стероиды грибов по своей природе являются растительными, а не животными, что и учитывается в избирательной химиотерапии (разд. 14.3).

Окисление жиров происходит у всех типов клеток в митохондриях и осуществляется в классической форме β -окисления до ацетилкофермента А. Некоторые клетки имеют в запасе

один или два вспомогательных механизма обмена. Поскольку при метаболизме жиров воды образуется вдвое больше, чем при метаболизме углеводов и белков, для клеток, живущих под угрозой частого и внезапного обезвоживания, характерен высокий уровень обмена жиров, в частности для нематод [Baldwin, 1948b].

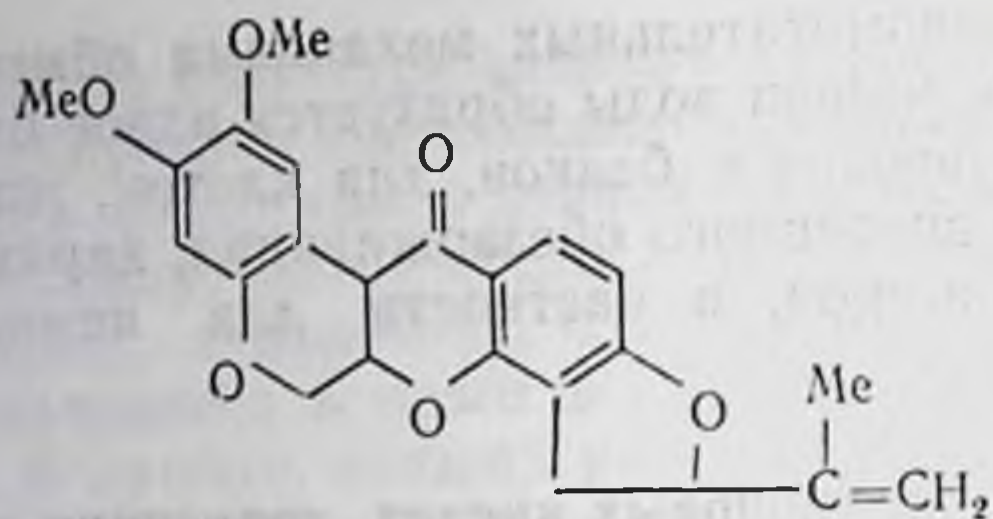
4.5. Цикл трикарбоновых кислот, транспорт электронов

Большая часть энергии, заключенной в углеводах и жирах, после гликолиза и β -окисления остается все же неиспользованной. Ее дальнейшее высвобождение возможно только в присутствии достаточного доступа кислорода к клеткам. Аэробные клетки используют для этой цели ацетил-КоА, образующийся при метаболизме липидов, а также из пировиноградной кислоты при аэробном гликолизе. Ацетил-КоА служит «топливом» для цикла трикарбоновых кислот (синонимы: цикл лимонной кислоты, цикл Кребса), в котором он превращается в диоксид углерода и воду с выделением энергии. Бактерии превращают пировиноградную кислоту в ацетил-КоА через ацетилфосфат, тогда как позвоночные животные используют другой набор ферментов и другое промежуточное соединение — аденилацетат.

В противоположность существовавшим ранее представлениям все бактерии и дрожжи используют цикл трикарбоновых кислот в качестве главного пути полного окисления. У некоторых видов бактерий (например, *E. coli* и *Pseudomonas aeruginosa*) и грибов (например, *Aspergillus* и дрожжи) имеется небольшое отклонение от обычного цикла: изоцитрат превращается в сукцинат и глиоксалат; последний димеризуется с образованием малата, который, как и сукцинат, является одним из нормальных промежуточных продуктов цикла. Паразитирующие в кровяном русле формы многих видов трипаносом не имеют цикла трикарбоновых кислот, так как у них отсутствуют митохондрии.

В цикле трикарбоновых кислот образуется большое количество восстановленных форм нуклеотидов аденина, связанных с никотинамидом (NAD и NADP) и рибофлавином (FP). Регенерация этих коферментов происходит в результате переноса электронов от восстановленных форм к кислороду воздуха. Почти во всех живых клетках этот транспорт осуществляется посредством всей или части цитохромной дыхательной цепи (разд. 5.4.3). У большинства организмов, у которых отсутствуют все цитохромы, аэробный метаболизм играет ничтожную роль. У млекопитающих показаны лишь небольшие различия ферментов цикла. У крыс, например, аконитатгидратазы в сердечной мышце в шесть раз больше, чем в скелетной [Dixon, Webb, 1979].

Ингибиторы дыхательной цепи. Концевым компонентом этой цепи служит цитохромоксидаза, мощным и специфическим ингибитором которой является цианид-ион.



Ротенон
(4.61)

Ротенон (4.61), инсектицид растительного происхождения, в концентрации 10^{-8} М блокирует окисление NADH в дыхательной цепи, замещая в NADH-дегидрогенезе убихинон [Gutman et al., 1971]. Ротенон предотвращает окисление пирувата и глутамата, но не сукцината. Высокочувствительны к ротенону рыбы, а в организме млекопитающих происходит его быстрое метаболическое окисление, что и обеспечивает им избирательную защиту. Однако изолированные митохондрии млекопитающих чувствительны к его действию [Ernster et al., 1963]. Обзор по ротенону см. Yamamoto (1970).

Хорошей избирательностью обладает почвенный фунгицид пара-диметиламинобензолдиазосульфонат натрия (дексон), ингибирующий окисление NADH в митохондриях гриба *Pythium ultimum*. Жуки-носороги сахарного тростника, которых этот грибок поражает, имеют в своих митохондриях фермент, разрушающий этот фунгицид [Tolmsoff, 1962].

Многие простые молекулы могут разобщать окисление и фосфорилирование, в результате чего энергия окисления питательных веществ не может накапливаться в виде АТФ. Известны три класса разобщающих агентов: жирорастворимые слабые кислоты, алкилирующие агенты и жирорастворимые сильные основания. Механизм действия фенола и других слабых кислот, представителей самого многочисленного на сегодняшний день класса разобщающих агентов, заключается в переносе иона водорода через внутреннюю мембрану митохондрий, что приводит к падению потенциала покоя до нуля [Schegger, Howard, 1977]. Точно так же падает и потенциал искусственных мембран из митохондриальных липопротеидов [Büchel, Schäfer, 1970]. Примеры использования разобщающих веществ, например 2,4-динитрофенола, в качестве избирательных противогрибковых средств приведены в разд. 10.5.

Высокоактивные фунгициды — соли триалкилолова (R_3Sn^+) — действуют, по-видимому, на окислительное фосфорилирование в митохондриях [Aldridge, 1958]. Из них распространение получило наименее токсичное для млекопитающих трибутилово.

Поскольку многие из противовоспалительных средств, например салицилаты, — активные разобщающие агенты окислительного фосфорилирования в митохондриях, ранее считали, что их

противовоспалительное действие является результатом такого разобщения. Однако сильный разобщающий агент 2,4-динитрофенол таким действием не обладает. Противовоспалительное действие салицилатов в действительности связано с их антипростагландиновой активностью (разд. 4.7).

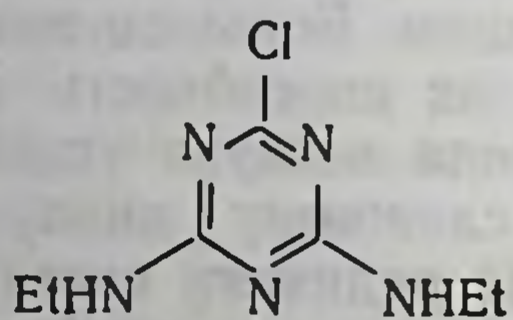
Терминальные участки дыхательных цепей у некоторых бактерий [Dolin, 1961], простейших (трипаномы) [Grant, Sargeht, Ryley, 1961] и гельминтов (*Ascaris*) [Kmetec, Bueding, 1961] нечувствительны к летальным для клеток млекопитающих концентрациям цианидов и антимицина А. Совершенно очевидно, что они могут обходиться без участка дыхательной цепи, расположенного после цитохрома *b*, однако проявляют особую чувствительность к аналогам витамина К, например к 2-гидрокси-3-(2'-метилоктил)-1,4-нафтохинону.

4.6. Фотосинтез

Все зеленые растения и некоторые непатогенные бактерии обладают способностью расщеплять воду на водород и кислород, используя для этого солнечный свет. Растения выделяют кислород в атмосферу, способствуя восстановлению нормального состава воздуха, которым мы дышим. Большое значение для жизнедеятельности растений имеет их способность синтезировать из водорода и двуокиси углерода воздуха углеводы, белки и даже жиры по чрезвычайно сложному циклу реакций. Фотосинтез начинается с поглощения видимого света квантосомами (агрегаты из примерно 200 молекул хлорофилла), расположенными в хлоропластах (разд. 5.4). Это приводит к фотолизу воды, в результате которого образуются водородные радикалы, необходимые для процессов восстановления, и электроны — для восполнения потери электронов хлорофиллом. Эта стадия процесса носит название реакции Хилла.

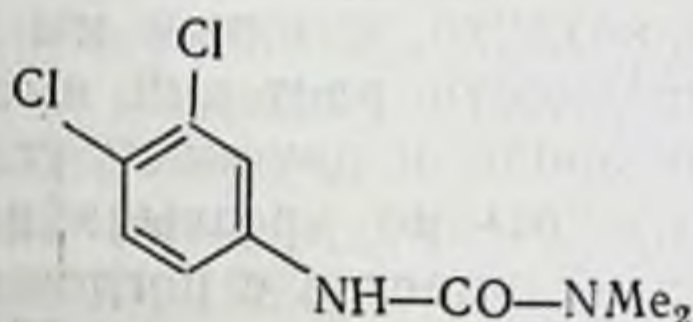
Возбужденные светом молекулы хлорофилла восстанавливаются в хлоропластах ферредоксин до форм с необычно низким потенциалом (около — 400 мв). Этот процесс переноса электронов от молекул воды используется для восстановления НАДФ и фосфорилирования АДФ и АТФ. Затем эти кофакторы переносят энергию солнечных лучей к сложному циклу синтетических реакций, в которых роль важных промежуточных продуктов играют рибулоза и седогептулоза. Большая часть этих реакций ведет к образованию глицеральдегид-3-фосфата (и, следовательно, далее к крахмалу и пировиноградной кислоте). Более подробно о фотосинтезе можно прочесть у Govindjee (1982). У красных водорослей первичным акцептором световой энергии является не хлорофилл, а фикоэритрин, а у сине-зеленых (в настоящее время их относят к бактериям) — фикоцианин. Эти пигменты, производные пиррола, в процессе эволюции являлись, по-видимому, предшественниками фитохрома (разд. 4.7).

Гербициды. В последние годы были разработаны многочисленные гербициды, избирательно нарушающие процесс фотосинтеза на стадии реакции Хилла и, следовательно, совершенно безвредные для млекопитающих. Из этих гербицидов наиболее широко используют триазины, например симазин (4.62), нетоксичный для млекопитающих в любых дозах. На изолированных хлоропластах действие триазинов проявляется в тех же концентрациях (10^{-7} М), что и гербицидная активность. Хлебные злаки абсорбируют симазин, но обезвреживают его, гидролизуя хлор в положении 2 до гидроксигруппы [Gysin, 1962]. Симазин широко используется для борьбы с сорняками на кукурузных полях. В то время как на большинство овощных культур триазины оказывают неблагоприятное действие, ягодные и садовые кустарники, а также розы не повреждаются. В настоящее время уничтожение сорняков химическим способом с помощью триазинов стало обычным явлением. Эти гербициды (а также монурон, см. ниже) не разрушаются бактериями и остаются в почве в течение нескольких лет. Ингибирующие реакцию Хилла гербициды обратимо связываются с мембраной хлоропластов поблизости от вторичного акцептора электронов хинона В и блокируют перенос электронов [Tischer, Strotmann, 1977].



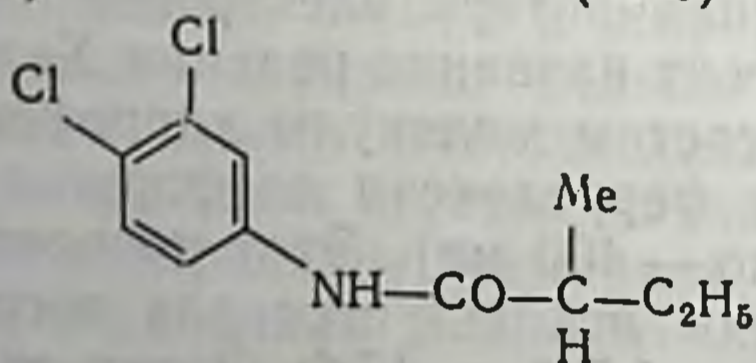
Симазин
(4,6-Бисэтиламино-
2-хлор-1,3,5-триа-
зин)

(4.62)



Диурон
[1,1-Диметил-
3-(3,4-дихлор-
фенил) мочевины]

(4.63)



[N-(3,4-Дихлорфенил)-
2'-метилбутирамид]

(4.64)

К широко распространенным гербицидам, в основе действия которых лежит ингибирование реакции Хилла, относятся фенолмочевины, ациланилиды и урацилы, например бромацил. Из производных мочевины наиболее активен диурон, 1,1-диметил 3-(3,4-дихлорфенил) мочевины (4.63), однако все еще применяется синтезированный ранее и несколько менее эффективный 4-монохлор-аналог, монурон. Из амидов самый сильный гербицид N-(3,4-дихлорфенил)-2-метилбутирамид (4.64). Активность

этих соединений связана с наличием свободной имино- и карбонильной групп, боковой цепи определенной длины и заместителя в положении 4- (предпочтительнее 3,4-) бензольного кольца. Наилучшие заместители — галоген, метокси- или метильная группа [Good, 1961; Verloop, Hoogenstraaten, Tipker, 1976].

В районах, где почва подвержена эрозии и нельзя проводить предварительную вспашку, применяют контактные гербициды типа производных бипиридила. Эти гербициды остаются в почве в месте внесения, поэтому границы обработанных ими участков отчетливо видны по отсутствию сорняков. Наиболее эффективное производное бипиридила — паракват (дихлорид-1,1-диметил-4,4- — бипиридила) (4.65). Это соединение, под названием метилвиологен, долгое время использовали в качестве индикатора низких окислительно-восстановительных потенциалов. Будучи бесцветным, метилвиологен превращается в стабильный свободный радикал фиолетового цвета при понижении потенциала до -446 мв [Michaelis, Hill, 1933].

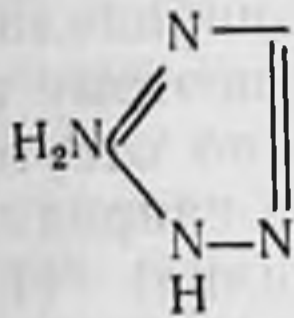
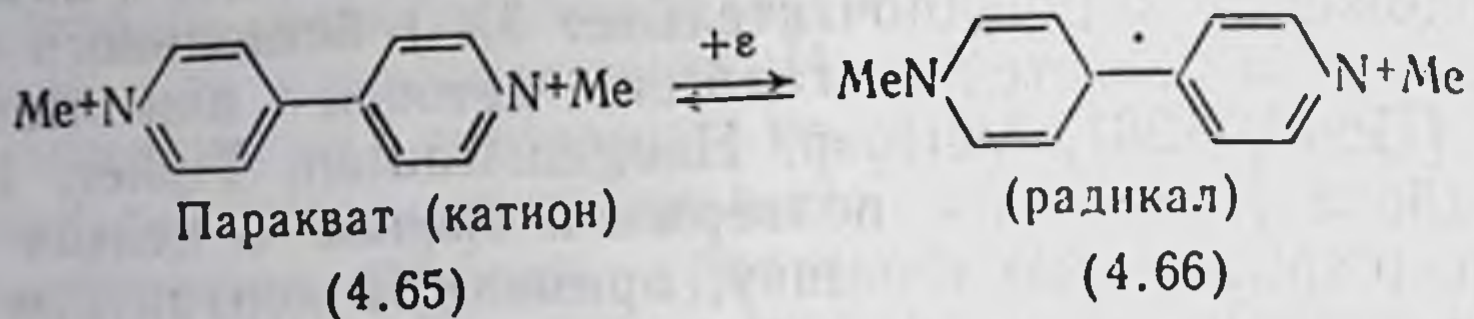
3,3'-Бипиридилные аналоги параквата не проявляют гербицидной активности; для этого нужна структура, способная стабилизировать образующийся при восстановлении свободный радикал. Для стабилизации требуется копланарность молекулы, поэтому в структурах типа (4.66) кольца могут обмениваться неспаренным электроном (обозначен жирной точкой) и положительным зарядом, и стабилизация возникает за счет резонанса между одинаковыми каноническими формами [Bain, 1965].

Затем было установлено, что чем ниже потенциал восстановления соединения, тем меньше свободных радикалов образуется в растениях. Когда результаты биологических испытаний были пересчитаны с учетом количества образующихся свободных радикалов, токсичность всех этих соединений оказалась одинаковой [Homer, Mees, Tomlinson, 1960]. Высокую гербицидную активность проявляют соединения с E_0 между -300 и -500 мв. Весьма вероятно поэтому, что они восстанавливаются до свободных радикалов ферредоксином.

Эти гербициды быстро проникают в хлоропласты и гибель растения наступает при достижении соотношения молекул параквата и хлорофилла 1:100 [Baldwin, Clarke, Wilson, 1968]. Такая концентрация губительна для растений только на свету; в темноте, а также при недостатке кислорода или хлорофилла они не повреждаются.

Свободные радикалы пиридила сами не являются причиной гибели растений, они лишь дают начало целому циклу окислительно-восстановительных реакций. В результате образуется много перекиси водорода, а также супероксидный радикал, который и считается истинно токсическим агентом [Fridovich, 1975]. Хотя при правильном использовании паракват совершенно безвреден, перорально в больших дозах он может вызвать фиброз легких, приводящий иногда к смерти. О бипиридилных гербицидах см. Summers (1980).

Другой избирательный гербицид, блокирующий синтез хлорофилла, — 3-амино-1,2,4-триазол (4.67) (разд. 9.4.6).



3-Амино-1,2,4-триазол
(4.67)

4.7. Гормоны и феромоны

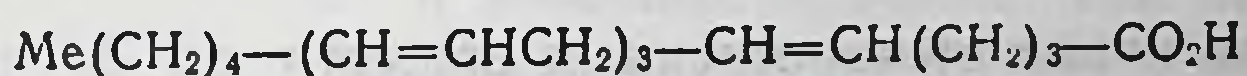
4.7.1. Гормоны позвоночных

Как известно, гормоны позвоночных оказывают действие на беспозвоночных и наоборот. Из простейших, кольчатых червей, моллюсков и членистоногих были выделены вещества, действующие аналогично адреналину на сердце лягушки [Wense, 1939]. В свою очередь, чистый адреналин вызывает усиление мышечного тонуса у кольчатых червей, моллюсков и членистоногих. Из простейших, кишечнополостных, кольчатых червей, моллюсков и иглокожих были выделены соединения, обладающие эстрогеноподобным действием на позвоночных [Steidle, 1930]. Различные химические соединения, находящиеся в окружающей среде или образующиеся при распаде питательных веществ, в организме часто начинают выполнять роль мессенджеров, функции которых в процессе эволюции становятся все более специфичными. Так, глицин, не проявляющий гормональной функции у растений и, возможно, у червей, представляет собой один из важнейших медиаторов ЦНС человека. Зрелые особи *Schistosoma mansoni* используют в качестве медиатора 5-гидрокситриптамиин, содержащийся у них в высоких концентрациях. Однако они не синтезируют его сами, а получают от организма-хозяина [Bennett, Bueding, 1973].

В последнее время большое внимание привлекают простагландины (эйкозаноиды), вторичные мессенджеры, открытые von Euler в 1934 г. У млекопитающих они преобразуют информацию, которую несут гормоны или нейромедиаторы, в соответствующий физиологический ответ. Обычно они действуют сильно, но кратковременно, так как быстро разрушаются специфическими дегидрогеназами. Некоторые из простагландинов обладают стимулирующим действием, иногда даже раздражаю-

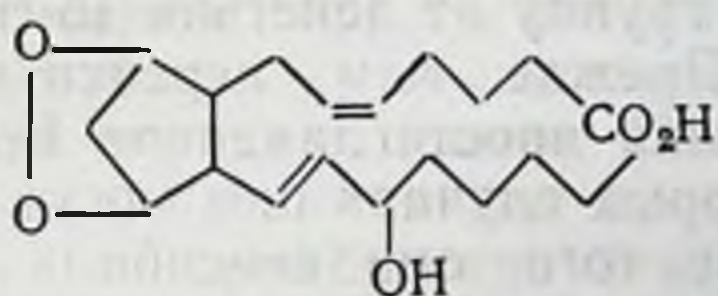
шим, тогда как другие способствуют процессам заживления. Исходным соединением для их биосинтеза является линолевая кислота, содержащаяся в продуктах питания. Она превращается в арахидоновую кислоту (4.68) (алифатическую кислоту, содержащую цепь из 20 атомов углерода с четырьмя двойными связями), накапливающуюся в составе фосфолипида клеточной мембраны и при необходимости высвобождающуюся оттуда под действием фосфолипазы А₂. Метаболизм арахидоновой кислоты может протекать по двум путям. По первому пути под действием циклооксигеназы из нее образуется ключевой промежуточный продукт — эндопероксид (4.69), из которого под действием простагландинсинтетазы образуются простагландины серии Е и F. Так, простагландин Е₂ (8R, 11R, 12R, 15S)-11,15-дигидрокси-9-оксопроста-5,13-диеновая кислота) (4.70) образуется просто в результате изомеризации.

У простагландинов серии Е в положении 11 находится гидроксильная, а в положении 9 — оксогруппа. Простагландины серии F имеют две гидроксильные группы в положениях 9 и 11. И те, и другие имеют гидроксильную группу в положении 15. С-5 и С-6 атомы простагландинов с индексом «2» связаны дополнительной двойной связью.



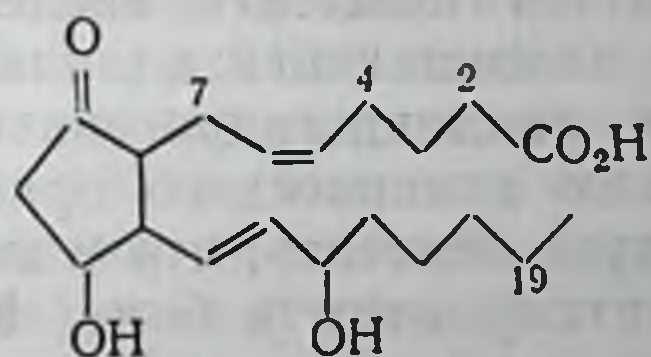
Арахидоновая кислота
(эйкозантетраеновая кислота)

(4.68)



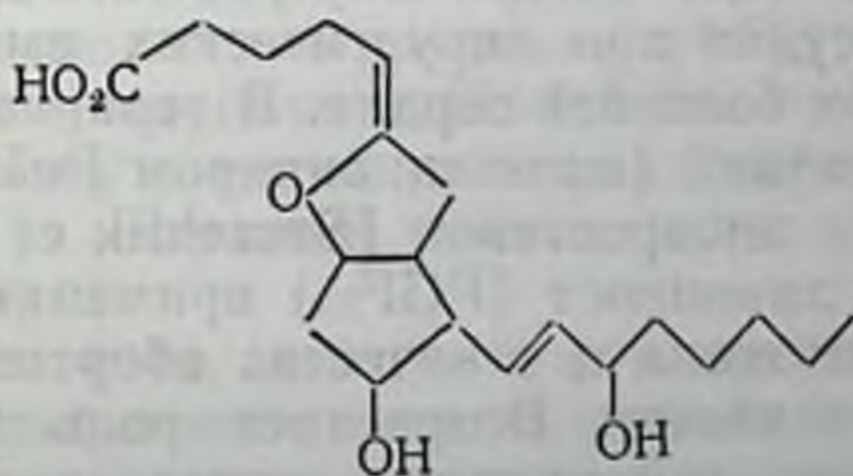
Эндопероксид PGG₂

(4.69)



Простагландин Е₂ (динопростол):

(4.70)



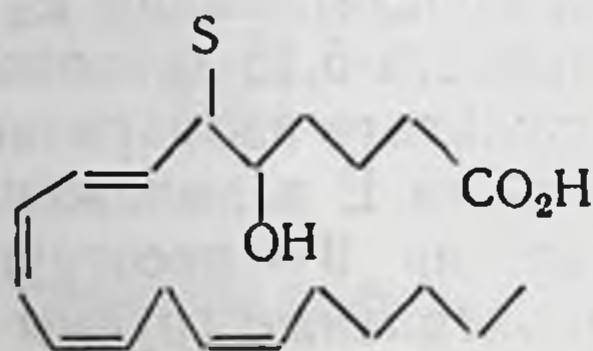
Эпопростенол (простациклин)

(4.71)

Под действием фермента — тромбоксансинтетазы из циклического эндопероксида (4.69) образуется тромбоксан А₂, ответст-

венный за образование тромбов в сосудах. В свою очередь, третий фермент (простациклинсинтетаза) превращает этот же пероксид в эпопростенол [простациклин, (5Z, 13E)-(8R, 9S, 11R, 12R, 15S)-11,15-дигидрокси-6,9-эпоксипроста-5,13-диеновую кислоту] (4.71), препятствующий тромбообразованию. Время полураспада простациклина в воде при 37 °С около 3 мин.

По второму пути арахидоновая кислота под действием целого набора липоксигеназ превращается в ряд лейкотриенов типа (4.72) [Murphy, Hammarström, Samuelsson, 1979]. Эти соединения вызывают более длительное, чем гистамин, воспаление и считаются ответственными за большинство неприятных симптомов при астме.



Лейкотриен С

(4.72)

Создание новых лекарственных веществ на основе простагландинов осложняется нестабильностью последних, а также их способностью вызывать полезные или вредные эффекты в зависимости от места действия. Стабильность синтетических аналогов удается повысить введением в положение 15 метильной группы, защищающей аллильную группу от действия 15-гидроксипростагландиндегидрогеназы. Прежде чем перейти к рассмотрению клинического применения простагландинов E₁, E₂ и F₂, следует отметить, что в некоторых случаях они могут вызывать эритему, отек и боль. Кроме того, они сенсибилизируют болевые рецепторы к действию таких соединений, как гистамин, брадикинин и лейкотриен С [Ferreira, Vane, 1974].

Алпростадил (PGE₁) вводят внутривенно для предупреждения дилатации сосудов при хирургических вмешательствах по поводу врожденных болезней сердца. В терапии периферических сосудистых заболеваний (ишемия, синдром Рейно) его в настоящее время заменил эпопростенол [Szczeklik et al., 1979]. Динопростон (PGE₂) и динопрост (PGF_{2a}) применяют в родовспоможении вместо окситоцина и в качестве abortивных средств во II триместре беременности. Возрастает роль эпопростенола и его более длительно действующих синтетических аналогов в предотвращении тромбозов [Moncada, Vane, 1978]. Эпопростенол используют для приготовления и хранения тромбоцитов.

Некоторые синтетические простагландины, например доксапрост, применяют в клинике в качестве бронхорасширяющих средств при астме. Аналоги эпопростенола проходят клинические испытания в качестве лекарственных средств для уменьше-

ния желудочной секреции и лечения больных язвенной болезнью.

С простагландинами связано и установление еще одного, важного для терапии, факта, а именно: противовоспалительное действие многих веществ, сильно отличающихся друг от друга своим химическим строением, в действительности связано с их способностью ингибировать различные ферменты, участвующие в метаболизме арахидоновой кислоты. Это стало очевидным после открытия Vane (1971), показавшего, что противовоспалительное действие ацетилсалициловой кислоты (4.73) связано с ее способностью ингибировать биосинтез PGE_2 (4.70). Это ингибирование проявляется в значительно более низких концентрациях, чем необходимо для разобщения фосфорилирования. Таков же механизм действия и других нестероидных противовоспалительных средств — индометацина (4.74), ибупрофена (4.75) и мефенамовой кислоты [Ferreira, Vane, 1974]. Аналогично ибупрофену, представителю лекарственных веществ — производных 2-фенилпропионовой кислоты, действует и напроксен (нафтилпропионовая кислота). Все эти лекарственные вещества действуют эффективнее ацетилсалициловой кислоты, однако у них ярче выражены и побочные эффекты. Так как артриты и ревматизм часто дают ремиссии, провести объективное сравнение действия этих препаратов трудно.

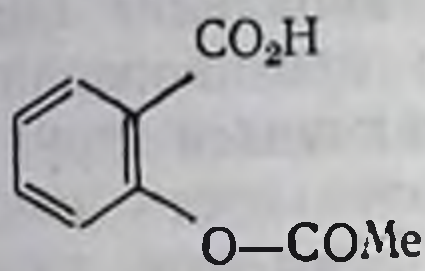
Все они необратимо ингибируют простагландинсинтетазу в ткани-мишени. Считают, что с этим связаны вызываемые их высокими дозами желудочные кровотечения. Частично в этом и заключается «простагландиновый парадокс»: вещества повреждают желудок, но нормализуют функционирование тканей, пораженных ревматизмом [Flower, 1974]. Ацетилсалициловую кислоту применяют и для профилактики инфарктов: ингибируя образование тромбоксана (см. выше), она уменьшает свертываемость крови.

В разд. 10.3.6 обсуждается зависимость активности нестероидных противовоспалительных веществ от степени их ионизации. Весьма вероятно, что пироксикам (4.76) [4-гидрокси-2-метил-3-N-(пирид-2-ил)-карбамоил-2Н-1,2-бензотиазин] действует по другому механизму — ингибирует циклооксигеназу (см. выше) и восстанавливает миграцию лейкоцитов в область суставов [Carty et al., 1980].

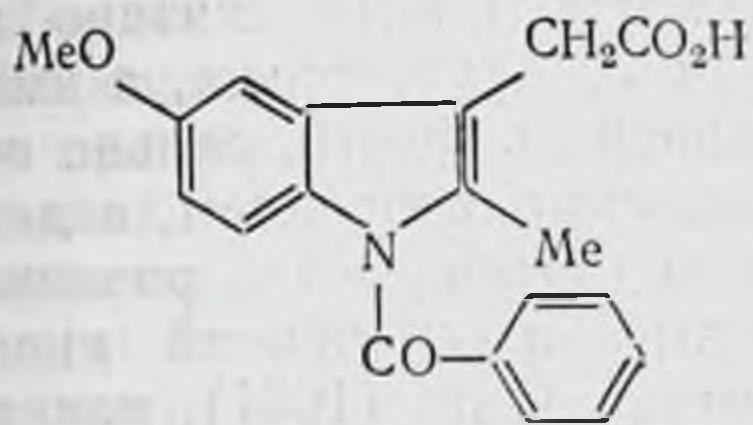
Анальгетики мягкого действия фенацетин и парацетамол, а также ацетилсалициловая кислота в дозах, снимающих головную боль, не влияют на синтез простагландинов.

Биосинтез простагландинов ингибируется и такими кортикостероидами, как гидрокортизон, но механизм ингибирования иной. Они действуют на ДНК, вызывая синтез полипептида, известного под названием макрокортин (ОММ 15 000). Этот полипептид ингибирует фосфолипазу, вызывающую, как уже отмечалось выше, выделение арахидоновой кислоты из мембраны [Blackwell et al., 1980].

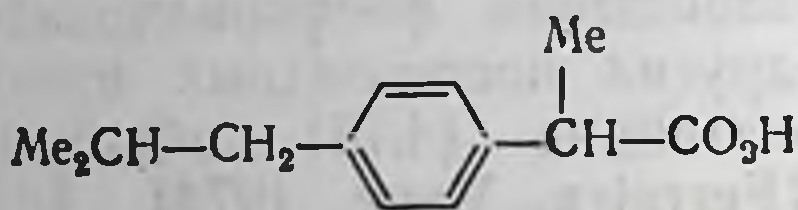
Другие гормоны позвоночных рассматриваются в разд. 9.1, 9.4.2, 12.2 и 12.4.



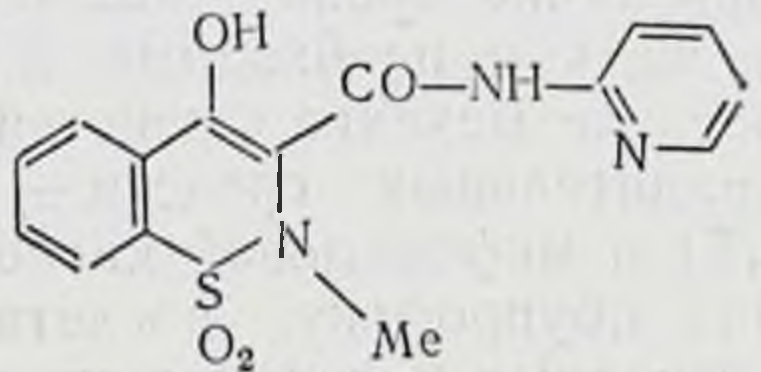
Ацетилсалициловая кислота
(4.73)



Индометацин
(4.74)



Ибупрофен
(4.75)



Пироксикам
(4.76)

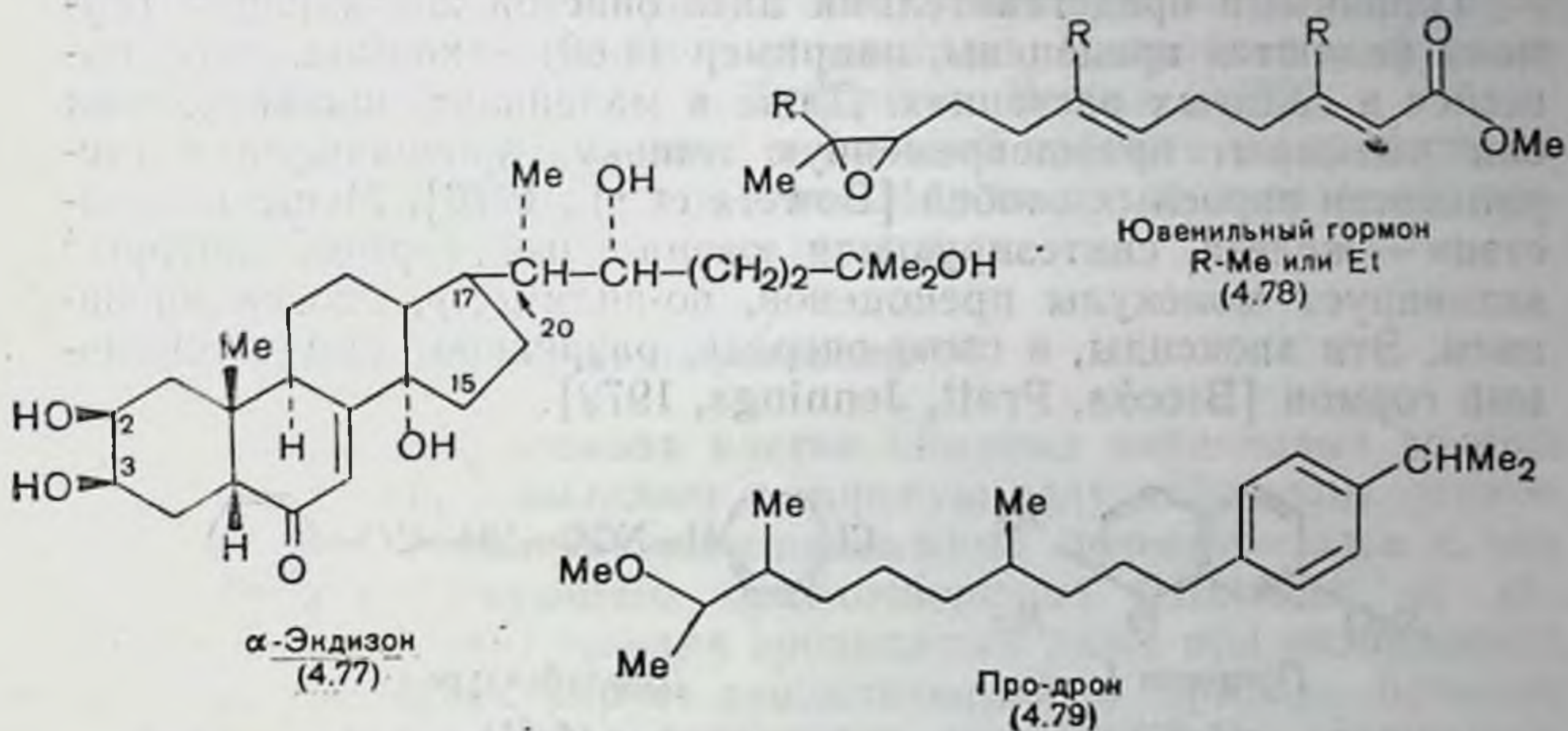
4.7.2. Гормоны насекомых и феромоны

У насекомых контроль большинства физиологических процессов осуществляется специфическими гормонами. Изучение этих гормонов с точки зрения избирательной токсичности имеет две цели: во-первых, изучение природы гормонов и разработка экономичных методов их синтеза для применения в количествах, обеспечивающих нарушение метаболизма у насекомых; во-вторых, синтез аналогов, обладающих антагонистическим действием (разд. 9.1), для использования их в качестве инсектицидов.

Специфические гормоны насекомых следующие: α -экдизон, гормон линьки, образующийся в железах, расположенных в переднегруди насекомых; гормон мозга, стимулирующий деятельность желез переднегруди; ювенильный гормон, вырабатываемый в сохрога *allata* и стимулирующий метаморфоз; гормон, выделяемый сохрога *cardiacum*, увеличивающий амплитуду сокращений сердечной мышцы и перистальтику кишечника, и адипокинетический гормон, регулирующий метаболизм липидов — главного источника энергии для полета [Stone et al., 1976].

Экдизон (4.77) обладает некоторыми особенностями структуры, не встречающимися у стероидных гормонов млекопитающих: кольца А и В сконденсированы в цис-положении, у атома С-2 находится гидрофильный заместитель, кроме того, в α -части цепи (С₃—С₁₅) также содержатся гидрофильные заместители, а у С₁₇ — очень длинная боковая цепь (подробнее о стероидах

см. разд. 12.2). Существенной для наличия активности является кето-группа в положении 6. Крустэкдизон, гормон линьки ракообразных, встречающийся также в некоторых насекомых, представляет собой 20-гидроксиэкдизон. Соединения группы экдизонов можно получать в достаточных количествах из растительных продуктов. Несмотря на то что при инъекционном введении многие аналоги экдизона обладают инсектицидной активностью, они практически не находят применения из-за того, что не проникают через кутикулу насекомых. Сами насекомые не могут синтезировать эти гормоны, как и любые другие стероиды, *de novo*, и вынуждены получать с пищей промежуточные для их синтеза продукты [Lasser, 1966]. Эта особенность насекомых — мишень для избирательного воздействия.

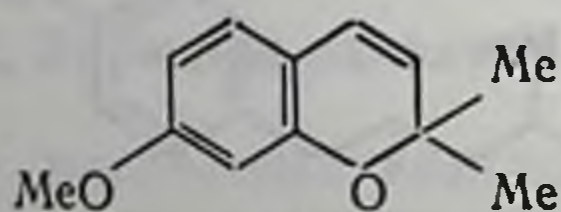


Ювенильный гормон (4.78) — простое по структуре алифатическое соединение — метиловый эфир транс, транс-3,11-диметил-10-эпокси-7-этилтридека-2,6-диеновой кислоты [Röller et al., 1967]. Активность его в основном определяется конфигурацией С-1 конца молекулы.

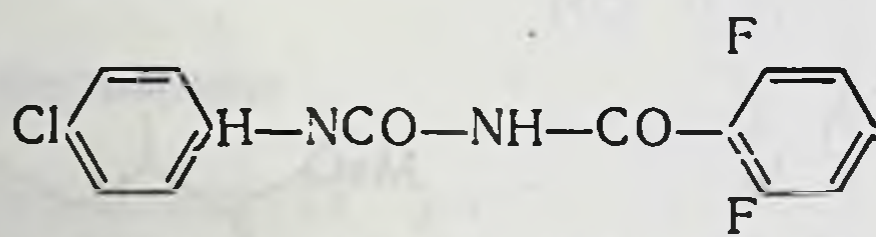
При создании миметиков (агонистов) ювенильного гормона было установлено, что нестабильность подобных соединений связана с наличием эпоксидного цикла. Поэтому в дальнейшем он был исключен из молекулы. Типичные миметики на конце цепи рядом с двойной связью чаще всего содержат эфирную группу, находящуюся в транс-положении по отношению к алкильной цепи. Таково, например, строение метопрена — изопропилового эфира (2Е, 4Е)-11-метокси-3,7,11-триметилдодека-2,4-диеновой кислоты. Метопрен используют для борьбы с москитами и навозными мухами, его применяют в виде полиамидных гранул, из которых он медленно диффундирует. Основное действие агонистов ювенильного гормона заключается в том, что они задерживают развитие насекомых на стадии личинки, наносящей наибольший вред. Поэтому эти миметики применяют главным образом для борьбы лишь с теми видами насекомых,

у которых наибольший вред причиняют именно взрослые особи, например москитами и мухами. Структурный аналог ювенильного гормона «Про-дрон» (4.79) отличается от гормона наличием в молекуле бензольного кольца и отсутствием двойных связей и обладает совершенно другим типом действия [Schwartz, Miller, 1979]. Хотя это соединение вначале испытывали как средство борьбы с комнатными мухами, оно оказалось эффективным против муравьев Рихтера. Попав с пищей в передний желудок муравьев, оно сохраняется там в течение нескольких месяцев и в результате число рождений трутней (самцов) превышает число рождений рабочих особей, вследствие чего муравьи вымирают от голода. Никаких побочных эффектов для людей, птиц и рыб у этого соединения не обнаружено.

Типичными представителями антагонистов ювенильного гормона являются прецоены, например (4.80) — хромон, содержащийся в садовых растениях. Даже в малых концентрациях они вызывают преждевременную линьку, приводящую к стерильности взрослых особей [Bowers et al., 1976]. Место их действия — железа, синтезирующая ювенильный гормон, который активирует молекулы прецоенов, по-видимому, эпоксицированием. Эти эпоксиды, в свою очередь, разрушают сам ювенильный гормон [Brooks, Pratt, Jennings, 1979].



Прецоен I
(4.80)



Дифлубензурон
(4.81)

Один из наиболее широко применяемых антагонистов гормонов насекомых дифлубензурон (4.81) [3-(2,6-дифторбензоил)-1-(4-хлорфенил)мочевина], ингибирует образование фермента, превращающего УДФ-ацетилхитозамин в хитин, прекращая тем самым линьку мух и москитов. Кроме того, он блокирует созревание яиц и поэтому такие насекомые, как мухи цеце, откладывающие живые личинки, не дают жизнеспособного потомства. Для человека дифлубензурон безвреден [Jordan, Trevern, 1978].

Опубликованы обзоры по физиологии гормонов насекомых [Novak, 1975] и по биохимии насекомых [Candy, Kilby, 1975].

Феромоны насекомых — средства информации между особями — выделены из многих видов. Эти высокоспецифичные соединения эффективны даже в следовых количествах. Чаще всего это алифатические соединения, как, например, додекатриен-1-ол — вещество, которым термиты отмечают свой путь. Однако городские муравьи секретируют метиловый эфир 4-метилпиррол-2-карбоновой кислоты, а феромоны некоторых муравьев и жуков являются производными пиазина [Baglin, 1982].

Феромоны другого типа — половые аттрактанты — секретируются только самками. Самка тутового шелкопряда выделяет 10-транс-12-цис-гексадека-10,12-диен-1-ол, самки непарного шелкопряда — цис-2-метил-7,8-эпоксиоктадекан, а самки бабочки хлопковой совки — 10-пропилтридека-5,9-диенол.

«Королевская субстанция», которая выделяется железой, расположенной в нижней челюсти пчелы-матки, и останавливает развитие личинок пчел на стадии рабочих особей, представляет собой транс-9-оксо-дека-2-еновую кислоту: $\text{CH}_3\text{CO}(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CHCOOH}$.

Феромоны насекомых применяют как в качестве приманок к отравленным ловушкам, так и с целью нарушения полового поведения насекомых. Однако их применение ограничено прежде всего высокой специфичностью к определенному виду насекомых, а также их высокой стоимостью. Подробнее о феромонах см. Rothschild (1981) и Kydonieus, Veroza (1982).

Процесс развития самцов пустынной саранчи ускоряется, если насекомые собираются в стаю. Можно предполагать, что этому способствуют летучие стимулянты.

4.7.3. Феромоны и гормоны растений

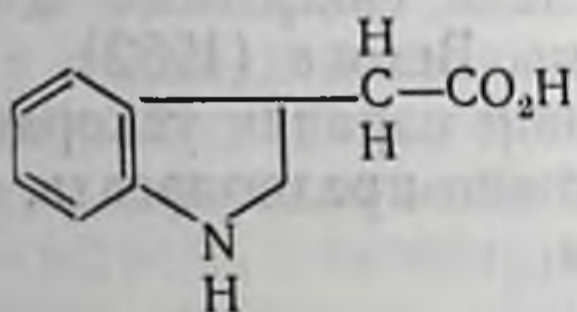
Женская зародышевая клетка обычных коричневых водорослей (*Fucus* spp.) выделяет в морскую воду небольшие количества гексана, привлекающего подвижных сперматозоидов и, тем самым, способствующего оплодотворению [Hlubisek et al., 1970]. Это действие гексана проявляется даже при разбавлении 1:10 млн и иллюстрирует существующий в природе принцип отбора специфически действующих веществ: если соединение, каким бы простым по своему строению оно ни было, может выполнять роль полезного сигнала в биологической системе, то естественный отбор будет направлен на сохранение специфичности его действия в качестве мессенджера.

Мужские особи гриба *Achyra* секретируют гормон оогонин, вызывающий образование у женских особей побегов, содержащих яйца. Этот гормон — стероид с атомами кислорода в положениях 7 и 15 [McMoggis et al., 1975].

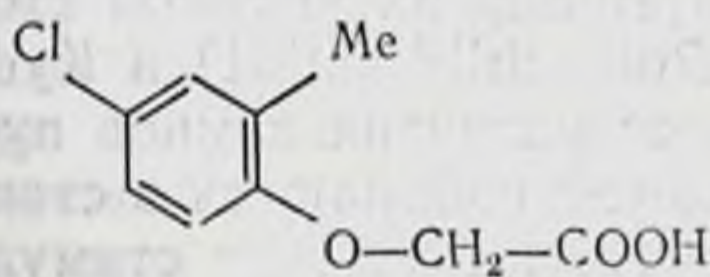
Наличие ряда гормонов, встречающихся только у высших растений, открывает большие возможности в использовании избирательно токсичных агентов. Наиболее важным из гормонов растений считают открытую в 1934 г. индолил-3-уксусную кислоту (4.82). Эта кислота и некоторые родственные ей соединения, носящие общее название ауксины, ответственны за удлинение растительных клеток, завязывание плодов и другие процессы роста растений. Индолилуксусная кислота депрессирует синтез специфических молекул РНК, что приводит к усилению синтеза некоторых ферментов [Armstrong, 1966]. Сведения о стереохимии ауксинов приведены в разд. 12.2.

Экономичность производства, эффективность и длительность

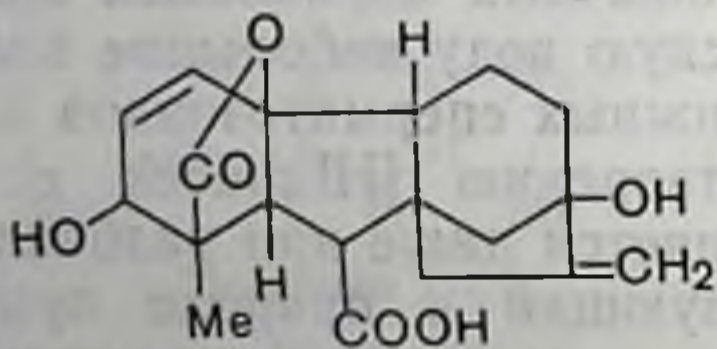
действия феноксиуксусных кислот, являющихся миметиками ауксинов, обеспечила их широкое применение в сельском хозяйстве. Эти кислоты способствуют укоренению черенков, предупреждению преждевременного опадания фруктов и ускорению завязывания плодов при отсутствии опыления [Zimmerman, 1942]. В высоких концентрациях они могут действовать и как гербициды [Templeman, Sexton, 1946]. В этом случае феноксиуксусные кислоты действуют как избыток агониста, что вызывает неограниченный рост растения и приводит к его гибели вследствие истощения всех резервов (разобщения фосфорилирования). Этот эффект высокоизбирателен, и поэтому феноксиуксусные кислоты типа (4.83) широко используют для уничтожения двудольных сорняков в посевах злаков (разд. (6.4.3)).



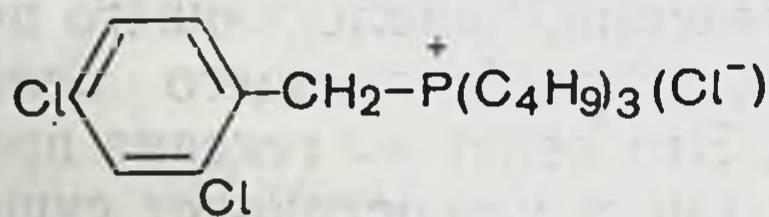
Индолил-3-уксусная кислота
(4.82)



Метилхлорфеноксиуксусная кислота
(4.83)



Гиббереллиновая кислота, GA₃
(4.84)



Хлорфоний хлорид
(4.85)

Гиббереллины, например (4.84), открытый в 1926 г., представляют собой семейство примерно из 30 родственных дитерпеновых кислот. Подобно ауксинам, они синтезируются в растущих верхушках растений. В природе их действие тесно связано с ауксинами. В сельском хозяйстве их применяют для ускорения прорастания семян, задержки созревания цитрусовых, увеличения высоты побегов сахарного тростника (что приводит к увеличению урожая с данной площади) и для улучшения свойств ячменного солода. Они индуцируют на молекуле ДНК синтез специфических РНК, на одной из которых синтезируется фермент амилаза [Varner, Chandra, 1964; Matthyse, Abrams, 1970]. О гиббереллинах см. книгу Krishnamoorthy (1975).

Для замедления действия гиббереллинов в сельском хозяйстве применяют множество простых синтетических соединений, например хлормекват (2-хлорэтилтриметиламмоний хлорид), замедляющий рост злаков, N,N-диметиласпарагин и хлорфоний хлорид (4.85), ингибирующие синтез гиббереллиновой кислоты

в грибах. Действие этих веществ на растения может быть устранено применением гиббереллинов [Lang, 1970]. Эти ингибиторы используют также для придания более компактной формы плодовым деревьям, что повышает урожай плодов с данной площади.

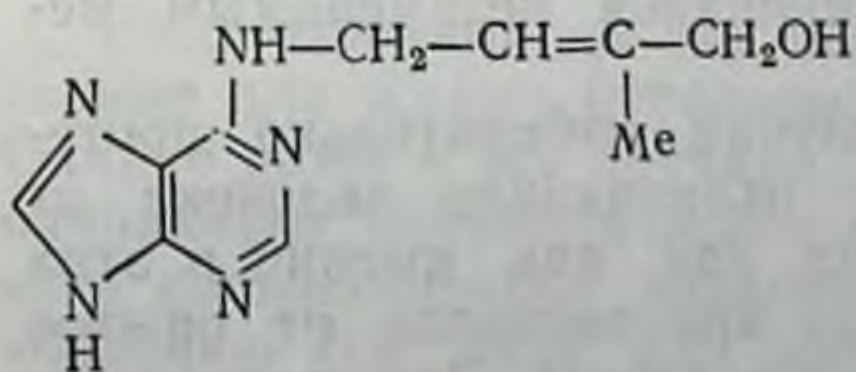
В процессах клеточного деления участвуют пуриновые гормоны — цитокинины, образующиеся в корнях растений. Их типичным представителем является выделенный из кукурузы зеатин (4.86) [Letham, Shanon, McDonald, 1964]. Обзор по цитокининам см. Letham, Palni (1983).

Абсцизины, например (4.87), — широко распространенные в растениях сесквитерпены, по химическому строению сходны с витамином А. Они вызывают эффект «спячки», т. е. замедление роста растений, опадание листьев и плодов. Первый из абсцизинов был синтезирован Cornforth, Milbrogow, Ryback (1965).

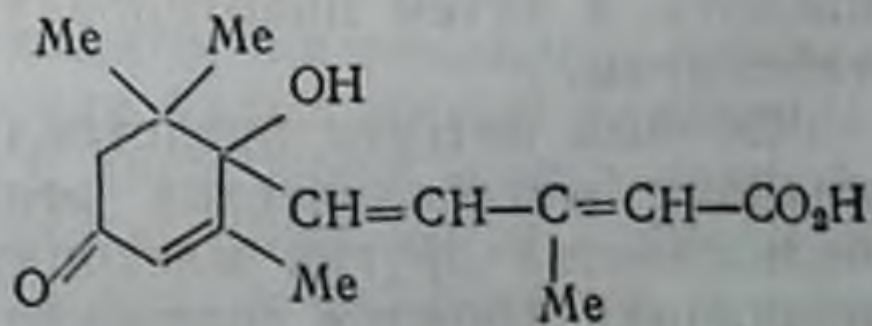
Родственный абсцизинам ксантоксин (4.88) регулирует развитие растений в качестве антагониста индолилуксусной, гиббереллиновой кислот и кинетина. Он легко окисляется до абсцизовой кислоты, являясь, видимо, ее предшественником [Taylor, Burden, 1972].

Распространенный простой гормон растений — этилен, в зависимости от обстоятельств может ускорять или замедлять их рост. Он широко используется для ускорения созревания замороженных плодов. В разд. 3.6 описано применение хлорэтанфосфоновой кислоты в качестве источника этилена.

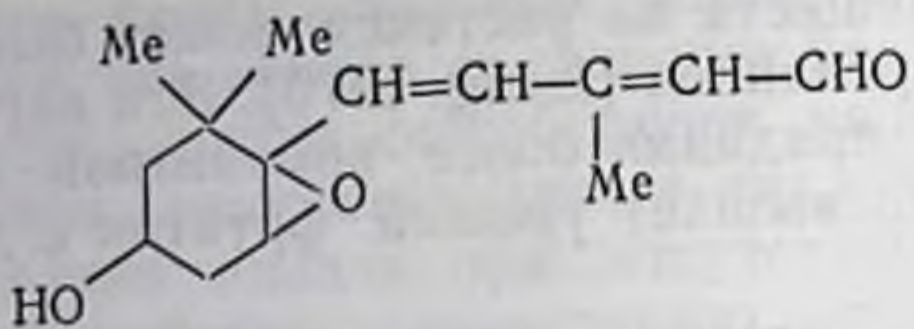
Морфогенез растений во многом зависит от света: образование почек и цветов, рост листьев и стеблей, прорастание семян, биосинтез многих пигментов. Главным медиатором всех этих процессов служат фитохромы, не содержащие металла голубые комплексы тетрапирролметинов (похожих по структуре на пигменты желчи) с белками. В зеленых растениях фитохромы поглощают световые лучи с длиной волны 660 нм, однако красные лучи солнечного света переводят их в другую активную форму, поглощающую свет при 730 нм. Предполагают, что расположенные в полупроницаемых мембранах фитохромы под действием облучения меняют мембранный потенциал [Roux, Yguerabide, 1973]. Как представители специфической биохимической системы они могут служить мишенью для избирательного токсического воздействия.



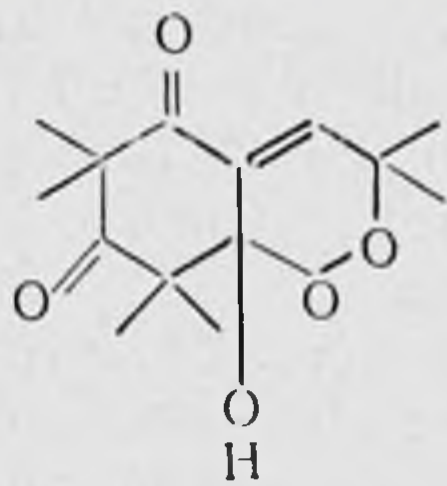
Зеатин
(4.86)



Абсцизин II
(4.87)



Ксантоксин
(4.88)



Соединение G3
(4.89)

Из *Eucalyptus grandis* было выделено семейство циклических пероксидов типа G3 [Crow, Nicholls, Sterns, 1971; Sterns, 1971]. Они уменьшают мембранную проницаемость и ослабляют дыхание, закрывая устьица.

О веществах, влияющих на рост растений, см. Stutte (1977), Mandava (1979) и Letham, Goodwin, Higgins (1978).

4.8. Метаболизм чужеродных веществ

Даже у родственных видов механизмы превращения чужеродных веществ могут быть совершенно различными. Механизм избирательного действия большинства самых эффективных фосфорорганических инсектицидов основан на двух метаболических превращениях. Первое из них происходит у насекомых и делает для них эти соединения более токсичными, тогда как второе, протекающее в организме млекопитающих, превращает эти инсектициды в менее токсичные для млекопитающих производные. На этом основано применение большинства современных инсектицидов (подробнее см. разд. 13.3).

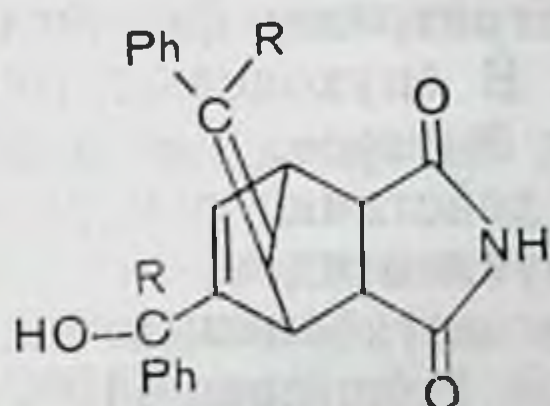
Можно привести и другие примеры избирательных превращений. Например, в организмах позвоночных фенолы превращаются в β -глюкурониды, тогда как насекомые превращают их в фенил- β -гликозиды. В организме человека 1-нафтол превращается здоровой легочной тканью в 1-нафтил сульфат, а тканью чешуйчатой карциномы — в 1-нафтил глюкуронид [Cohen, Gibby, Mehta, 1981].

Аминокислота триптофан в высших растениях распадается до индолил-3-уксусной кислоты — важного гормона их роста; бактерии превращают триптофан в триптамин: у млекопитающих из триптофана сначала образуется 3-гидроксиантраниловая кислота, а затем никотиновая, являющаяся незаменимым метаболитом.

Особый интерес представляют случаи избирательно протекающих метаболических реакций, отличающие человека от большинства других млекопитающих, так как именно в этих различиях кроются опасности неудач при переходе от опытов на лабораторных животных к лечению людей. Так, только человек и приматы Старого Света обладают способностью дегидрогенизировать хинную кислоту, превращая ее в бензойную.

Противобактериальный сульфамидный препарат сульфадиметоксин выделяется из организмов человека и приматов в виде N'-глиукуронида, а из организмов обычных лабораторных животных — в виде N-ацетилпроизводного [Adamson, Bridges, Williams, 1966]. Другие ароматические амины, например анилин и стрептоцид, ацетируются в организме человека и многих млекопитающих, у большинства видов птиц, земноводных, пресмыкающихся и рыб. Однако в организмах собаки, лягушки и черепахи ароматические амины не ацетируются. Другие примеры различий метаболических путей человека и других млекопитающих см. разд. 3.5 (фенамин, фенилуксусная кислота и 6-пропилтиопурин).

Из всех известных ядов, действующих на млекопитающих, наибольшей избирательностью обладает норбормид (4.90) [5-(α -гидрокси- α -пирид-2-илбензил)-7-(α -пирид-2-илбензилден)-5-норборнен-2,3-дикарбоксимид].



Норбормид
(R-пирид-2-ил)
(4.90)

Он действует только на представителей рода *Rattus*. Летальный исход обусловлен сильным местным раздражающим и сосудосуживающим действием, которое ведет к ишемии ряда жизненно важных органов. Норбормид не ядовит более чем для 30 видов других млекопитающих (в том числе мышей и других грызунов), птиц, рыб. По-видимому, все животные, кроме крыс, могут обезвреживать норбормид [Roszkowski, 1965]. К сожалению, успех применения норбормида невелик, так как крысы быстро начинают узнавать препарат по запаху и избегают его.

Более подробно метаболизм чужеродных соединений рассмотрен в работах Williams (1959), Jakoby (1980), Jakoby, Bend, Caldwell (1982) и журнале *Xenobiotica*.

4.9. Количественные аспекты сравнительной биохимии

Рассмотренные до сих пор биохимические различия, характерные для живых организмов, носили качественный характер. Однако даже в тех случаях, когда у двух видов используются одинаковые метаболические пути, между ними могут существовать количественные различия, например, в способности к накоплению (см. разд. 3.6) или в метаболизме. Так, патогенные трипаномы способны утилизировать глюкозу в 2000 раз бы-

стрее, чем организм-хозяин. Один миллион особей *T. rhodesiense* весит 0,0078 мг, а потребляет за 5 ч 0,031 мг глюкозы. Следовательно, за 24 ч они могут утилизировать в 20 раз больше глюкозы, чем весят сами. А человек потребляет за это время только одну сотую от своего веса. Столь интенсивный углеводный обмен у паразитов является особо уязвимым, так как у них не происходит накопления энергетических запасов.

Такие количественные различия не всегда оказываются выгодными для более крупных особей. Человек, например, в 15 раз более чувствителен к действию атропина, чем кролик. Однако для него безвредна доза стрихнина, способная убить число кроликов, по весу превосходящее вес человека. Синильная кислота в безопасной для человека концентрации мгновенно убивает собаку.

Отчетливые различия можно обнаружить и у одной особи. Например, глутаминсинтетаза почек крысы в 10 раз быстрее перерабатывает свой субстрат, чем фермент-аналог из ее мышцы [Iqbal, Ottaway, 1970]. В опухолевых (раковых) клетках клеточный цикл протекает быстрее, чем в здоровых: поэтому они более чувствительны к действию лекарственных веществ, вмешивающихся в синтез нуклеотидов.

Об избирательности метаболизма чужеродных соединений и биохимии растений см. Lehninger (1982), Stryer (1981), Bonper, Varner (1976), Campbell, Kilby (1975) и Campbell, Smith (1982).

Глава 5

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ: ТРЕТИЙ ФАКТОР ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ

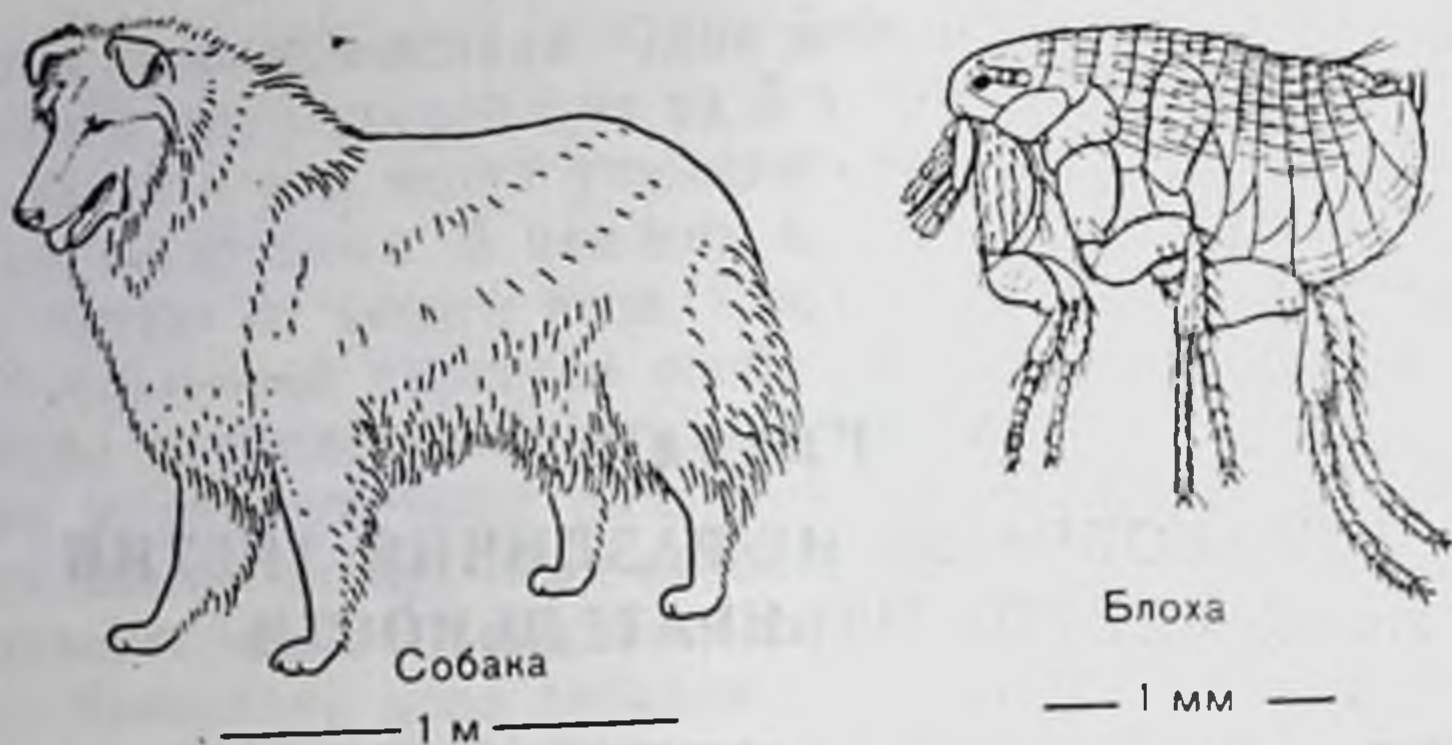
Различные виды живых организмов значительно отличаются друг от друга по размерам. На рис. 5.1 изображены млекопитающее, насекомое и бактерия (средние по размерам представители разных групп), каждое из которых в тысячу раз меньше предыдущего. Молекулы лекарственных веществ, витаминов и коферментов еще в тысячу раз меньше бактерий.

5.0. Различия в клеточной архитектуре

Клетки по своим размерам различаются не столь значительно. Бактерия средней величины диаметром 1—4 мк вполне сравнима с почти шарообразной паренхимной клеткой диаметром 15—70 мк (из таких клеток состоит большинство растительных тканей). К числу исключительно крупных растительных клеток относятся клетки мякоти мясистых плодов (до 1 мм) и клетки волокон (обычно 1—2 мм, иногда до 100 мм длиной при нормальной толщине). Клетки растений, как правило, остаются небольшими вплоть до конечной фазы деления, когда по мере наполнения вакуолей водой их размеры резко возрастают.

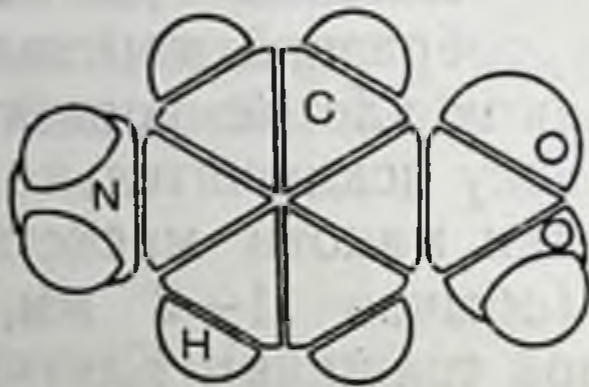
Животные клетки, не содержащие крупных вакуолей, обычно не увеличиваются в размерах после деления (как правило, они меньше растительных). Так, типичная эпителиальная клетка имеет размеры $10 \times 10 \times 50$ мк, а диаметр эритроцита — 8 мк. Некоторые типы клеток млекопитающих бывают крупнее, особенно нервные клетки, аксоны которых при диаметре 1—20 мк могут быть длиной от 20 мм до 1 м (диаметр тела нервной клетки может достигать и 100 мк). Другим примером исключительной по величине животной клетки может служить оплодотворенная яйцеклетка.

Растения значительно отличаются от животных: у них нет нервной системы, мышц (а значит, нет способности к перемещению) и эффективной системы циркуляции, но есть (за исключением грибов) механизм фотосинтеза. В свою очередь, у животных в отличие от растений нет хлоропластов и клеточных стенок. Фосфорорганические соединения поражают насекомых, блокируя проведение нервного импульса, но не причиняют никакого вреда растениям, так как у них нет нервной системы.



Стрептококк

— 1 мк —



Молекула (пара-аминобензойная кислота)

— 1 мм —

Рис. 5.1. Различия в размерах в мире живого (например, средний по величине представитель вида млекопитающих — собака). Каждый объект изображен уменьшенным в 1000 раз по сравнению с предыдущим.

На этом основана весьма эффективная система химической защиты растений от насекомых (разд. 13.3). Уникальность структуры хлоропластов (разд. 5.4) предоставляет возможности для обратного воздействия — например, можно уничтожать сорняки, не причиняя вреда пчелам. Вирусы обладают столь необычным строением, что это может приводить к избирательной интерференции между ними (разд. 5.5).

У многоклеточных организмов животные и растительные клетки организуются в ткани и органы, что обеспечивает очень важную возможность разделения функций. Их дальнейшее разделение происходит на клеточном уровне между различными типами клеток — нервными, мышечными, эпителиальными и др.

Ширина синапсов. Фармакологически установлено, что большинство различий в ответных реакциях разных гладких мышц

с адренергической иннервацией определяется шириной синаптической щели [Burnstock, Costa, 1975]. В широких щелях (80—400 нм), характерных для кровеносных сосудов, концентрация норадреналина, выделившегося под действием нервного импульса, даже при максимальном ответе близка к пороговой. Поэтому в этих тканях нервный импульс, идущий к мышце, может легко прерваться при уменьшении количества выделяющегося медиатора (либо за счет истощения везикул под действием таких препаратов, как резерпин, либо в результате действия на процесс выделения норадреналина препаратов типа бретилия). На ткани с узкими (около 20 нм) синаптическими щелями (мигательная перепонка, семявыносящий проток, сфинктер зрачка) эти лекарственные препараты практически не действуют, потому что в них концентрация норадреналина в норме может в 100 раз превышать пороговую. Отсутствие ингибирующего действия α -блокаторов в тканях с узкой щелью обусловлено тем, что обычная концентрация антагонистов в крови оказывается недостаточной, чтобы конкурировать с высокими концентрациями медиатора. Способность кокаина усиливать симпатическую постганглионарную передачу нервного импульса только в отдельных тканях также можно объяснить размерами синаптической щели.

5.1. Цитологические аспекты противоопухолевой терапии

Функционирование органов млекопитающих обусловлено тем, что они состоят из высокодифференцированных клеток, приспособленных к выполнению определенной работы (рис. 5.2).

Многие наиболее успешные методы лечения опухолевых заболеваний с помощью лекарственных веществ основаны на использовании цитологических различий между здоровыми и опухолевыми клетками. Опухолевые клетки можно рассматривать как обычные высокоспециализированные клетки, частично или полностью потерявшие способность к дифференцировке. Другими словами, они регрессировали к более простому, примитивному типу клеток¹, которые в отличие от родительских делятся непрерывно и неэффективно. По сравнению со здоровыми клетками, активно делящиеся опухолевые клетки более чувствительны к действию таких лекарственных веществ, как антиметаболиты ДНК. Поэтому избирательное поражение клеток опухоли у больного может быть достигнуто планомерным применением антиметаболитов, нарушающих синтез (или включение в ДНК) пуринов и пиримидинов. Здоровые клетки делятся быстрее, чем большинство опухолевых, но в каждый данный момент времени

¹ Они могут рассматриваться также как клетки, перешедшие от метазойного типа жизни с его генетически детерминированной необходимостью к взаимной адгезии и обмену информацией о росте к протозойному типу, когда клетки растут совершенно независимо друг от друга [Goldacre, 1977].

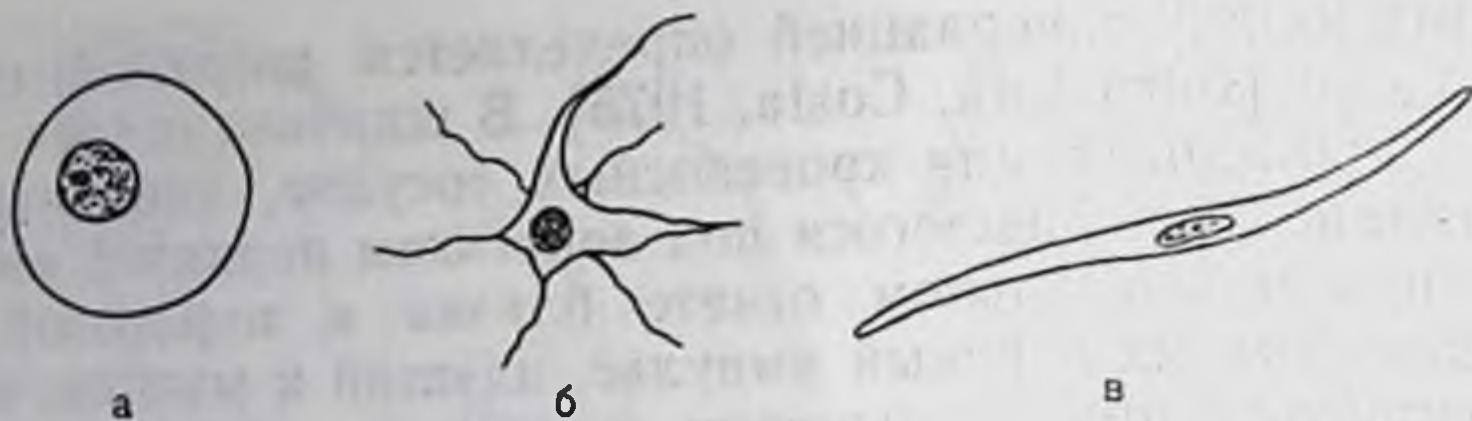


Рис. 5.2. Различные формы клеток. а — яйцеклетка; б — нервная клетка; в — клетка мышечной ткани.

лишь малая их часть находится в стадии деления, поэтому они легче восстанавливаются в интервалах между введениями препарата (разд. 4.0 и 13.4) [Vgulé et al., 1973].

Мы подошли вплотную к обсуждению той стадии жизни клеток, которая называется «клеточным циклом». Все профилирующие клетки при синтезе новой ДНК проходят ряд последовательных фаз. После митоза (фаза М) наступает период «покоя» (фаза G_1), затем клетка вступает в фазу синтеза ДНК (фаза S), сменяющуюся второй фазой «покоя» (фаза G_2), длящуюся до очередного вхождения клетки в митоз. Третья фаза «покоя» (фаза G_0) появляется только при остановке клеточного цикла. Клетки в этой фазе настолько нечувствительны к лекарственным веществам, что на них могут действовать только нитрозомочевины (разд. 13.4)¹. О клеточном цикле см. Shall (1981).

Успех химиотерапии зависит от: а) чувствительности опухолевых клеток к действию лекарственных веществ и б) возможности создания в опухоли эффективной концентрации лекарственного вещества (С) в течение достаточно длительного промежутка времени (Т), необходимого для поражения опухолевых клеток. Для каждой фазы клеточного цикла раковой клетки существует свое оптимальное значение (СТ). Учитывая перерывы в курсе лечения, необходимые для прохождения митоза здоровыми клетками, химиотерапия может длиться несколько недель или даже месяцев.

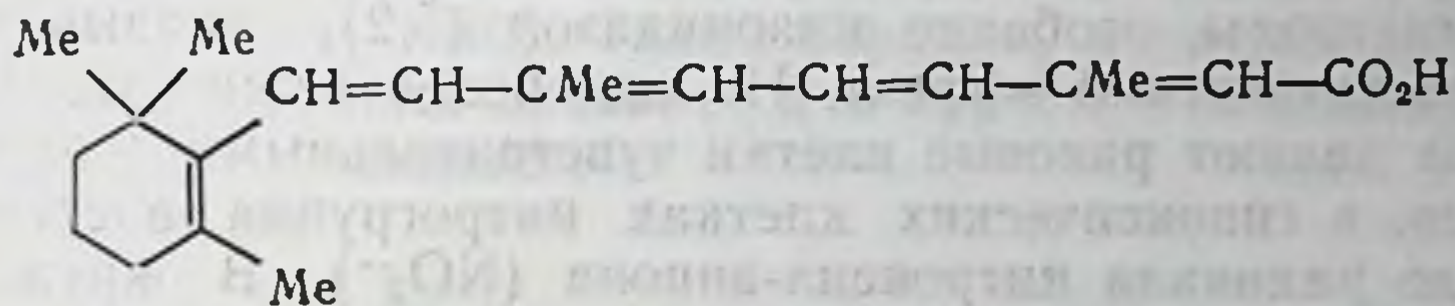
Другой метод лечения рака основан на использовании гормонов, особенно андрогенов и эстрогенов. Целью этой терапии является попытка вернуть раковым клеткам способность к дифференцировке и сделать их более похожими на здоровые клетки той ткани, в которой образовалась злокачественная опухоль. Рак молочной железы, возникающий в период менопаузы, легко поддается лечению эстрогенами, тогда как их применение при раке молочной железы в пременопаузе приводит к обострению заболевания [Vgulé et al., 1973]. Однако примерно треть всех случаев рака молочной железы у молодых пациенток чувствительны к лечению гормоном гипофиза пролактином.

¹ Подробнее о действии лекарственных веществ на клетки, находящиеся в фазе G_0 , см. также: Елифанова О. И., Терских В. В., Полуновский В. А. Покоящиеся клетки. — М., 1983. — Примеч. ред.

В последнее десятилетие внимание ученых привлекли соединения, родственные витамину А, — ретиноиды, обладающие способностью вызывать повторную дифференцировку клеток. Например, 13-цис-ретиноевая кислота (5.1) не только предотвращает образование опухолей эпителия (у мышей), но иногда может вызывать их регрессию [Bollag, 1972]. Точно так же ретинил ацетат при пероральном применении предупреждает вызванный канцерогенами рак молочной железы у мышей [Moop et al., 1977]. Хотя на мышах уже испытано более 100 ретиноидов, до сих пор еще не найдено соединение с приемлемым для клинического использования терапевтическим индексом. Между тем ретиноиды успешно применяются в дерматологии, особенно при акне и псориазе.

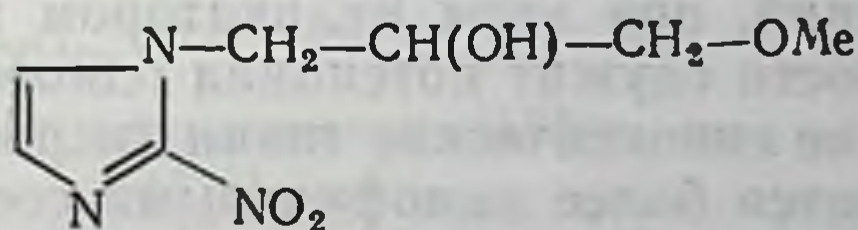
К противоопухолевым препаратам, способным вызывать повторную дифференцировку клеток, относятся 5-бромдезоксидин, инициирующий дифференцировку клеток нейробластомы [Schubert, Jacob, 1970] и цитарабин (разд. 4.0.2), стимулирующий *in vitro* созревание клеток миелогенного лейкоза человека до нормальных макрофагов и гранулоцитов [Takeda et al., 1981].

Более подробно о дифференцировке клеток см. Bowles (1981), о дифференцировке при злокачественных заболеваниях — Sherbert (1974, 1981), о кинетике роста опухолей Steel (1978)¹.



Изотретиноин
(13-цис-ретиноевая кислота)

(5.1)



Мизонидазол

(5.2)

А. Трансформация и лектины. В цитологическом эксперименте под действием вирусов здоровые клетки, например культура фибробластов, могут быть превращены в так называемые «трансформированные клетки». Не являясь злокачественными, они частично дедифференцированы и обладают уменьшенной способностью к самослипанию (вызванной, очевидно, изменениями свойств клеточной поверхности), увеличенной скоростью

¹ См. также Эмануэль Н. М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. — М., 1977. — Примеч. ред.

роста, отсутствием фермента цикло-АМФ-фосфодиэстеразы и уменьшением синтеза сульфатированных мукополисахаридов. Все эти изменения можно устранить добавлением циклического дибутирил-аденозинмонофосфата. Это соединение способно, например, восстанавливать *in vitro* нормальное функционирование мембран опухолевых клеток, в результате чего восстанавливаются контактное ингибирование и нормализация деления [Puck, 1977]. Более подробно см. Cameron, Pool (1981).

Лектины, примером которых может служить выделяемый из бобов канавалин мечевидной конканавалин А, представляют собой белки растительного происхождения, связанные с углеводами. Они вызывают агглютинацию злокачественных клеток. Способность клеток к агглютинации увеличивается с возрастанием их злокачественности [Inbar, Ben-Bassat, Sachs, 1972]. Обычно агглютинированные клетки погибают, причем этот процесс не затрагивает здоровье клетки [Culr, Black, 1972]. Однако трипсин разрушает конканавалин А, и злокачественные клетки снова возвращаются в растущую культуру здоровых клеток [Barger, Noonan, 1970]. Возможности применения этих результатов в клинической практике пока не ясны.

Б. Гипоксические клетки. В центре солидных опухолей злокачественные клетки обычно представлены гипоксическими (полностью анаэробными) клетками, устойчивыми как к действию химиотерапевтических средств, так и радиации. Только нитроимидазолы, особенно мизонидазол (5.2), оказывают на них цитостатический эффект. Но еще более важно то, что эти вещества делают раковые клетки чувствительными к радиации. Вероятно, в гипоксических клетках нитрогруппа восстанавливается до радикала нитроксил-аниона (NO_2^-). В окружающих аэробных клетках этот процесс не идет, и поэтому они не повреждаются мизонидазолом.

В настоящее время ведется поиск более избирательно действующих соединений, при этом индикатором проявления биологической активности служит потенциал одноэлектронного восстановления. Другие гипоксические ткани (нервы, кожа, хрящи) сильнее повреждаются более липофильными соединениями, легко проникающими в них [см. также Brady, 1980].

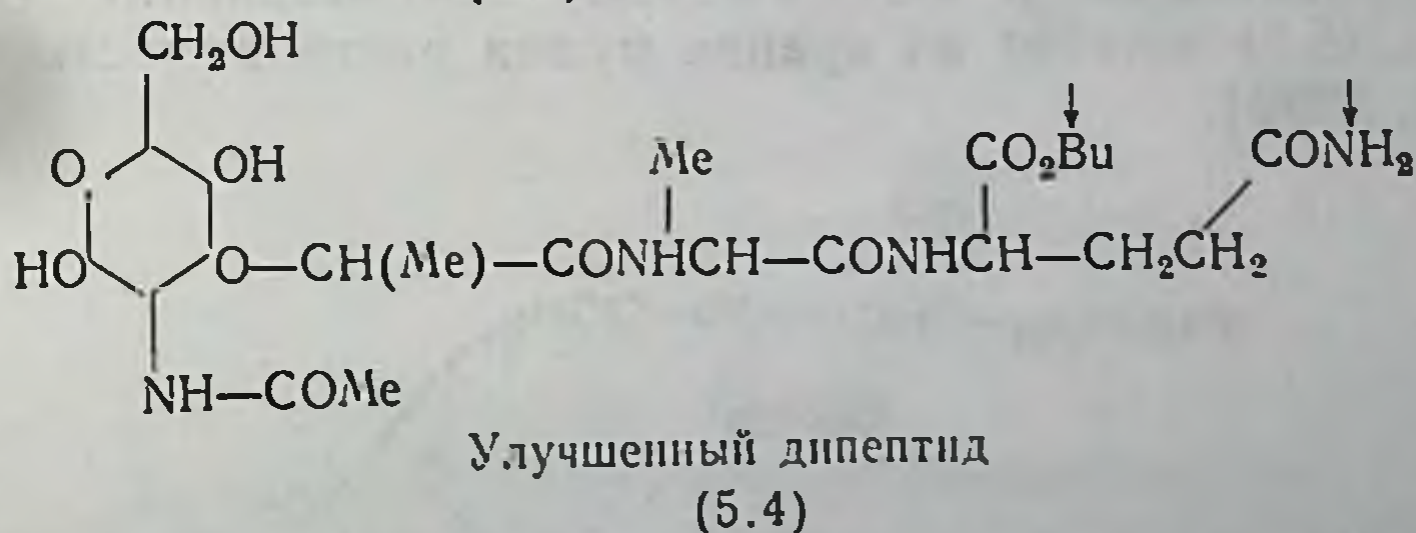
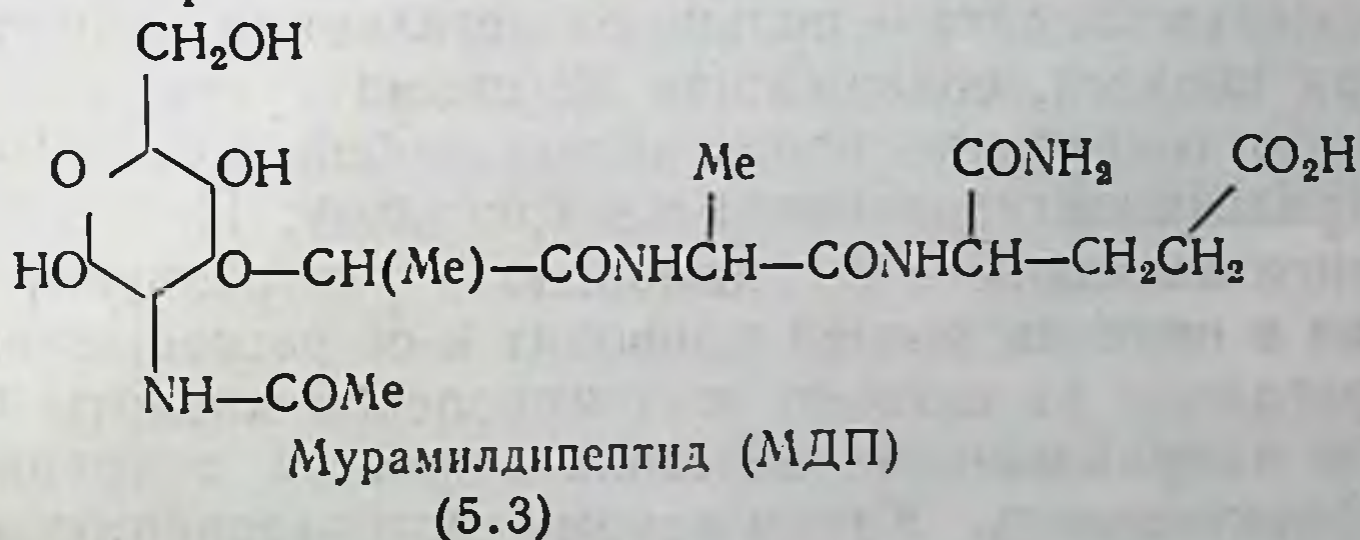
5.2. Цитологические аспекты иммунотерапии

Иммунная система человека — это сложная система распознавания, состоящая из высокоспецифических, все время обновляющихся клеток, постоянно обменивающихся между собой различными специфическими и неспецифическими сигналами. Иммунная система состоит из миллиона миллионов (10^{12}) В-лимфоцитов, образующихся в костном мозге, и Т-лимфоцитов, возникающих в вилочковой железе, а также аксессуарных клеток — макрофагов. В-лимфоциты обеспечивают продуцирование антител; Т-лимфоциты более специализированы и подразделяются

на три основных типа: хелперы, киллеры и супрессоры. И В- и Т-лимфоциты в процессе иммунного ответа образуют высокоизбирательные антигенспецифичные клоны. Расположенные на их поверхности рецепторы способны узнавать несколько миллионов антигенов. В норме деятельность иммунной системы на низком уровне поддерживается катехоламинами. Однако иммунная система, начиная работать на полную мощь, в свою очередь, уменьшает количество катехоламинов в лимфоидных тканях.

В последние годы появилась надежда, что среди соединений с низкой ОММ удастся найти лекарственные вещества, способные стимулировать работу поврежденной иммунной системы для восполнения иммунодефицитов, возникающих при хронических инфекциях. Возможно, эти препараты помогут справиться с такими заболеваниями, как артриты, зоб, саркоидозы, миастения и волчанка, найдут применение при лечении опухолевых заболеваний и в борьбе с преждевременным старением.

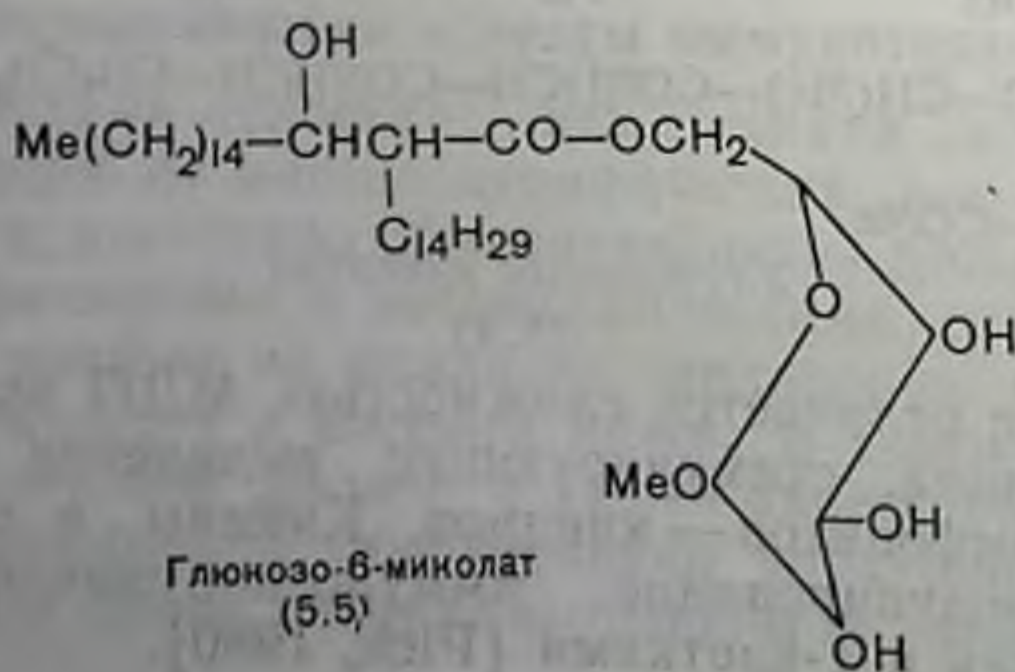
Большой интерес вызвала выполненная во Франции группой Edgar Ledeger работа по мурамилдипептиду, МДП (5.3). Это соединение (N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамин) выделяется из стенок бактериальных клеток под действием фермента лизоцима, вырабатываемого в организме человека. МДП стимулирует образование специфических циркулирующих антител и специфический тканевой иммунитет. Следовательно, он усиливает как гуморальный, так и клеточный ответы [Elouiz et al., 1974; Ledeger, 1980]. Таким образом, бактерия сама предоставляет лекарственный препарат для борьбы с заболеваниями, причиной которых является.



Этот процесс отличается сложностью. МДП воздействует на макрофаги хозяина, стимулирующие выделение растворимых регуляторов лимфоцитов — кининов. Кинины, в свою очередь, активируют продуцирование иммуноглобулиновых антител (IgG) как В-, так и Т-клетками [Pick, 1980].

Применение МДП в клинике ограничено по двум причинам: во-первых, он очень быстро исчезает из крови, а во-вторых, обладает высокой пирогенной активностью. Ученые Франции и всего мира многократно пытались исправить эти дефекты, изменяя последовательность аминокислот или вводя другие аминокислотные остатки. В конце концов группе Ledeger удалось синтезировать аналог, пригодный для клинических испытаний. Им оказался бутиловый эфир N-ацетилмурамил-L-аланил-D-глутаминовой кислоты (5.4). Различия в химическом строении МДП и его аналога (5.4) заключаются в следующем: карбоксильная группа МДП заменена в его аналоге на амидную, а амидная группа в МДП заменена на эфирную [Lefrancier et al., 1982]. Биологическое тестирование синтезированных соединений проводилось по двум тестам: поиск сильного антителообразования на антиген альбумина и действие на бактерии *Klebsiella pneumoniae* (оба теста выполнялись на мышах).

В основе работы Ledeger лежал известный факт усиления иммунного ответа микобактериями. Экстракт этих микробов широко использовался в лабораторных исследованиях в качестве иммуноадьюванта, наиболее известный из которых адьювант Фрейнда. Ledeger обнаружил, что в некоторых стандартных тестах этот адьювант может быть заменен МДП. Однако микобактерии выделяют и другие иммуностимуляторы. Например, после заражения мышей туберкулезом у них наблюдается регрессия перевитой опухоли (фибросаркомы мышей). Этот эффект вызывается разветвленными липидами, в особенности 6,6'-димиколятом трегалозы. Трегалоза — просто димер глюкозы, а миколевая кислота — сильно разветвленная алифатическая карбоновая кислота, содержащая 32 атома углерода. Таким образом, это соединение представляет собой 6,6'-ди-0-(3-гидрокси-2-тетрадецилоктадеканойл)- α,α -трагалозу. Инъекция эмульсии (приготовленной с помощью ультразвука) этого соединения в опухоль мышей приводит к ее рассасыванию. При замене трегалозы на глюкозу или миколевой кислоты на пальмитиновую направленность действия вещества сохраняется, но падает эффективность. Клиническому использованию соединений типа (5.5) мешает их крайне малая растворимость в воде [Ledeger, 1980].

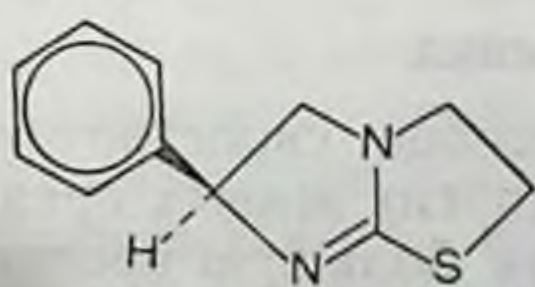


Другие иммуностимуляторы были выделены Umezawa и сотр. в Токио. Эти соединения сильно ингибируют пептидазы и активируют у млекопитающих иммунный ответ, вызываемый Т-клетками. Одно из них — нетоксичный для человека бестатин (3-амино-2-гидроксибутирил-4-фениллейцин) — применяют в клинике при раковых заболеваниях, сопровождающихся подавлением иммунного ответа [Carter, Sakurai, Umezawa, 1981].

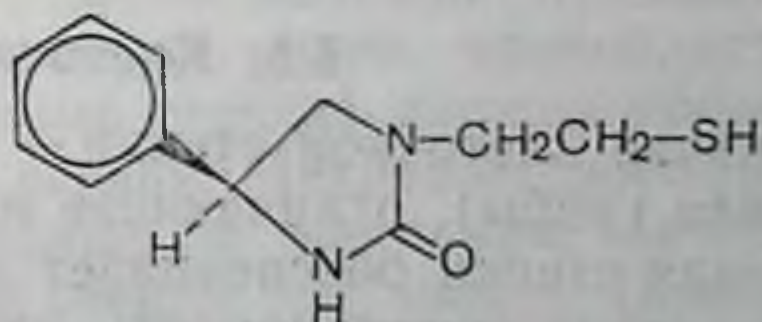
Стимуляторы иммунной системы упорно искали среди известных синтетических соединений. Одним из лучших оказался левамизол (5.6), действующий на мышей как тимомиметик. Он восстанавливает активность фагоцитов и Т-лимфоцитов, индуцирует дифференцировку Т-клеток, однако не поднимает иммунный ответ, вызываемый Т-клетками, выше нормального уровня, и совершенно не влияет на В-лимфоциты. Его метаболит — 1-меркаптоэтил-2-оксо-4-фенилимидазол (МОФИ) (5.7) — обладает такими же свойствами. Поэтому считают, что левамизол является лишь пролекарством МОФИ (5.7), взаимодействующим с лимфоцитами. Кроме того, МОФИ вызывает секрецию фактора, вероятно, гормона вилочковой железы, также стимулирующего лимфоциты [Symoens et al., 1979].

Стимуляторы иммунной системы в больших дозах могут ее подавлять. Такое свойство левамизола обнаружено во время клинических испытаний по лечению артритов, проведенных в Бельгии.

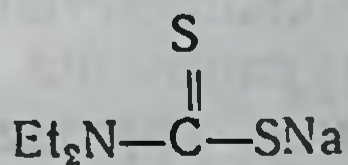
Образование Т-лимфоцитов может быть инициировано и таким простым соединением, как натриевая соль диэтилдитиокарбаминовой кислоты (5.8). Это соединение, не токсичное для человека, прошло клинические испытания во Франции в качестве препарата для восстановления активности Т-клеток после хирургических операций под общим наркозом [Repoux, Repoux, 1979].



Левамизол
(5.6)



МОФИ
(5.7)



Натриевая соль диэтилдитиокарбаминовой кислоты
(5.8)

Сильными иммуностимулирующими свойствами обладает выделенный из дрожжей природный 1,3-полимер глюкозы — глюкан Р. При внутривенном введении лабораторным животным он проникает в макрофаги, стимулируя их размножение и сек-

рецию лизоцима, что приводит к деградации опухоли. Он резко снижает уровень смертности при различных заболеваниях, вызванных простейшими, бактериями или вирусами. Конечным продуктом метаболизма глюкана Р является глюкоза. О клинических испытаниях глюкана Р сообщений нет [DiLuzio, 1983].

С помощью гибридной техники были получены три основных интерферона человека и другие лимфокины, например интерлейкин 11 (полипептид с ОММ 35 000). Среди прочих своих эффектов он обладает способностью стимулировать рост цитотоксических Т-клеток, атакующих раковые клетки. Предполагают, что таким же эффектом могут обладать и более короткие пептиды [Агон, 1983]. Лимфокинины не оказывают прямого действия на иммунную систему, а лишь регулируют ее функционирование¹.

Такие сильные иммунодепрессанты, как азатиоприн (3.41) и циклофосфан (3.38) (разд. 3.6), применяют при пересадке органов. Новый иммунодепрессант — циклоспорин, циклический ундекапептид, выделенный из грибов, успешно применяют при пересадках костного мозга и почек [Powles et al., 1980]. В его состав входит одна D-аминокислота и восемь метилированных атомов азота пептидных связей. В боковых цепях этого пептида содержатся липофильные группы. Основная мишень действия циклоспорины — Т-лимфоциты, на лейкоциты он не действует. Циклоспорин подавляет способность шистосом адаптировать собственные поверхностные антигены к антигенам хозяина, поэтому он может применяться для лечения заболеваний, вызванных этим паразитом [Bueding, Hawkins, Cha, 1981]. Такие иммунодепрессанты, как пентостатин (дезоксиформицин) (4.18) и 9-(2-гидроксинон-3-ил) аденин (4.17), снижают уровень метаболизма в Т- и В-лимфоцитах, ингибируя аденозиндеаминазу.

5.3. Клеточная стенка

Наличие клеточной стенки — это особое свойство растений (включая грибы), отличающее их от других живых организмов. Клеточная стенка обеспечивает клеткам большую прочность, но не регулирует проницаемость, что является функцией совершенно другой структуры — плазматической мембраны (см. ниже). У всех представителей животного царства клеточные стенки полностью отсутствуют. Большинство одноклеточных организмов, включая *Amoeba* и *Trypanosoma*, также лишены этой стенки. Лишь некоторые из них окружены стенками из белка (*Eimeria*) или целлюлозы (*Chlamydomonas*).

А. Клеточные стенки многоклеточных растений состоят из микрофибрилл целлюлозы различной длины, диаметром 10—

¹ Лимфоциты оказывают прямое действие на иммунную систему. См. Oppenheim J. J., Cohen S. (Eds.) *Interleukins, Lymphokines and Cytokines*. — New York, London, Academic Press, 1983. — *Примеч. ред.*

20 нм, включенных в аморфный матрикс из гемицеллюлозы и пектинов, представляющих собой частично О-метилованную кальциевую соль полимеров галактуроновой кислоты. Клеточную стенку синтезируют ферменты плазматической мембраны [Siegel, 1962].

Б. Клеточная стенка грибов представляет собой мозаику из различных углеводов с отдельными включениями липидов и белков. Основным углеводом является хитин (поли-N-ацетилглюкозамин), хотя у некоторых видов дрожжей хитин отсутствует. Хитин составляет основную часть внешнего покрова насекомых и ракообразных.

Дрожжи — это одноклеточные грибы; их клеточные стенки состоят из двух тесно переплетенных структур, причем для сохранения характерной формы клеток достаточно наличия любой из них. Одна из этих структур состоит целиком из глюкана (полиангидрид глюкозы), вторая представляет собой маннан-протениновый комплекс, компоненты которого соединены между собой дисульфидными связями. Только разрушение обеих структур приводит к выходу цитоплазмы в окружающую среду [Vason et al., 1965].

В отличие от клеток высших организмов клетки грибов испытывают высокое внутреннее осмотическое давление, поэтому если разрушить клеточную стенку, например, действием хитиназы (выделенной из улиток), то клетки лопаются; этого можно избежать, если повысить осмотическое давление снаружи. Механизм действия фунгицида пентахлорнитробензола (квинтозена) основан на его способности снижать содержание хитина в стенках мицелия [Macgis Georgoroulis, 1969].

В. В бактериальных клетках также существует высокое осмотическое давление, особенно у грамположительных микроорганизмов [Brown, 1964; Mitchell, Moyle, 1957]. От разрыва их удерживает толстая стенка, на долю которой приходится до 25% сухого веса клетки. В процессе роста протопласта (т.е. всего содержимого клетки, помимо стенки) должен происходить и синтез материала клеточной стенки. Механизм действия некоторых антибиотиков, применяемых в медицине, заключается в нарушении синтеза клеточной стенки (см. ниже). Поэтому при росте бактерий в результате ослабления клеточной стенки наступает разрыв бактериальных клеток под действием собственного осмотического давления. Впервые это явление наблюдал Lederberg (1957) на примере пенициллина. Он отметил, что лизис можно предотвратить, используя культуральные среды с высоким содержанием солей.

Величина эффективного диаметра пор в стенке бактериальных клеток составляет приблизительно 1 нм [Mitchell, Moyle, 1956]. Стенка грамположительных бактерий толщиной 15—50 нм примерно наполовину состоит из мурена [так называл эту молекулу Park (1966), первый исследователь молекулярного механизма действия пенициллина] — полисахаридно-полипеп-

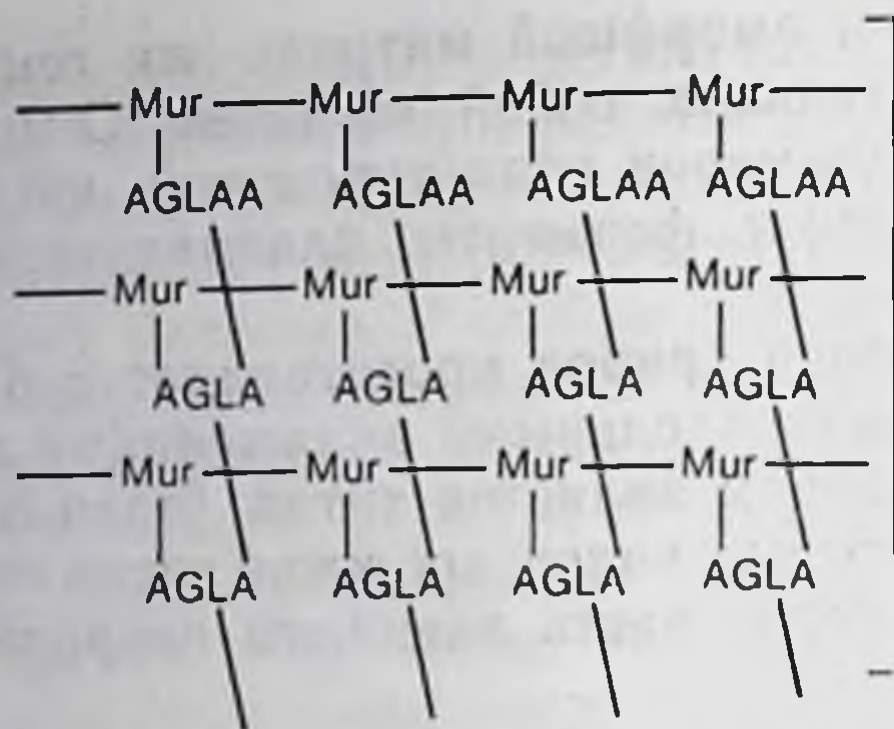


Рис. 5.3. Фрагмент муреина: поперечная сшивка единиц муропептида соответствующими аминокислотами. Mur — дисахарид, AGLA — четыре аминокислоты, AGLAA — пять аминокислот.

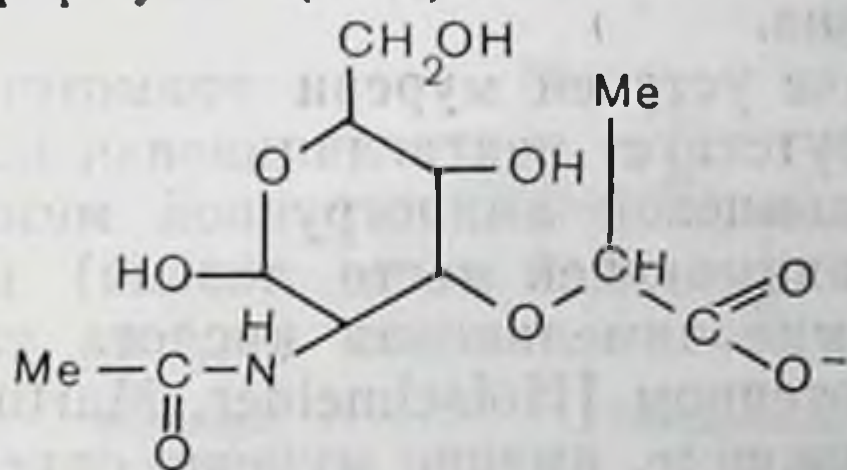
тидного полимера. Примерно 25 лежащих друг на друге слоев муреина придают стенке прочность. Остальные компоненты стенки бактерий представлены в основном тейхоевой кислотой (см. ниже). Муреин является специфическим субстратом для лизоцима, противобактериального фермента, содержащегося в слезах и других секретах организма, а также в белке яйца. Лизоцим используют фаги вирусов для проникновения в бактериальную клетку.

Стенка грамотрицательных бактерий устроена значительно сложнее. Под электронным микроскопом отчетливо видны концентрические слои. Уникальным свойством грамотрицательных бактерий является то, что в них муреин с наружной стороны покрыт второй полупроницаемой мембраной, состоящей из липопотеидов и липополисахаридов. В стенках этих бактерий отсутствует тейхоевая кислота, а муреин составляет всего лишь 5—20% всей массы стенки. Его слои, толщиной около 2 нм, с внутренней стороны тесно связаны с плазматической мембраной, их целостность зависит от наличия магния и кальция. Предполагают, что наружная мембрана возникла в результате естественного отбора для защиты муреина от разрушения лизоцимом. Это подтверждается и тем фактом, что муреин грамотрицательных организмов значительно более однороден, чем муреин грамположительных бактерий, для которых естественный отбор был направлен на повышение устойчивости муреина к внешним воздействиям [Nikaido, 1979]. Эта структура грамотрицательных бактерий создает трудности при разработке лекарственных веществ, после преодоления которых уже не приходится сталкиваться с таким количеством различий, как у грамположительных организмов.

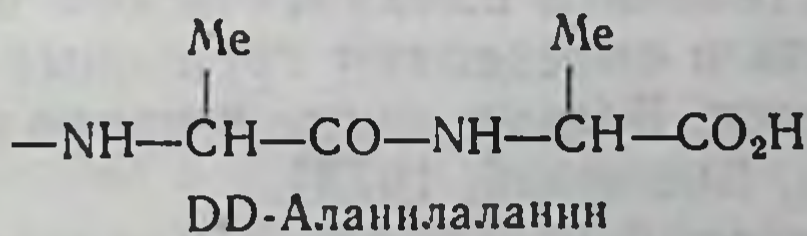
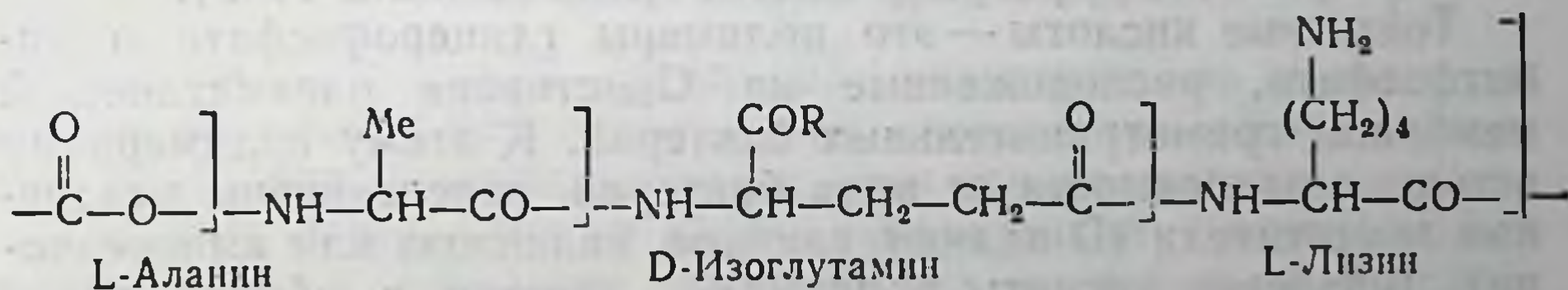
Муреин (известный также под названием пептидогликан) представляет собой поперечно-сшитый полимер неопределенного размера. Весьма вероятно, что всего лишь одна молекула муреина обволакивает всю бактерию. Когда в процессе роста клетки возникает необходимость увеличить размер молекулы

мурейна, происходит встраивание дополнительных частей в разрез, образующиеся под действием специальных цитоплазматических ферментов. Молекула мурейна состоит из линейных цепей дисахаридов, поперечно-сшитых боковыми цепями аминокислотных остатков (рис. 5.3).

Г. Биосинтез мурейна. Его первой стадией является синтез характеристичного моносахарида. Вначале в цитоплазме из N-ацетилглюкозамин-1-фосфата и УТФ образуется уридин-N-ацетилглюкозамин. Затем в положение 3 этого нуклеотида (в две стадии) присоединяется остаток молочной кислоты и образуется уридиндифосфо-N-ацетилмураминовая кислота [ацетилмураминовая кислота — это 3-O-D-лактил-N-ацетилглюкозамин (5.9), сахар, встречающийся только в клеточной стенке прокариот]. К ней присоединяются пять аминокислотных остатков, причем концевой всегда является пара-D-аланил-D-аланин. В зависимости от вида состав этого пентапептида может меняться, например, последовательность для *Staphylococcus aureus* представлена формулой (5.10).



Ацетилмураминовая кислота (анион)
(5.9)



Типичный пентапептид

(R=OH или NH₂)

(5.10)

Затем этот моносахарид превращается в дисахарид. На первой стадии он ковалентно присоединяется к изопреноидному спирту C₅₅ плазматической мембраны, отщепляя при этом УМФ [Higashi, Strominger, Sweeley, 1967]. После этого молекула N-ацетилглюкозамина реагирует с остатком лизина, с которым соединены и пять остатков глицина (образование этой цепи

идет без участия рибосом и в направлении, противоположном нормальному пептидному синтезу). Полученный таким образом продукт обычно называют «дисахарид декапептида».

Следующей стадией является полимеризация. Разрывается связь дисахарида декапептида с C_{55} -компонентом мембраны и образуется связь, соединяющая положение 1 остатка *N*-ацетилмураминовой кислоты с гидроксильной группой в положении 4 концевого остатка *N*-ацетилглюкозамина другого дисахарида. Повторение этого процесса (примерно 50 раз) приводит к росту полисахаридной цепи [Strominger et al., 1967].

Последняя стадия — образование поперечных сшивок в результате реакции транспептидации. Эта реакция не требует притока внешней энергии и протекает между концевой аминогруппой пентаглициновой боковой цепи и карбонильным остатком предпоследнего остатка *D*-аланина в другой пентапептидной цепи. При этом отщепляется одна молекула *D*-аланина и образуется новая пептидная связь [Wise, Park, 1965; Tipper, Strominger, 1965]. Вследствие повторения этого процесса образуется слой муреина.

Несколько иначе устроен муреин грамотрицательных организмов. В нем отсутствует пентаглициновая цепь, а сшивка образуется между концевой аминогруппой мезо-диаминопимелиновой кислоты (занимающей место лизина) и предпоследним *D*-аланином. Диаминопимелиновая кислота также ковалентно связана с липопротеином [Hofschneider, Martin, 1968]. Несмотря на малое содержание, именно муреин определяет прочность стенки грамотрицательных бактерий. Его удаление из клеточной стенки приводит к разрыву клетки [Mandelstam, 1962].

Тейхоевые кислоты — это полимеры глицерофосфата и рибитфосфата, расположенные на C_{55} -стороне плазматической мембраны грамотрицательных бактерий. К этому полимерному остову, в зависимости от вида бактерий, присоединены различные заместители (*D*-аланин, глюкоза, галактоза или аминсахара). Тейхоевые кислоты принимают участие в обмене ионов между клеточной стенкой и плазматической мембраной, накапливают ионы магния и определяют групповые антигенные свойства клеточной стенки. Больше нигде в природе не встречаются [Baddiley, Hancock, Sherwood, 1973].

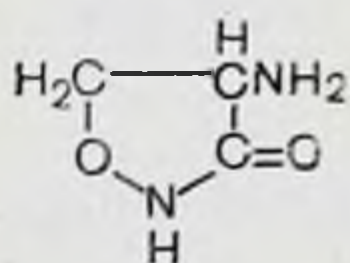
Стенки спор бактерий построены так же, как и клеточные стенки, но, кроме этого, покрыты еще комплексом кальция с дипиколинатом, в свою очередь укрытого снаружи белковой оболочкой с множественными дисульфидными связями [Gould, Hitchins, 1963].

О строении бактериальных клеточных стенок см. Gale и соотр. (1981) и Franklin, Snow (1981).

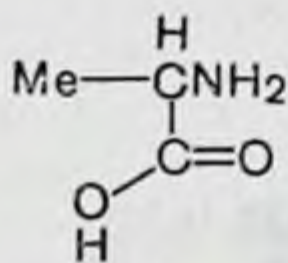
Механизм действия некоторых антибиотиков заключается в нарушении различных стадий биосинтеза клеточной стенки бактерий. Структурный аналог *D*-аланина циклосерин (5.11), применяющийся при устойчивых формах туберкулеза (разд.

9.4.3), ингибирует два фермента: один из них рацемизирует L-аланин в D-аланин (5.12), а второй синтезирует из D-аланина D-аланил-D-аланин [Strominger, Threnn, Scott, 1959]. Со вторым ферментом циклосерин связывается в 100 раз эффективнее, чем нормальный субстрат. К аналогам-антагонистам аланина, имеющим значение для клинической практики, относятся 3-фтор-D-аланин и его 2-дейтеропроизводное [Kollonitsch et al., 1973] и алафосфалин (3.50) (разд. 3.6).

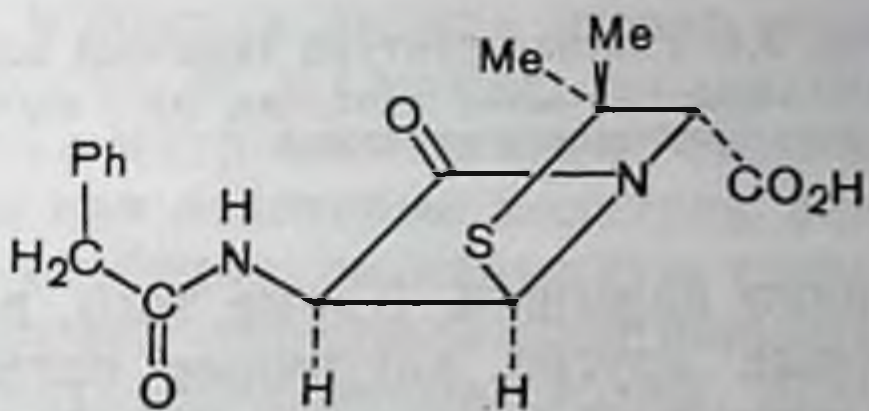
Механизм противомикробного действия бензилпенициллина (5.13), первого представителя пенициллинов, заключается в образовании ковалентной связи между ним и «пептидогликан-транспептидазой», ферментом, в норме образующим поперечные сшивки в муреине на последней стадии биосинтеза [Izaki, Matsuhashi, Strominger, 1968]. В результате этого растущая бактерия теряет способность строить новую стенку и погибает (см. также разд. 13.1 и 13.2).



Циклосерин
(5.11)



D-Аланин
(5.12)



Бензилпенициллин
(5.13)

5.4. Внутриклеточная архитектура

Разделение функций организма существует не только на уровне различных типов клеток или органов, но и внутри клеток. Благодаря наличию внутри клетки специализированных отделов, отделенных друг от друга избирательно проницаемыми мембранами, в ней могут одновременно протекать различные конкурирующие реакции. Значение внутриклеточных мембран подчеркивает и тот факт, что в животных клетках на их долю приходится около 80% сухого веса [O'Brien, 1967]. Применение А. Клодом в 1940 г. электронного микроскопа для исследования клетки позволило установить ее внутреннее строение.

На рис. 5.4 приведены схема строения типичной клетки и некоторые ее компоненты, видимые под электронным микроскопом. Клетка окружена очень тонкой плазматической мембраной, весьма избирательно контролирующей проникновение различных веществ в цитоплазму. Поверх мембраны может находиться более толстая и проницаемая клеточная стенка. Плазматическая мембрана ограничивает собой цитоплазму — суспензию функциональных структур (называемых органеллами) в водном цитозоле. Самая крупная органелла клетки — ядро с характерной для него пористой мембраной; в ядерном соке

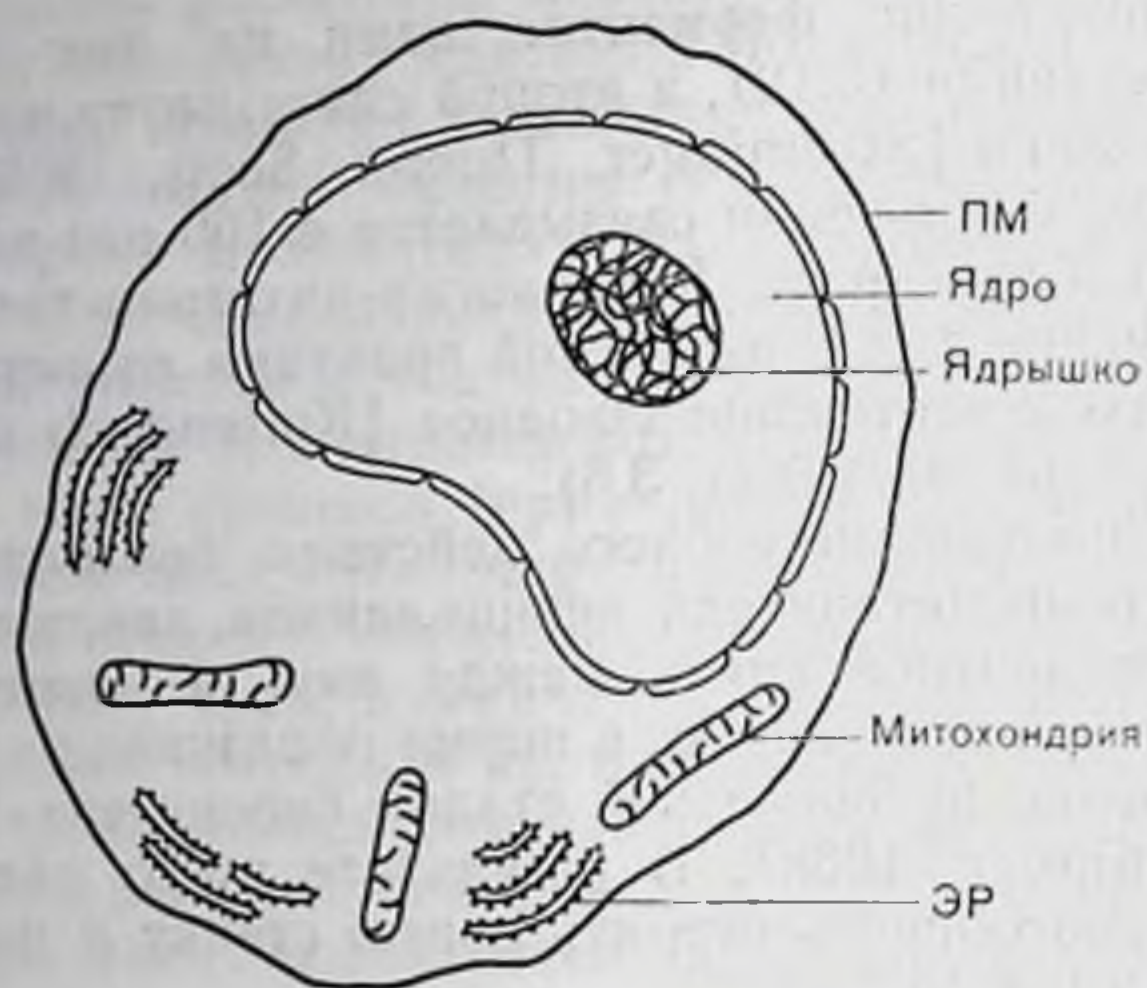


Рис. 5.4. Ультраструктура типичной клетки.

ПМ — плазматическая мембрана; ЭР — эндоплазматический ретикулум, к мембранам которого прикреплены рибосомы.

видно ядрышко. Кроме того, в цитоплазме размещаются некоторые другие клеточные органеллы: митохондрии, эндоплазматический ретикулум и рибосомы; на рисунке их меньше, чем в действительности. Реакции живой материи протекают в определенном порядке при участии ферментов в различных камерах, на поверхностях раздела и на мембранах органелл.

Цитологические различия могут во многом обеспечивать избирательность действия лекарственных веществ и других агентов. По сравнению с клетками эукариот размеры бактерий настолько малы, что в них просто нет места ни для ядра, ни для митохондрий, и ДНК находится в единственной хромосоме, прикрепленной к плазматической мембране. Эта мембрана выполняет и функции митохондрий по разложению питательных веществ и накоплению энергии. В отличие от бактерий у клеток высших организмов органеллы защищены мембранами.

Даже у млекопитающих избирательность лекарственных веществ по отношению к разным тканям связана со значительными различиями в форме и строении клеток, причем это справедливо и для тонкой структуры клеток. Ядра в клетках разных тканей человеческого организма так резко различаются по внешнему виду, что в практике судебной медицины долгое время существовала основанная на этих различиях система идентификации тканей. Митохондрии у млекопитающих отличаются от органа к органу (разд. 5.4.3). Цитологические различия между тканями одного организма могут быть с успехом использованы для правильного выбора медикаментозной терапии.

Следующая часть этой главы посвящена сравнительной морфологии и функционированию органелл. См. также Bougpe (1970) и Porter, Bonneville (1973).

5.4.1. Плазматическая мембрана

Все клетки снабжены тонкой хрупкой липопротеидной мембраной, регулирующей обмен между цитоплазмой и окружающей средой. Толщина мембраны обычно составляет 5—10 нм. Исследование тонких срезов с помощью электронного микроскопа после фиксации перманганатом показало, что мембрана состоит из трех слоев: двух плотных линий толщиной 2—3 нм с промежутком между ними в 2,5—4 нм. Похожая структура окружает и цитоплазматические органеллы, с той лишь разницей, что мембрана ядра, митохондрий и хлоропластов двойная.

Согласно современной концепции все биологические мембраны, в том числе и плазматические мембраны млекопитающих, состоят из фосфолипидного бислоя с параллельно расположенными углеводородными цепями, примерно в 16 атомов углерода длиной. Этот бислой обладает некоторыми свойствами двумерной жидкости, а именно: каждая молекула липида может перемещаться в пределах своего монослоя, но не может переходить в другой монослой. Такая липидная матрица является основной структурой мембраны. В то время как некоторые молекулы белков покрывают часть мембраны, особенно ее наружную сторону, другие белковые цепи пронизывают липидный слой насквозь и, объединившись вместе, образуют заполненные водой поры или каналы [Wallach, Zahler, 1966]. Именно эти белки ответственны за выполнение большинства функций мембраны, например прием и преобразование химических сигналов, приносимых гормонами, нейромедиаторами, факторами роста и антигенами. Именно они формируют три основных типа клеточных контактов: плотные, щелевые и синаптические. Кроме того, эти белки принимают участие в транспорте ионов и молекул.

В жидкомозаичной мембране белки свободно передвигаются в липидном слое, образуя на поверхности клетки различные структуры [Singer, Nicolson, 1972].

Некоторые белки располагаются в бислое в виде спиралевидных палочек, другие выглядят как глобулы (рис. 5.5). Большинство, а возможно, и все пронизывающие мембрану белки содержат в себе молекулу углевода, расположенную на цитоплазматической стороне мембраны и выполняющую роль гидрофильного якоря для белка.

В мембранах двух соседних клеток одной ткани имеется органелла, регулирующая обмен ионами и молекулами между клетками, — коннексон. Коннексон представляет собой цилиндр, образованный шестью одинаковыми белковыми субъединицами, которые могут, двигаясь, закрывать или открывать внутренний канал [Unwin, Zampighi, 1980].

К особенностям строения плазматических мембран можно отнести влияние избытка ионов кальция, обеспечивающих стабилизацию мембран и регулирующих функционирование ионных

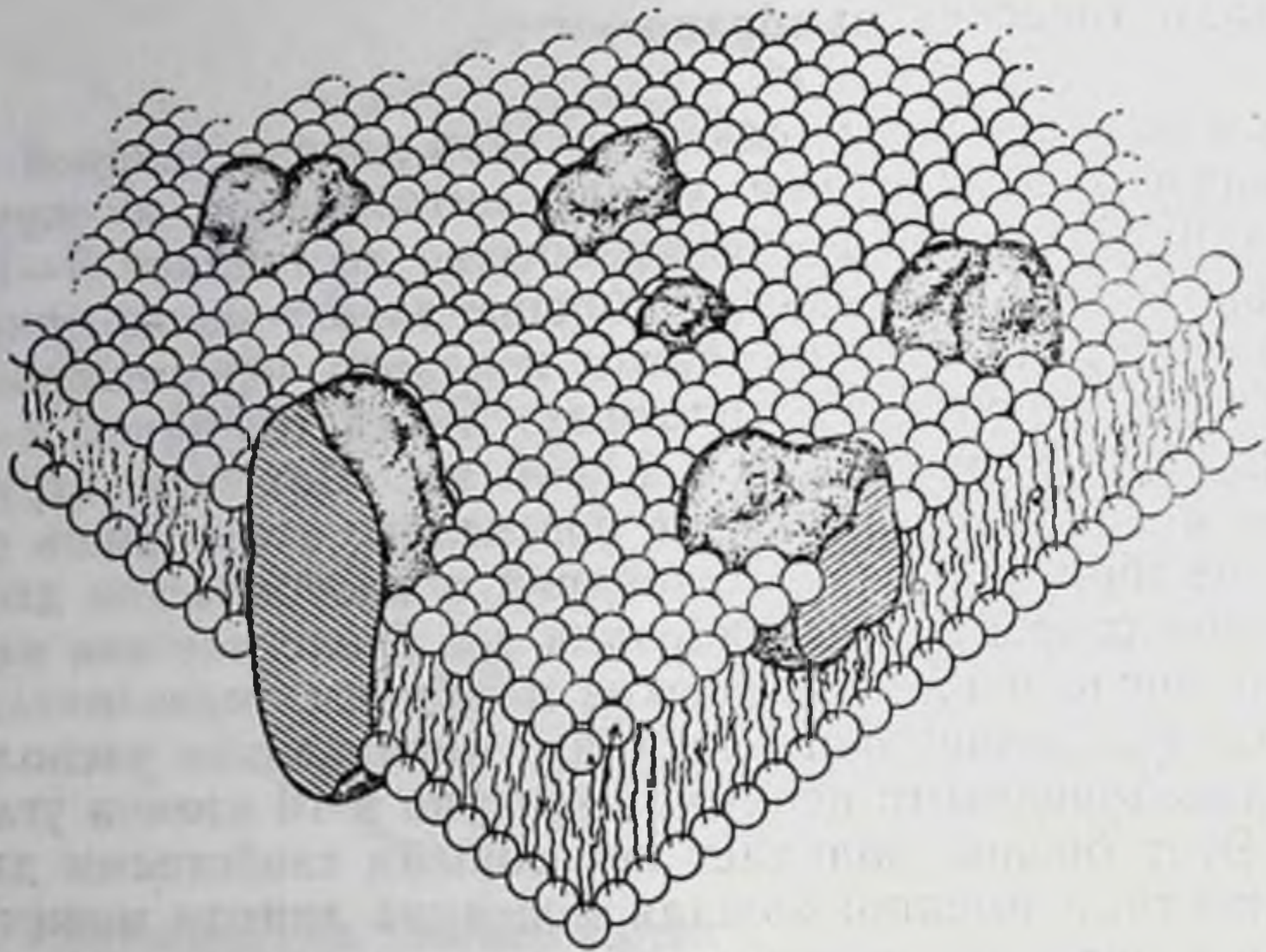


Рис. 5.5. Плазматическая мембрана.

каналов. Стабильность биологических мембран достаточно высока: например, при обработке фосфолипазой мембран эритроцитов, митохондрий и ЭР они теряют около 70% фосфатидилхолина (4.59). При этом уменьшается площадь мембран, но сохраняется целостность мембранных белков и не происходит никаких конформационных изменений [Trump et al., 1970].

Липиды, в которых преобладают фосфолипиды, состоят из лецитина (фосфатидилхолин), триглицеридов (обычные жиры), жирных кислот и холестерина (химия липидов см. разд. 4.4). Фосфолипидный бислой имеет характеристичную «точку плавления», т. е. температуру, при которой в нем происходит фазовый переход из твердого состояния в жидкое. Температура этого перехода зависит от природы гидрофильных головок липидов, а также от длины и степени ненасыщенности углеводородных цепей. Липиды с длинными ненасыщенными углеводородными цепями имеют обычно и самые высокие точки плавления.

В большинстве биологических мембран липиды распределены асимметрично. Наружную поверхность бислоя составляют главным образом нейтральные липиды, а отрицательно заряженные компоненты, преимущественно фосфатидилсерин, сосредоточены на внутренней стороне. Разность потенциалов между внутренней частью такой мембраны и омывающей ее жидкостью, измеренная с помощью калиевой нонактиновой пробы, может составлять до 300 мВ [Latorge, Hall, 1976] (о нонактине см. разд. 14.2), что обуславливает такие типичные свойства мембран, как, например, воротный потенциал нервных клеток.

Содержащие холестерин мембраны отличаются повышенной жесткостью и температурой плавления, так как плоские стероидные циклы интеркалируют между длинными цепями моле-

кул фосфолипидов и ограничивают их подвижность [Coleman, 1973]. Этот вывод подтверждается и данными спектров ПМР и ЭПР (с использованием спиновых меток) искусственных фосфолипидных мембран [Gent, Prestegard, 1974].

Мембраны содержат немало различных белков, среди которых могут быть ферменты (например, аденозинтрифосфатаза) и рецепторные белки (разд. 2.1). Логично предположить, что белки располагаются в мембране таким образом, что большинство полярных остатков аминокислот находится вне мембраны, а большая часть остатков неполярных аминокислот — внутри.

В различных типах мембран молярное соотношение составляющих их липидов и белков варьируется очень сильно: от одного предельного соотношения 9:1, характерного для миелиновых мембран, покрывающих нервные волокна, до другого предела, когда это соотношение (в мембранах митохондрий) равно 1:1. В состав липидов миелиновых мембран входят холестерин, фосфатидилэтаноламин и цереброзиды (представляющие собой не содержащие фосфора продукты конденсации этаноламина, жирных кислот и гексозы), тогда как липиды мембран митохондрий преимущественно состоят из фосфатидилэтаноламина, лецитина и кардиолипина (фосфатидилглицерин).

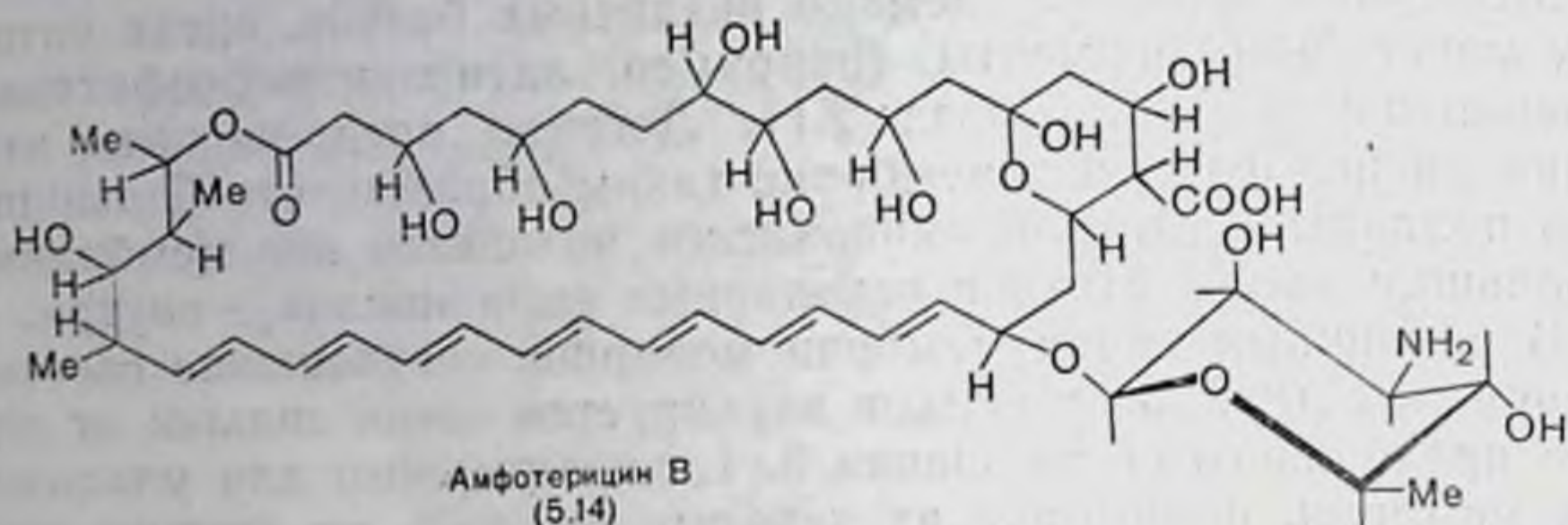
А. Мембраны животных клеток. Плазматические мембраны животных клеток, как правило, обогащены фосфолипидами, а именно: фосфатидил-холином, -серином и -этаноламином. Предполагают, что каждому мембранному ферменту для выполнения своих функций необходим определенный фосфолипид [Coleman, 1973]. В жирах этих мембран в положении 2 глицерина чаще всего находится остаток арахидоновой кислоты. В их состав входит также и холестерин. Высоковозбудимые мембраны аксонов см. разд. 7.5.1.

Б. Мембраны растительных клеток. Плазматическая мембрана растительных клеток называется плазмалеммой. В настоящее время точно установлено, что плазмалемма служит осмотическим барьером в клетке. Уникальной особенностью растительных клеток является наличие в них крупных вакуолей, большей частью заполненных водным раствором, изотоничным цитоплазме. Обычно вакуоли служат для хранения отходов. Однако в некоторых фазах роста клеток вакуоли наполняются ферментами. Тонопласт, окружающий вакуоли, по составу и свойствам, по-видимому, очень похож на плазматическую мембрану.

Во всех мембранах гриба *Neurospora crassa* имеются инозитолсодержащие липиды. У мутантов, не содержащих инозитол, наблюдается вырождение мембран. Это свидетельствует о том, что инозитол необходим для сбалансированного роста этих дрожжей. Поэтому его аналоги могут останавливать их рост [Shatkin, Tatum, 1961]. Инозитол, вероятнее всего, находится в мембранах в виде инозитол-1-фосфата (4.60).

Необходимым компонентом плазматической мембраны грибов, в том числе и дрожжей, является эргостерин. Поэтому ис-

используемые в клинике полиеновые антибиотики, такие как амфотерицин В (5.14), повышают текучесть этих мембран и даже разрушают их, внедряясь в мембрану вдоль стероида и нарушая тем самым ее однородность (см. также разд. 14.3).



В. Мембраны бактерий. Цитоплазматическая мембрана бактерий обладает целым рядом необычных свойств. При полном гидролитическом расщеплении клеточной стенки лизоцимом мембрана становится наружным слоем клетки. Ее толщина около 6—10 нм и иногда она может образовывать одиночные выпячивания в цитоплазму [Hughes, 1962]. Плазматическая мембрана бактерий составляет примерно 10% сухого вещества клетки и содержит около 25% липидов. В других компонентах бактериальной клетки липидов почти нет. В состав *M. lysodeikticus* входит около 89% фосфолипидов, это преимущественно дифосфатидилглицерин и фосфатидилинозитол. Дифосфатидилглицерин содержит главным образом разветвленные алифатические кислоты с цепью из 15 углеродных атомов [Macfarlane, 1961]. Стероидов бактерии не содержат.

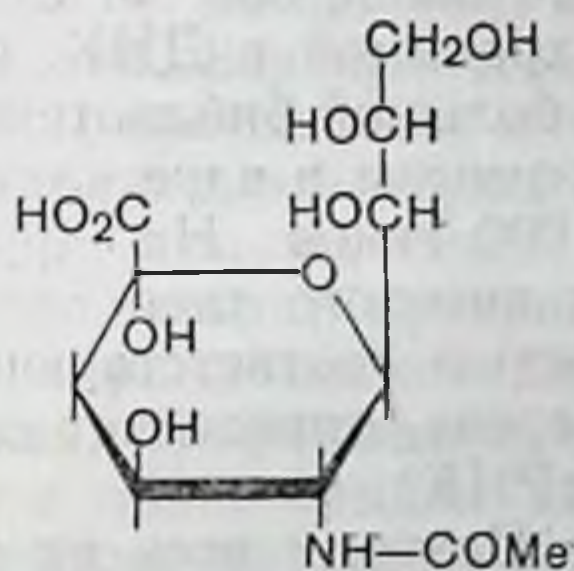
В мембранных белках найдены только обычные аминокислоты. Из плазматических мембран различных бактерий хроматографически на липофильном сорбенте было выделено много белковых фракций, и оказалось, что к одной из них присоединена ДНК одиночной бактериальной хромосомы [Daniels, 1971]. Обычным компонентом мембран является РНК [Hughes, 1962].

Плазматические мембраны бактерий содержат также пермеазы и ферменты, синтезирующие клеточную стенку [Crathorn, Hunter, 1958]. Из-за небольших размеров бактерий в них нет митохондрий, поэтому большинство митохондриальных ферментов расположено на плазматической мембране. Такое открытое расположение многих жизненно важных ферментов повышает уязвимость бактерий к действию избирательно токсических веществ (см. также разд. 5.4.3).

В отличие от бактерий у другого класса прокариот — микоплазм, не имеющих клеточных стенок, стероиды (чаще всего эргостерин) — это основные компоненты, обеспечивающие целостность мембраны. У растений и животных микоплазмы вызывают различные заболевания, легко поддающиеся лечению полиеновыми антибиотиками и тетрациклинами.

Г. Мембраны раковых клеток. Превращение здоровой клетки в раковую сопровождается отчетливыми изменениями структуры ее поверхности. Как было показано в экспериментах с внутриклеточным введением электродов, клетки образуют упорядоченную ткань благодаря своей способности чувствовать присутствие соседних клеток и с ними обмениваться информацией через плазматические мембраны [Loewenstein, Karno, 1967]. Однако в злокачественных клетках отсутствует механизм регуляции роста клеток (см. также разд. 5.1).

Повышенное содержание сиаловой кислоты (5.15) на поверхности злокачественных клеток (например, лейкозных и лимфосаркомы человека) приводит не только к изменению их гликопротеинового состава, но и к видимым структурным изменениям [Van Beek, Smets, Emmelot, 1975].



N-Ацетилнейраминная кислота
(сиаловая кислота)
(5.15)

Д. Искусственные мембраны. На этих мембранах выполнено много исследований по изучению возбудимости мембран [Mueller, Rudin, 1967] и их проницаемости для ионов. Наиболее удобным методом получения искусственных мембран является обработка ультразвуком смеси лецитина с водой. При этом образуется суспензия везикул с бислошной структурой [Huang, 1969]. На таких везикулах можно изучать транспорт веществ через природные мембраны.

Взаимодействие и движение белков и липидов в мембранах, динамика мембран см. Houslay, Stanley (1982); структура и функция мембран см. Gomperts (1976), Chapman (1968—1982, 4 тома), а также Finean, Coleman, Mitchell (1978)¹.

5.4.2. Ядро

Все клетки, за исключением бактериальных, имеют крупное ядро, часто сферической формы, в котором через оптический микроскоп можно различить одно или несколько ядрышек. Ядро окружено двумя мембранами, внутренней и внешней, толщиной

¹ См. также Котык А., Яначек К. Мембранный транспорт. — М., 1980. — Примеч. ред.

около 8 нм каждая, расположенными на расстоянии нескольких десятков нанометров друг от друга. Эта мембранная структура пронизана легко деформируемыми порами с внутренним диаметром 80 нм (измерено для ооцита амфибии *Xenopus*). Поры закрыты пробкой с восемью спицами диаметром 37 нм. Молекулы диаметром до 9 нм легко проходят через эти поры. При необходимости поры могут расширяться настолько, что через них проходят частицы рибосом диаметром около 20 нм [Unwin, Milligan, 1982].

Ядрышки представляют собой клубки нитей без окружающей мембраны и с большим количеством РНК. Ядерный сок содержит нити хроматина, который во время митоза организуется в более плотные структуры — хромосомы (ДНК + белок). Общая длина ДНК в ядре около 1 м; она состоит примерно из 3×10^9 нуклеотидов с ОММ около 350. Ф. Сенгер как-то сказал, что объем информации, хранимой в ДНК, сравним с объемом информации, хранимой в большой библиотеке.

Двадцать три пары хромосом в ядре клеток человека содержат приблизительно 200 000 генов. На другой конец шкалы можно поместить вирус, у которого лишь около 10 генов. Ген — это участок ДНК, полностью соответствующий специфической РНК, которая, в свою очередь, определяет один белок (иРНК) или одну аминокислоту (тРНК).

У бактерий нет ядра. Поэтому весь их генетический материал хранится в одной хромосоме, представляющей собой петлю ДНК. Эта петля свободно лежит в цитоплазме, но прикреплена к плазматической мембране. Радиоавтография ДНК *E. coli*, меченной ^3H -тимидином, показывает, что молекула двуничатой ДНК длиной около 800 мкм образует кольцо [Caigns, 1963]. Цепочка такой длины содержит около 3 млн пар оснований (примерно 10 000 генов). Место репликации бактериальной хромосомы расположено на цитоплазматической мембране [Smith, Hanawalt, 1967; Sueoka, Quinn, 1968]. ДНК бактерий значительно более чувствительна к действию избирательных агентов, чем ДНК высших форм жизни, так как она не защищена ни ядерной мембраной, ни молекулами гистонов [Zubaу, Watson, 1959]. Примером этого может служить высокоизбирательное действие на бактерии аминоакридинов при обработке ран (разд. 2.2 и 10.3.1).

У большинства видов бактерий часто встречается и другая генетическая структура, не входящая в состав хромосомы — плазида, которая может содержать от 1000 до 400 000 пар нуклеотидов (т. е. до 600 генов). Плазида может передаваться как бактериям тех же видов, так и других. Очень часто именно с плазмидой бактерии передается устойчивость к действию лекарственных веществ (разд. 6.5). Обзор по плазмидам см. Stuttard, Rozee (1979).

Некоторые бактерии, поражающие растения, могут выделять плазмиды, несущие информацию о синтезе опинов, в ре-

зультате чего растение начинает синтезировать это соединение, роль которого заключается в обеспечении существования бактерии в растении. Например, *Agrobacterium tumefaciens*, вызывающая опухоли у двудольчатых, инъецирует в клетки растений циклическую ДНК, содержащую программу синтеза агропина (1,2'-лактон-N-1'-дезоксиманнитол-1'-илглутамин) [Tate et al., 1982]. Большинство опинов представляют собой N-замещенные аминокислоты. Для защиты от такого нападения растения вырабатывают фитоалексины (разд. 6.4.2).

5.4.3. Митохондрии

Митохондрии — генераторы и хранилища энергии живых клеток, находятся во всех клетках, за исключением бактериальных. Они имеют форму палочек или почти сферических цилиндров диаметром от 0,2 до 0,3 мкм. Каждая клетка содержит около 1000 митохондрий. Все процессы окислительного фосфорилирования в клетках протекают в митохондриях.

При аэробных условиях, в которых растет большинство клеток, в митохондриях сосредоточены: а) цикл трикарбоновых кислот, в котором происходит превращение продукта метаболизма углеводов и жирных кислот ацетил-КоА в CO_2 и воду с выделением энергии; б) ферменты, обеспечивающие окисление жирных кислот с образованием ацетил-КоА; в) ферменты дыхательной цепи, обеспечивающие перенос на молекулы кислорода воздуха электронов, отщепляющихся от различных метаболических субстратов, и накапливающие часть полученной энергии в виде АТФ. И только ферменты гликолитического цикла Мейергофа находятся в цитоплазме.

Митохондрии окружены двумя липопротеидными мембранами общей толщиной около 18 нм. Внутренняя мембрана впячивается в митохондрию многочисленными складками, известными под названием крист. Белковый компонент крист примерно на $\frac{1}{4}$ состоит из оксисом (дыхательных ансамблей), т. е. строго определенных, упорядоченных последовательностей флавопротеида, кофермента Q и цитохромов b, c_1 , c, a, a_3 вместе с сопутствующими им специфическими белками. Важную роль играют также ферредоксины (разд. 11.0). Восстановление первых двух членов этой цепи происходит в цикле трикарбоновых кислот; каждый член этого ряда окисляется своим соседом справа и так до самого конца цепи, т. е. цитохрома a_3 , находящегося в равновесии с атмосферным кислородом.

Митохондрии содержат около 20 растворимых и 20 нерастворимых белков, многие из которых обладают ферментативной активностью. Большинство этих белков синтезируется на цитоплазматических рибосомах, а некоторые — на митохондриальных. В митохондриях содержатся также ДНК и РНК, образующие одноцепочечные кольца с ОММ около 10 млн [Sinclair, Stevens, 1966]. Митохондрии воспроизводятся почкованием.

Митохондрии проходят последовательно чередующиеся фа-

зы набухания и сокращения. Набухание сопровождается выделением энергии и стимулируется ионами кальция, тироксином и другими гормонами, сокращение же вызывается только действием АТФ. При набухании происходит превращение химической энергии (энергии переноса электронов) в механическую; однако избыточное набухание приводит к разрушению митохондрий. Кристы покрыты бляшками, содержащими фермент аденозинтрифосфатазу (как и бляшки на миофибриллах мышц). Нормальные митохондрии в точках разобщения окислительного фосфорилирования содержат ионы кальция, однако в асцитных опухолевых клетках этого нет. Вероятно, в опухолевых клетках не осуществляется кальций-контролируемый механизм разобщения [Thogne, Bugrove, 1974].

Митохондрии разных организмов значительно отличаются друг от друга [Palade, 1952]. И даже в одном организме существуют заметные различия в структуре митохондрий. Так, у всех млекопитающих митохондрии в разных органах содержат разное число крист: в сердце и почках, органах с высокой дыхательной активностью митохондрии содержат большее число крист; в митохондриях печени их значительно меньше. Мозг млекопитающихся содержит по меньшей мере две популяции митохондрий, отличающихся набором ферментов [Blokhuys, Veldstra, 1970]. Все митохондрии быстро растущей гепатомы 3924А, в отличие от их родительских клеток (печени крысы), имеют делецию по ферменту β -оксибутиратдегидрогеназе. Матрикс митохондрий опухолевых клеток не прокрашивается стандартными красителями, хотя обе мембраны интактны [Redersen et al., 1970]. Митохондрии печени крыс и цыплят могут быть разделены на две популяции, отличающиеся друг от друга по плотности; более тяжелая преобладает у эмбрионов, а более легкая — у взрослых особей [Pollack, Woog, 1971]. Кроме того, митохондрии различных тканей имеют разную способность к набуханию. Митохондрии мозговой ткани, благодаря наличию внутренних переплетений, под действием веществ, вызывающих набухание, увеличиваются в объеме не более чем на 1%, тогда как митохондрии печени и почек могут увеличивать свой объем в 2—3 раза. Изолированные митохондрии печени крысы под действием тироксина набухают значительно больше, чем митохондрии сердца [Tarpley, Cooper, 1956]. Аминазин ингибирует окислительное фосфорилирование в интактных митохондриях мозга, но не действует на митохондрии печени [Berger, 1957].

Структурные различия, о которых шла речь, обеспечивают широкие возможности для избирательного действия веществ. Этому может способствовать и различная проницаемость мембран клеток разных органов для молекул лекарственного вещества.

Митохондрии и одноклеточные организмы. У бактерий нет митохондрий, а все сложные функции, за которые в клетках

эукариот ответственны митохондрии, в бактериальной клетке выполняются плазматической мембраной. На плазматической мембране бактерий расположены многие типичные для митохондрий эукариот ферменты [De Ley, Docky, 1960], в частности все ферменты цикла трикарбоновых кислот. На плазматической мембране типичных бактерий, например *Staphylococcus aureus* и *Micrococcus lysodeikticus*, сосредоточено более 90% клеточных дегидрогеназ (сукцинат-, малат-, лактат- и форматдегидрогеназы) и цитохромоксидаз [Mitchell, 1963].

Концентрация на плазматической мембране бактерий такого большого числа ферментов, хорошо укрытых у организма-хозяина митохондриальной мембраной, значительно повышает их чувствительность к действию избирательно токсических веществ. Некоторые ингибиторы митохондрий уже обсуждались в разд. 2.3.

Митохондрии простейших, встречающиеся в разных видах в большем или меньшем количествах, заполнены чаще всего трубочками, а не кристами. Единичный кинетопласт трипаносом, содержащий ДНК, возникает в результате деления предшествующего кинетопласта. Он содержит, по-видимому, всю необходимую информацию для образования митохондрий и системы цитохромов. Эта информация реализуется паразитом только при заражении второго хозяина — насекомого, в организме которого трипаносомы размножаются в форме критидий, содержащих полный набор митохондрий и цитохромов [Vicker-man, 1962].

У мышей такие противопротозойные лекарственные вещества, как диминазин, этидий, пентамидин, гидроксистильбамидин и трипафлавин, необратимо связываются с кинетопластом *Trypanosoma rhodesiense* и разрушают его, не действуя при этом на ядра клеток [Macadam, Williamson, 1972]. Кинетопласт более чувствителен к действию этих веществ, так как в отличие от ядра не укрыт гистонами [Steinert, 1965]. Некоторые простейшие вместо митохондрий имеют гидрогеносомы. Метронидазол избирательно повреждает содержащийся в них ферредоксин — активируемый фермент, превращающий пируват в ацетил-КоА [Tzagoloff, 1982 и Prebble, 1981].

5.4.4. Хлоропласты

Хлоропласты, фотосинтезирующие органеллы клеток зеленых растений, похожи на митохондрии. Они имеют около 0,2 мкм в диаметре и окружены двуслойной липопротеидной мембраной толщиной около 10 нм. Двумя главными компонентами хлоропластов являются мембранная система и строма. В мембранную систему входят граны и пластинки, содержащие молекулы хлорофилла, в строме находятся рибосомы (70S), РНК и ДНК. Несмотря на наличие ДНК, хлоропласты, как и митохондрии, не автономны, многие их белки синтезируются

из ядерной ДНК на цитоплазматических рибосомах. В хлоропластах встречаются также жирорастворимые сферы, содержащие каротиноиды [Merseer, 1960]. В разд. 4.6 описаны различные гербициды, избирательно повреждающие хлоропласты [см. также Goodwin, 1966].

5.4.5. Эндоплазматический ретикулум и микросомы

Большинство клеток имеет сильно извилистую внутреннюю мембрану, образующую сложную сеть наполненных цитоплазмой трубочек. Эта мембрана называется эндоплазматическим ретикулумом (ЭР) и представляет собой мозаику из липопротеинов, сходную с таковой плазматической мембраны.

Существуют два типа ЭР — гладкий и шероховатый, имеющий выстланную множеством рибосом поверхность. После гомогенизации клеток дифференциальным центрифугированием эти два типа ЭР могут быть разделены, хотя и в несколько поврежденном виде. При таком выделении гладкий ЭР образует являющиеся артефактом сферические структуры, известные под названием «микросом». Микросомы используются в различных экспериментах, так как обладают такими же свойствами, что и нативный ЭР. Эндоплазматический ретикулум представляет собой органеллу, выполняющую функции накопления. В лимфоцитах млекопитающих в нем накапливаются антитела; в клетках печени на мембране ЭР сосредоточены ферменты, разрушающие чужеродные жирорастворимые соединения (разд. 3.5). У бактерий ЭР отсутствует, зато в грибах он сильно развит.

5.4.6. Рибосомы

Рибосомы, на которых идет синтез белка в клетках, представляют собой частицы диаметром 10—20 нм, состоящие из различных белков и РНК. Рибосомы высших организмов имеют коэффициент седиментации 80S, а рибосомы бактерий — 70S. Последние содержат много ионов магния и под действием веществ, связывающих магний, например ЭДТА, распадаются на две субъединицы — 30S и 50S. Рибосомы (80S) эукариот содержат значительно меньше ионов магния и поэтому распадаются не так легко. Из этого следует, что рибосомы прокариот и эукариот отличаются друг от друга по структуре, однако и на тех и на других синтез белка протекает одинаково [Vasques, 1964].

Около 60% бактериальной 70S рибосомы составляет РНК, остальное почти полностью — белки. В быстро растущих клетках *E. coli* на долю рибосом приходится до $\frac{1}{3}$ сухой массы клетки, а каждая из рибосом включает в себя 55 молекул 55 различных белков [Gale et al., 1981].

Многие лекарственные вещества, ингибирующие синтез бел-

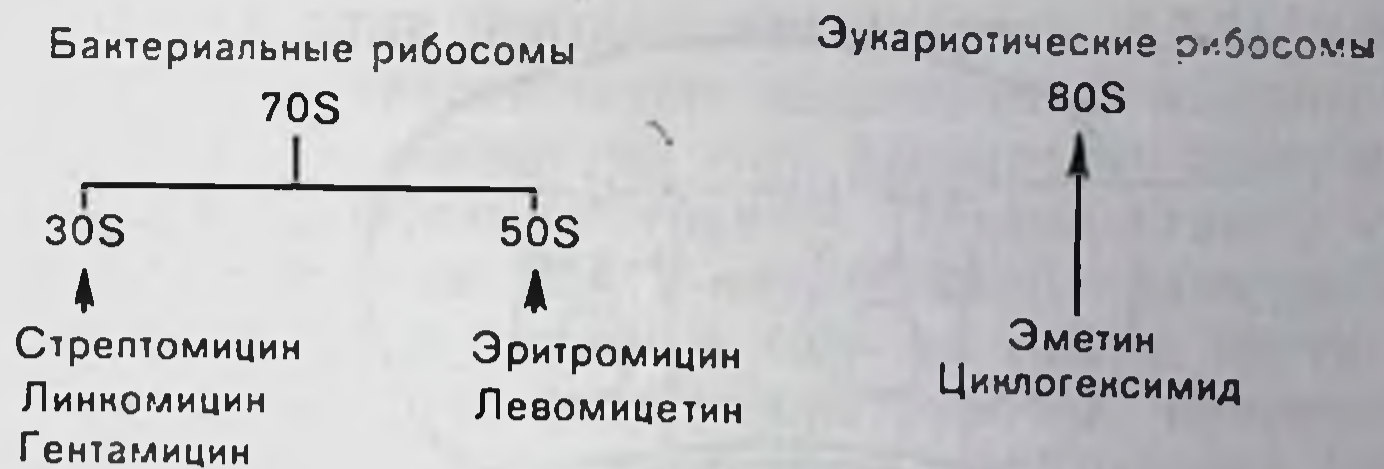


Рис. 5.6. Избирательное связывание рибосом различными ингибиторами синтеза белка.

ка, способны даже в интактных клетках различать рибосомы бактерий и эукариот. Аминогликозидные антибиотики, например стрептомицин, связываются только с 30S субъединицей, тогда как левомицетин и эритромицин — только с 50S субъединицей (рис. 5.6). Высокая избирательность действия этих антибиотиков обусловлена тем, что они совершенно не взаимодействуют с 80S рибосомой. Тетрациклины, одинаково эффективно связывающиеся с 30S и 80S фракциями изолированных рибосом, благодаря высокой избирательности распределения не реагируют с 80S рибосомой при терапевтическом применении (разд. 3.0). И наконец, эметин и циклогексими́д обладают противоположной избирательностью — они связываются только с рибосомами эукариот (разд. 4.1).

На рис. 5.7 схематически показан синтез белка на рибосоме. Информационная РНК связана с малой субъединицей и находится, вероятно, в щели между двумя субъединицами. Транспортная РНК подходит к иРНК и на большой субъединице идет биосинтез белковой цепи.

Митохондриальные рибосомы млекопитающих меньше по размеру (около 55S). Они нечувствительны к эритромицину и линкомицину, хотя эти антибиотики легко проникают в митохондрии. Однако эти рибосомы чувствительны к левомицетину, который не проникает в митохондрии млекопитающих. Рибосомы хлоропластов чувствительны к большинству ингибиторов белкового синтеза у бактерий [Küntzel, Noll, 1967].

У вирусов нет рибосом и поэтому они используют рибосомы клетки-хозяина.

О рибосомах см. Nomura, Tissières, Lengyel (174)¹.

5.4.7. Микротрубочки

Эти органеллы присутствуют во всех клетках животных и растений. Например, в мозге человека много микротрубочек (нейротрубочек), участвующих в осуществлении нервной передачи в ЦНС. Микротрубочки играют важную роль и при разделении хромосом во время митоза.

Алкалоид колхицин (5.16) специфично и обратимо связыва-

¹ См. также Спирин А. С. Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка. — М., 1986; Сергеев П. В., Шимановский Н. Л. Рецепторы физиологически активного вещества. — М., 1987. — Примеч. ред.

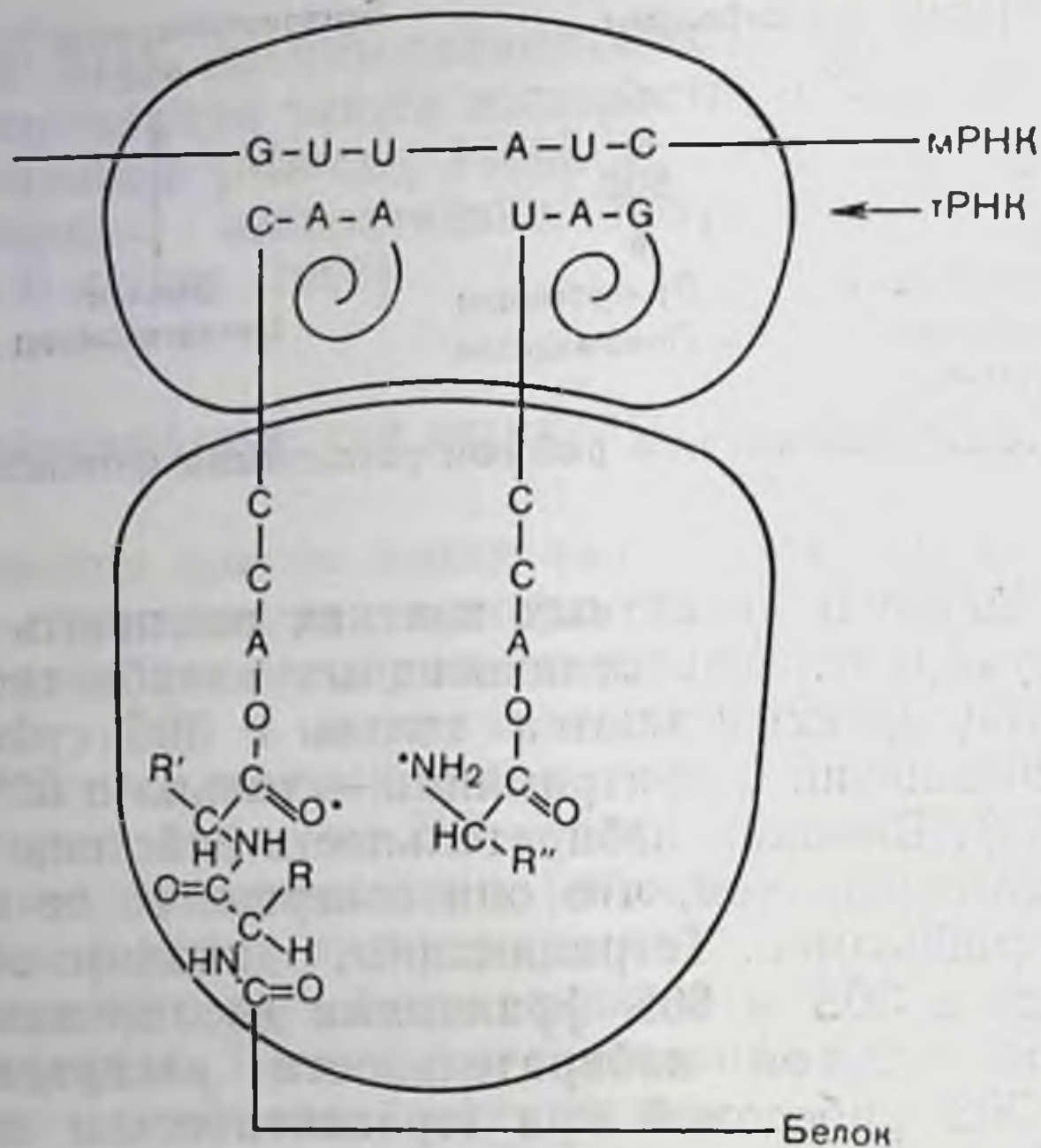
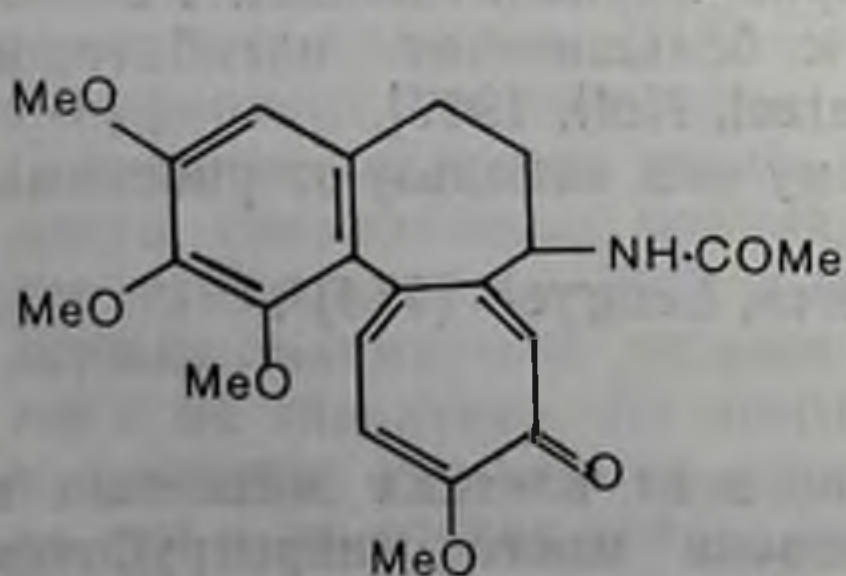
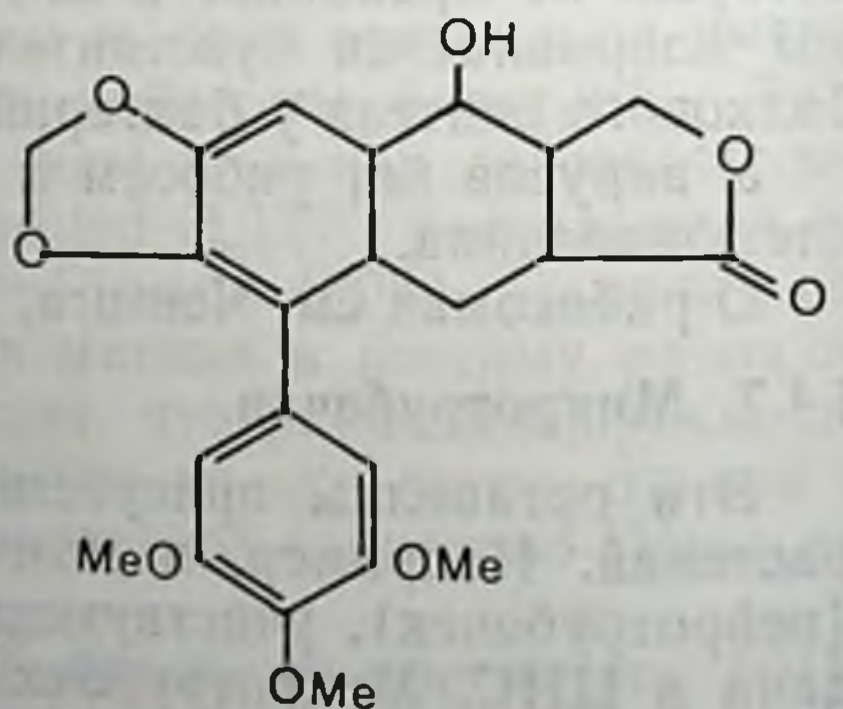


Рис. 5.7. Процесс синтеза белка на рибосоме. Звездочкой обозначены две группы, образующие пептидную связь.

ется с белком тубулином, при полимеризации которого образуются микротрубочки [Borisy, Taylor, 1967]. Главную роль в этом связывании играет кето-группа колхицина. Колхицин является мощным блокатором митоза, так как, связываясь с тубулином, он блокирует образование митотического веретена в метафазе. Яркое выраженное противовоспалительное действие колхицина при подагре связано с его действием на микротрубочки лейкоцитов. Однако из-за его низкой избирательности при подагре вместо колхицина применяют аллопуричол, ингибитор ксантиноксидазы (разд. 9.4.4).



Колхицин
(5.16)



Подофиллотоксин
(5.17)

Широко применяемые в ветеринарии противогельминтные

препараты, производные бензимидазола (разд. 6.3.5), связываются с тубулином и препятствуют образованию микротрубочек [Kelly et al., 1977]. Большинство этих препаратов содержат метоксикарбониламино-(уретано-)группу. Предполагают, что даже такой простой уретан, как 2-метоксикарбониламинобензил-амин, связывается с тубулином в том же самом месте, что и колхицин, т. е. ингибирует рост микротрубочек, присоединяясь к их растущему концу. Избирательность производных бензимидазола значительно выше, чем колхицина, и один из них, трибендазол, применяют в качестве противогельминтного препарата в клинике [Dawson, Gutheridge, Gull, 1983].

По-видимому, таков же механизм действия и производных бензимидазола (типа беномила), обладающих фунгицидной активностью (разд. 6.3.4.).

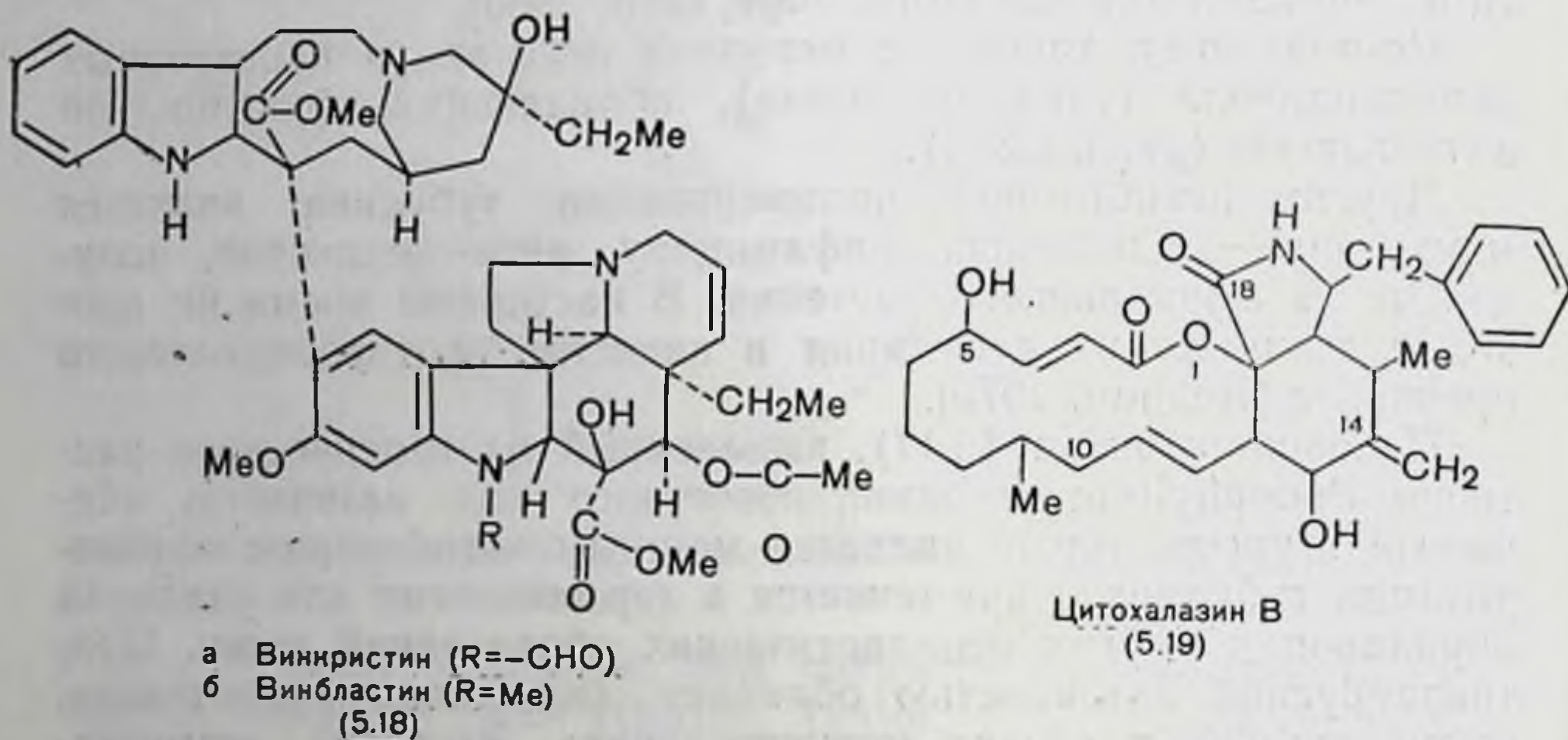
Другим ингибитором полимеризации тубулина является маутанзин — родственное рифамицину анса-соединение, полученное из африканского растения. В настоящее время он проходит клинические испытания в качестве противоопухолевого препарата [Rebhun, 1975].

Подофиллотоксин (5.17), выделенный из тропического растения *Podophyllum peltatum*, известного под названием «бешеный огурец», также является мощным ингибитором полимеризации тубулина и применяется в дерматологии для удаления бородавок и других неопластических образований кожи. Противовирусной активностью обладает дезоксиподофиллотоксин, содержащийся в ягодах можжевельника. Этопозид, дезметил-1-О-(4,6-О-этилиден-β-D-глюкопиранозил) эпиподофиллотоксин, полусинтетическое производное подофиллотоксина, применяется в клинике при различных опухолях, на которые не действуют никакие другие препараты. Предполагают, что он снижает уровень синтеза ДНК, а не блокирует образование микротрубочек [Loike, 1984].

Алкалоиды *Vinca rosea*, связываясь с тубулином, ингибируют митоз в метафазе, связываясь с тубулином, но не в месте связывания колхицина [Magantz, Shelanski, 1970]. Винкристин (5.18, а) обычно применяют в первые дни острого лейкоза у детей. Он обеспечивает мощное воздействие в начале лечения, после чего терапию продолжают более избирательными препаратами типа метотрексата и 6-меркаптопурина. Винкристин применяется также и при остром лейкоцитарном лейкозе у взрослых. Винбластин (5.19, б) совместно с цисплатином и блеомицином назначают при метастазирующих опухолях семенных желез. Оба алкалоида могут использоваться при болезни Ходжкина и других лимфомах. Следует подчеркнуть, что хотя по химическому строению эти соединения очень близки, при их применении не возникает перекрестной резистентности. В настоящее время ведутся поиски аналогов этих алкалоидов, не обладающих нежелательным нейротоксическим действием.

В противоположность веществам, разрушающим микротру-

бочки, среди противоопухолевых препаратов есть и такие, которые стабилизируют их, например таксол. В связи с тем что противоопухолевыми свойствами обладают как вещества, стабилизирующие микротрубочки, так и вещества их разрушающие, можно предположить, что для развития злокачественных опухолей необходимо равновесие между этими двумя процессами. Таксол представляет собой сложный терпен, имеющий четыре эфирные группы и конденсированное оксетановое кольцо; содержится в голосеменных растениях, родственном широко распространенному тису [Horwitz et al., 1982].



О микротрубочках см. также Roberts, Hyams (1980) и Sasaki, Bogisy, Mohri (1982)¹.

5.4.8. Другие внутриклеточные органеллы

А. Микрофибриллы. Ранее полагали, что актин и миозин присутствуют только в мышечных клетках, но теперь известно, что они существуют в составе микрофибрилл во многих типах клеток позвоночных и протозоа. Диаметр микрофибрилл около 5 нм. Они играют важную роль в таких клеточных явлениях, как движение протоплазмы, цитокинез, колебание мембран, рост нервов, фагоцитоз и пиноцитоз. Эти свойства микрофибрилл удалось установить после того, как из грибов были выделены цитохалазины — вещества, специфически ингибирующие движение микрофиламентов [Carter, 1972]. Наиболее полно изучены биологические свойства цитохалазина В (5.19).

Немышечный миозин, так же как и миозин мышц, может гидролизовать АТФ и образовывать поперечные связи между

¹ О механизмах действия колхицина и других митозных ядов см. Семёнов А. А. Природные противоопухолевые соединения. — Новосибирск, 1979. — Примеч. ред.

волоконнами актива. Однако миозины отличаются по другим физическим, химическим и ферментативным свойствам, и этим можно объяснить различия в движении разных типов клеток.

Б. Диктиосомы. Эти органеллы, носящие общее название «аппарата Гольджи», представляют собой мешковидные тельца различной формы и с разной способностью к сцеплению; они окружены липопротеидной мембраной. Установлено, что в их функции входит синтез отдельных составных частей и сборка глико- и липопротеидов, образование и упаковка секреторных гранул, синтез лизосомных ферментов и сборка компонентов мембран. Обзор см. Dauwalder, Whaley, Kerhart (1972).

В. Лизосомы. Эти органеллы, диаметром от 0,2 до 3,0 мкм, с кислым цитозолем, содержат около 40 различных гидролитических ферментов. Среди них есть рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза, несколько протеаз, кислая фосфатаза и ферменты, отщепляющие сахар от гликолипидов. Лизосомы образуются эндоплазматическим ретикулумом. Они могут проникать через цитоплазматическую мембрану; при этом мембрана разрывается и высвобождает ферменты. У некоторых одноклеточных организмов лизосомы помогают усвоению пищи, начиная процесс ее переваривания еще вне клетки. У высших организмов они участвуют в обновлении тканей, разрушая старые или просто избыточные клетки. Витамин А снижает прочность лизосом, но этот эффект может быть устранен действием аминазина [Guth et al., 1965]. Лизосомы из всех органелл наиболее доступны для лекарственных веществ и поэтому их считают желательным местом действия для мембрано-стабилизирующих и мембрано-разрушающих препаратов. Целью терапии воспалительных и дегенеративных заболеваний является стабилизация или восстановление мембраны лизосом (разд. 14.4). Однако при лечении опухолей считают необходимым для увеличения кислотности внутри клетки разрушать лизосомы с помощью избирательных токсических агентов [разд. 14.3, см. также Dean, Bagget, 1976 и Segal, Doyle, 1978].

Г. Пероксисомы, которыми богаты клетки млекопитающих, содержат оксидазы как D-, так и L-аминокислот, кристаллы уратоксидазы и каталазы в количестве, необходимом для разложения перекиси водорода, вырабатываемой этими оксидазами.

Д. Пресинаптические везикулы представляют собой небольшие пузырьки, в которых хранится синтезирующийся в окончаниях моторных нейронов ацетилхолин (АХ). Приток ионов кальция, вызванный нервным импульсом, ведет к их разрыву. Значительно большие по объему синаптосомы образуются из разрушенных пресинаптических мембран нервных окончаний и могут быть отделены центрифугированием. В зависимости от источника они могут содержать норадреналин, дофамин, серотонин, кортикотропинрилизинг-фактор и другие медиаторы, но не АХ. Катехоламинергические синаптосомы способны синтези-

ровать катехоламины [Patrick, Barchas, 1974]. Предполагают, что в инсектицидном действии ДДТ важную роль играет его способность разрушать пресинаптические везикулы насекомых (разд. 7.6.5).

Е. Липосомы могут образовываться в организме после приема жирной пищи, когда они видны в крови как четко очерченные жирные частички. В разд. 3.7 обсуждается использование искусственных липосом в качестве носителей лекарственных веществ.

5.5. Вирусы

Вирусы представляют собой неклеточные формы жизни, структурно более простые, чем бактерии. По величине и форме они могут быть совершенно разными — от мелких круглых частиц диаметром 20 нм до длинных палочкообразных частиц (1000×10 нм).

Существующий вне клетки инфекционный вирус (вирион) содержит «ядро», состоящее из ДНК или из РНК и покрытое защитным капсидом (оболочкой), построенным из одного или двух белков. Оба эти компонента размещены в вирионе с высокой степенью упорядоченности, характерной для каждого типа вируса. Большинство вирусов млекопитающих имеют форму икосаэдров (20-гранники), т. е. почти сферу. Однако вирусы кори и гриппа представляют собой спираль. У последнего капсид образован двумя белками — нейраминидазой и гемагглютинином, окруженными липидами. Внутри этой оболочки заключена спирально закрученная рибонуклеопротеидная трубка. Наиболее изучены имеющие форму брусков поксвирусы, к которым относится и вирус герпеса. Структура этих вирусов очень сложна. Многие типы вирусов имеют белковую сердцевину, вокруг которой обвивается нуклеиновая кислота.

Фаги имеют характерную форму и состоят из головки и хвоста. Головка фага T2, например, содержит одну молекулу ДНК (ОММ 10^8), весящую 2×10^{-10} мкг и содержащую 2×10^5 пар нуклеотидов. Эта молекула упакована в плотную сферу и, окруженная плотно упакованными белками (не имеющими генетической функции), образует «головку». К головке присоединен «хвост», состоящий из пяти структур: 1) внешнего чехла из сократимого миозинподобного белка, соединенного примерно со 110 молекулами АТФ; 2) твердого стержня; 3) концевой участка, представляющего собой усаженную шипами пластинку; 4) нескольких молекул эндолизина — фермента, сходного с лизоцимом; и 5) групп нитей, обвивающих дистальный конец хвоста (рис. 5.8).

Химические компоненты. Отдельные представители различных классов вирусов содержат от 1 до 20 типов белков, в число которых входят ферменты.

В различных типах вирусов ОММ нуклеиновой кислоты колеблется от 2 до 160 млн. Из вирусов, поражающих человека,

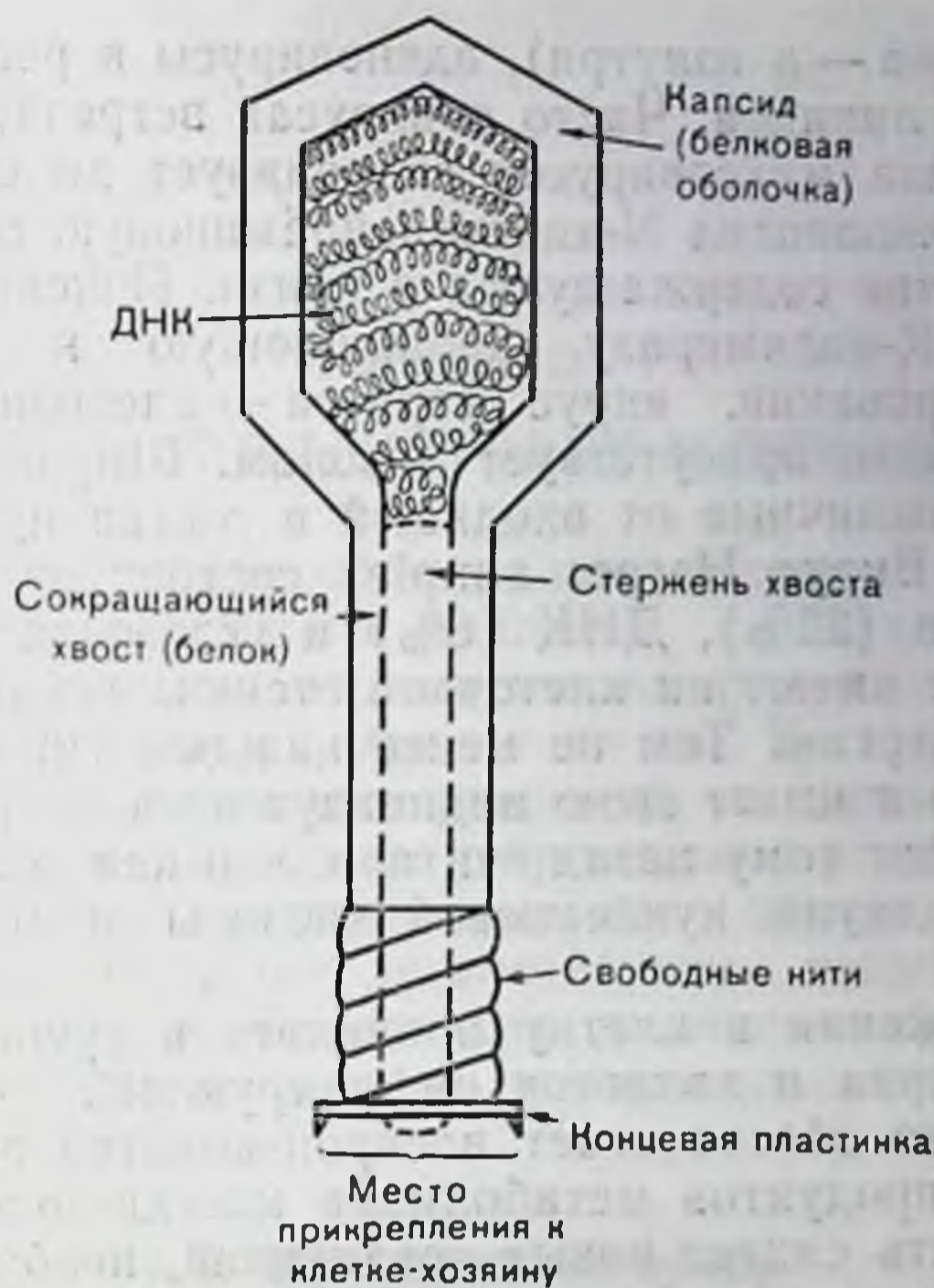


Рис. 5.8. Т-четный колифаг.

примерно половина относится к РНК-содержащему типу, вторая половина — большие по размеру ДНК-содержащие типы. Типичными ДНК-содержащими вирусами являются аденовирусы, поражающие дыхательные пути, поксвирусы и вирусы герпеса. К РНК-содержащим типам относятся миксовирусы гриппа, парамиксовирусы, вызывающие свинку и корь, а также вирусы желтой лихорадки и энцефалита. У некоторых типов вирусов нуклеиновая кислота двуцепочечная, у других — одноцепочечная.

Фаги — вирусы, поражающие бактерии — содержат такие алифатические полиамины как путресцин $[H_2N(CH_2)_4NH_2]$ и спермидин $[H_2N(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH_2]$ в количествах, достаточных для нейтрализации 30—50% всей ДНК. Эти амины, видимо, стабилизируют сложенную структуру ДНК, но являются неспецифическими катионами, так как их замена избытком ионов магния не нарушает функционирование ДНК [Ames, Dublin, 1960]. Многие другие вирусы, например полиовирусы и вирусы табачной мозаики, не содержат органических оснований. Все Т-четные фаги, инфицирующие *E. coli*, содержат производное фолиевой кислоты — дигидроптероилпентаглутаминовую кислоту, расположенную около концевой пластинки. В зараженной бактерии фаги индуцируют синтез этой кислоты [Kozloff et al., 1970].

Хотя капсиды вирусов снаружи обычно покрыты липидами

(а поксвирусов — и изнутри), аденовирусы и реовирусы вообще не содержат липидов. Часто в вирусах встречаются ферменты. Нейраминидаза миксовирусов гидролизует до сialовой кислоты (5.15) гликопептид N-ацетилнейраминовою кислоту, в большом количестве содержащуюся в слизи. Поксвирусы содержат фермент РНК-полимеразу, проникающую в клетку-хозяина при инфицировании, вирус герпеса — аденозинтрифосфатазу, а в фагах часто присутствует лизоцим. Широко представлены и углеводы, отличные от входящей в состав нуклеиновых кислот рибозы. Вирус *Herpes simplex* состоит из белков (70%), фосфолипидов (22%), ДНК (6%) и углеводов (1,6%).

Вирусы не имеют ни клеточной стенки, ни системы, вырабатывающей энергию. Тем не менее каждый тип вируса устроен очень сложно и имеет свою индивидуальность. Трудно представить, что 30 лет тому назад считали, что каждый вирус состоит из одной молекулы нуклеиновой кислоты и одной молекулы белка.

При заражении в клетку проникает вирусная нуклеиновая кислота, которая и является инфицирующей частью вируса. Она не только обеспечивает воспроизводство вирусов из промежуточных продуктов метаболизма клетки-хозяина, но может и инициировать синтез новых соединений, необходимых вирусу для воспроизведения. Типичный РНК-содержащий вирус *Vaccinia* в цитоплазме клетки-хозяина с помощью ревертазы синтезирует на своей РНК комплементарную ДНК, что приводит к репрессии ДНК клетки-хозяина. После того как на новой ДНК синтезируется вирусная РНК, на рибосомах хозяина начинается синтез вирусспецифических белков и быстрое размножение вирусных частиц в клетке-хозяине.

Заражение *E. coli* колифагом происходит в несколько стадий. Сначала в соприкосновение с поверхностью клетки входят длинные нити на хвосте фага, затем к поверхности прикрепляется усаженная шипами концевая пластинка. Содержащиеся в этой пластинке лизоцимподобные ферменты деполимеризуют часть муреина бактериальной клеточной стенки и в образовавшееся отверстие под действием сокращающегося миозинподобного белка входит твердый стержень. Затем в цитоплазму инъецируется вирусная ДНК [Lwoff, 1961].

Вирус находится вне клетки лишь на протяжении небольшой части своего жизненного цикла, и на этой стадии он очень чувствителен к воздействию химических веществ, даже разбавленного мыла. Однако эффективное лечение вирусных заболеваний окажется возможным только тогда, когда будут найдены способы убивать вирусы, паразитирующие в клетке, не затрагивая при этом клетку-хозяина.

В разд. 4.0 и 6.3.2 рассматриваются новые противовирусные препараты. Биология вирусов животных описана Fenner и соотр. (1974), медицинские аспекты вирусологии — Fenner, White (1976).

Глава 6

ХИМИОТЕРАПИЯ: ИСТОРИЯ И ПРИНЦИПЫ

В предыдущих главах обсуждались основные факторы, определяющие избирательность действия токсических агентов. Эта и следующая главы посвящены истории развития и принципам химиотерапии и фармакодинамики. К сожалению, даже самые лучшие лекарственные вещества со временем теряют свое значение из-за выработки у организмов устойчивости к их действию — явления, сводящего на нет самые выдающиеся успехи в области создания лекарственных веществ. Поэтому ознакомление с историей развития исследований и появления открытий может помочь нам и дальше плодотворно работать в этой области.

6.0. Исторический обзор

Микроорганизмы были открыты в Голландии Антони ван Левенгуком в 1676 г., однако лишь через два века, после работ Роберта Коха по изучению сибирской язвы, стала ясна их роль в возникновении эпидемий. Р. Кох сформулировал четыре правила, позволяющие точно установить этиологическую связь инфекционных заболеваний с микроорганизмом, что дало биологам возможность начать экспериментальное изучение инфекционных болезней и подготовило почву для появления химиотерапии.

В 1891 г. Д. Л. Романовский в Петербурге сделал выдающееся открытие. Используя специальный набор красителей для микроскопии (эозин-метиленовый синий), он показал, что у больных, получавших хинин, малярийные плазмодии (открытые А. Лавраном в 1880 г.) оказывались поврежденными. Наибольший эффект отмечался для бесполой внутриклеточной формы, ядра которых быстро разрушались. Уже через 2 дня никаких паразитов в крови больных обнаружить не удавалось. Результаты этих опытов позволили Д. Л. Романовскому утверждать, что при лечении малярии хинин больше вредит паразиту, чем хозяину. Этот вывод имел большое историческое значение, так как раньше никто даже не предполагал, что лекарственное вещество может действовать подобным образом. Считалось, что лекарственные вещества просто усиливают защитные силы организма или служат источником дополнительной энергии. Д. Л. Романовский предсказывал, что в будущем

будут найдены специфически действующие вещества для борьбы и с другими заболеваниями, способные в максимальной степени повреждать паразитов и наносить минимальный вред тканям хозяина [Романовский, 1891]. Предсказания Д. Л. Романовского настолько не соответствовали уровню развития науки того времени, что совершенно не привлекли внимания ученых. Однако именно эту идею возродил П. Эрлих, основав химиотерапию.

Термин «химиотерапия» был предложен Паулем Эрлихом (1854—1915). Он определил ее как «использование лекарственных веществ, поражающих паразита и не причиняющих вреда организму-хозяину».

С. Brownig в 1929 г. писал: «Химиотерапия — это введенный Эрлихом термин для обозначения лечения инфекционных заболеваний химическими веществами известного строения, механизм лечебного действия которых заключается в разрушении патогенных организмов или их продуктов. Следует подчеркнуть различие между химиотерапевтическими соединениями и антителами, являющимися сложными специфическими продуктами биологической реакции на инфицирующий организм».

Сущность химиотерапии заключается в достижении дифференцированного эффекта от введения лекарственного вещества, обеспечивающего организму хозяина некоторые преимущества в его борьбе с паразитом. Основную роль в этой борьбе играют лейкоциты и другие естественные защитные силы организма хозяина, однако эффективное лекарственное вещество может сдвинуть равновесие в сторону хозяина.

Прогрессу химиотерапии значительно способствовало то, что вредные и полезные виды (разд. 1.0) в данном случае представляют собой разные организмы, и поэтому паразита можно изучать (и даже культивировать) независимо от хозяина. Вот почему основные принципы в химиотерапии были сформулированы значительно раньше, чем в фармакодинамике (глава 7).

До П. Эрлиха было известно лишь небольшое число химиотерапевтических средств — хинная кора для лечения малярии, ипекакуана для лечения амебной дизентерии и ртуть, которую применяли при сифилисе. Ртуть начали использовать для этой цели в XVI в., а кору хинного дерева и ипекакуану в XVII в. Сантонин и мужской папоротник еще в древности находили применение в качестве антигельминтных средств.

6.1. Вклад П. Эрлиха в химиотерапию

Начало работы П. Эрлиха в химиотерапии принято датировать 1899 г.; до этого он занимался приложением химии к биологии, и проблема избирательности занимала центральное место в его исследованиях. Сначала он изучал распределение свинца в тканях млекопитающих и показал, что последний накапливается преимущественно в ЦНС, затем появились его

выдающиеся работы по гистологическому окрашиванию. Метод дифференциальной окраски лейкоцитов и разделение их на эозинофилы, базофилы, нейтрофилы и агранулоциты, предложенные П. Эрлихом, применяются до сих пор. В этот же период им были разработаны способы прижизненного окрашивания тканей (с помощью метиленового синего и нейтрального красного) и выявлены различия окислительных способностей разных тканей.

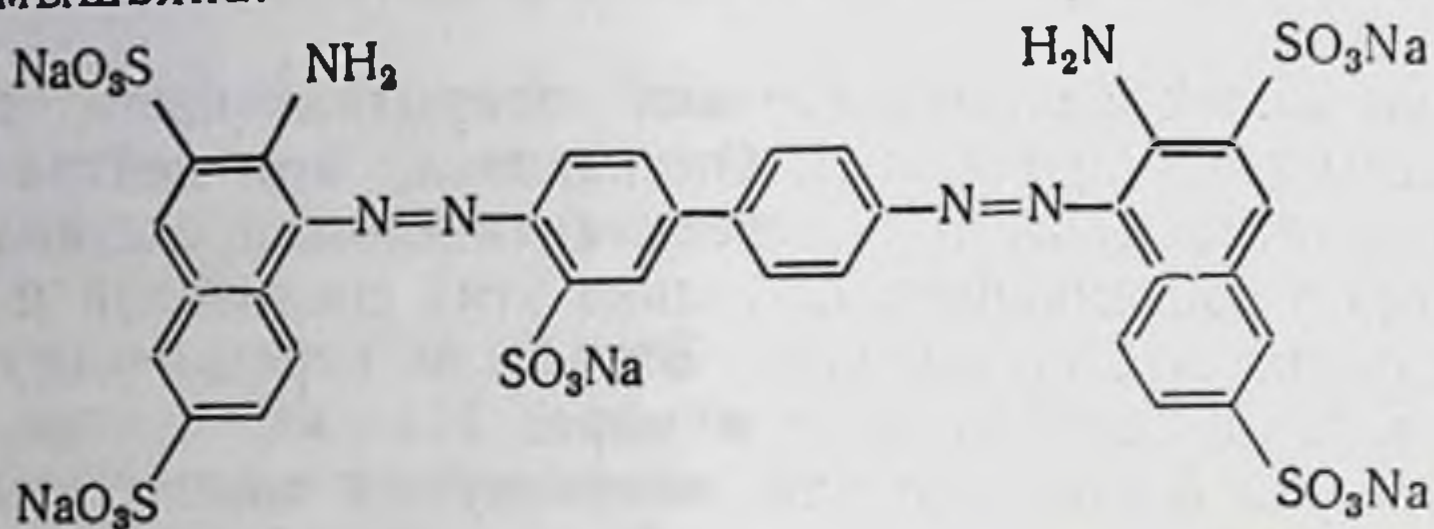
Однако наиболее выдающиеся открытия были сделаны П. Эрлихом в иммунохимии. Он показал, что нейтрализация токсина антитоксином и антигена антителом представляет собой реакцию взаимодействия только этих соединений и не требуют наличия живой материи. Это были первые иммунологические эксперименты *in vitro* в мире. На их основе Эрлих создал теорию боковых цепей, являющуюся химической интерпретацией иммунных процессов. Согласно этой теории, антиген имеет две активные области: гаптофор и токсифил, а клетки млекопитающих имеют «боковые цепи», на которых расположены рецепторы, т. е. группы или участки, комплементарные гаптофору, и поэтому захватывающие, фиксирующие их подобно якорю. Само по себе такое соединение безвредно, однако при этом токсифил настолько приближается к клетке, что может ее отравить. Эрлих считал, что нормальной функцией рецепторов является связывание с молекулами питательных веществ [подробнее об антителах см. Nisonoff, Hopper, Spring (1975)].

На основе экспериментальных иммунологических исследований, начатых им в 1893 г., он создал точный метод стандартизации дифтерийного антитоксина. Эрлих ставил своей задачей научиться лечить инфекционные заболевания низкомолекулярными веществами столь избирательными, чтобы они, подобно «магическим пулям», поражали только паразита. Он считал совершенно естественным, что если существуют простые вещества, по-разному действующие на различные ткани человека, то можно синтезировать другие столь же простые вещества, по-разному действующие на человека и паразита. Говоря о низкомолекулярных веществах, он тем самым подчеркивал разницу между иммунотерапией и химиотерапией. Он считал задачей иммунотерапии усиление защитных сил организма, тогда как цель химиотерапии видел в прямой атаке на паразита.

В 1901 г. Эрлих приступает к работе над созданием низкомолекулярных противораковых препаратов, но через несколько лет прекращает свои исследования, поняв, что наука еще не готова к решению этой проблемы.

Первые работы Эрлиха в химиотерапии были связаны с использованием красителей. В качестве основной экспериментальной модели он избрал трипаносомоз мышей и пробовал лечить его акридиновыми, трифенилметановыми и азо-красителями и получил положительные результаты.

В 1904 г. Эрлих и Shiga добились излечения мышей, зараженных трипаносомами, применив для этого полназокраситель трипановый красный (6.1), ставший, таким образом, первым химиотерапевтическим препаратом, созданным руками человека; однако на людях трипановый красный оказался неэффективным. После этого Эрлих обратился к органическим соединениям мышьяка.

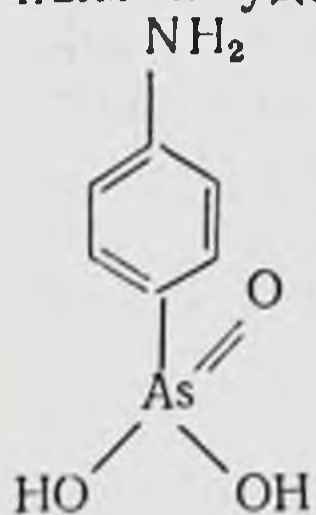


Трипановый красный
(6.1)

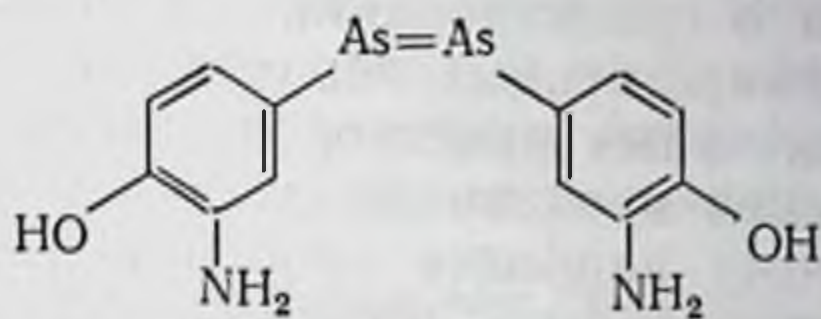
В начале века о действии соединений мышьяка на инфекционные болезни уже было кое-что известно. В 1902 г. Lavegan, Mesnil ввели мышам, зараженным трипаносомами, мышьяковистую кислоту (HAsO_2). Все мыши умерли, но «здоровыми», т. е. мышьяк уничтожил и трипаносом. В то время это было расценено как большой успех. В 1906 г. Thomas, Veinl показали, что препарат мышьяка атоксил, пара-аминофениларсоновая кислота (6.2), оказывает слабое лечебное действие при трипаносомозе у людей. Это открытие побудило Эрлиха начать систематические исследования мышьяксодержащих соединений и в 1910 г. был найден препарат для лечения сифилиса арсфенамин (сальварсан) (6.3), вещество с лабораторным номером 606 [Ehrlich, Hata, 1910]. Краткая история этого открытия такова: в 1905 г. Schaudinn открыл возбудителя сифилиса — подвижную бактерию спирохету, названную им *Treponema pallidum*. Затем Hata (Япония) нашел метод заражения этой болезнью кроликов, что сделало доступной лабораторную модель сифилиса. (Следует отметить, что успехи химиотерапии во многом связаны с разработками подходящих экспериментальных моделей различных заболеваний.) Совместно с Hata П. Эрлих перешел от работы с простейшими (*Trypanosoma*) к работе с бактерией (*Treponema*), учитывая то общее, что есть между этими двумя видами: оба представляют собой высокоподвижные организмы, существование которых полностью зависит от протекающего с большой скоростью метаболизма. *Treponema* оказалась чувствительной к действию мышьяксодержащих препаратов и в результате изучения большого ряда органических соединений мышьяка был открыт арсфенамин.

Арсфенамин, синтез которого был описан в работе Ehrlich, Bertheim (1912), был освоен промышленностью и выпущен в продажу под названием сальварсан. Недостатком этого препа-

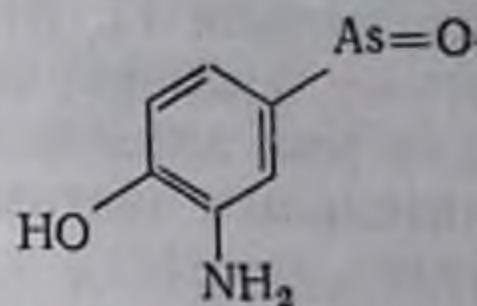
рата было то, что он с легкостью окислялся кислородом воздуха до более токсичного продукта (6.4). Впоследствии он был заменен оксофенарсином (6.4) — значительно более избирательным и удобным для применения лекарственным веществом



Атоксил
(6.2)



Арсфенамин (мономер)
(6.3)



Оксофенарсин
(6.4)

(разд. 6.2), однако в те годы неконтролируемое окисление сальварсана приводило к смертельным исходам. Поэтому каждая доза препарата выпускалась в запаянной ампуле, из которой был откачан кислород. Была опубликована инструкция по приготовлению растворов на стерильной дистиллированной воде, их нейтрализации и немедленному внутривенному введению. К сожалению, эти указания далеко не всегда выполнялись врачами, а возникающие вследствие этого несчастные случаи подрывали доверие к препарату. Позднее Эрлих разработал более растворимое производное — неоарсфенамин (препарат № 914).

Сегодня нет сомнений в том, что, несмотря на все недостатки арсфенамина, его появление было первым выдающимся достижением в химиотерапии и открыло новую эру в лечении инфекционных болезней. В этом успехе основную роль сыграл разработанный Эрлихом количественный подход к оценке действия лекарственных веществ.

При поиске лекарственных веществ, избирательно поражающих паразита, а не хозяина, П. Эрлих ввел понятие химиотерапевтического индекса, определил его как отношение минимальной действующей дозы к максимально переносимой. Так, вещество, которое излечивает трипаносомоз у мышей в дозе 2 мг/кг и не обладает летальным действием в дозах ниже 50 мг/кг, имеет индекс 1/25 [Ehrlich, 1911]. Таким образом, идея избирательной токсичности¹ приобрела возможность количественной оценки степени избирательности (см. разд. 6.2 о дальнейшем развитии количественных подходов).

Перейдя от работы с высокомолекулярными веществами к работе с низкомолекулярными, Эрлих использовал некоторые положения своей иммунологической гипотезы для объяснения действия химиотерапевтических веществ. Он предположил, что

¹ Сам термин «избирательная токсичность» появился значительно позже, только в 1940 г.

они тоже содержат гаптофорные и токсофильные группы и блокируют клеточные рецепторы, нормальной функцией которых является участие в питании и дыхании клетки [Ehrlich, 1908].

П. Эрлих считал, что действие лекарственного вещества на клетку — это серия обычных химических реакций (разд. 8.0). Концепция П. Эрлиха о существовании химически активных групп в молекулах лекарственных веществ и специфических для них химически активных рецепторов в клетках была значительным шагом вперед в развитии биологических наук. Его тезис, согласно которому наиболее эффективными лекарственными веществами должны быть низкомолекулярные соединения, получил впоследствии подтверждение: ОММ химиотерапевтических препаратов колеблется от 140 до 1400 (причем 1400 — необычно высокое значение). В то же время γ -глобулин, белок антител, имеет ОММ 200 000.

В 1909 г. П. Эрлих установил, что трипаноцидным действием *in vitro* обладают производные трехвалентного мышьяка и предположил, что если бы удалось сохранить трипаносомы в культуре живыми в течение времени, необходимого для восстановления пятивалентного мышьяка до трехвалентного, то они так же были бы активны *in vitro*. Однако доказать это экспериментально удалось лишь через 15 лет после смерти Эрлиха, когда были разработаны надежные методы культивирования трипаносом. Самому Эрлиху удалось показать, что соединения пятивалентного мышьяка проявляют активность *in vitro*, если их предварительно инкубировать в присутствии ткани печени, обладающей восстановительными свойствами, что объясняет активность этих соединений *in vivo*.

Гипотеза Эрлиха, согласно которой в основе механизма действия лекарственных веществ лежат химические взаимодействия, получила обоснование после того, как в его лабораториях была открыта резистентность к лекарственным веществам (разд. 6.5). П. Эрлих обнаружил, что трипаносомы, устойчивые к действию трипанового красного, не абсорбируют его, тогда как чувствительные к нему трипаносомы окрашиваются этим красителем в красный цвет. Это могло означать, что паразиты, приобретающие в результате отбора устойчивость, утратили химическую группировку, за счет которой осуществлялось взаимодействие с красителем. Позднее Эрлих обнаружил два штамма трипаносом, устойчивых к разным ароматическим соединениям мышьяка. Между этими штаммами не было перекрестной резистентности. Поскольку трипаносомы, устойчивых к действию неорганических производных мышьяка ($\text{HOAs}=\text{O}$) обнаружить не удалось, Эрлих предположил, что: 1) резистентность связана с наличием определенных заместителей в бензольном ядре; 2) именно эти заместители (например, $-\text{NH}_2$) обуславливают способность ароматических производных мышьяка накапливаться в организме паразита, и 3) за гибель паразита ответственна арсеноксидная группировка ($-\text{As}=\text{O}$).

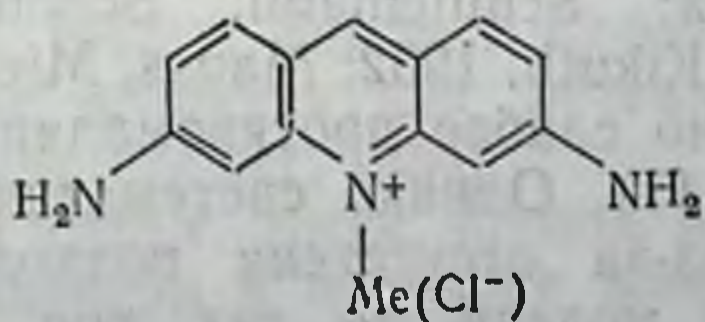
В результате этих исследований удалось выяснить химическое строение гаптофорной и токсофильной групп избирательно действующих органических соединений мышьяка, которыми являются только ароматические производные.

Биография Эрлиха: Muir (1921); Browning (1955); Himmelweit (1956); а также «Paul Ehrlich Centennial» (1954), специальный выпуск «Annals of the N. Y. Academy of Sciences», т. 59, в котором различными учеными дана оценка работ Эрлиха и рассказано о развитии этих работ сегодня.

6.2. Химиотерапевтические средства, существовавшие до 1935 г., химиотерапевтический индекс

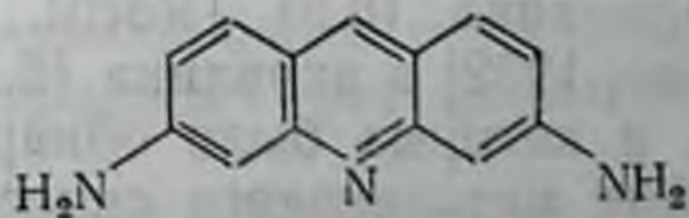
Развитию химиотерапевтических исследований способствовало открытие в 1935 г. сульфаниламидных препаратов. К тому времени механизмы действия химиотерапевтических средств были во многом уже ясны. Plimmer и Thompson (1907) успешно применили для лечения трипаносомоза у мышей рвотный камень, содержащий сурьму. Впоследствии было показано, что он облегчает течение этого заболевания и у людей, но лечебным эффектом к сожалению не обладает [Manson, 1908]. Затем рвотный камень (4.58) был использован в Бразилии для лечения лейшманиоза [Vianna, 1912]. Примерно в это же время Rogers показал, что активным началом ипекакуаны является эметин (4.51), и применил его для лечения амебиаза у людей [Rogers, 1912]. Сотрудники Эрлиха нашли, что для лечения пневмонии у мышей можно применять препарат оптохин, простое производное хинина. Однако у людей оптохин оказался неэффективен [Morgenroth, Levy, 1911]. Таким образом, из лекарственных веществ, созданных Эрлихом, в практику вошли только арсфенамин (сальварсан) и его растворимое в воде производное. Однако заслуга Эрлиха в области химиотерапии заключается не столько в этих открытиях, сколько в четкой формулировке принципов лечения инфекционных заболеваний с помощью низкомолекулярных химических соединений.

В 1913 г. были открыты новые избирательные противобактериальные средства акрифлавин и профлавин (6.6), очень близкие по структуре к эуфлавиному [Browning, Gilmour, 1913]. Эти препараты, производные акридина, широко применяли во время первой мировой войны для обработки ран. В 1918 г. Christopherson разработал клиническую схему применения препаратов сурьмы для лечения шистосомоза.



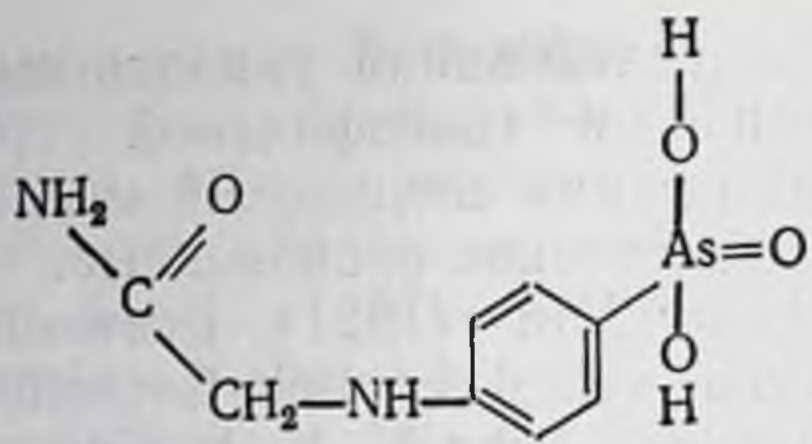
Эуфлавин (трипафлавин)

(6.5)

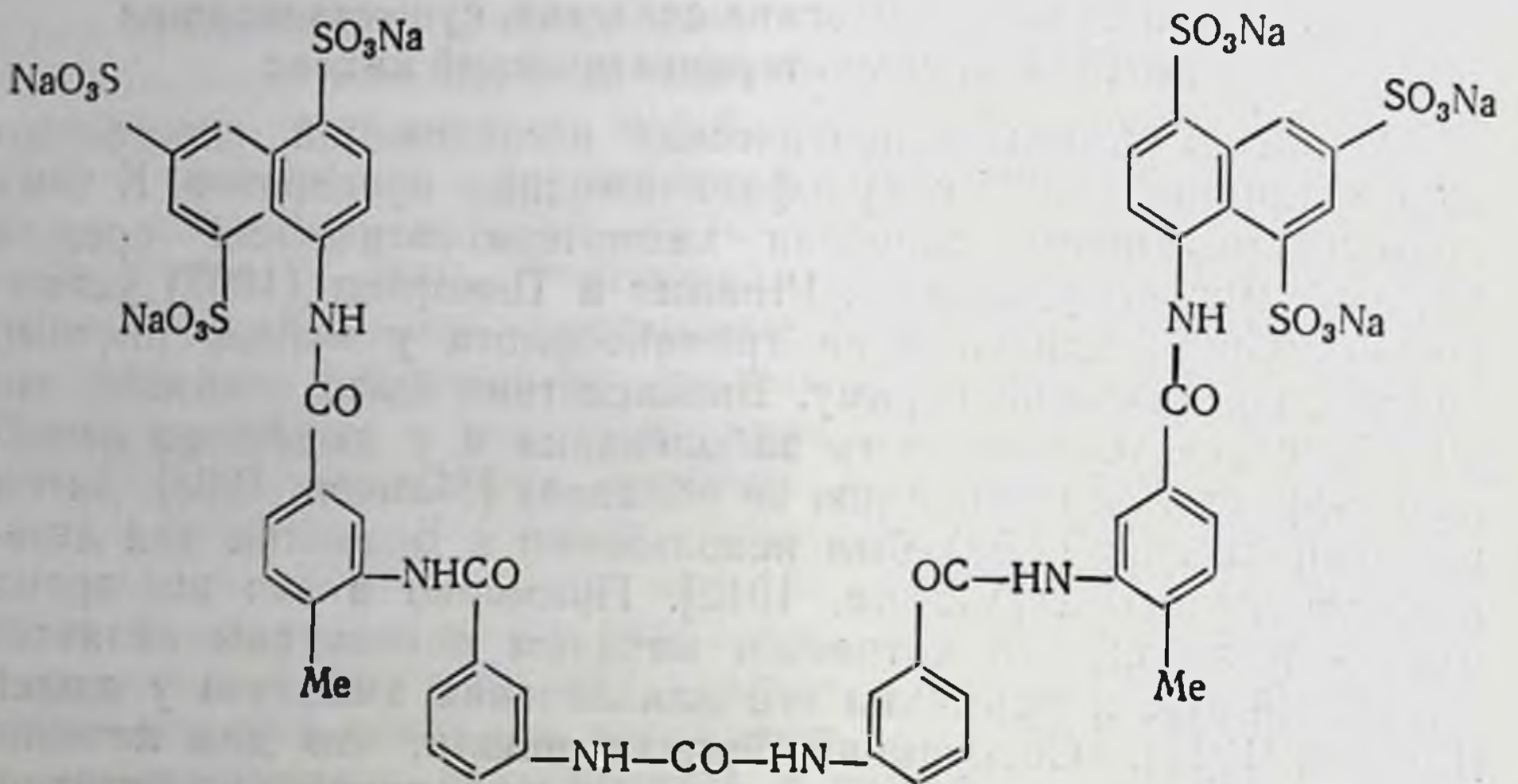


Профлавин
(3,6-диаминоакридин)

(6.6)

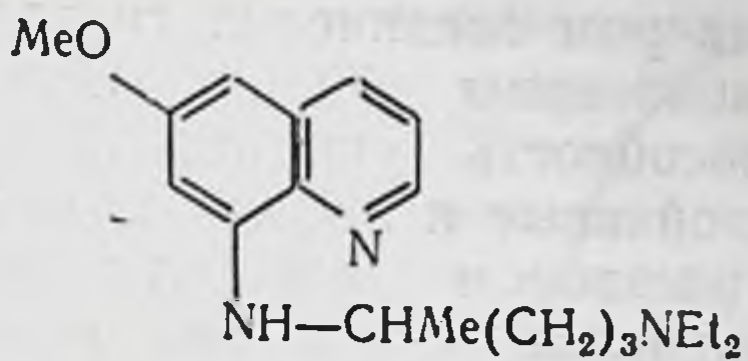


Трипарсамид
(6.7)

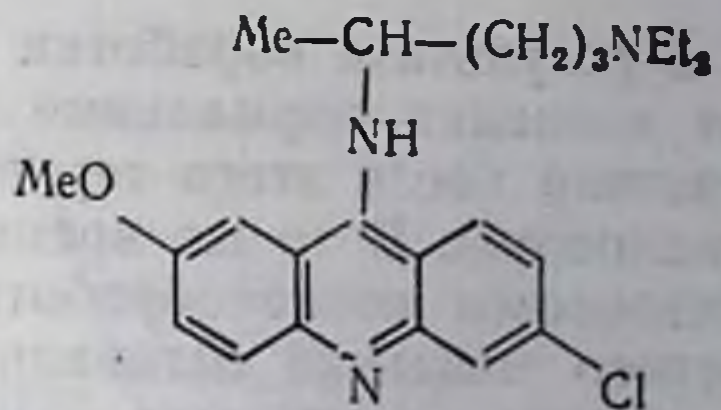


Сурамин
(6.8)

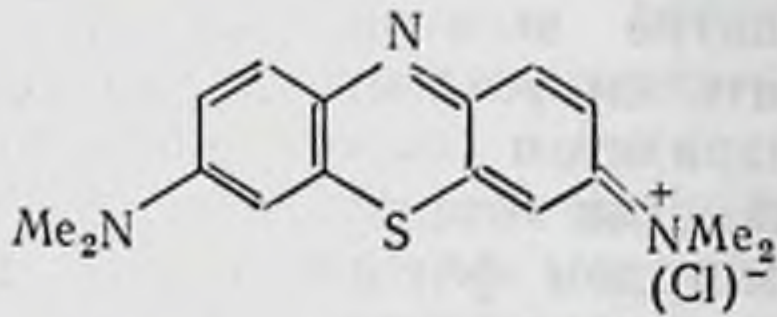
В 1920 г. были найдены два лекарственных вещества, ставшие впоследствии основными средствами лечения сонной болезни: трипарсамид (6.7), производное пятивалентного мышьяка, близкое по структуре к атоксилу, но менее токсичное [Jacobs, Heidelberg, 1919; Brown, Pearce, 1919] и сурамин (6.8) (Байер 205), бесцветный высокоэффективный аналог трипанового красного [Neumann et al., 1917]. Сурамин в дальнейшем стали применять в профилактических целях (его однократная доза обеспечивает иммунитет на три месяца) [Roehl, 1920; Neumann, 1924]. Значительным достижением было также создание первых синтетических противомаларийных препаратов памахина (6.9) [Roehl, 1926a; Schulemann, Schönhöfer, Wingler, 1932] и акрихина (6.10) [Kikuth, 1932; Mauss, Mietzsch, 1933], в которых было обнаружено слабое противомаларийное действие метиленового синего (6.11). Однако систематические исследования велись медленно из-за отсутствия подходящей экспериментальной биологической модели до тех пор, пока Roehl не показал, что такой моделью могут быть зараженные малярией птицы.



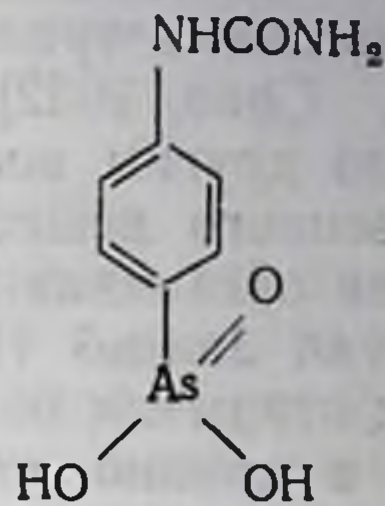
Памахин
(6.9)



Акрихин
(6.10)



Метиленовый синий
(6.11)



Карбарзон
(6.12)

В 1930 г. Leake предложил для лечения амебиаза карбарзон (6.12), обладавший менее выраженными побочными эффектами по сравнению с эметином (применявшимся в то время только для лечения тяжелых случаев) [Leake et al., 1930]. Следует отметить, что это соединение мышьяка (4-уреидобензоларсоновая кислота) было синтезировано Bertheim еще в 1907 г., но оно оказалось неэффективным для лечения трипаносомоза и сифилиса [Leake, Koch, Anderson, 1930]. Вообще до тех пор, пока Laidlaw, Dobell, Bishop (1928) не разработали метод культивирования амеб *in vitro*, возможности поиска средств были крайне ограничены.

Все эти достижения явились результатом развития открытий, сделанных Эрлихом и его школой. Свидетельством резкого изменения отношения к химиотерапии может служить тот факт, что Германия засекретила химические формулы сурамина и акрихина, необходимых при ведении боевых действий в тропиках. Эти секреты, правда, недолго оставались таковыми: синтез сурамина был воспроизведен в Париже [Fougneau et al., 1924], а в 1933 г. в Москве Магидсон и Григоровский опубликовали метод получения акрихина [Магидсон, Григоровский, 1933].

В 1932 г. Tatum и Cooper получили более безопасный препарат мышьяка для лечения сифилиса — оксофенарсин (6.4) [Tatum, Cooper, 1934].

В 1929 г. Yorke, Adams, Murgatroyd нашли способ сохранять трипаносом в пробирке живыми и неизменными в течение 2 дней, тогда как Эрлих имел возможность ставить опыты *in vitro* только на полуживых паразитах. С помощью этой новой методики Yorke, Murgatroyd, Hawking (1931) показали,

что в результате обработки раствором соединения трехвалентного мышьяка нормальные трипаносомы быстро погибают, а раствор после этого теряет способность уничтожать новые трипаносомы. В то же время устойчивые к действию мышьяка трипаносомы после обработки раствором препарата трехвалентного мышьяка оставались живыми, а раствор сохранял способность уничтожать чувствительные к мышьяку штаммы трипаносом. Было также показано, что погибшие трипаносомы содержат заметные количества мышьяка, а устойчивые к действию мышьяка трипаносомы его не содержат вовсе [Reuner, Leonard, Chao, 1932]. Развитие экспериментальной техники позволило другим исследователям установить, что поглощение лекарственного вещества паразитом может происходить и в кровотоке организма-хозяина. Для трипафлавина это было доказано van Jancsó (1932) методом флуоресцентной микроскопии. Эти открытия подтвердили одно из основных предсказаний Эрлиха, а именно, его идею о том, что летальному действию лекарственного вещества должно предшествовать его накопление в организме паразита.

В это же время получила подтверждение и другая гипотеза П. Эрлиха — о взаимодействии между лекарственным веществом и защитными силами организма-хозяина. Эрлих считал, что роль лекарственного вещества состоит в нарушении метаболизма паразита, после чего окончательное уничтожение паразита завершают защитные силы организма-хозяина. Это предположение было подтверждено Kritzchewsky (1928), показавшим, что ретикуло-эндотелиальная система организма-хозяина действительно обладает такими функциями, так как при ее искусственном повреждении эффективность лечения химиотерапевтическими препаратами значительно снижается.

Наличие (по Эрлиху) в молекуле лекарственного вещества обособленных гаптофорных и токсофильных групп означает, что только поглощение какого-либо чужеродного вещества еще не обязательно приводит к гибели паразита. Благодаря методике прижизненного окрашивания эти представления стали общепринятыми.

Так же неожиданно, как и все открытия, сделанные в этот период, была обнаружена химическая природа связи между лекарственным веществом и паразитом. Voegtlin и сотр. показали, что токсическое действие препаратов мышьяка обусловлено образованием связей As—S с жизненно важными тиольными группами паразита (разд. 13.0). И это было в свое время (еще в 1909 г.) предсказано Эрлихом.

Таким образом, к концу этого периода были окончательно разработаны научные основы химиотерапии, базирующиеся на гипотезах, выдвинутых ранее Эрлихом. В настоящее время общепризнано, что наиболее эффективными химиотерапевтическими средствами являются вещества с относительно невысокой ОММ, воздействующие непосредственно на паразита, и что



Рис. 6.1. Нормальная кривая распределения.

их взаимодействие с паразитом представляет собой химический процесс. Положение Эрлиха о присутствии в молекулах лекарственных веществ отличающихся друг от друга гаптофорных и токсифильных групп и сейчас концентрирует наше внимание на выяснение роли каждой группы в проявлении конечного эффекта. Однако теперь мы знаем, что свойства молекулы зависят также от взаимного электронного влияния отдельных групп. Руководствуясь хорошо известными химическими законами, можно легко предсказать, будут эти эффекты суммироваться или, наоборот, действовать в противоположных направлениях.

6.2.1. Химиотерапевтический индекс

Введенное Эрлихом определение химиотерапевтического индекса (разд. 6.1) претерпело к настоящему времени некоторые изменения. Во-первых, применяют обратную величину (т. е. 25 вместо $1/25$). Во-вторых, для получения более воспроизводимых результатов вместо максимально переносимой дозы используют величину LD_{50} (доза, смертельная для 50% подопытных животных), а вместо минимальной активной дозы — величину C_{50} (доза, излечивающая 50% подопытных животных). Химиотерапевтический индекс четко показывает, что новое вещество, в два раза менее токсичное для человека, будет иметь преимущества перед старым только в том случае, если его активность составляет более половины активности старого. За последние 50 лет химики и биологи создали лекарственные вещества с очень высокими значениями терапевтического индекса.

Английский математик Trevan теоретически обосновал применение величины LD_{50} , показав, что интенсивность клеточного ответа на данную дозу лекарственного вещества подчиняется распределению Гаусса (рис. 6.1). Зависимость числа отвечающих клеток от увеличивающейся дозы лекарственного вещества описывается сигмоидной кривой нормального распределения (рис. 6.2) [Trevan, 1927].

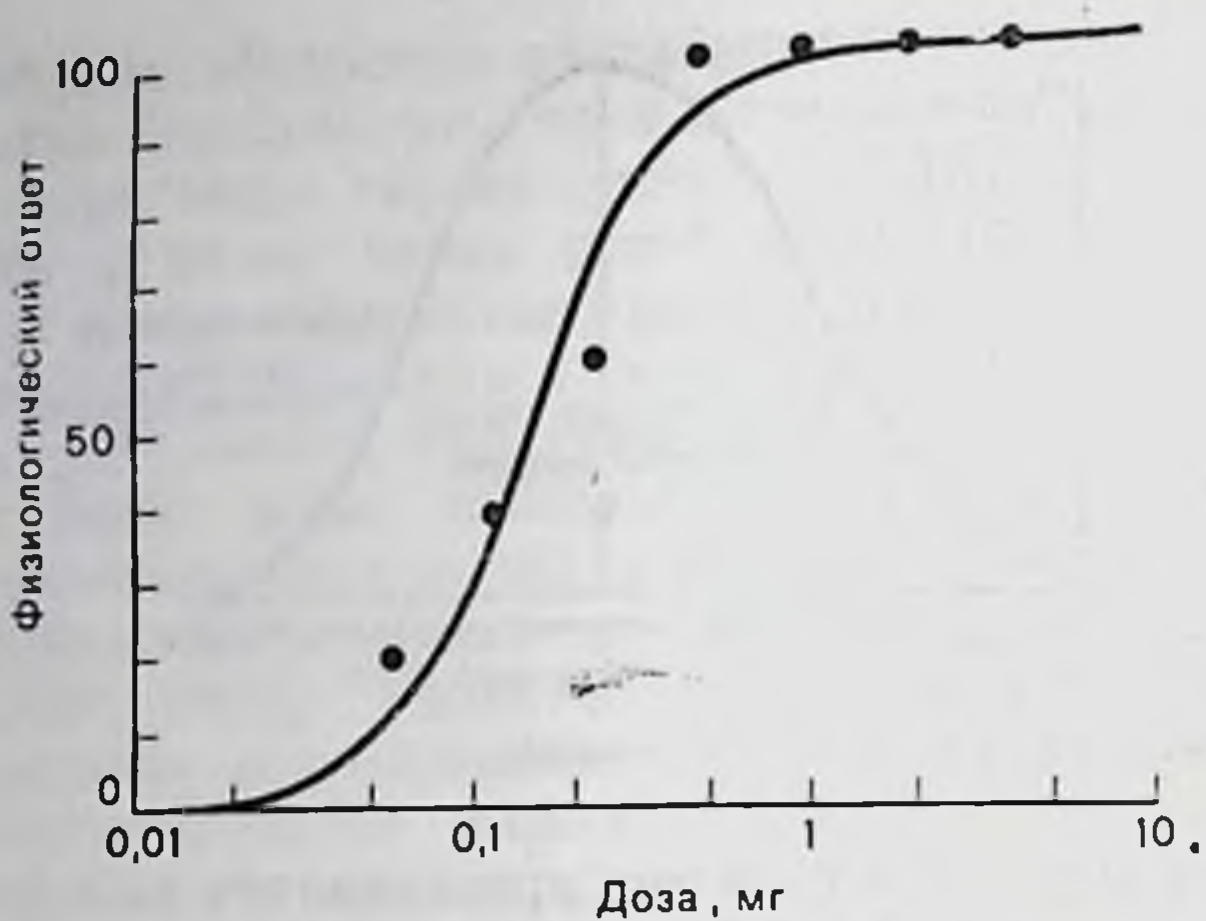


Рис. 6.2. Сигмоидная кривая доза — эффект (на оси абсцисс откладывается логарифм дозы).

Воспроизводимость биологических экспериментов по сравнению с физическими и химическими значительно хуже, в первую очередь из-за генетически predetermined различий между животными в скорости и направлении метаболизма даже в пределах инбредных линий лабораторных животных. Большое влияние оказывают и такие факторы, как отличия в питании, освещении, степени скученности, обращении с ними сотрудников и другие условия содержания животных в разных лабораториях. Поэтому для получения достоверных результатов необходимо использовать в экспериментах максимально возможное (с экономической точки зрения) число животных (органов или клеток) и затем обрабатывать результаты статистически.

Возвращаясь к рис. 6.2, отметим, что по оси ординат можно откладывать процент вылечившихся (или погибших) животных или величину физиологического ответа, например сокращение мышцы. Если на оси абсцисс откладывать логарифмы величины дозы, то часть сигмоидной кривой в области от 20 до 80% ответа представляет собой практически прямую. В этой области прямо пропорциональной зависимости эффекта от дозы можно оценивать эффективность различных образцов одного вещества (например, выделяемого тканями гистамина).

Многие аспекты связи дозы — эффекта, особенно зависимость от времени и концентрации, были проанализированы Clark (1933, 1937). Статистический анализ показал, что безопасность лекарственных веществ лучше оценивать по субтоксической дозе, при которой начинают проявляться токсические эффекты, но еще выживают более 90% животных. Терапевтическая доза должна быть значительно меньше субтоксической. Если оценивать применяемые в настоящее время лекарственные вещества по таким жестким критериям, то выясняется, что некоторые из них (в первую очередь сердечные

гликозиды) нуждаются в замене новыми препаратами с лучшим терапевтическим индексом. Более подробно анализ кривых доза — ответ обсуждается Waud (1981).

6.3. Химиотерапия в 1935 г. и в последующие годы

В 1935 г. Домагк открыл первый из противобактериальных сульфаниламидных препаратов — пронтозил, что означало перелом в развитии химиотерапии и покончило с ложным представлением о химиотерапии, как о способе борьбы лишь с протозойными инфекциями. Это открытие ознаменовало собой новую эру в медицине и, в частности, в хирургии. Woods (1940) показал, что сульфаниламиды являются антагонистами парааминобензойной кислоты — вещества, незаменимого для жизнедеятельности бактерий, подтвердив тем самым постулат Эрлиха о том, что лекарственные вещества затрудняют поступление питательных веществ, блокируя рецепторы (разд. 9.3.1).

6.3.1. Противобактериальные лекарственные вещества

А. Противобактериальные сульфаниламидные препараты. К открытию сульфазоридина (3.30) (пронтозила) Герхард Домагк пришел необычным путем. При изучении фагоцитоза стрептококков печеночными клетками Купфера ему понадобилось ослабить патогенность бактерий. Он решил использовать методику Эрлиха и стал выбирать подходящий препарат из ряда азокрасителей. Среди прочих он исследовал и пронтозил, синтезированный Mietzsch и Klager для других целей. Обнаружив, что обработанные красителем стрептококки не действуют на мышей, Домагк проверил эффект пронтозила на зараженных стрептококками мышках и получил положительный результат [Domagk, 1935]. Однако его коллеги довольно сдержанно встретили это открытие: слишком много потенциально активных веществ, в том числе и азокрасителей, оказывались неэффективными при системном введении.

Но тут вмешался случай. Маленькая дочь Домагка случайно уколола себе руку иголкой. Ее сразу же доставили в больницу, однако, несмотря на применение самых лучших методов лечения, рука вскоре воспалилась и у девочки началась сильная лихорадка. Через четыре дня развился стрептококковый сепсис, и она была на грани смерти, что в те времена было достаточно частым явлением. Домагк добился разрешения ввести ей пронтозил: и врачи были поражены скоростью, с которой наступило выздоровление [Domagk, 1936]. Впервые в клинической практике пронтозил применили в Англии для лечения послеродового сепсиса [Colebrook, Kenny, 1936].

Биография Домагка: *Deutsch. med. Woch.*, 1948, v. 73, p. 350; *Münch. med. Woch.*, 1965, v. 15, p. 739; *Chemiker Ztg.*, 1964, v. 88, p. 395.

В 1935 г. Tréfouël и сотр. обнаружили, что пронтозил не действует на бактерии *in vitro* и становится активным в присутствии восстановителя. Постановка этого опыта была подсказана работами Эрлиха по активированию соединений пятивалентного мышьяка (разд. 6.1). Позднее им удалось показать, что в организме млекопитающих пронтозил восстанавливается с образованием сульфаниламида (стрептоцида) (2.13)¹, оказавшегося при бактериальных заражениях не менее активным, чем пронтозил (и значительно более растворимым). Если бы не это открытие французских исследователей, то работы по изысканию новых сульфаниламидных препаратов, вероятно, еще долго проводились бы методом проб и ошибок, и громадные средства были бы затрачены на поиски новых окрашенных сульфаниламидов [Tréfouël et al., 1935].

Эффективность стрептоцида при данной дозе может индивидуально варьировать, так как она зависит от концентрации препарата в крови — этот важный вывод Marshall (1937) положил начало аналитическому контролю за уровнем лекарственных препаратов в крови. Правда, вскоре выяснилось, что активность некоторых препаратов (например, акрихина) не всегда пропорциональна их концентрации в крови больного.

Механизм действия сульфаниламидов был установлен Woods (1940). В гное, бактериях, экстрактах тканей и особенно дрожжей было обнаружено устойчивое к нагреванию низкомолекулярное вещество, способное ингибировать действие сульфаниламидных препаратов на бактерии [Stamp, 1939]. Woods, сопоставив эти факты с известными данными ингибирования ферментов веществами, химически и стерически сходными с их субстратами (разд. 9.3.1), выдвинул гипотезу: ингибирующее вещество, найденное в дрожжах, является субстратом широко распространенного в природе фермента и по химической структуре сходно с сульфаниламидом. Он установил, что действующее начало концентрируется в щелочерастворимой фракции дрожжевого экстракта, и активность его тем больше, чем выше интенсивность цветного теста на ароматическую аминогруппу. Активность исчезала при этерификации и ацетилировании, восстанавливалась после гидролиза и снова пропадала после обработки азотистой кислотой [Woods, 1940]. Эти данные указывали на то, что активное вещество является ароматической аминокислотой. Поскольку пара-аминобензойная кислота (ПАБ) (2.12) наиболее сходна со стрептоцидом, то именно ее Woods и испытал в качестве возможного ингибитора бактериостатической активности стрептоцида. Он обнаружил, что одна молекула ПАБ может подавить активность от 5000 до 25 000 молекул стрептоцида.

¹ Сульфаниламид был синтезирован в 1908 г. Gelmo, однако считалось, что биологической активностью он не обладает.

Вслед за этим ПАБ была выделена в виде бензонильного производного из дрожжей [Rubbo, Gillespie, 1940] и было установлено, что она служит фактором роста бактерий (*Clostridium acetobutylicum*), т. е. также жизненно важна для бактерий, как витамины для людей. В последующие годы было найдено, что ПАБ необходима многим семействам и родам микроорганизмов, в том числе и малярийным плазмодиям; большинство микроорганизмов не нуждается во внешних источниках ПАБ, так как способно синтезировать ее. Антагонистическое действие ПАБ *in vivo* было показано Selbie (1940), обнаружившим, что одновременное введение ПАБ и стрептоцида приводило к полной потере последним терапевтического действия при стрептококковой инфекции у мышей.

Знание об антагонизме между сульфаниламидами и ПАБ, работы Voegtlin по механизму действия препаратов мышьяка (разд. 13.0) и собственные исследования соединений ртути позволили Fildes (1940a) сформулировать более рациональный подход к химиотерапии. Он пришел к выводу, что действие лекарственного вещества на паразита сходно с ингибированием фермента чужеродным соединением и что многие из наиболее активных ингибиторов ферментов являются аналогами их субстратов. Эти положения были уже общепризнанными в фармакодинамике (разд. 2.1 и 9.2). Fildes считал, что моделями действия лекарственных веществ могут служить два основных типа инактивации ферментов: а) ингибитор соединяется с ферментом, вытесняя при этом сходный с ним по структуре субстрат или кофермент; б) ингибитор соединяется с субстратом или коферментом.

Подобное отождествление некоторых рецепторов с ферментами подтолкнуло биохимиков к исследованию бактериальных ферментов и установлению строения их субстратов для синтеза похожих молекул, но в отличие от природных субстратов, нарушающих действие ферментов. Продолжая аналогию Fischer о том, что ферменты и их субстраты относятся друг к другу как ключ к замку, можно считать, что химиотерапевтические препараты — это такой ключ, который входит в замок и выводит его из строя (разд. 9.1). Были синтезированы бесчисленные аналоги природных метаболитов, однако подавляющее большинство оказалось одинаково токсично для паразита и хозяина (см. главу 9).

Б. Антибиотики. Через семь лет после появления сульфамидов в клинической практике начали применять первый антибиотик пенициллин. Антибиотики — это низкомолекулярные токсичные соединения, вырабатываемые некоторыми видами бактерий и грибов, в основном плесневыми грибами. Избирательность большинства антибиотиков недостаточна для их клинического использования, однако примерно двадцать типов, обладающих высокой избирательной токсичностью, применяются очень широко.

Название «антибиотик» не совсем верно, так как оно подразумевает выработку организмами этой субстанции для борьбы со своими естественными врагами. В таком случае, если бы пенициллин выполнял защитную функцию для *Penicillium potatum*, то немногие продуцирующие его штаммы были бы широко распространены в природе, однако они встречаются крайне редко. Бактерии и грибы начинают вырабатывать вещества, называемые нами антибиотиками, в момент завершения быстрой логарифмической фазы роста и вступления в стационарную фазу. В этот момент остановки роста ферменты, существующие в бактериях, синтезируют антибиотики, взаимодействуя с субстратами, которые в норме используются для роста (у высших организмов их образование на этой стадии подавлено по механизму обратной связи) [Woodguff, 1966]. В промышленном производстве для увеличения выхода антибиотиков стараются максимально использовать стационарную фазу роста, ускоряя ее наступление и искусственно продлевая ее. Woodguff (1966) считал, что таково происхождение большинства полипептидных антибиотиков, образующихся в клетке только в конце логарифмической фазы роста [Schaeffer, 1969]. По мнению Schazschneider и сотр. (1974), антибиотики служат в бактериях для включения нормального метаболизма при подготовке клетки к споруляции, например триоцидин при связывании с ДНК инактивирует большинство генов, обеспечивающих вегетативный рост.

Прежде чем перейти к рассмотрению основных типов антибиотиков, коротко расскажем историю их открытия и применения. В 1929 г. Fleming обнаружил, что один штамм плесневого гриба *Penicillium potatum*, случайно попавший в культуру стафилококков и вызвавший их лизис, вырабатывает какое-то низкомолекулярное вещество, высокотоксичное для грамположительных бактерий и слаботоксичное для млекопитающих. Однако это вещество показалось ему недостаточно стойким, чтобы его выделять и заниматься им дальше.

В 1938 г. Florey предположил, что из бактерий и грибов можно выделить более сильные противобактериальные вещества, чем такие известные, но малоактивные как перекись водорода, этанол, цианидаза и уксусная кислота. Систематические исследования привели Florey и сотр. вновь к пенициллину. Им удалось выделить его в чистом виде и показать его исключительную эффективность в клинике [Florey et al., 1940, 1941, 1949; Chain, 1948]. Вначале пенициллин применяли в виде смеси природных гомологов, однако позднее обнаружили, что если продуцент (*Penicillium chrysogenum*) выращивать на среде, содержащей фенилуксусную кислоту, то можно выделить самый активный среди пенициллинов — бензилпенициллин [Mouyer, Coghill, 1947] (разд. 13.1). Разработка современной технологии сделала пенициллин одним из самых дешевых химиотерапевтических препаратов.

Высокая эффективность пенициллина при лечении местных и системных бактериальных инфекций обусловлена его высокой избирательностью (разд. 13.1). В 1948 г. Brotzu нашел на побережье Сардинии другую плесень, *Cephalosporium*, из которой был выделен первый представитель новой группы антибиотиков цефалоспоринов (разд. 13.2).

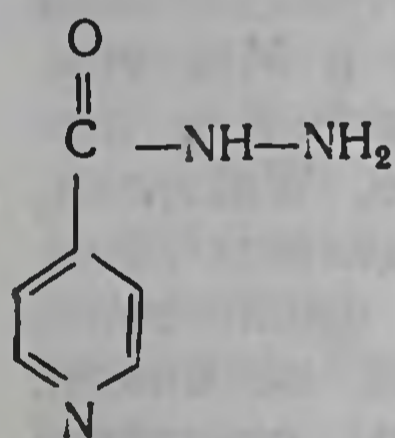
Широкий поиск новых антибиотиков привел к открытию большого числа противобактериальных веществ в культурах низших организмов, но многие из них оказались слишком токсичными для млекопитающих. Из веществ, нашедших клиническое применение, большая часть выделена не из плесеней, а из особого класса организмов-прокариотов актиномицетов. Чаще всего актиномицеты встречаются в почве и по структуре клеточной стенки являются истинными бактериями. Из различных видов *Streptomyces*, относящихся к актиномицетам, выделены антибиотики, нашедшие широкое применение в клинике: а) левомицетин, выделенный Bartz (1948), из прелой соломы, б) хлортетрациклин, первый представитель тетрациклинов [Duggan, 1948], выделенный из культуры с фермы в Миссури, в) стрептомицин, выделенный из культуры, найденной в желудке цыплят, а позднее — в почве [Schatz, Bugie, Waksman, 1944]. Из других культур актиномицетов были выделены антибиотики: адриамицин, амфотерицин, блеомицин, циклосерин, эритромицин, гентамицин, канамицин, линкомицин, неомицин, нистатин, олеандомицин, паромомицин, рифамицины, спектиномицин, ванкомицин и виомицин. Из истинных бактерий (эубактерий) получены бацитрацин, колистин, грамицидины и тироцидины [Dubos, 1939], а также полимиксины. Грибы *Penicillium griseofulvium* образуют гризеофульвин [Oxford, Raistrick, Simonart, 1939], обладающий, как амфотерицин и нистатин, исключительно противогрибковыми свойствами (все три соединения применяют в качестве лекарственных веществ). Некоторые антибиотики используют в противоопухолевой терапии (разд. 4.0).

Механизмы действия антибиотиков разнообразны, но среди них можно выделить три основных: а) влияние на синтез нуклеиновых кислот и белков — актиномицины, рифамицины, левомицетин, стрептомицин, тетрациклины (разд. 4.0 и 4.1); б) влияние на синтез мукопептидов, нарушающее образование новой бактериальной стенки — циклосерин, пенициллин, цефалотин (разд. 5.3, 13.1 и 13.2); в) повреждение плазматической мембраны — амфотерицин, полимиксин (разд. 14.3).

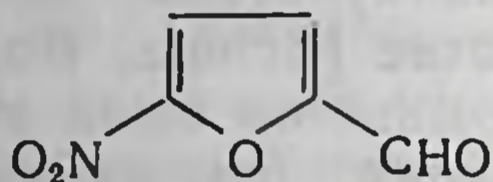
Некоторые антибиотики вмешиваются в процессы окислительного фосфорилирования или в процессы метаболизма на стадиях, сопровождающихся высвобождением энергии, например антимицин и олигомицин (разд. 4.4). Туникамицин, гликозид урацила, ингибирует гликозилирование белков [Mahoney, Duksin, 1979], но все они действуют неизбирательно и поэтому в клинике не применяются.

О механизмах действия антибиотиков см. Franklin, Snow (1981), Gale и сотр. (1981); шеститомное издание под редакцией Hahn, законченное в 1983 г.; десяти томное издание под редакцией Bérgdy, законченное в 1982 г.; энциклопедию под редакцией Glasby (1979), а также журналы Antibiotics and Chemotherapy и Journal of Antibiotics.

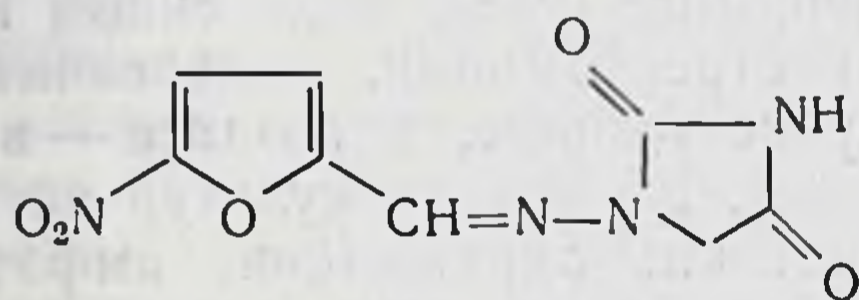
В. Новые синтетические противобактериальные вещества. Успехи антибиотиков и сульфаниламидов в качестве противобактериальных средств вызвали широкие поиски простых синтетических соединений, обладающих такой же активностью. В превращении туберкулеза из страшного бича человечества в легко излечимое заболевание главную роль сыграло простое соединение — гидразид изоникотиновой кислоты изониазид (6.13). Он был открыт одновременно в трех лабораториях: Домагга [Offe, Siefken, Domagk, 1952], где ему предшествовал менее активный аналог триацетазон (разд. 11.9), Grunberg, Schnitzer (1953) и Fox (1953).



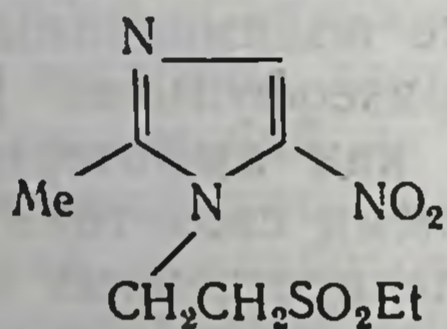
Изониазид
(6.13)



Нитрофурураль
(6.14)



Фурадонин
(6.15)



Тинидазол
(6.16)

Антисептические препараты, действующие на грамотрицательные бактерии, немногочисленны. Однако в клинической практике имеются два прекрасных препарата — налидиксовая кислота (4.33) и фурадонин (6.15). Налидиксовая кислота (4.33), вошедшая в практику около 1965 г., высоко активна против грамотрицательных бактерий в мочевых путях, однако не действует на грамположительные. Механизм ее действия связан с подавлением синтеза ДНК (разд. 4.0). Другой пример синтетических антибиотиков, действующих на грамотрицательные бактерии, — нитрозамещенные гетероциклы. Примерно до 1945 г. считалось, что нитрогруппу из-за ее высокой токсичности нельзя вводить в лекарственные вещества. Причиной подобного мнения послужили многочисленные случаи метгемо-

глобинемии у рабочих военных заводов, вызываемой веществами типа тринитротолуола, которые, попадая в организм через кожу, восстанавливаются там до анилина. Однако такая опасность для нитропроизводных, не содержащих бензольного кольца, отсутствует. Введение Dodd (1946) в практику лекарственных веществ, производных нитрофурана, открыло богатейший источник для получения новых химиотерапевтических средств. Применяемый перорально фурадонин (6.15) представляет собой прекрасный уроантисептик, активный как против грамположительных, так и грамотрицательных организмов.

Затем было установлено, что выраженными противомикробными свойствами обладают нитроимидазолы. Например, тинидазол (6.16) широко применяют для профилактики анаэробных инфекций кишечника (особенно вида *Bacteroides*) при подготовке к хирургическим операциям и при инфекциях, вызванных этими бактериями [Hunt et al., 1979]. Он эффективен также при заболеваниях, вызываемых простейшими: амебиазе, лямблиозе и трихомонадозе. Действие нитрозамещенных гетероциклов на простейшие рассматривается в разд. 6.3.3.

После того как Cowdry, Ruangsi (1941) показали, что дапсон (9.17) эффективен при лечении проказы у мышей, он стал применяться в клинике. В настоящее время дапсон является основным препаратом для лечения больных проказой, облегчающим течение этой болезни и приводящим к медленному выздоровлению. Для предотвращения появления резистентных микроорганизмов дапсон применяют в сочетании с такими препаратами, как рифампицин (4.37) или 2,3-диаминофеназин (клофазимин).

6.3.2. Противовирусные препараты

Противовирусная химиотерапия лишь недавно достигла уровня, которого противобактериальная химиотерапия достигла в 1940 г., когда было открыто сразу несколько эффективных сульфамидных препаратов. Но сегодня основные направления поисков в этой области уже определены.

Процесс инфицирования клетки вирусом включает в себя несколько этапов, могущих служить мишенью для избирательного воздействия. Прежде всего вирус прикрепляется к клетке, затем он проникает через плазматическую мембрану, отторгая при этом белки оболочки. На первых стадиях заражения в клетке преобладает синтез полимераз нуклеиновых кислот, а если вирус относится к РНК-содержащему типу, то в клетке начинается синтез ревертазы. Далее происходит синтез вирусных нуклеиновых кислот, структурных вирусных белков и ферментов, завершающийся сборкой новой вирусной частицы. В результате всего этого процесса происходит разрушение клетки и высвобождение нескольких тысяч вирионов. Для каж-

дой из этих стадий внедрения и размножения вируса могут быть найдены избирательные ингибиторы. Но помочь больным можно и устраняя вторичные симптомы, чаще всего носящие воспалительный или анафилактический характер.

Из противовирусных препаратов, успешно применяемых в настоящее время для лечения людей, в первую очередь следует назвать два профилактических препарата: мидантан для профилактики гриппа и метисазон для профилактики оспы, применяемые во время эпидемий, когда проводить вакцинацию населения уже поздно. Высокоэффективные препараты идоксуридин (4.14, а) и трифлуридин применяют при поражениях глаз вирусом герпеса. При различных поражениях, вызванных вирусом герпеса, системно применяют такие препараты, как видарабин (4.16), более избирательные препараты ацикловир (4.19) и 5-бромвинилдезоксисуридин (4.21) Эти препараты не действуют на РНК-содержащие вирусы; в отличие от них рибавирин действует как на РНК-, так и на ДНК-содержащие вирусы и применяется в клинике при вирусной пневмонии и кори. Большинство из этих соединений уже обсуждалось в разделе 4.0.2, поэтому здесь мы рассмотрим только мидантан и метисазон.

Мидантан (6.17, а) — это 1-аминоадамантан, а адамантан — мостиковый углеводород трициклодекан ($C_{10}H_{16}$), молекула которого похожа на клетку. Его 1-аминопроизводное является сильным основанием ($pK_a = 10,1$). Профилактическое применение мидантана защищает от гриппа во время эпидемий так же, как и предварительная вакцинация. Мидантан в профилактической дозе (0,2 г) принимают перорально ежедневно в течение длительного времени, до 3 мес. Он выводится в неизменном виде с мочой. К сожалению, он эффективен только против вирусов гриппа группы А, однако вирусы этой группы вызывают частые и опасные эпидемии. При испытаниях методом двойного слепого контроля на 238 добровольцах мидантан по сравнению с живой вакциной азиатского вируса гриппа на 60% снизил частоту заболевания [Jackson, Muldoon, Akers, 1963]. При его испытаниях на 850 добровольцах было установлено, что он эффективен не только как профилактическое средство, но и облегчает течение болезни [Wendel, 1964; Little et al., 1978].

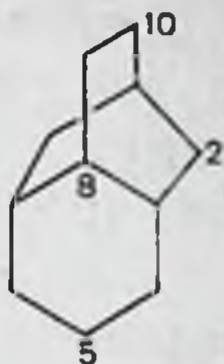
Действие мидантана, по крайней мере на вирус куриной чумы, связано с ингибированием процесса отторжения оболочки вируса, сопровождающего проникновение вируса в клетку-хозяина [Kato, Eggers, 1969]. Противовирусную активность проявляют и аналоги мидантана, не содержащие основной группы, — спирты, кетоны, эфиры и нитрилы и при тестировании активности на вирусе ньюкестлской болезни в монослойной культуре куриных эмбрионов многие из них проявляют даже большую избирательность [Aigami et al., 1975]. Хорошие результаты в профилактике и лечении гриппа, вызванного вирусом типа А, получены и при использовании ремантадина (6.17, б) [Крылов В., 1976; La Montagne, Galasso, 1978]. Пре-

параты для лечения гриппа, вызванного вирусами типа В, до сих пор не известны.

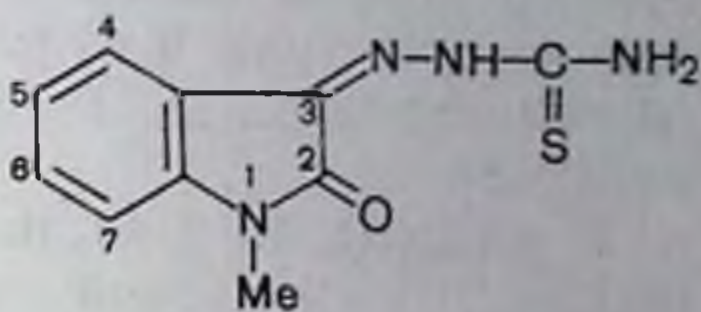


а) 1-Аминоадамантан ($R = -NH_2$)

б) Ремантадин ($R = -CH(Me)NH_2$)
(6.17)



Гомоизотвистан'
(6.18)



Метисазон
(6.19)

Хорошую противовирусную активность *in vitro* проявляют также соединения, содержащие в молекуле родственную циклическую структуру — производные 4-гомоизотвистана (6.18) [Aigami et al., 1976]. О химиотерапии гриппа см. Oxford (1977).

Показано, что метисазон (1-метилизатин-3-тиосемикарбазон) (6.19) ингибирует размножение вируса коровьей оспы у лабораторных животных. Его противовирусная активность необычайно высока. Например, для защиты мышей от заражения 1000-кратной летальной дозой этого вируса требуется доза метисазона всего лишь 0,5 мг/кг, а для защиты от вируса оспы — 10 мг/кг. В отличие от вакцинации, эффект которой развивается в течение 7—10 дней, защитное действие метисазона наступает сразу же. Во время вспышки оспы в Мадрасе этот препарат был введен 110 здоровым лицам, имевшим контакт с больными. Из этой группы заболело всего трое, да и то в легкой форме, в то время как в такой же группе людей, не получавших препарат, заболело 78 человек и 12 из них умерло. Защитное действие метисазона проявляется даже на поздних стадиях инкубационного периода, когда вакцинацию проводить уже поздно [Baueg et al., 1963]. В настоящее время в связи с тем, что оспа практически ликвидирована во всем мире, метисазон используется очень редко.

Метисазон не влияет на репликацию вирусной ДНК, синтез вирусных мРНК и функционирование ранних вирусных мРНК. Механизм его действия заключается в нарушении синтеза «поздних» белков и сборки инфекционных вирионов [Prusoff, 1967]. В опытах *in vitro* метисазон проявляет очень широкий спектр противовирусного действия: он ингибирует размножение всех поксвирусов и других ДНК-содержащих вирусов (например, аденовирусов и вирусов ветряной оспы), а также некоторых видов РНК-содержащих вирусов (например, вирусов полиомиелита, обычной простуды, гриппа А и В и некоторых арбовирусов). Однако в дозах, не вызывающих побочных эффектов (например, тошноту и рвоту), метисазон не оказывает лечебного действия при вирусных заболеваниях [Turner, Baueg, Nimmo-Smith, 1962].

Соединения, в которых оба атома водорода в конце боковой цепи метисазона замещены на метильные группы, полностью теряют активность против вирусов коровьей оспы, однако приобретают высокую активность против других поксвирусов, например вируса мышинной оспы (экстромелия). Аналогично, полиовирус II типа в культуре ткани селективно инактивируется тиосемикарбазоном 1-метил-4',4'-дибутилизатина [Baueg, Sadler, 1961].

В разделе 4.0.2 были приведены примеры высокой избирательности, основанной на различии ферментов, ответственных за репликацию вирусных нуклеиновых кислот и нуклеиновых кислот интактной клетки. Наряду с контролем за ДНК-содержащими вирусами возможен контроль за РНК-содержащими вирусами, так как некоторые специфичные для этих вирусов ферменты отличаются от ферментов интактной клетки, например РНК-транскриптаза вирусов гриппа, РНК-репликаза энтеро- и риновирусов и ревертаза онкорнавирусов.

Известные в настоящее время противовирусные агенты действуют лишь на ограниченный круг типов вирусов, однако по сравнению с существующими вакцинами они дешевле и обладают более широким спектром действия. С их помощью можно лечить уже развившиеся вирусные заболевания, когда иммунотерапия неэффективна. Антибиотики противовирусным действием практически не обладают.

Существует и совершенно иной подход к лечению вирусных заболеваний: стимулирование образования интерферона (маленького белка, обладающего противовирусным действием) в организме-хозяине с помощью малых молекул. Одним из таких соединений является тилорон — 2,7-бис-(2-диэтиламиноэтокси)флуорен-9-он [Kueger, Maueg, 1970]. Однако до сих пор нет эффективного противовирусного препарата такого типа¹. Необходимо также учитывать, что сам интерферон обладает нежелательными побочными эффектами².

Подходы к целенаправленному созданию противовирусных препаратов рассмотрены Grollman, Hogwitz (1971) и Gaugi (1981); противовирусная химиотерапия — в работе Game, Caliguiri (1982).

6.3.3. Препараты для лечения протозойных инфекций

А. Болезни, вызываемые зооспорами (споровиками). Во время второй мировой войны в профилактике и лечении малярии хинин был заменен акрихином (6.10). После войны для

¹ Некоторые итоги и перспективы клинического использования индукторов интерферона см. Садыков А. С., Ершов Ф. И., Новокамский А. С., Асламеч. ред.

² В настоящее время индукторы интерферона уже вошли в клиническую практику в качестве противовирусных средств. — Примеч. ред.

профилактики заболевания стали применять более активный хлоридин (4.8), а для лечения—хингамин (10.31) [Schönhöfer, 1938; Wiselogle, 1946].

В дальнейшем памаквин (6.9) был заменен менее токсичным для человека примаквином (3.36), применяющимся в качестве вспомогательного гаметоцидного препарата для предотвращения распространения малярии (при его применении комар, укусивший больного, не становится новым разносчиком малярии) [Elderfield, 1946]. В 1945 г. в Англии был получен эффективный препарат для профилактики малярии бигумаль (прогуанил) (3.34) [Curd, Davey, Rose, 1945], испытанный на добровольцах в Северном Квинсленде в Австралии [Fairley, 1946]. В настоящее время его почти полностью заменили циклогуанил (3.55) и избирательный профилактический препарат хлоридин (4.8), созданный совместно английскими и американскими учеными [Falco et al., 1951]. Хинин в настоящее время используется только для лечения форм малярии, устойчивых к другим препаратам. Из-за развития резистентности *Plasmodium falciparum* к различным препаратам возобновились работы по синтезу новых противомаларийных препаратов (разд. 10.3.5, 1.1 и 9.6).

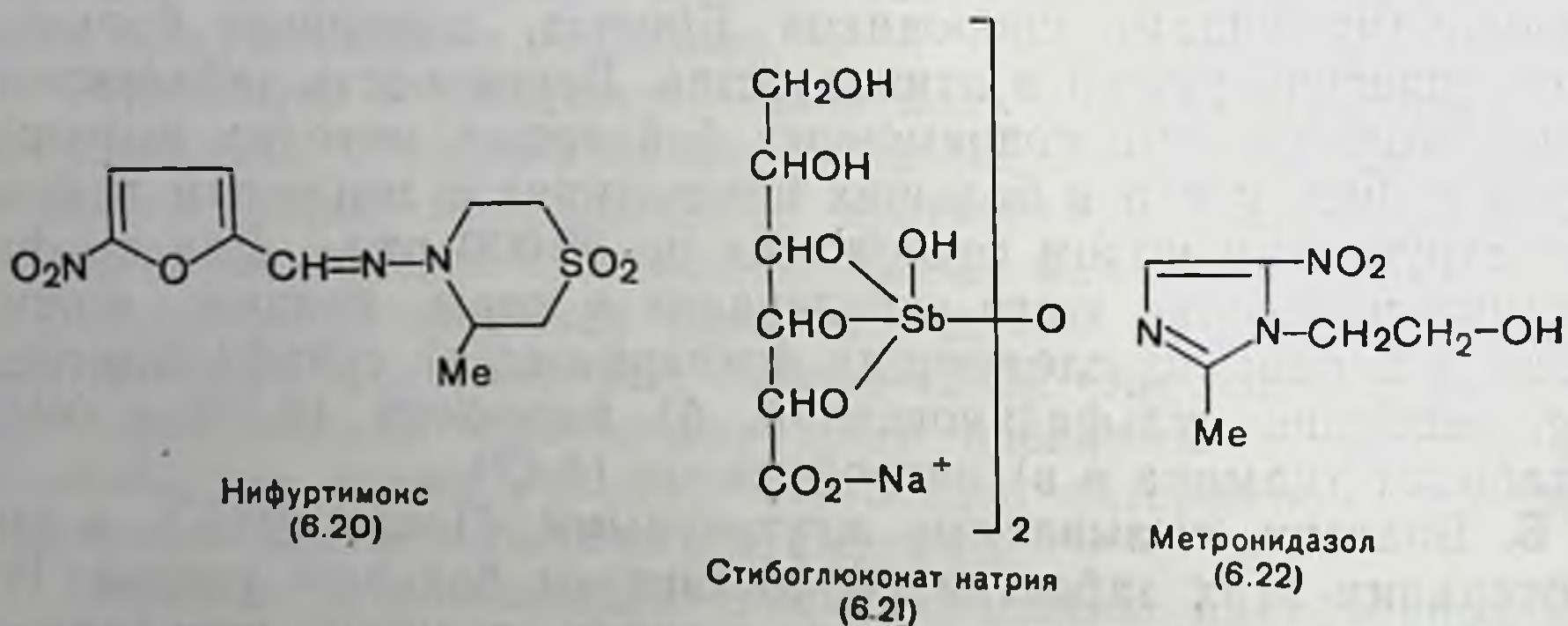
Кокцидиоз у птиц и крупного рогатого скота, вызываемый различными видами споровиков *Eimeria*, причиняет большой экономический ущерб в птицеводстве. Вероятность заболевания резко возросла при современных бойлерных методах выращивания птицы, когда в больших помещениях с земляным покрытием стружками полом содержится по 30 000 птиц. Для профилактики и лечения этого заболевания в корм птицам можно добавлять один из следующих препаратов: а) сульфаниламидные, особенно сульфахиноксалин, б) ампролий (9.37) — анти-метаболит тиамин и в) нитрофуразон (4.42).

Б. Болезни, вызываемые жгутиковыми. После 1935 г. в химиотерапии этих заболеваний достигнуты большие успехи. Из целой серии ароматических диамидинов лучшим препаратом для профилактики и лечения трипаносомоза является пентамидин (10.27), хотя и сурамин все еще продолжают применять. Диамидины были синтезированы Ewins и сотр. в конце 30-х годов, но в литературе описаны лишь в 1942 г. Биологические испытания этих соединений провели King, Lougie, Yorke (1938) и Adler, Tchernomogetz (1942). Из ряда диамидинов для лечения трипаносомоза находит применение диминазен (10.28). В далеко зашедших случаях, когда возбудитель проникает в мозг, раньше использовали трипарсамид (6.7), в настоящее время его заменил более избирательный французский препарат меларсопрол (13.3), имеющий, однако, некоторые серьезные побочные эффекты [Friedheim, 1949].

В последнее время внимание исследователей сконцентрировано на создании препаратов, вмешивающихся в необычные биохимические процессы *Trypanosoma brucei*, различные под-

виды которой вызывают трипаносомоз у людей и сельскохозяйственных животных. В организме этих паразитов глюкоза анаэробным путем превращается в глицерин и пируват при участии специфического фермента α -глицерофосфатдегидрогеназы, коферментом которого служит спермидин. Этот фермент превращает образующийся при гликолизе NADH в NAD⁺. Механизм лечебного действия нового лекарственного препарата 2-дифторметилорнитина (ДФМО) (3.51) при заражении *T. brucei* мышей заключается в ингибировании орнитиндекарбоксилазы, синтезирующей из орнитина предшественник спермидина — путресцин [Vaschi, 1981]. Этот препарат — типичный представитель ФАНИ (разд. 9.7.2). Даже в больших дозах он нетоксичен для человека, но период его полураспада в организме человека очень короток.

Ни один из вышеперечисленных лекарственных препаратов не эффективен при южно-американской форме трипаносомоза — болезни Шагаса. Однако при лечении острой и хронической форм этой болезни успешно применяют производное нитрофурана — нифуртимокс (6.20) [Vock et al., 1972]. Обычно выздоровление наступает быстро, если органические поражения не зашли слишком далеко.



Излечение трипаносомоза у скота (лошадей, крупного рогатого скота, верблюдов) часто достигается уже после однократного введения какой-либо из солей аминофенантридиния [Browning et al., 1938; Carmichael, Bell, 1944]. Впервые препараты этого типа синтезировал Walls (1951). Лучшим из фенантридиновых трипаноцидов является гомидиум (10.23), известный под торговым названием «этидиум». В качестве профилактического средства используется хинапирамин [Wilson, 1949]. О трипаносомозе см. разд. 1.1 и 10.3.5.

Лейшманиоз успешно лечат внутримышечными инъекциями сурьмы — стибоглюконата натрия (6.21), в настоящее время заменившего другие, применявшиеся ранее, соединения сурьмы. Альтернативой служит также внутримышечное введение пентамидина (10.27).

В умеренном климате из болезней, вызываемых жгутиковыми, больше всего распространен трихомонадный вагинит. Для его лечения успешно применяется перорально метронидазол (6.22) [Keighley, 1962]. Метронидазол вмешивается в работу системы ферредоксина (E_0 около 40 мВ) и ингибирует образование водорода *Trichomonas vaginalis* [Edwards, 1982; O'Brien, Moggis, 1972], что приводит к разрушению ДНК. См. также нитрофуразон в разд. 4.0 и гидрогеносомы в разд. 5.4.3.

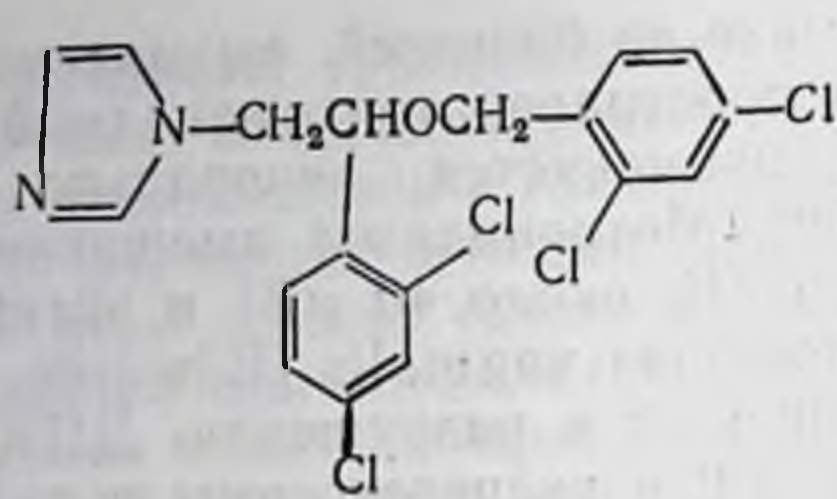
В. Амебиазы. Найдено много новых амебоцидных лекарственных веществ контактного действия, эффективных против *Entamoeba* (включая и трофозоиты) при прямом контакте в кишечной полости. В клинике наиболее широко используется метронидазол (6.22) [Adams, MacLeod, 1977]. Для воздействия на трофозоиты, прямой контакт с которыми невозможен (например, при абсцессе печени), необходимы амебоцидные вещества системного действия. В настоящее время выбор таких препаратов для врачей не ограничен лишь эметин (вызывающим рвоту), в клинической практике применяют более эффективный хингамин (10.31).

6.3.4. Фунгициды

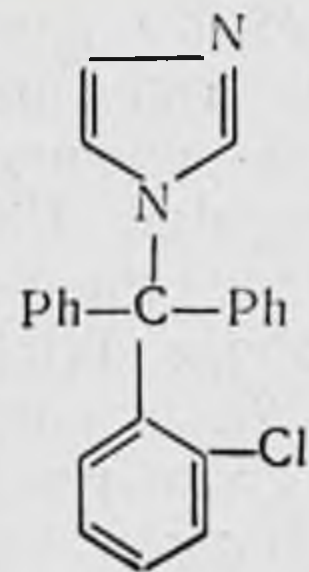
Большинство несистемных грибковых заболеваний человека (типа стригущего лишая) поддаются действию препарата миконазола (6.23), имидазолилметилпроизводного 2,4-дихлорбензилового эфира. Он успешно применяется в виде 2% мази и при кандидозе слизистых оболочек. Примерно такой же эффективностью обладает и родственный ему клотримазол (6.24) [Plempel et al., 1969]. Миконазол мешает встраиванию эргостерина в цитоплазматическую мембрану грибов [Arndt, Schulz-Hardger и Schulz-Hardger, 1982], действуя аналогично полиеновым антибиотикам. Несколько менее эффективен первый противогрибковый препарат прямого действия толнафтат (6.25). До появления этих препаратов в качестве противогрибковых средств применяли вещества типа салициловой кислоты и салициламида, механизм действия которых заключается в усилении слущивания рогового слоя — места скопления грибов.

Поверхностные грибковые поражения можно лечить и системно, например антибиотиком гризеофульвином (6.26), разрушающим митотическое веретено только у грибов, но не действующего на человека [Samson, 1976]. Наиболее часто гризеофульвин применяют при грибковых поражениях ногтей. Несмотря на длительность лечения (несколько месяцев), он является, вероятно, самым лучшим из известных препаратов для лечения этих заболеваний [Goldman, 1970]. Гризеофульвин не действует на бактерии, дрожжи и многие виды грибовых грибов.

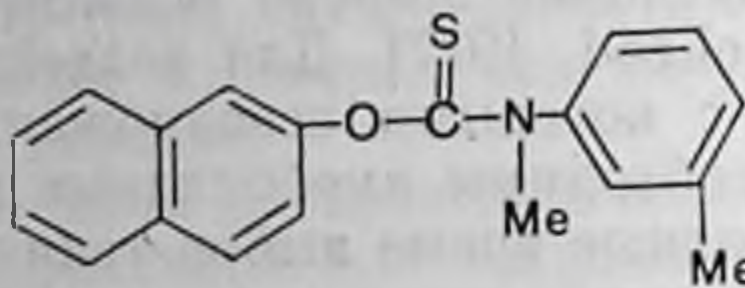
Полиеновый антибиотик нистатин (14.19) применяют при поражениях кожи, слизистых оболочек и кишечника грибом *Candida albicans*.



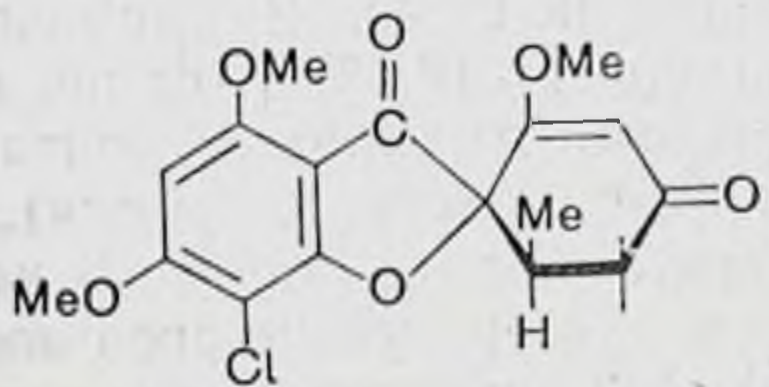
Миконазол
(6.23)



Клотримазол
(6.24)



Толнафат
(6.25)



Гризеофульвин
(6.26)

Системные грибковые поражения (например, гистоплазмоз и бластомикоз) встречаются нечасто, но если их не лечить они могут привести к смертельному исходу. Обычно поражаются легкие или мозг (менингит). До сих пор лучшим средством лечения таких заболеваний остается амфотерицин В (5.14), механизм действия которого описан в разд. 5.4.1. Прекрасный синергический эффект дает флуцитозин (4.23) (разд. 4.0), хотя отдельно он применяется очень редко. Возможно также внутривенное введение миконазола (6.23), однако при этом часто возникают неблагоприятные побочные эффекты. В настоящее время надежды врачей связаны с появившимся в 1981 г. аналогом миконазола — кетоконазолом, активным при пероральном применении.

О лечении грибковых заболеваний амфотерицином В см. Bennett (1979); о противогрибковой химиотерапии см. Speller (1980).

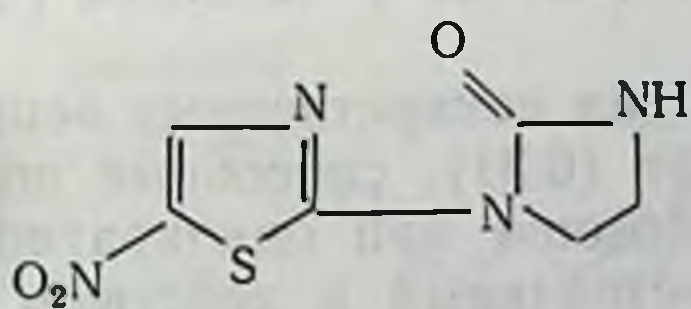
6.3.5. Антигельминтные препараты

Паразитирующие в организме человека черви относятся к различным зоологическим семействам и поэтому сильно отличаются друг от друга анатомией, физиологией и чувствительностью к лекарственным веществам. Антигельминтные препараты уже в XVII в. пытался найти Francesco Redi [Redi, 1684]. Однако до 1935 г. применяли немногие из известных сегодня средств, а препараты с высокими химиотерапевтическими индексами были получены лишь недавно. В пораженном организме большинство паразитирующих червей существует в виде

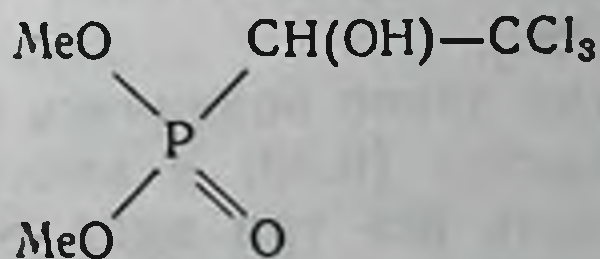
взрослых особей с законченным циклом развития и роста. Поэтому в отличие от быстро растущих и размножающихся бактерий и простейших они не чувствительны к действию лекарственных веществ, влияющих на синтез нуклеиновых кислот или белков. Так как у взрослых червей биосинтез протекает очень медленно, наиболее уязвимы в них биохимические процессы, связанные с двигательной активностью и энергетическим метаболизмом. В некоторых случаях избирательная токсичность антигельминтных препаратов связана с биохимическими отличиями паразита, в других — на паразита действует высокая концентрация препарата, всасывающегося в организм хозяина.

Для лечения наиболее опасного из всех заболеваний этого типа, вызываемого плоскими червями шистосомоза (разд. 1.1), до сих пор применяют органические соединения трехвалентной сурьмы (см. табл. 4.6 и разд. 13.0). Из них при заболеваниях, вызванных *Schistosoma mansoni* и *S. haematobium*, наиболее эффективно внутривенное введение стибофена (4.57), который, однако, может вызывать рвоту; помогают также однократные внутримышечные инъекции гикантона (3.42, б), хотя есть предположение, что он обладает мутагенными и канцерогенными свойствами.

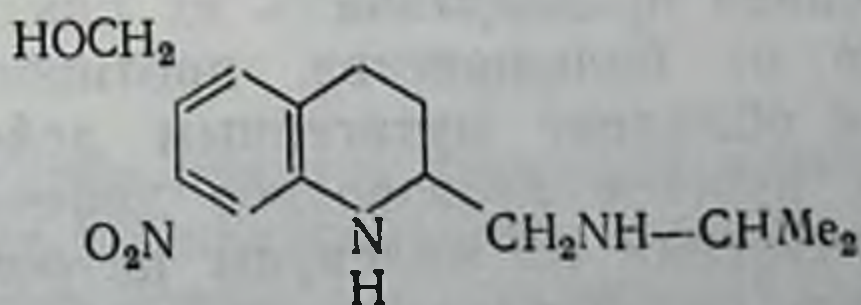
В 1965 г. появился первый пероральный препарат для лечения шистосомоза — ниридазол (6.27), 1-(5-нитротиазол-2-ил)имидазолидин-2-он. Продолжительность лечения составляет одну неделю [Blair et al., 1969], но действует он только при заболеваниях, вызванных *S. haematobium*, накапливаясь в их оплодотворенных яйцах и гонадах. Избирательность действия ниридазола связана с его способностью реактивировать гликогенфосфоорилазу червей, в норме инактивированную. В результате этого повышается гликогенолиз и паразит погибает от недостатка пищи (у людей ничего похожего происходить не может) [Bueding, Fisher, 1970].



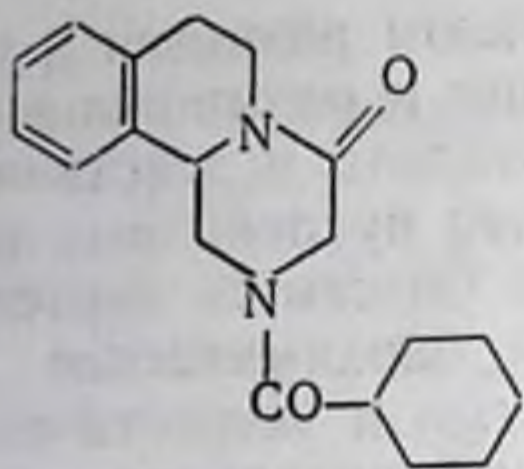
Ниридазол
(6.27)



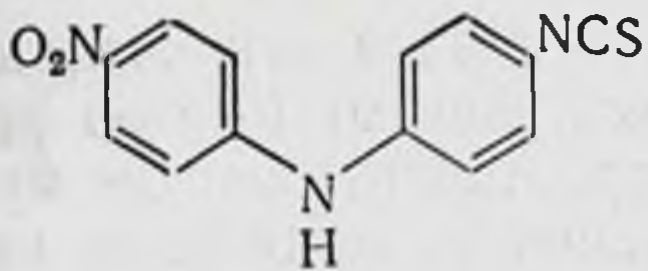
Метрифонат
(6.28)



Оксамниквин
(6.29)



Празиквантел
(6.30)



Амосканат
(6.31)

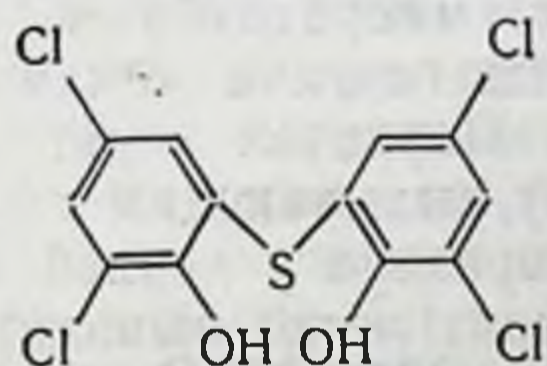
Для лечения заболеваний, вызванных *S. haematobium*, применяется и метрифонат (диметиловый эфир 1-гидроксиэтил-2,2,2-трихлорфосфорной кислоты) (6.28), представляющий собой пролекарство. Он отщепляет хлористый водород, превращаясь в дихлорфос (13.29), необратимый ингибитор АХЭ червей. Лечение обычно сводится к приему двух таблеток препарата (через определенный длительный интервал времени). Человек хорошо переносит препарат, хотя при лечении АХЭ полностью исчезает из сыворотки крови больного. Через некоторое время фермент появляется вновь, и никаких симптомов депривации не возникает. Кроме того, метрифонат — первый из препаратов такого типа действия, который можно применять и в целях профилактики [Jewsburg, Cooke, Weber, 1977].

Список препаратов, действующих на *S. haematobium*, пополнился оксамниквином (6.29), однократное пероральное введение которого вылечивает от заболеваний, вызванных *S. mansoni*. Он хорошо переносится больными, в том числе и детьми [Katz, Zicker, Pereira, 1977]. Миллионы людей в Африке и Южной Америке вылечены оксамниквином; он внесен ВОЗ в список наиболее важных лекарственных веществ. Считают, что это соединение ингибирует орнитинтрансаминазу — фермент, участвующий в синтезе пролина, играющего главную роль в метаболизме азота у этих червей, но не у человека [Goldberg et al., 1980].

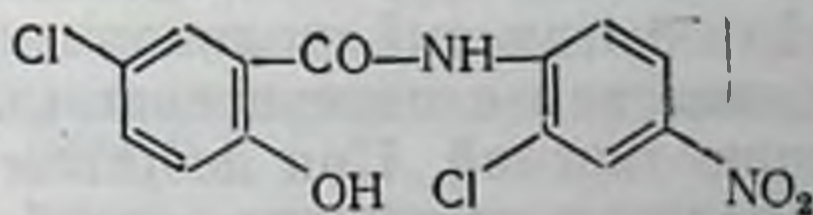
Не так давно появились еще два лекарственных вещества — празиквантел (6.30) и амосканат (6.31), способные полностью уничтожать все три вида *Schistosoma* при однократном пероральном приеме (даже такой устойчивый к действию различных веществ вид, как *S. japonica*). Предполагают, что празиквантел (производное пиразиноизохинолинона) действует на паразитов, увеличивая проницаемость их плазматической мембраны. В отличие от большинства противошистосоматозных препаратов, он не обладает мутагенным действием [Wegner, 1981]. Амосканат, простое производное дифениламина, теряет активность при удалении из молекулы нитрогруппы [Streibel, 1976]. К сожалению, он обладает слабым токсическим действием на ЦНС человека. В настоящее время основным препаратом для лечения шистосоматоза является празиквантел.

Для борьбы с широко распространенными на Дальнем Востоке и в Латинской Америке легочными нематодами (*Paragonimus* spp.) применяют перорально битионол, 2,2'-тиобис(4,6-дихлорфенол) (6.32). Для лечения заболеваний, вызванных *Clonorchis sinensis* (китайская печеночная нематода), продолжается поиск препаратов более эффективных, чем хингамин (10.31). Печеночная двуустка *Fasciola hepatica*, часто встречающаяся у травоядных животных, но иногда поражающая и человека, легко изгоняется битионолом, а гигантская желудочная нематода *Fasciolopsis buski*, встречающаяся в Юго-восточной Африке, — тетрахлорэтиленом.

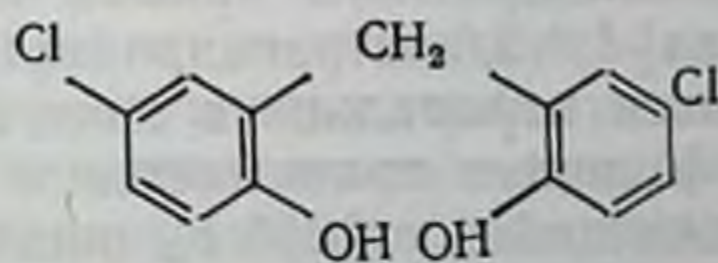
Быстрое и безболезненное лечение поражений, вызванных другим типом плоских червей — цестодами или ленточными червями, возможно с помощью фенасала (6.33), действующего на все основные типы этих паразитов [Göppert, Schraufstätter, 1960], и дихлорфена (6.34). Эти вещества проявляют высокую избирательность, так как ингибируют в митохондриях червей необычную реакцию аэробного фосфорилирования — включение неорганического фосфата в АТФ. В высоких дозах эти антигельминтные препараты разобщают и обычное аэробное фосфорилирование у человека, однако аэробная система цестод значительно более чувствительна к их действию [Scheibel, Sz., Bueding, 1968]. Цестоды *Echinococcus granulosus*, образующие гидатиды, можно изгонять из организма овчарок бунамидином (NN-дибутил-4-гексилоксиафт-1-амидином), который также эффективен против ленточных червей у собак и кошек при однократном введении [Gemzell, Sheager, 1968].



Битионол
(6.32)



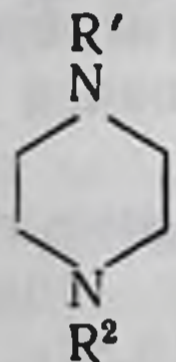
Фенасал
(6.33)



Дихлорфен
(6.34)

В большой группе нематод (круглых червей) каждый представитель требует индивидуального подхода. Для лечения филяриатоза успешно применяют высокоизбирательный дитразин (1-диэтилкарбомоил-4-метилпиперазин) (6.35, б) [Hewitt et al., 1947]. Этот препарат неактивен *in vitro*, так как он повышает чувствительность филярий к действию фагоцитов. При родст-

венном заболевании, вызываемом *Opchosesa* и поражающим в основном кожу и глаза, дитразин при пероральном применении эффективен только на ранних стадиях развития червей (микрофилярии). Если же паразиты достигли стадии взрослых особей, то необходимо длительное внутривенное введение сурамицина (6.8), обладающего неприятными побочными эффектами. Ришта, длинный червь, поражающий кожу, изгоняется тиабендазолом (6.36) (см. ниже) или метронидазолом (6.22).

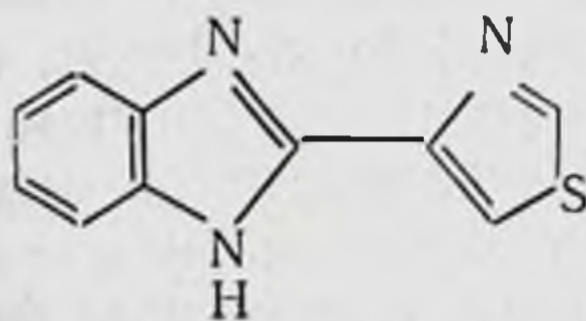


а) R¹=R²=H (пиперазин)

б) R¹=Me; R²=CONEt₂

(дитразин)

(6.35)



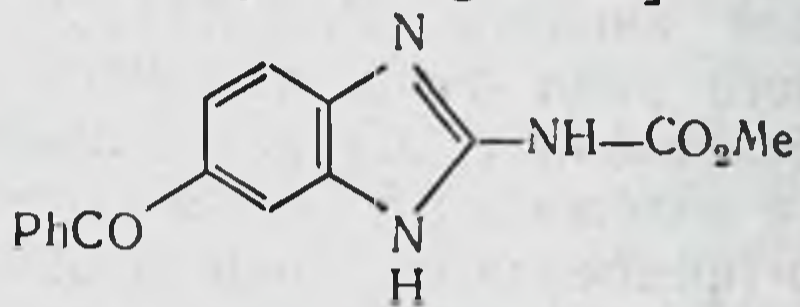
Тиабендазол

(6.36)

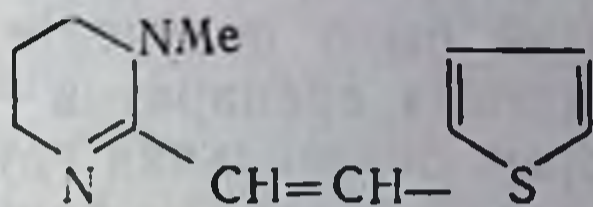
При лечении заболеваний, вызываемых червями *Necator* или *Ancylostoma*, в первую очередь следует улучшить питание больного, после чего паразиты легко изгоняются мебендазолом (6.37) или пирантелом (6.38). Применявшиеся ранее нафтамон (6.39) и хлорированные углеводороды выходят из употребления. При одновременном заражении несколькими видами паразитов, в том числе *Ascaris*, применяют тиабендазол (6.36). Предполагают, что лекарственные вещества семейства бендазола избирательно нарушают сборку микротрубочек (разд. 5.4.7), тогда как пирантел действует на ганглии как избирательный никотиновый холиномиметик. Пирантел терапевтически несовместим с пиперазином (6.35, а), вызывающим гиперполяризацию ганглий. При действии пиперазина у червей наступает паралич и такой еще живой паразит легко выводится из организма действием перистальтики [Eyre, 1970; Desowitz, 1970].

При заражении аскаридами (*Ascaris lumbricoides*) для лечения достаточно однократного приема пирантела, 1-метил-2-[2-(тиен-2-ил)винил]-1,4,5,6-тетрагидропиримидин (6.38), который обычно вводится перорально в виде суспензии малорастворимого памоата. Успешно применяется и мебендазол (6.37), а пиперазин, применяющийся с 1953 г., постепенно вытесняется из клинической практики. До появления пиперазина использовали препараты сантонина и мужского папоротника, однако они плохо переносились больными, так как до и после их приема надо было принимать сильное слабительное, повторяя эти процедуры неоднократно. Пиперазин представляет большой интерес с точки зрения сравнительной токсикологии в связи с тем, что он ингибирует действие АХ на нервно-мышечный синапс у нематод и не действует на такой же синапс млекопитающих. В то же время тубокурарин (2.6) блокирует нервно-

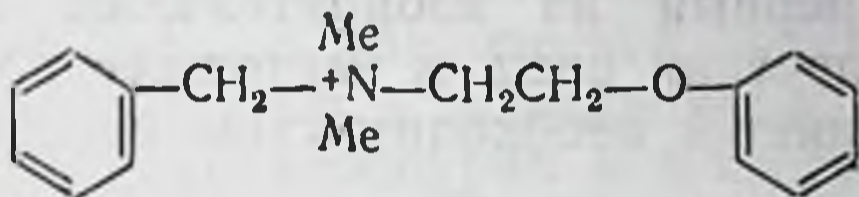
мышечную передачу у млекопитающих и очень слабо действует на червей [del Castillo, Mello, Morgales, 1964]. Мышца лягушки, занимающая промежуточное положение между мышцами червей и млекопитающих, блокируется обоими лекарственными препаратами [Bueding, 1962].



Мебендазол
(6.37)



Пирантел
(6.38)



Нафтамон (катион)
(6.39)

При лечении инвазий круглыми червями (*Strongyloides*) наиболее эффективен высокоизбирательный антигельминтный препарат широкого спектра действия тиабендазол 2-(тиазол-4-ил)бензимидазол (6.36), разработанный Н. D. Brown и его сотрудниками в 1961 г. Этот препарат проявляет ларвицидное действие даже в концентрации 10^{-10} М, т. е. в значительно более низких концентрациях, чем бактерицидные концентрации пенициллина [Brown et al., 1961]. Он избирательно подавляет сборку микротрубочек у червей, что приводит к ингибированию секреции АХЭ [Watts et al., 1982].

Широко распространенные во всем мире у детей острицы (*Oxyuris*) легко изгоняются пирантелом или мебендазолом, причем последний также эффективно изгоняет и хлыстовиков (*Trichuris*) [Brugmans et al., 1971].

При инвазии *Trichinella spiralis*, широко распространенной в Европе, США и Канаде из-за употребления в пищу непроваренной или недожаренной свинины, чаще всего в качестве паллиативной меры применяют кортикостероиды, облегчающие боли при проникновении паразита из кишечника в мышцы хозяина; в этих случаях эффективность тиабендазола не очень высока.

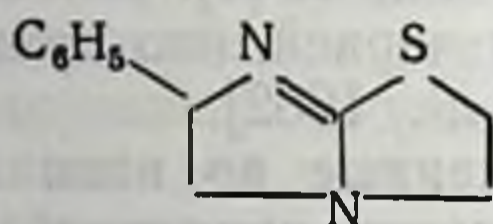
Ветеринарные антигельминтные препараты. Наиболее широко применяют такие препараты, как пирантел (6.38), фосфорорганические соединения, например метрифонат (6.28) и дихлорфос (13.29), а также производные бензимидазола, особенно тиабендазол (6.36), обладающий широким спектром действия как на зрелых, так и на развивающихся червей у крупного рогатого скота, лошадей, свиней и овец. Он действует настолько избирательно и так быстро выводится из организма, что коровье молоко и мясо животных можно употреблять в пищу вскоре после введения препарата.

Однако в 1967 г. было установлено, что тиабендазол час-

тично инактивируется в результате метаболического гидроксирования в положении 5, поэтому в это положение следует вводить защитную группу. Примерно в это же время было обнаружено, что антигельминтное действие производных бензимидазола усиливается при замене тиазольного цикла в положении 2 остатком карбаминовой кислоты. Результатом этих открытий было получение целого ряда очень активных антигельминтных препаратов — мебендазола (6.37) и его аналогов, в которых бензоильная группа в положении 5 заменена бутильной (парабендазол), фенилтио- (фенбендазол) или пропилтио- группой (албендазол). Особенно широким спектром действия обладает албендазол [Theodorides et al., 1976].

Фенотиазин, первый из избирательных антигельминтных препаратов для лечения овец, в настоящее время применяется редко, что объясняется необходимостью введения больших доз препарата.

Тетрамизол (и его левовращающий изомер левамизол) (6.40) 2,3,5,6-тетрагидро-6-фенилимидазо[2,1-b]тиазол, широко применяемый при различных поражениях нематодами крупного рогатого скота, свиней и овец [Raeymaekers et al., 1966], у человека эффективен только при аскаридозе. Тетрамизол вызывает у червей мышечный паралич в результате стимуляции ганглий, после чего паразиты выводятся из организма под действием перистальтики. В разд. 5.2 обсуждается возможность применения тетраамизола для регуляции иммунного ответа у человека. Ивермектин описан в разд. 12.7.



Тетрамизол
(Левамизол)
(6.40)

6.3.6. Противоопухолевые лекарственные вещества

«Рак» — это собирательное название более чем 200 заболеваний, характеризующихся неограниченным ростом тканей, но требующих различных подходов к лечению. Лечение раковых заболеваний лекарственными веществами относится как к фармакодинамике (так как полезные и вредные клетки принадлежат одному организму), так и к химиотерапии (так как целью является уничтожение вредных клеток). В настоящее время широко применяется введенный П. Эрлихом термин «химиотерапия рака». Первый избирательный агент для лечения рака был найден только в 1942 г., когда Альфред Гилман и его сотрудники применили для этой цели боевое отравляющее вещество нарывного действия, известное под названием азотистый иприт. Так появился в клинике эмбихин (4.25) [Gilman, Phi-

lips, 1946; Goodman et al., 1946]. С этого момента началась эра химиотерапии рака.

Хотя избирательность эмбихина была невысока, его появление указало путь к другим лекарственным веществам класса азотистых ипритов, применяющимся в настоящее время в противоопухолевой терапии: циклофосфану (вероятно, наиболее избирательному из препаратов этого ряда), хлорбутину, сарколизину и допану; близки к ним по типу действия тиофосфамид и миелосан, а также производные нитрозомочевины: ломустин, кармустин, семустин и антибиотик стрептозоцин. Все эти вещества действуют как алкилирующие агенты и соединяют две цепи ДНК (разд. 13.4).

Вслед за алкилирующими агентами появились антиметаболиты. В настоящее время в клинической практике применяются следующие аналоги пуринов и пиримидинов: цитарабин, фторурацил, азарибин, 6-меркаптопурин и 6-тиогуанин (разд. 4.0), а также птеридиновый аналог фолиевой кислоты метотрексат (разд. 9.3.3). В противоопухолевой терапии используются и такие воздействующие на ДНК антибиотики как блеомицин, доксорубицин и даунорубицин, рассматриваемые в разд. 4.0. Из природных соединений наиболее широко применяются алкалоиды Випса, ингибирующие сборку микротрубочек (разд. 5.4.7).

Среди используемых в клинике противоопухолевых лекарственных препаратов следует упомянуть цисплатин, также связывающий цепи ДНК, дакарбазин и гидроксимочевину (оба препарата влияют на метаболизм нуклеиновых кислот), дактиномицин, прокарбазин, митотан, гормоны и их антагонисты, а также два радиоактивных изотопа: йод и фосфор.

Невысокую степень избирательности современных противоопухолевых препаратов в клинической практике повышают за счет принудительного избирательного распределения или синхронизацией их введения с клеточным циклом (разд. 5.1). Никогда раньше интерес к противоопухолевой химиотерапии, поддерживаемый современными достижениями в этой области, не был так высок (разд. 1.1). Противоопухолевые лекарственные средства помогают в тех случаях, когда уже бессильны хирурги и радиотерапия, например при сильно метастазирующих опухолях вылечить больного можно только с помощью химиотерапии. О молекулярных аспектах противоопухолевой терапии см. Sartorelli, Lazo, Bertino (1981).

6.4. История изыскания средств защиты урожая, пестициды

Параллельно с развитием химиотерапии млекопитающих проводились работы и по изысканию средств защиты сельскохозяйственных растений от сорняков, насекомых и грибов. Значение инсектицидов, однако, гораздо шире, так как многие насекомые являются эктопаразитами человека и домашних

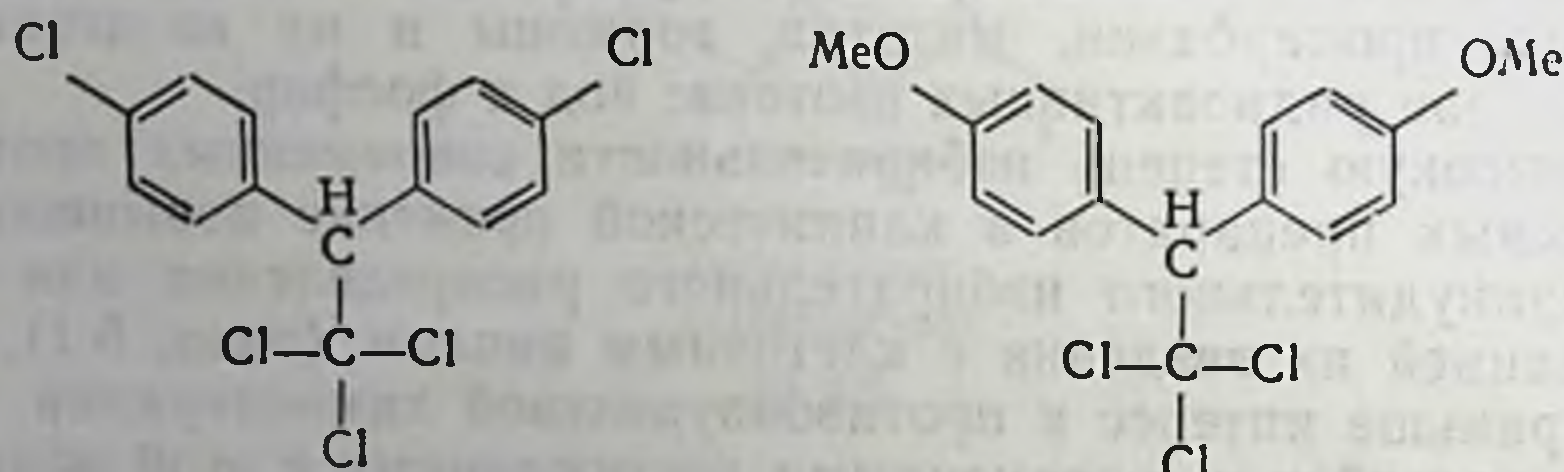
животных и, кроме того, переносчиками инфекций. Около 14% всего урожая в мире ежегодно теряется из-за насекомых, еще 12% — из-за заболеваний растений, вызванных грибами и червями, еще 9% — из-за сорняков и около 10% уничтожают грызуны. Общие потери урожая во всем мире оцениваются примерно в 1800 млн тонн [см. Cramer, 1967].

Химия пестицидов, их применение и механизм действия см. Hassall (1982) и Büchel (1983); избирательность действия пестицидов — Street (1975); основные принципы распределения и превращения пестицидов — Hartley, Graham-Bryce (1980—81) и о широко применяемых пестицидах см. Worthing (1983)¹. Периодические издания (указан год первого выпуска): Pesticide Biochemistry and Physiology (1970), Pesticide Chemistry (1972), Advances in Pesticides (1977) и Progress in Pesticide Biochemistry (1981). Изучению загрязнения окружающей среды (особенно хлорированными углеводородами) посвящена работа Morigarty (1983).

6.4.1. Инсектициды

Попытки борьбы с насекомыми, наносящими большой вред урожаю, предпринимались очень давно. Для этих целей без особого успеха использовали арсенат свинца, табачную пыль, мыло и бензин. Современная эра пестицидов началась в 1940 г. с открытия Паулем Мюллером инсектицидного действия ДДТ.

ДДТ (6.41) — это 1,1,1-трихлор-2,2-бис(4-хлорфенил)этан. Принятое ВОЗ международное название этого вещества — клофенотан, однако существует множество синонимов.

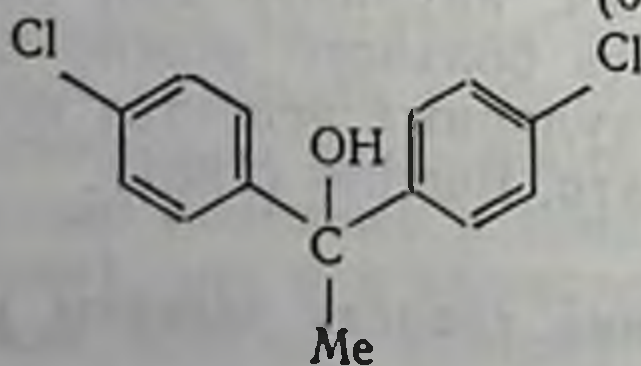


ДДТ
(Клофенотан)

(6.41)

Метоксихлор

(6.42)



Дикофол

(6.43)

¹ См. также Мельников Н. Н. и сотр. Справочник по пестицидам. — М., 1985. — Примеч. ред.

Впервые этот агент был применен союзными армиями во время второй мировой войны для борьбы с малярией и тифом. Однако во время войны данные о ДДТ практически не публиковались, пока Lauger, Martin, Muller (1944) не выпустили свой исторический обзор, в котором указывали, что впервые ДДТ синтезировал Zeidler еще в 1874 г., однако более 60 лет его биологические свойства оставались неизученными.

В конце второй мировой войны ДДТ вошел в практику как сельскохозяйственный и бытовой инсектицид и его начали широко применять во всем мире, так как считалось, что избирательность его действия очень высока. В результате этого значительно возросли урожаи сельскохозяйственных культур, что сыграло немаловажную роль в обеспечении потребностей растущего населения земного шара.

Однако в 1962 г. стало очевидно, что высокая устойчивость ДДТ к процессам биodeградации делает его применение опасным для животного мира и приводит к вредным последствиям для многих видов животных (особенно для рыб, птиц и пчел). При длительном применении ДДТ токсичен и для человека. Поэтому в настоящее время применение ДДТ запрещено или ограничено лишь теми случаями, когда отсутствуют приемлемые его заменители¹.

С особыми трудностями столкнулась ВОЗ в длительной борьбе с москитами-переносчиками малярии в тропиках. Высокая устойчивость ДДТ к биodeградации позволила проводить опрыскивание мест размножения mosкитов один раз в год, что экономически очень выгодно. Однако на смену ДДТ появились такие легко подвергающиеся биodeградации токсические агенты, как метоксихлор (6.42), такие несколько более устойчивые карбаматы, как пропоксур (13.40), и фосфорорганические соединения — фенитротинон и хлорфоксим (разд. 13.3).

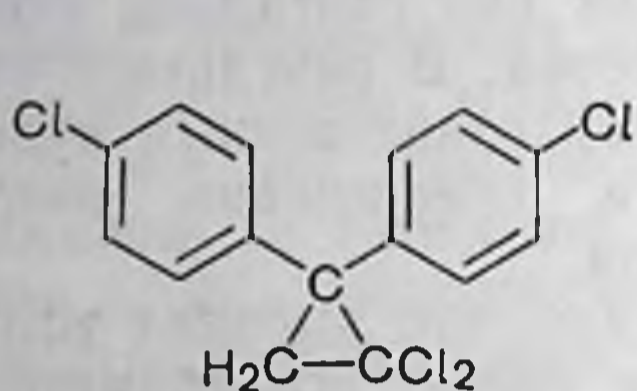
Различные изменения молекулы ДДТ не влияют на ее инсектицидные свойства. Так, в разд. 2.6 уже указывалось, что при замене пяти атомов хлора метильными или метоксигруппами сохраняется высокая и избирательная инсектицидная активность веществ. В разд. 7.6.5 указано, что механизм инсектицидного действия ДДТ (и аналогично действующих пиретринов) связан с их способностью блокировать закрытие ионных каналов у холоднокровных. Избирательность действия ДДТ обусловлена тем, что при более высокой температуре тела теплокровных не образуется донорно-акцепторной связи между бензольными кольцами препарата и противоположно заряженной поверхностью мембраны около устья канала [Nolan, 1971].

Nolan (1969, 1971) установил, что именно трихлорметильная группа ДДТ и диметилциклопропильная группа пиретринов (6.52) препятствуют закрытию натриевого канала, и назвал

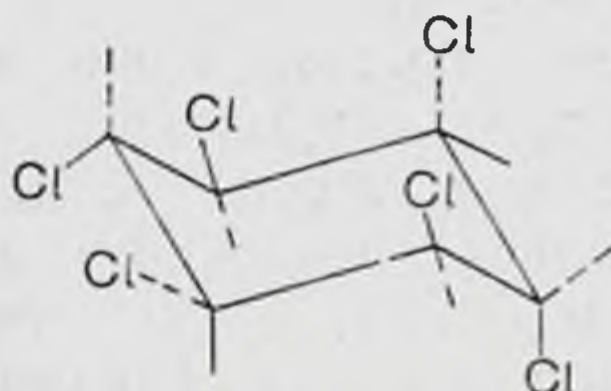
¹ В СССР применение ДДТ запрещено с 1970 г. — *Примеч. ред.*

их «ключевыми группами». Показав, что средний диаметр этих групп примерно 0,63 нм, он синтезировал соединения, представляющие собой «гибридные молекулы», например (6.44), обладающие выраженными фунгицидными свойствами и способные к биодegradации.

В настоящее время для защиты растений в качестве инсектицида из производных ДДТ наиболее широко применяют ди-кофол (6.43), что объясняется именно его способностью к быстрой биодegradации.



Пример ДДТ-подобного циклопропана
(6.44)



Линдан
(6.45)

Открытие инсектицидного действия ДДТ привело к появлению и других хлорированных углеводородов, активных против ДДТ-устойчивых линий и с другим механизмом действия (разд. 7.6.5). Первым из них был линдан (γ -гексахлорциклогексан) (6.45) [Slade, 1945]. По скорости и интенсивности действия он значительно превосходит ДДТ, однако очень летуч и поэтому быстро испаряется. Механизм действия линдана описан в разд. 7.6.5. Из всех хлорированных углеводородов только линдан разрешен к применению в клинике. Он является одним из восьми стереоизомеров гексахлорциклогексана. В его молекуле три соседних атома хлора расположены в аксиальном положении, а другие три — в экваториальном. В каждой тройке центральный атом называется мезо-, а боковые обозначаются как *d*l. Считают, что инсектицидное действие линдана обусловлено формой молекулы и не связано с блокадой натриевых каналов. Три других изомера, известных под названием альфа-, бета- и дельта-гексахлорциклогексанов, плохо проникают через наружные покровы насекомых [Armstrong, Bradbury, Standen, 1951]. Альфа-изомер обладает неприятным запахом, а бета-изомер очень низкой летучестью. Поэтому стереохимические исследования проводились преимущественно для гамма-изомера.

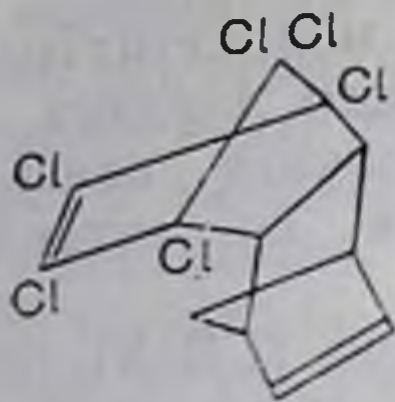
При изучении 38 аналогов линдана, в которых один или несколько атомов хлора были заменены на H, F, Br, Me, OMe, SMe и OH, было установлено, что для заместителей в мезо-положении существенным является их радиус, тогда как для заместителей в положениях *d*l важнее их объем. Для проявления инсектицидной активности соединение должно быть достаточно липофильным и не подвергаться быстрой биодegradации. Мезо-бром аналоги линдана (как моно-, так и дибром) более

эффективны, а действие мезо-моноэтокси- и монометилтиопроизводных по силе аналогично таковому самого линдана. При замещении в положениях d1 наименьшее влияние оказывает введение Н и Ме, однако все эти соединения по активности слабее линдана [Kiso et al., 1978].

Одновременно с открытием линдана Нутан (США) создал целый ряд высокоактивных и устойчивых хлорированных циклодиенов: альдрин (6.46), дильдрин, хлордан, гептахлор, эндрин и др. [Нутан, 1949]. Некоторые производные хлорированных циклодиенов обладают канцерогенной активностью, да и избирательность их недостаточна. Поэтому, хотя долгое время они широко применялись во всем мире, в последнее время использование этих соединений, не подвергающихся биodeградации, во многих странах ограничено или вообще запрещено. Удивительно, что хлорированные циклодиены, обладающие линданоподобным инсектицидным действием, в то же время более токсичны для позвоночных. В каждом из этих соединений имеется активированная двойная связь, к тому же дильдрин содержит одну (а эндрин — две) эпокси группы. Высокая реакционная способность этих фрагментов молекулы в биологических системах делает применение этих соединений небезопасным [см. van der Bergken, Nagahashi, 1974].

На основании изучения действия 106 хлорированных циклодиеновых инсектицидов на насекомых шести типов Soloway (1965) пришел к выводу, что взаимодействие токсического вещества с рецепторами насекомых определяется геометрией молекул. Для электростатического взаимодействия с рецептором в молекуле инсектицида должны быть два обогащенных электронами центра (Cl, O, N, S или двойная связь). Типичным примером таких инсектицидов служит альдрин (эндо-эндо-1,2,3,4,10,10-гексахлор-1,4 : 5,8-диметаногексагидронафталин (6.46). Дигидроальдрин имеет лишь один такой центр и поэтому малотоксичен для насекомых. Установлены критические для проявления активности очертания таких почти сферических молекул, см. формулу (6.47). Такая конфигурация получается, если рассматривать молекулярную модель вдоль линии, соединяющей метиленовые атомы углерода, образующие мостики в положениях 1,4 и 5,8. Такие же очертания имеет и молекула линдана, обладающего сходным типом действия. Более подробно связь структура — активность обсуждается в работе Brooks (1974).

Из большого числа хлорированных циклодиенов в настоящее время рекомендованы к применению два: эндосульфан (6.48), молекула которого, имеющая уязвимое место, легко биodeградирует, и камфехлор, называвшийся раньше токсафе-ном. Он представляет собой смесь примерно 175 полихлорпроизводных камфена (6.49) с общей формулой $C_{10}H_{10}Cl_8$, не содержит двойных связей [Casida et al., 1974] и подвергается биodeградации.

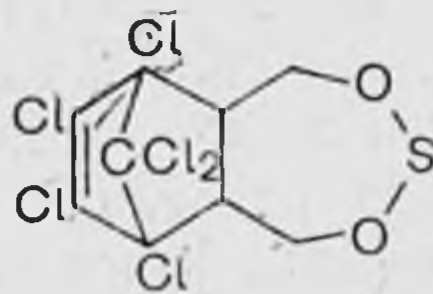


Альдрин
(6.46)

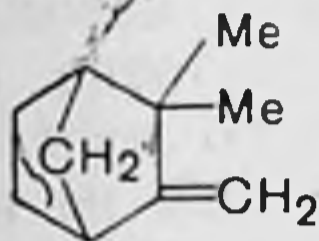


Критические для проявления активности очертания молекулы хлорированных инсектицидов

(6.47)



Эндосульфан
(6.48)

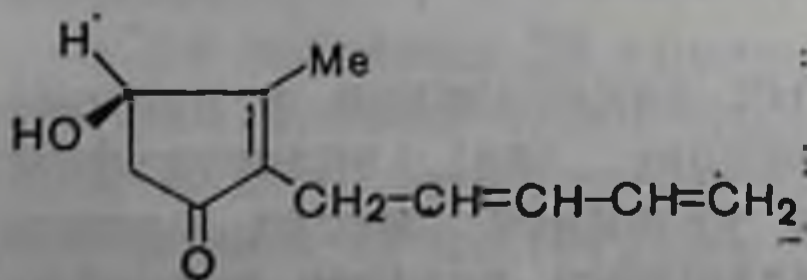


Намфен
(6.49)

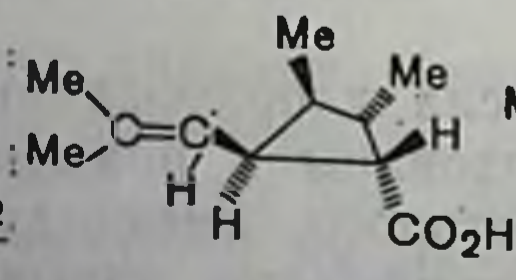
В настоящее время большую озабоченность вызывает загрязнение окружающей среды и воды полихлорбифенилами (использующимися в качестве пластификаторов, трансформаторных масел, пропиток для защиты от огня и высокотемпературных смазок), но в качестве пестицидов эти соединения применяются крайне редко.

Пиретрины — это два эфира, выделенные из цветка вида *Chrysanthemum*, широко произрастающего в Кении. По своим инсектицидным свойствам (в том числе и по механизму действия) пиретрин I очень напоминает ДДТ (разд. 7.6.5). Он ядовит и для рыб, однако настолько быстро подвергается метаболическому разрушению (как гидролитическому, так и окислительному), что совершенно безопасен для теплокровных и является основным компонентом большинства аэрозолей для уничтожения мух. В отличие от него пиретрин II только «сбивает» насекомых («нокдаун-эффект»), т. е. оказывает временное гипнотическое действие. Оба пиретроида чувствительны к действию света и поэтому не могут применяться для защиты растений.

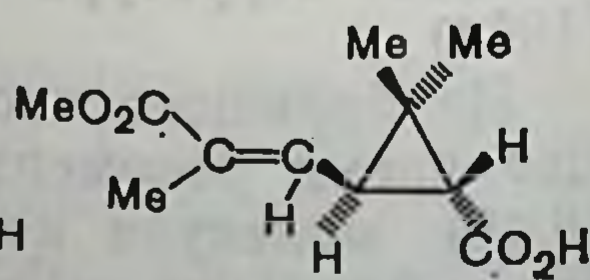
Пиретрин I представляет собой эфир спирта (6.50) и хризантемовой кислоты (6.51), а пиретрин II — эфир того же спирта и пиретровой кислоты (6.52). Вторая эфирная группа в молекуле пиретрина II уменьшает его период полураспада и ограничивает распределение в насекомых.



Спирт из природных пиретринов
(6.50)



Хризантемовая кислота
(6.51)



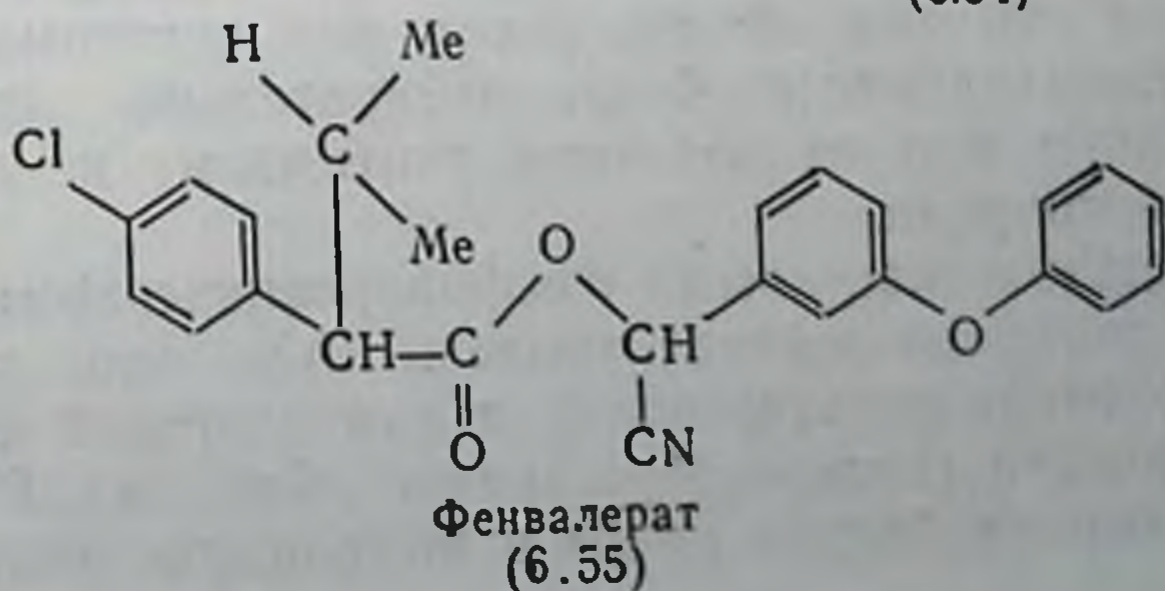
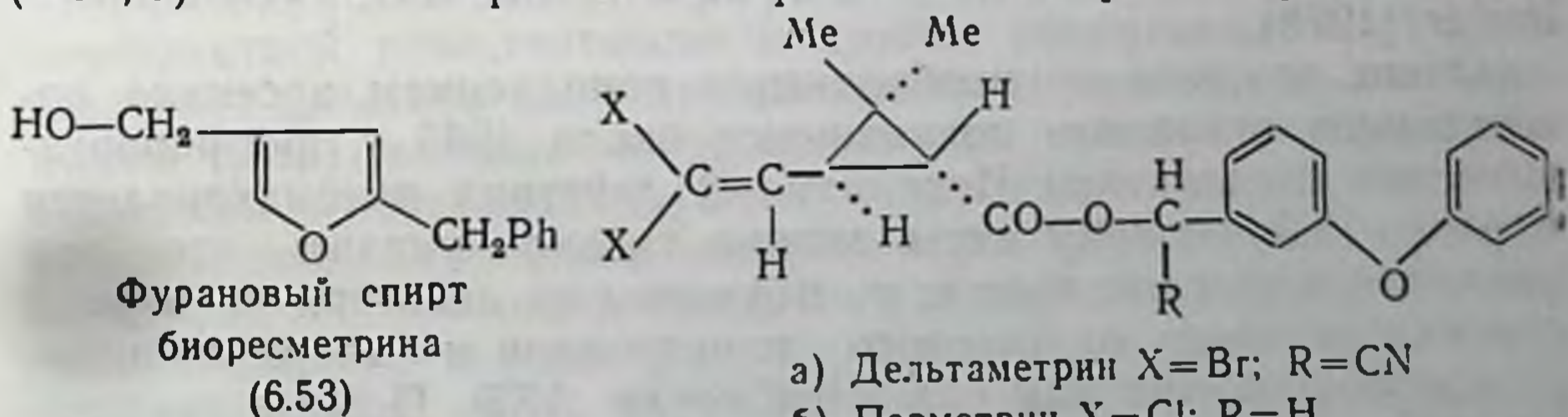
Пиретровая кислота
(6.52)

Заменитель пиретрина I был найден в 1949 г. Это было соединение аллетрин, отличающийся меньшей длиной сопряжен-

ной цепи ($-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$). По сравнению с пиретрином (он уничтожает только 1% насекомых, однако обладает «нокдаун-эффектом»). Аллетрин и родственный ему тетраметрин, созданный в 1967 г., могут применяться для борьбы с вредителями в виде аэрозолей.

Благодаря работам Michael Elliott с 1967 г. появились высокоактивные «пиретроиды», пригодные для промышленного производства и широкого применения в сельском хозяйстве. Первым из них был биоресметрин — эфир хризантемовой кислоты и фуранового спирта (6.53) [Elliott et al., 1967] — синтетическое соединение, обладающее таким же широким спектром инсектицидного действия, как и пиретрин I. Он нетоксичен для млекопитающих и широко применяется в овощеводстве, особенно при выращивании моркови, капусты и салата.

Устойчивые к действию света (фотостабильные) пиретроиды были получены путем двойного изменения структуры молекулы: заменой пятичленного гетероциклического спирта 3-феноксипентан-3-ола бензиловым спиртом [Elliott et al., 1973], а затем двух метильных групп на конце ненасыщенной цепи в молекуле хризантемовой кислоты (6.51) галогенами. При синергетическом действии (разд. 3.5) самого активного инсектицида этой серии, дельтаметрина (называвшегося ранее декаметрином) (6.54, а): LD_{50} для мух составляет всего лишь 2 мкг/кг, что в 50 раз меньше, чем LD_{50} пиретрина I. Дельтаметрин устойчив к действию света и различным погодным условиям. Он в 10 000 раз менее токсичен для млекопитающих, чем для насекомых, и в то же время в 10 раз активнее против насекомых-вредителей, чем любой из доступных карбаматов, фосфатов и хлорированных углеводородов. Его недостаток — высокая стоимость. Поэтому широкое применение получили более дешевый перметрин (6.54, б) и более простой в производстве фенвалерат (6.55).



Инсектицидное действие пиретроидов зависит от их стереохимического строения. При наличии в молекуле циклопропанового кольца взаимодействующие с рецептором гемминальные метильные группы должны быть открыты (как уже объяснялось выше, см. ДДТ). Поэтому любой изомер с 1S конфигурацией неактивен. Другой вариант стерической открытости метильных групп реализован в фенвалерате (6.55), однако для проявления «ключевого» эффекта необходима изолированная двойная связь (C=C). Желательно, но не обязательно, чтобы винильная группа находилась в цисположении по отношению к циклопропану [Shono, Unai, Casida, 1978].

При модификациях молекулы пиретрина I для сохранения конфигураций с некопланарным циклопентановым кольцом необходима ненасыщенная цепь в спиртовой части молекулы. Но это не обязательно, если спиртовая часть молекулы представлена феноксибензиловым спиртом, как у дельтаметрина (6.54,а). Для проявления активности соединениями типа (6.55) атом углерода, соединенный с цианогруппой, должен обязательно иметь S-конфигурацию [Elliott et al., 1974].

В отличие от двух гибридов, содержащих элементы структуры ДДТ и пиретринов, а именно — циклофентрина и фенциклата, большинство пиретринов и пиретроидов токсично для рыб. Циклофентрин — это 3-фенокси- α -цианобензиловый эфир 2,2-диметил-1-(4-этоксифенил)циклопропанкарбоновой кислоты, а фенциклат — его 2,2-дихлораналог [Nolan et al., 1978; 1983; Wakita et al., 1983]. Оба они применяются в виде рацемической смеси, причем у рыб неактивный изомер препятствует взаимодействию активного изомера с рецептором, однако у насекомых он не оказывает такого защитного действия на рецепторы [Nolan, частное сообщение].

Более подробно химия пиретроидов описана Elliott, Janes, Potter (1978).

Очень важным и необходимым пополнением арсенала инсектицидов оказались появившиеся около 1945 г. фосфорорганические соединения. Механизм их действия рассматривается в разд. 13.3, поэтому здесь можно только указать, что они являются нервными ядами, и механизм их действия на первых стадиях отличен от такового пиретроидов и хлорированных углеводородов, так как они ингибируют АХЭ. Первые представители этого ряда, открытые в Германии Schradeg, были одинаково токсичны как для людей, так и для насекомых. Однако постепенно были найдены более избирательно действующие вещества, причем при их создании учитывали и период их полураспада в природе.

При отравлении насекомых фосфорорганическими соединениями у них резко возрастает уровень АХ, что приводит к сильному увеличению автономной и соматической спонтанной нервной активности (гипервозбуждению нейронов). В результате этого нарушается баланс ионов и выделяются тканевые ток-

сины, что приводит к параличу, обезвоживанию и смерти (такие же изменения вызывают и хлорированные инсектициды) [Smallman, Fiske, 1958].

В отличие от хлорированных углеводородов и пиретроидов фосфорорганические соединения гидрофильны, причем наиболее гидрофильные из них могут попадать из почвы в растения. Такие «системные инсектициды» проявляют высокую избирательность действия, так как отравляют только тех насекомых, которые питаются этими растениями. Впоследствии появились и действующие аналогично фосфорорганическим инсектицидам карбаматы, менее гидрофильные, но и менее устойчивые (разд. 13.3).

Токсическим агентом для борьбы с вредителями, уничтожающими листву, является ротенон (4.61) — кислородсодержащий гетероцикл растительного происхождения. К сожалению, на свету он разрушается. Избирательность его действия и влияние на дыхательную цепь рассматриваются в разд. 4.5. Метаболизм α -глицерофосфата имеет важное физиологическое значение для полета насекомых и участвующие в нем ферменты не имеют аналогов у млекопитающих, поэтому предпринимались попытки поиска избирательных инсектицидов, ингибирующих этот процесс [Magquardt, Brosemer, 1966].

Долгое время для защиты растений не без успеха применяли никотин (7.26) и табачную пыль. Никотин обладает «обратимой избирательностью», так как поражает лишь некоторые виды насекомых, но высокотоксичен для человека. Попытки изменения его молекулы с целью получения более избирательных производных оказались безуспешными (разд. 7.3).

Для борьбы с клещами и молью на полях в начале 70-х гг. появился хлордифенформ (2.36) N',N' -диметил- N -(2-метил-4-хлорфенил)формамидин. При его применении не возникает перекрестной резистентности к другим инсектицидам. Избирательность действия вызвана сходством его молекулы с октопаминном (2.35), важным нейромедиатором членистоногих, отсутствующим у позвоночных [Evans, Gee, 1980]. Смерть наступает от истощения, вызванного частично перевозбуждением, частично голоданием. У млекопитающих хлордифенформ слабо ингибирует MAO [в 300 раз слабее, чем широко применяемый антидепрессант трансамин] (9.47) [Aziz, Knowles, 1973]. Предположение о том, что его инсектицидное действие связано с ингибированием этого фермента, не подтвердилось [Neumann, Voss, 1977].

Имеются достаточно веские аргументы в пользу того, что хлордифенформ является скорее пролекарством, чем истинно действующим агентом, так как его действие может быть пре-дупреждено некоторыми метилendioксисоединениями, ингибирующими в эндоплазматическом ретикулуме ферменты, разрушающие чужеродные соединения (разд. 3.5.2). Вероятно, истинный агент — его низший гомолог, содержащий группу —NMe. При изучении акарицидного действия этого соединения

оказалось, что его синергистами могут быть метилendioкси-соединения, ингибирующие его разрушение в организме [Knowles, Roulston, 1973].

Широко изучаются феромоны и аналоги гормонов насекомых (как агонисты, так и антагонисты), но инсектициды этого типа действия широкого применения пока не нашли (разд. 4.7).

К сожалению, в настоящее время все возрастает устойчивость насекомых к действию широко применяемых инсектицидов. Частые случаи возникновения перекрестной резистентности к обоим типам хлорированных углеводородов и фосфорорганическим соединениям заставляют предполагать, что то же самое произойдет и с пиретроидами. Причина этого явления, вероятно, связана с тем, что важным этапом в действии всех этих инсектицидов служит выделение АХ. Быстрое развитие резистентности насекомых частично связано с неумеренным применением пестицидов без учета погодных факторов и времени применения, что приводит к гибели природных врагов вредных насекомых (т. е. птиц и некоторых видов клещей).

Появление устойчивости к действию инсектицидов у вредных насекомых, отравление полезных опыляющих растения насекомых, а также рыб в реках и озерах привели к возникновению широкого международного движения, завершившегося в 1976 г. разработкой «Интегрированной программы борьбы с вредителями» [«Integrated Pest Management» (IPM)], принятой всеми странами — членами ФАО. Было решено составить список наиболее избирательных инсектицидов и использовать из них только безвредные для природных врагов насекомых; при применении инсектицидов учитывать факторы окружающей среды, усиливающие их действие, а именно — время применения, температуру и осадки, могущие в некоторых случаях заменить применение инсектицидов; использовать минимальные количества инсектицидов, необходимые при данном типе заражения; следить за накоплением инсектицидов и продуктов их распада в окружающей среде [Metcalf, 1980].

На основании этих требований рекомендуется применять пять основных инсектицидов — трихлорфон (13.31), малатион (13.27,б), метоксихлор (6.42), карбарил (13.39) и неорганическое соединение криолит (алюмофторид натрия).

В дополнение к ним в определенных случаях могут использоваться: диметоат (13.35), диазинон (13.28), дикофол (6.43), хлорпирифос (13.32), эндосульфат (6.48), линдан (6.45), фосфамидон (13.33), метомил (13.41), камфехлор и три пиретроида — декаметрин (6.54,а) перметрин (6.54,б) и фенвалерат (6.55) [Metcalf, 1980].

Создаются новые типы инсектицидов, например вещества, ингибирующие отверждение (склеротизацию) кутикулы насекомых, происходящее при полимеризации N-ацетилдофамина (ср. 7.48); ингибиторы рецепторов АХ и ГАМК (12.91), а также ингибиторы холинацетилтрансферазы. Многообещающим препа-

ратом является 29-фторстигмастерин, безвредный для млекопитающих и растений и метаболизирующий в насекомых с образованием токсичного фторацетата [Prestwick, Gayen, Kline, 1983].

Подробнее о нейрохимии членистоногих см. Treherne (1966), биохимии насекомых см. Rees (1977), Rockstein (1978), Wilkinson (1976) и Hutson, Roberts (1982). Различные методы борьбы с вредителями описаны Metcalf, Luckman (1982), механизмы действия и избирательность — Beeman (1982) и Coats (1983). Состав всех инсектицидов можно найти в справочниках: Worthing (1983) и Entomological Society of America (1981).

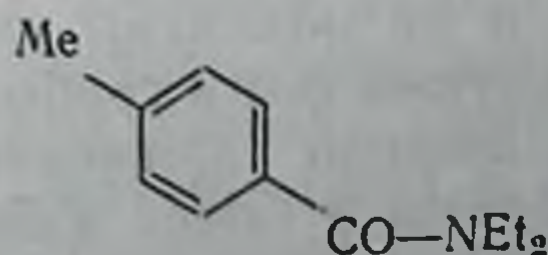
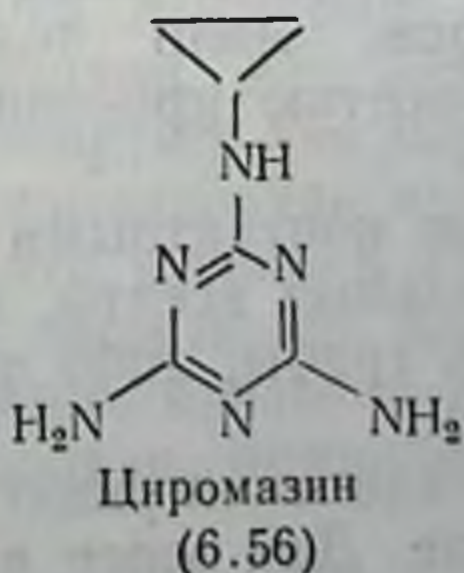
А. Эктопаразиты животных. До сих пор обсуждались только меры борьбы с членистоногими, поражающими растения, однако необходимы избирательные агенты и для лечения зараженных животных. С поражениями конечностей овец, вызванных падальной мухой, в Австралии уже много лет успешно борются опрыскиванием фосфорорганическим препаратом диазиноном (13.28), сейчас его заменяет более активное производное триазина — циромазин (ветразин) (6.56). Опрыскивание метрифонатом (6.28) предотвращает откладывание оводами яиц на кожу лошадей (иначе лошадь проглатывает яйца, живые личинки попадают в навоз, начиная новый цикл развития).

Новым и высокоэффективным методом борьбы с эктопаразитами сельскохозяйственных животных является пероральное или подкожное введение антибиотика ивермектина (разд. 12.7).

Для борьбы с чешуйницей обыкновенной, термитами и тараканами щели домов опрыскивают фосфорорганическими соединениями. Домашних животных обрабатывают порошком, содержащим пропоксур (13.40) или карбарил (13.39); применение этих карбаматов, имеющих короткий период полураспада в организме человека, безопасно и для детей, играющих с домашними животными.

Чесотка у людей вылечивается быстро с помощью бензилового эфира бензойной кислоты или линдана. При заражении человека вшами (педикулезе) применяются карбарил, линдан или тиоцианат изоборнила.

Б. Репелленты. Защиту людей от насекомых обеспечивают такие эффективные репелленты, как N,N-диэтил-мета-толуамид (6.57), гексаметиленбензамид и несколько более слабый, мягко действующий диметилфталат.



В. Фумиганты — неизбирательно действующие летучие вещества для уничтожения насекомых в помещениях, при применении которых необходимо удалять все остальные живые организмы. Типичными представителями фумигантов являются синильная кислота, диоксид серы, окись этилена и никотин.

6.4.2. Фунгициды

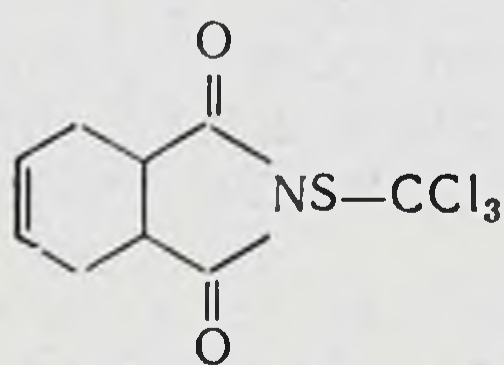
Значительно чаще, чем бактериями, вирусами или червями, растения поражаются грибами. Патогенные грибы вызывают такие заболевания сельскохозяйственных растений, как гниль, вилт, мучнистую росу, паршу и ржавчину. Экономический и социальный ущерб, наносимый такими грибковыми заболеваниями, как фитофтороз картофеля, ложная мучнистая роса винограда, ржавчина и головня злаков, графически представлены в работе Large (1940). Для борьбы с этими заболеваниями традиционно применялись такие методы, как севооборот, использование обеззараженных семян и устойчивых сортов. Однако способность к адаптации у грибов столь велика, что все эти методы недостаточно эффективны, поэтому наиболее важным методом борьбы с грибковыми заболеваниями остается применение фунгицидов.

Почти все широко применявшиеся в последнее время фунгициды биохимически мало специфичны, избирательность их действия зависит преимущественно от различий в распределении (разд. 3.3). Для того чтобы они проникали главным образом в клетки грибов, а не растений, обычно увеличивают липофильность их молекул, присоединяя к ним углеводородные цепи. Оболочка растений препятствует проникновению таких липофильных соединений и катионов тяжелых металлов, а грибы (особенно их конидии и споры) легко их накапливают. Например, яблоневые листья в течение 30 мин из 25 мкМ водного раствора каптана (6.58) (N-трихлорметилтиотетрагидрофталимида) поглощают только 1 мкг на 1 г сухой массы, тогда как конидии *Neurospora crassa* в тех же условиях поглощают в 7000 раз больше этого вещества [Richmond, Somers, 1962]. Точно так же ведут себя глиодин (2-гептадецилимидазол) и додин (n-додецилгуанидин). В грибах действие таких соединений направлено сразу на многие ферменты или какие-либо другие уязвимые компоненты клетки. В целом химические соединения, применяемые в качестве фунгицидов, мало токсичны для позвоночных и не обладают способностью провоцировать развитие резистентных форм грибов.

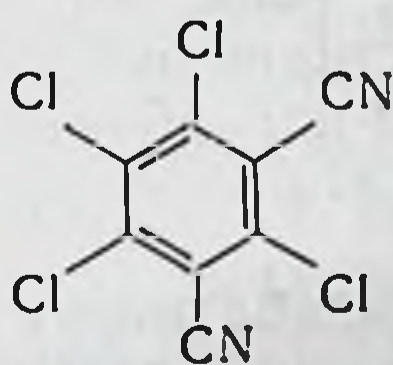
Наряду с широко применяемыми контактными фунгицидами были найдены и более избирательные агенты, либо проникающие в растения и уничтожающие грибы, либо препятствующие их проникновению.

А. Контактные фунгициды. Эти соединения уничтожают грибок прежде, чем он проникает в растение. Для этого вида защиты:

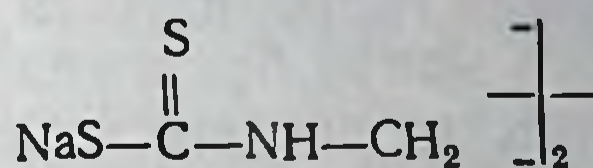
успешно применяют дешевые неорганические агенты. Высокоизбирательный основной кальций-медь сульфат (бордосская жидкость) применяют в качестве фунгицида с 1885 г. [Millardet, 1885], а элементарную серу уже около 2500 лет. При контакте с живой тканью сера образует два соединения, обладающих противогрибковой активностью: сероводород и пентатионовую кислоту. Значительным успехом было открытие в 1934 г. Tisdale и Williams высокоактивных солей диметилдитиокарбаминовой кислоты — железной и цинковой (фербам и цирам). Массовое применение этих соединений, обладающих широким спектром фунгицидного действия, обусловлено их нетоксичностью для человека, скота и высших растений. Введение в эти соли тяжелых металлов необходимо для увеличения способности к адгезии, хотя по шкале аффинности эти металлы стоят ниже меди (разд. 11.2). Хелатирование присутствующих в организмах ионов меди этими соединениями описано в разд. 11.7.3.



Каптан
(6.58)



Хлорталонил
(6.59)



Набам
(6.60)

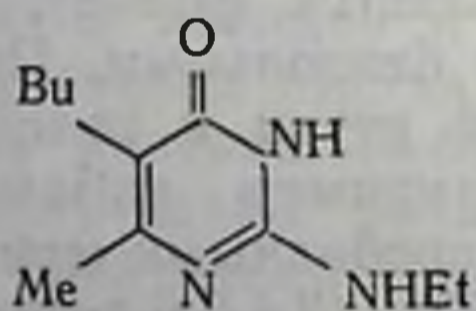
Из контактных фунгицидов наиболее широко используется, особенно для обработки фруктовых деревьев, каптан (6.58), созданный Kittleson в 1952 г. В грибах он разрушается с выделением тиофосгена (CSCl_2), реагирующего со свободными гидроксильными и аминогруппами ферментов [Brown, 1978]. Родственным ему соединением является фолпет, в котором циклогексановое кольцо заменено бензольным. Предполагают, что механизм действия соединений ртути и солей этилен-1,2-бисдитиокарбаминовой кислоты, например набама (6.60), заключается в их взаимодействии со свободными меркаптогруппами белков. Так, хлорталонил (6.59) (2,4,5,6-тетрахлоризофталонитрил) атакует SH-группу цистеина-149 в глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе [Long, Siegel, 1975].

Классификация механизмов действия этих и других фунгицидов, растворы которых применяют для опрыскивания растений, приведена Sijpesteijn (1970). Диалкилдитиокарбаматы и 8-гидроксихинолин, для действия которых необходимы атомы меди, инактивируют две меркаптогруппы дигидролипоевой кислоты и дигидролипоатдегидрогеназы, которые важны для окисления пирувата у грибов [Wren, Massey, 1965] и других форм жизни. Для защиты от плесени различных предметов, в том числе из дерева, брезента и других тканей, расположенных на открытом воздухе, применяется оксин. Мишенью для солей

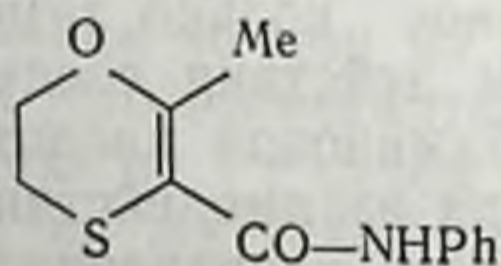
триалкилолова и нитрофенола служит окислительное фосфорилирование [Sijpesteijn, 1970]. Механизм действия азаурацила (4.41) на мучнистую росу рассматривается в разд. 4.0.

Б. Системные фунгициды. «Химиотерапия растений» — область значительно более сложная, чем химиотерапия животных, так как у растений нет настоящей системы циркуляции, фагоцитов, помогающих химиотерапевтическому агенту, не существует механизмов детоксикации и выведения действующего агента. Тем не менее первый такой фунгицид — беномил (3.58,а) (метилловый эфир 1-бутилкарбамоилбензимидазол-2-илкарбаминовой кислоты), появился в 1966 г. [Delp, Klopping, 1968]. Этот препарат обычно вносят в почву; через корневые волоски он попадает в растения и достигает листьев. Таким образом агент проникает глубже и действует дольше, чем при опрыскивании. Беномил обладает широким спектром действия и проявляет противогрибковую активность в низких разбавлениях (0,02 части на миллион) [Selling, Vonk, Sijpesteijn, 1970]. В воде беномил гидролизует до истинно действующего агента — метилового эфира бензимидазол-2-илкарбаминовой кислоты (3.53, б); в качестве предшественника этого карбамата применяют тиофанат (3.59) (разд. 3.6).

К сожалению, у грибов вырабатывается устойчивость к беномилу (явление, не наблюдаемое раньше для фунгицидов). Приходится повышать дозы, но, несмотря на это, некоторые виды грибов все равно выживают. В связи с этим развернут широкий поиск новых системных фунгицидов. Оказалось, что тиабендазол (6.36), применявшийся с 1961 г. в ветеринарии в качестве антигельминтного средства, является хорошим системным фунгицидом (разд. 6.3.5). Предполагают, что действие фунгицидов — производных бензимидазола — связано с их ингибированием сборки микротрубочек (разд. 5.4.5).



Этиримол
(6.61)



Карбоксин
(6.62)

Для борьбы с настоящей мучнистой росой, ранее приводившей в Европе к громадным потерям зерна, особенно ячменя, успешно применяют другой системный агент — этиримол (5-бутил-6-метил-2-этиламинопиримидин-4-он) (6.61), ингибирующий метаболизм фолиевой кислоты, примерно так же, как и пириметамин (разд. 9.3.3.) [Bent, 1970].

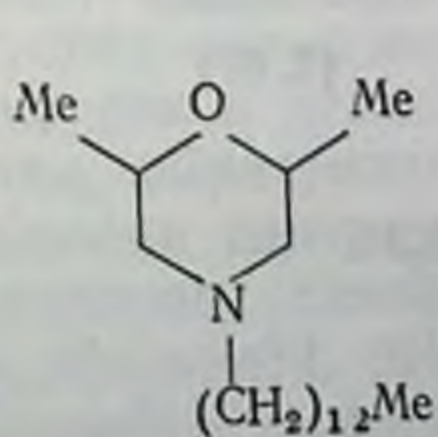
С большим успехом применяется и другой системный фунгицид — карбоксин (5,6-дигидро-2-метил-1,4-оксатин-3-карбоксамид) (6.62), хотя он действует только против базидиомицетов.

(головневых и ржавчинных грибов, поражающих ячмень и пшеницу) [Edgington, Walton, Miller, 1966]. Необходимым структурным фрагментом молекулы карбоксина является метильная группа в орто-положении к анилидной группе; строение цикла не столь важно, достаточно одного бензольного ядра [Carter, Huppertz, Wain, 1975], даже такое простое производное, как 2-метилбензанилид (мебенил), обладает фунгицидной активностью. Эти анилиды действуют системно; они ингибируют сукцинатдегидрогеназу в митохондриях базидиомицетов [White, Thorn, 1975].

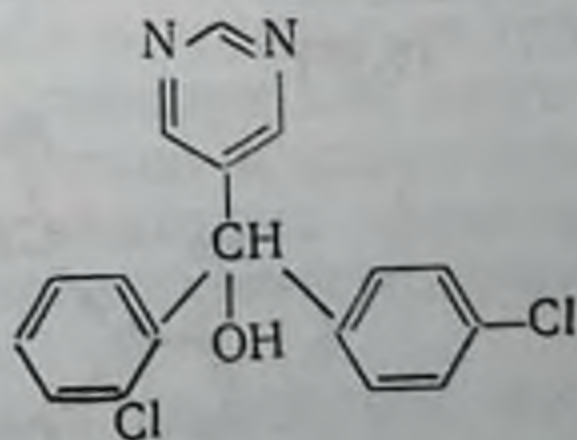
В настоящее время большой интерес вызывают фунгициды, вмешивающиеся в клетках грибов в синтез эргостерина, обеспечивающего прочность и проницаемость их мембраны. Для борьбы с настоящей мучнистой росой успешно применяют системный фунгицид тридеморф (6.63) (2,6-диметил-N-тридецилморфолин), ингибирующий C-14-редуктазу — промежуточную реакцию синтеза эргостерина, — и сдвиг двойной связи из положения 8 в положение 7 при превращении фекостерина в эпистерин. Избирательность его действия обусловлена тем, что синтез эргостерина с образованием промежуточного ланостерина идет только у грибов; у высших растений он синтезируется из циклостерина. Аналогично действуют вещества, в которых N-тридецильная группа заменена на 3-фенилбутильную [Kerkeenaar, Uchiyama, Versluis, 1981; Kerkeenaar, 1983].

Синтез эргостерина ингибируют и фунгициды другого класса, блокирующие в процессе биосинтеза деметилирование атома углерода C-14. В результате этого в клетке накапливаются такие бесполезные стероиды, как 14-метилфекостерин. Примерами фунгицидов этого класса служат фенаримол (6.64), 1-(2,4'-дихлордифенил)-1-пиримидин-5-илметанол и триадимефон (6.65), 3,3-диметил-1-(1,2,4-триазол-1-ил)-1-(4-хлорфенокси)-бутан-2-он. Эти молекулы имеют примерно клиновидную форму с чередующимися липофильными и гидрофильными фрагментами. Гетероцикл может быть представлен пиридином (бутиобат), пиперазином (трифорин) или имидазолом (имазилил) [Kato, 1983].

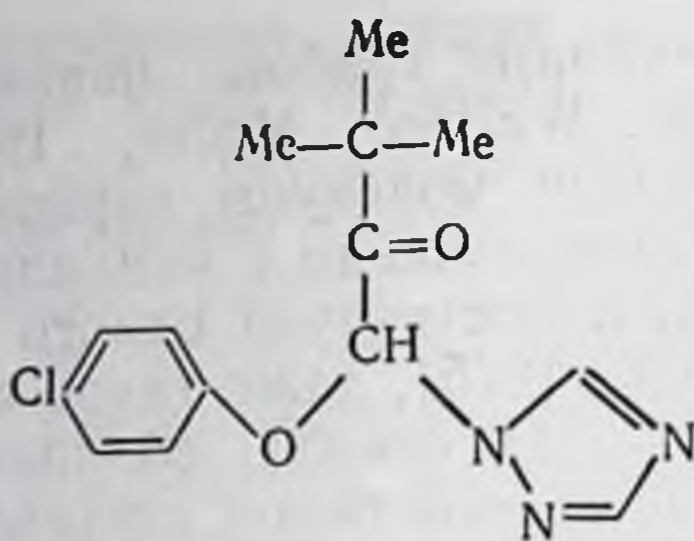
Ингибиторы синтеза эргостерина применяют в низких дозах; резистентности к ним не возникает.



Тридеморф
(6.63)



Фенаримол
(6.64)

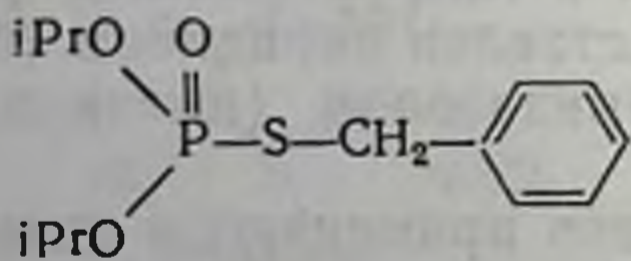


Триадимефон
(6.65)

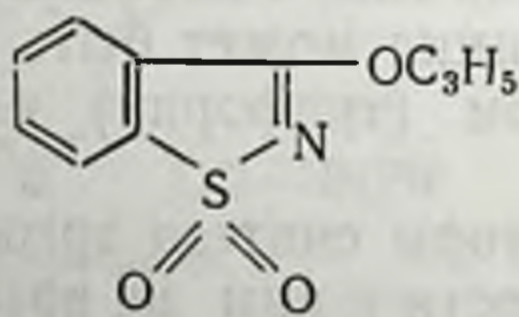
Из фосфорсодержащих системных фунгицидов типичными являются рицид II (6.66) (диизопропиловый эфир S-бензилтиофосфорной кислоты) и эдифенфос (этиловый эфир S,S-дифенилдитиофосфорной кислоты). Они поражают грибы, ингибируя процесс мембранного трансметилирования при синтезе лецитина [Kodama, Yamashita, Akatsuka, 1980].

В течение долгого времени Horsfall (1972) отстаивал «опосредованный ход» к защите растений, заключающийся в ингибировании процесса затвердевания органелл грибов, с помощью которых они проникают через целлюлозную мембрану в растения. По такому механизму проявляет на рисовых полях свой защитный эффект пробеназол (6.67) (3-аллилокси-1,2-бензоизотиазол-1,1-диоксид), а также, вероятно, пентахлорбензиловый спирт [Sekizawa et al., 1982].

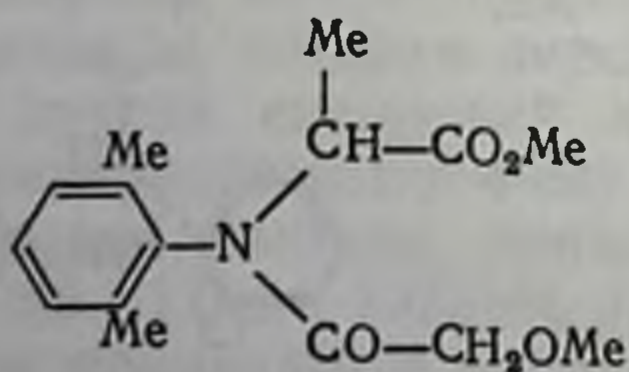
Высокоэффективным системным фунгицидом против Phytophthora и других патогенных грибов, развивающихся в почве, является металаксил (6.68) (метиловый эфир N-метоксиацетил-N-2,6-ксилилаланин), препятствующий включению уридина в РНК грибов [Davidse et al., 1982].



Рицид II
(6.66)



Пробеназол
(6.67)



Металаксил
(6.68)

Устойчивость растений к действию грибов можно повысить, вмешиваясь в биохимию их взаимодействия [Horsfall, 1978]: 1) можно так изменить основной метаболизм растения, что оно окажется плохим хозяином для гриба, например, стимуляторы роста растений снижают уровень сахара в листе, что повышает устойчивость растений к действию грибов; 2) системные агенты могут инактивировать токсины и ферменты грибов, разрушающие растительные ткани; 3) агент может защищать растение, вызывая лигнификацию в местах проникновения грибов (вероятно, так действует фенилтиомочевина). Вредное действие грибов на растения в большинстве случаев связано с выделением грибковых токсинов типа циклического тетрапептида тентоксина, выделяемого грибом *Alternaria tenuis* во фруктах и зерне и ингибирующего фотофосфорилирование [Steele et al., 1976].

В. Другие аспекты применения фунгицидов. В течение многих лет дезинфекцию семян перед посевом традиционно проводили соединениями ртути, позже для этой цели применяли гексахлорбензол. Однако случайное употребление этих семян в пищу приводило к серьезным заболеваниям. Поэтому возникла необходимость в создании нового соединения, избирательно уничтожающего споры грибов, но не влияющего на всхожесть семян и безвредного для человека. Таким соединением оказался беномил.

Для уничтожения грибов в почве успешно применяют соли метилдитиокарбаминовой кислоты и различные нитрохлорбензолы, для фумигации почвы — более летучие вещества типа хлорпикрина и метилизотиоцианата.

При опрыскивании посевов большинство растительных тканей недоступно для прямого воздействия фунгицида; он может их достичь лишь в результате медленного перемещения по растению. Как показал Rich (1954), частички медьсодержащих фунгицидов заряжены положительно, и поэтому лучше прилипают к листьям, несущим отрицательный заряд. Под действием ветра и дождя частички фунгицида могут попадать и на листья, не затронутые при опрыскивании.

Г. Фитоалексины. Каждый вид растений способен защищаться от действия многих видов грибов, большинство из которых высокоспецифичны к определенным видам растений. Многие высшие растения защищают себя не только от грибов, но и от бактерий, вирусов и нематод, используя для этого фитоалексины — вещества, образующиеся только в пораженном растении. Так, Leguminosae синтезируют защитные флавоноиды. Solanaceae — дитерпены, Compositae — полиацетилены [Cruckshank, 1963; Bailey, Mansfield, 1982].

Более подробно о фунгицидах см. Hutson, Roberts (1982). В справочнике под редакцией Worthing (1983) приведен состав всех фунгицидов.

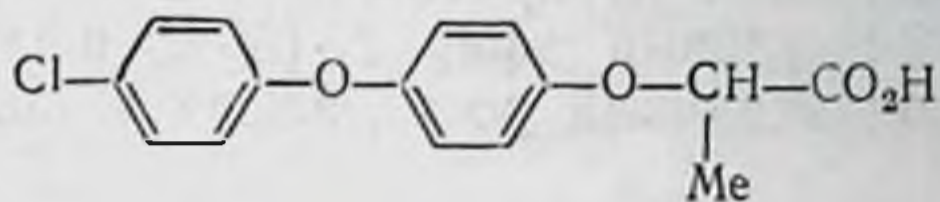
6.4.3. Гербициды

Только в последнее время фермеры стали с доверием относиться к избирательному уничтожению сорняков, хотя еще в 1895—1897 гг. независимо друг от друга Bonnet во Франции, Volley в Америке и Schultz в Германии показали, что раствор сульфата меди уничтожает дикую горчицу (*Sinapis arvensis*), не повреждая при этом растущие рядом другие культуры. Но в сельском хозяйстве продолжали использовать привычные фунгициды и инсектициды, не обращая внимание на появление первого в мире избирательного гербицида. В 1911 г. во Франции исследователи установили, что для уничтожения сорняков можно применять раствор серной кислоты [Rabate, 1927], однако систематические проверки этого метода начались в Англии и США лишь в 1932 г. и показали высокую избирательность действия кислоты, хотя ее применение осложняют коррозия оборудования и закисление почвы. Одновременно два французских ученых обнаружили, что динитро-орто-крезол, известный с 1866 г., избирательно уничтожает сорняки [Truffaut, Pastac, 1932, 1944], после чего он стал использоваться в сельском хозяйстве.

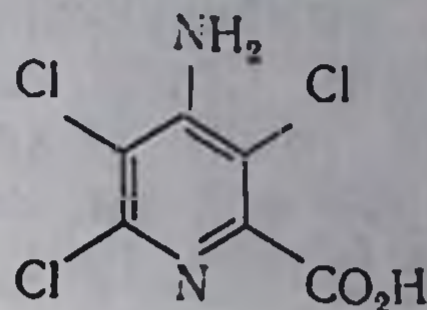
К середине 30-х гг. почти полностью удалось преодолеть предубеждение, с которым была встречена идея применения избирательно токсичных гербицидов, и вскоре в сельском хозяйстве начали использовать феноксиуксусные кислоты. Эти соединения создавались на основе имитации структуры природного ауксина — индолилуксусной кислоты (4.82), с целью поиска производных, более устойчивых к биодegradации в растениях. В первое время их применяли в качестве гормоноподобных соединений для ускорения созревания фруктов или роста корней [Zimmerman, 1942]. Затем при опрыскивании листьев растений было обнаружено, что они обладают гербицидным действием [Templeman, Sexton, 1946], что повлекло за собой повсеместное применение этих веществ в огромных количествах. При использовании этих гербицидов гибель широколистных растений происходит вследствие их избыточного роста; наиболее широко применяют для уничтожения сорняков в посевах злаков 2-метил-2-хлорфеноксиуксусную кислоту (4.83) и 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (разд. 4.7 и 12.2). При этом остается непонятным, почему гербициды почти не повреждают злаки. В экспериментальных условиях злаки поглощали без вреда для себя количество гербицидов, смертельное для сорняков (хотя обычно злаки поглощают их значительно меньше) [Wood, Wollé, Irving, 1947]. Вообще, обычно гибнут двудольные растения, а однодольные выживают, хотя есть и исключения из этого правила. Для человека, из организма которого феноксиуксусные кислоты быстро выделяются преимущественно в неизменном виде, они безвредны.

Для уничтожения однодольных сорняков, например овсюга

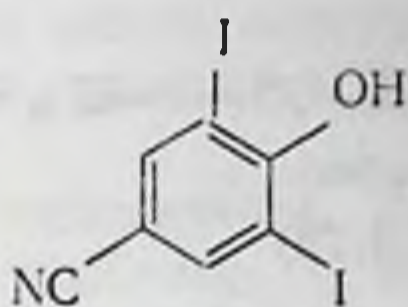
в посевах пшеницы, применяют такие производные дифенилового эфира, как дихлофоп-метил (6.69) (метилловый эфир 2-[4-(2,4-дихлорфенокси)фенокси] пропионовои кислоты). Для защиты лесных насаждений эффективно использование 2,4,5-трихлорфеноксиуксусной кислоты (к сожалению, она часто бывает загрязнена диоксином).



Дихлофоп-метил
(6.69)



Пиклорам
(6.70)



Иоксинил
(6.71)

Метод увеличения избирательности действия гербицидов, производных феноксиуксусных кислот, β -деградацией безвредных гомологов уже обсуждался в разд. 3.6.

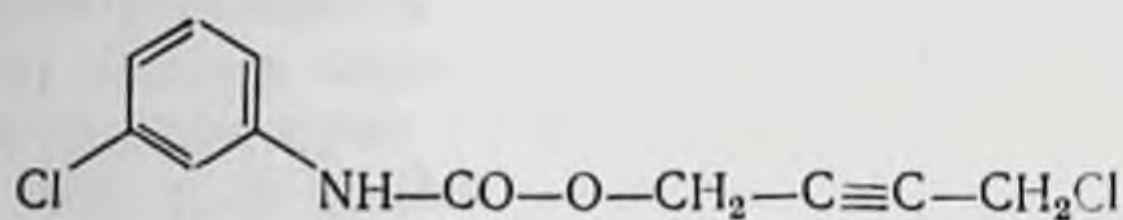
Позднее было установлено, что многие орто-замещенные ароматические карбоновые кислоты по своим биологическим свойствам аналогичны феноксиуксусным кислотам и некоторые из первых выпускаются промышленностью. Например, пиклорам (6.70), появившийся в 1963 г., уничтожает однолетние и многолетние сорняки. Его активность выше, а спектр действия шире, чем у феноксиуксусных кислот [Kefford, 1966].

Цианофенольные гербициды были разработаны для замены динитро-орто-крезола. Типичным представителем этой группы является иоксинил (6.71) (2,6-дйодо-4-цианофенол) [Wain, 1963]. Он принадлежит к гербицидам контактного действия и разобщает окислительное фосфорилирование (разд. 4.5) сильнее, чем 2,4-динитрофенол [Кегг, Wain, 1964]. Иоксинил и более дешевый, но медленнее действующий 2,6-дибром-4-цианофенол (бромоксинил) применяют для уничтожения молодых двудольных сорняков в злаках. Для увеличения адсорбции этих веществ растениями часто применяют их октиловые эфиры.

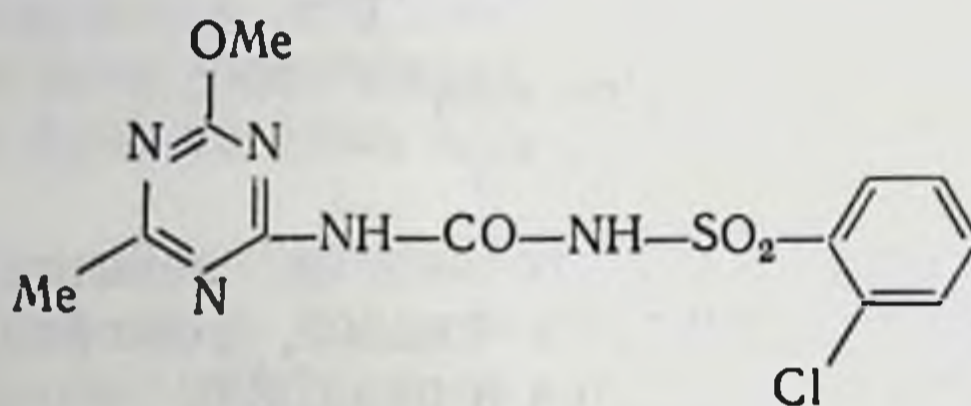
Удовлетворительную избирательность проявляет 2-фтор-бутил-4,6-динитрофенол (диносеб), широко используемый для уничтожения двудольных сорняков в посевах таких двудольных растений, как горох и люцерна [Roberts, 1954]. Ионизация и проникающая способность нитрофенолов обсуждается в разд. 10.5.

Некоторые соединения, механизм действия которых отличен

от такового для метилхлорфеноксиуксусной кислоты, могут уничтожать однодольные сорняки в посевах двудольных растений. Чаще всего используется 2,2-дихлорпропионовая кислота (далапон) (механизм действия см. разд. 9.4.1). Для этих же целей можно применять эфиры карбаминной кислоты, представляющие собой митотические яды [Templeman, Sexton, 1945], ингибирующие синтез РНК и белков [Kobayashi, Yshizuka, 1978]. Среди них наибольшей избирательностью обладает барбан (6.72) [4-хлорбут-2-иниловый эфир N-(3'-хлорфенил)-карбаминной кислоты], подавляющий рост овсяга в посевах злаков [Crafts, 1964].



Барбан
(6.72)



Хлорсульфурон
(6.73)

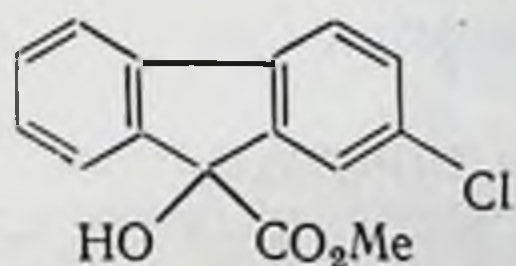
Гербициды могут оказывать токсическое действие не только при разбрызгивании, но и при внесении в почву. Феноксиуксусные кислоты действуют при разных путях введения. Гербициды, вносимые в почву, должны хорошо адсорбироваться частицами почвы и легко всасываться корневыми волосками растений. Они избирательно действуют на быстро растущие сорняки, имеющие развитую корневую систему, расположенную близко к поверхности, и щадят культурные растения с их медленно растущими, глубоко расположенными и более плотными корнями. Многие гербициды можно вносить в почву при посеве.

Отдельный класс представляют собой агенты, применяющиеся для «химической вспашки»: при внесении их в почву перед посевом они уничтожают все растения, но через 1—3 дня полностью инактивируются. Гербициды этого типа рассматривались в разд. 4.6 — бипиридиновые инсектициды и паракват, действие которых обусловлено образованием свободных радикалов. Широко применяется глифосат (4.56) (N-фосфометилглицин), действующий на сорняки с плотной сердцевинкой, устойчивые к действию других гербицидов [Baggett, 1974]. Глифосат абсорбируется листьями растений, а затем проникает в корни. Он влияет на синтез белка [Тупонко, Фой, 1975], види-

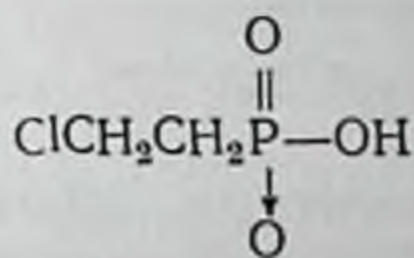
мо, ингибируя хоризматмутазу (разд. 4.3) [Davis, Harvey, 1979].

Типичными представителями группы гербицидов, вносимых в почву, являются триазины, избирательность и продолжительность действия которых зависит от заместителей в триазиновом кольце, например симазин (4.62) и производные фенилмочевинны типа диурона (4.63). Эти соединения влияют, по-видимому, на реакцию Хилла в фотосинтезе (разд. 4.6). В качестве гербицидов применяют не только симазин и диурон, но и целый ряд их производных. Например, хлорсульфурон (6.73) — 3-(6-метил-4-метокси-1,3,5-триазин-2-ил)-1-(2-хлорфенилсульфонил) мочевины, соединивший в молекуле фрагменты обоих соединений. Он активен при высоких разбавлениях, останавливая деление всех клеток уже через час после внесения, но быстро инактивируется в пшенице, овсе и ячмене. Для человека безвреден [Campion, Tichon, 1981].

Рост растений можно остановить, ингибируя транспорт ауксина, индол-3-илуксусной кислоты. С помощью ряда флуореновых производных Schneider (1964) получил карликовые сорта полезных растений. Другая область применения этих морфактинов — использование их для замедления роста двудольных сорняков в посевах злаков. Когда злаки сильно обгоняют сорняки в росте, последние погибают от недостатка света, но успевают при этом защитить почву от высыхания [Ziegler, 1970]. Одним из самых эффективных морфактинов является хлорфлурекол-метил (6.74).



Хлорфлурекол-метил
(6.74)



2-Хлорэтилфосфонозная кислота
(6.75)

А. Антидоты растений. Растения можно защищать от токсического действия слабоизбирательных агентов с помощью антидотов. В практике антидот часто распыляют вместе с гербицидом. Например, ангидрид 1,8-нафталиндикарбоновой кислоты или производные хлоруксусной кислоты используются как антидоты вместе с производными тиокарбаминовой кислоты при обработке посевов кукурузы. Очень часто применяют смесь N,N-диаллил-2,2-дихлорацетамида с гербицидом бутилатом (S-этиловый эфир N,N-диизобутилтиокарбаминовой кислоты). Об антидотах растений см. Pallos, Casida (1977).

Б. Дефолианты. Распыление дефолиантов с воздуха было впервые применено в Восточной Африке для уничтожения мухи цеце, переносчика возбудителей сонной болезни [Blackman, 1954]. Из дефолиантов наиболее часто применяют алифатические производные мышьяка (например, какодилат натрия),

3-амино-1,2,4-триазол, феноксиуксусные кислоты и их бутиловые эфиры. При проведении дефолиации вблизи сельскохозяйственных угодий могут возникать экологические проблемы, например эрозия почвы. Большой вред принесла кампания по дефолиации лесов во время войны во Вьетнаме, проводившаяся 2,4,5-трихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4,5-Т). Особую опасность представляет содержащаяся в дефолианте примесь 2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксида, образующаяся при синтезе 2,4,5-Т (действие диоксида см. разд. 2.4). Для дефолиации хвойных лесов используют пиклорам.

Дефолианты вызывают быстрое старение листьев растений, что эффективнее всего достигается повышением концентрации в них этилена. Именно так действует 2-хлорэтилфосфоновая кислота (6.75), распадающаяся в клетках с выделением этилена. В низких концентрациях она применяется для ускорения созревания фруктов. Обзор по дефолиантам см. Osborne (1968).

О гербицидах см. Fletcher, Kirkwood (1982), Audus (1976) и Ashton, Crafts (1981). Составы всех гербицидов приведены в справочнике Worthing (1983). О феноксиалкановых гербицидах см. Hee, Sutherland (1981).

6.4.4. Другие пестициды

А. Противовирусные агенты для растений. Препаратов такого действия практически нет. Антибиотик бластицидин избирательно ингибирует размножение вирусов в посадках бобовых и табака [Hirai et al., 1966]. О вирусах растений см. K. Smith (1977).

Б. Антигельминтные препараты, применяемые в сельском хозяйстве. Нематоды истощают почву и повреждают корни растений. Для обработки зараженной ими почвы применяют летучие нематоциды — 1,2-дибром-3-хлорпропан («немагон») и 1,2-дибромэтан. Эти соединения безопасны для растений, но токсичны для человека.

Ветеринарные антигельминтные препараты обсуждаются в разд. 6.3.5.

В. Моллюскициды. Уничтожение в водных протоках улиток, переносчиков личинок червей, прерывает жизненный цикл паразитов, вызывающих бильгарциоз. Применявшийся ранее сульфат меди в настоящее время заменяют более эффективным препаратом — 2,5-дихлоранилидом 4-нитросалициловой кислоты. Высокой избирательностью обладает и другой сильнодействующий моллюскицид — тритилморфолин (трифенморф), практически не поражающий другие организмы, живущие в воде, и безвредный для человека [Boyce, Jones, van Tongeren, 1967]. При полевых испытаниях в Бразилии оксид-бис-трибутиллова (Cu_3SnO_2) (гексабутилдиоксид), введенный на битумной основе в водный поток, сохранял моллюскицидную

активность в течение года, даже при загрязнении или высушении на солнце [Gilbert et al., 1973]. Водное растение *Phytolacca dodecandra*, произрастающее в Эфиопии, специально высаживают в зараженных протоках, так как оно выделяет гликозид, обладающий моллюскицидным действием.

Г. Родентициды. Грызуны ежегодно уничтожают громадные количества зерна и других пищевых продуктов. Они разносят и такие опасные заболевания, как бубонная чума, риккетсиоз, лейшманиоз, лептоспироз, спирохетоз и тиф. Крысы часто наносят друг другу раны, поэтому в качестве родентицидов применяют антикоагулянты — производные индандиона и гидроксикумарина. Очень широко используется одно из производных гидроксикумарина — зоокумарин. Хотя во многих изолированных популяциях обычных крыс (*Rattus norvegicus*) возникла резистентность к нему, частично ее можно преодолеть прибавлением в приманку кальциферола (витамина D). Среди остродействующих родентицидов абсолютной специфичностью обладает норбормид (4.90), однако крысы быстро начинают узнавать его специфический запах и избегают отравленные приманки (разд. 4.8). К смерти мышей и крыс приводит однократная доза N-пиридилметил-N'-пара-нитрофенилмочевины, ингибирующей в их организмах метаболизм никотинамида. Крысы погибают из-за паралича и остановки дыхания. В отличие от крыс в организм мыши трудно ввести достаточную дозу яда, потому что она никогда не ест помногу в одном месте. Однако можно использовать привычку мышей к грумингу и разбрасывать порошок избирательно действующего препарата, который будет прилипать к лапам и шерсти животных. Применявшиеся ранее мышьяк, таллий, фосфид цинка и нафтилтиомочевина в настоящее время почти не используются.

С начала 1900 г. в разных концах Европы предпринимались попытки установления биологического контроля за размножением крыс и полевок. Обычно для этих целей использовали бактерии вида *Salmonella*, иногда называемые «крысиным вирусом». Считалось, что эти бактерии специфично поражают только крыс. Это мнение оказалось ошибочным, и применение этих бактерий, патогенных и для человека, для борьбы с грызунами привело к возникновению эпидемий [Wodzicki, 1973]. В 1967 г. объединенный комитет экспертов ВОЗ и ФАО категорически запретил применение этого метода биологического контроля.

Биологический контроль за размножением кроликов с использованием вируса Мухота впервые был успешно осуществлен в Австралии. Несмотря на появившуюся резистентность к этому вирусу, уцелевшие особи легко истребляются действием неизбирательного фторацетата натрия.

Экологические вопросы применения пестицидов рассмотрены в книге А. Brown (1979); список 1500 пестицидов с молекулярными формулами и их свойства см. Büchel (1983).

6.5. Резистентность к лекарственным веществам и другим агентам

В 1905 г. Franke и Roehle, работавшие с Эрлихом, открыли явление резистентности к лекарственным веществам. П. Эрлих считал, что резистентность возникает из-за постепенного уменьшения числа рецепторов или их маскировки в организме [Englich, 1909]. Однако Yogke и сотр. (1931) показали, что, по крайней мере у трипаносом, резистентность возникает из-за уменьшения проникновения лекарственного вещества в организм паразита. Высокоустойчивые штаммы поглощают лекарственное вещество и поэтому его концентрация в среде остается достаточной для поражения чувствительных штаммов. Эти исследователи имели перед Эрлихом существенное преимущество: они научились культивировать трипаносом *in vitro*.

Вслед за открытием Franke и Roehle Эрлих обнаружил три различных типа резистентности у трипаносом. Паразиты, которые приобретали устойчивость к действию трипанового красного (6.1), становились устойчивыми ко всем азокрасителям. Другие штаммы, устойчивые к действию атоксила (пара-аминофениларсеновой кислоты) (6.2), обнаруживали резистентность к действию всех фениларсеновых кислот. Третьи, устойчивые к действию парафуксина (10.5), оказались резистентными ко всем остальным производным трифенилметана. Однако штаммы трипаносом, устойчивые к препарату одного из этих классов соединений, оказывались чувствительными к препаратам других классов, если резистентность к ним не вырабатывали специально.

Позднее П. Эрлих обнаружил две группы производных мышьяка, между которыми не наблюдалось перекрестной резистентности. К первой группе относятся соединения типа (6.4) с гидрофильными заместителями $-\text{OH}-\text{CONH}_2$ или $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, введенные в молекулу вместо или в дополнение к группе $-\text{NH}_2$, и не диссоциирующими при pH 7. Почти все препараты мышьяка с высоким терапевтическим индексом относятся к этой группе, к ней же относится и производное акридина — трипафлавин (6.5); резистентные к его действию штаммы трипаносом устойчивы и к действию препаратов мышьяка типа (6.4). Вторая группа препаратов мышьяка, вызывающая резистентность, не содержит гидрофильных заместителей.

В препаратах этой группы исходная степень окисления мышьяка не имеет значения для биологического действия, так как токсическое действие возникает лишь после биологического окисления мышьяка до арсеноксида ($-\text{As}=\text{O}$), если он входит в молекулу органического соединения, или до мышьяковистой кислоты ($\text{HO}-\text{As}=\text{O}$) (разд. 13.0). Эти данные в совокупности с отсутствием фактов возникновения резистентности к мышьяковистой кислоте указывают на то, что за захват паразитом лекарственного вещества ответственна часть молекулы, не со-

держаящая мышьяка и не проникающая в устойчивые штаммы. Трипаносомы, чувствительные к действию препаратов мышьяка, способны накапливать их в концентрациях, в 500 раз превышающих таковые в окружающей среде [Eagle, 1945].

В настоящее время четко различают природную и приобретенную резистентность. Так, возбудители туберкулеза, *Mycobacterium*, обладают природной устойчивостью к пенициллину, а многие штаммы *Staphylococcus aureus*, чувствительные к действию пенициллина, легко приобретают резистентность к нему, в то время как *Streptococci* не обладают природной резистентностью к пенициллину и не приобретают ее. Возбудители сифилиса спирохеты не приобретают резистентности ни к препаратам мышьяка, ни к пенициллину.

Резистентность может возникнуть в результате естественного отбора как следствие размножения устойчивых штаммов после уничтожения чувствительных штаммов лекарственными веществами. Применение мутагенов в качестве лекарственных веществ или пестицидов запрещено, поэтому резистентность крайне редко возникает в результате мутации, вызванной лекарственным веществом. Но перенос генов, происходящий при спаривании насекомых, конъюгации грамотрицательных бактерий и трансформации пневмококков, может приводить к возникновению резистентности.

Еще одной причиной развития резистентности является амплификация генов. Это было продемонстрировано на примере тли, женские особи которой могут давать потомство без оплодотворения самцами. При этом происходит удвоение генетического материала, содержащегося в родительском организме. Если на таких насекомых подействовать возрастающей концентрацией паратиона (13.24), то пятнадцатое поколение оказывается в 15 раз менее чувствительным к его действию. Устойчивость возникает потому, что в результате активации соответствующих генов увеличивается количество фермента, гидролизующего паратион.

Чаще всего лекарственная резистентность развивается при отборе естественных мутантов. Обычно штаммы, обладающие врожденной устойчивостью, составляют ничтожную часть исходной культуры: так, из 10 млн бактерий к действию данного вещества может быть резистентна лишь одна, но к действию двух различных веществ устойчива лишь одна бактерия из 10^{14} , а трех — одна из 10^{21} . Поэтому для предотвращения возможного возникновения резистентности вредных клеток оптимальным является одновременное применение нескольких лекарственных веществ. Применение же одного лекарственного вещества способствует размножению клеток, устойчивых к его действию (см. разд. 11.9, туберкулез).

Остроумный метод получения реплик позволяет наглядно показать, что клетки, устойчивые к стрептомицину, возникают и в его отсутствие [Lederberg, Lederberg, 1952]. Бактерии (*E. co-*

ii) выращивали в чашках с агаром и затем переносили с помощью бархатного штампа в другие чашки, в одну из которых был добавлен стрептомицин. После инкубирования в чашке со стрептомицином определяли положение колоний, устойчивых к антибиотику, и отбирали соответствующие колонии из других чашек. Эту операцию повторяли несколько раз и в результате получали чашки, целиком заполненные микроорганизмами, устойчивыми к стрептомицину, которые никогда не были в контакте с ним. С помощью замораживания бактериологи могут десятилетиями сохранять различные виды и штаммы микроорганизмов. Оказалось, что многие бактериальные штаммы, замороженные еще до открытия антибиотиков, резистентны к их действию, что служит еще одним доказательством существования в природе резистентных видов. Объяснить это можно следующим образом: токсический агент вмешивается в одну из метаболических реакций микроорганизма, а устойчивые штаммы могут использовать альтернативный путь, не имеющий преимуществ в других условиях.

Явление резистентности широко распространено, но не универсально. Возможность возникновения резистентности, представляющей собой определенную опасность в некоторых случаях (например, возникновение резистентности насекомых к действию большинства известных инсектицидов или резистентность стафилококков к большинству применявшихся ранее антибиотиков) реальна, но не безгранична. Так, методом реплик было показано, что устойчивость *E. coli* к левомецетину может возрасти лишь в три раза, что представляет, по-видимому, предел возможностей естественного отбора [Cavalli-Sforza, Lederberg, 1956].

Существуют четыре основных типа резистентности, возникающей в результате естественного отбора или переноса генов.

6.5.1. Резистентность первого типа: изоляция от лекарственного вещества

Исторически этот тип резистентности был открыт первым. Yorke и соотр. обнаружили, что трипаносомы приобретают устойчивость к действию органических соединений мышьяка в результате таких изменений плазматической мембраны, после которых она становится непроницаемой для лекарственного вещества [Yorke et al., 1931]. Аналогично возникает устойчивость *Staphylococcus aureus* к действию тетрациклина (разд. 3.0). Так организм защищается от действия лекарственного вещества, хотя рибосомы — органеллы, на которые непосредственно действует препарат, сохраняют к нему чувствительность [Sompolinsky et al., 1970].

Таким же образом культивируемые лимфобласты лимфолейкоза мышей приобретают устойчивость к действию метотрексата за счет уменьшения транспорта препарата через изменив-

шуюся плазматическую мембрану [Hill et al., 1979]. Известно, что продолжительность жизни лейкозных клеток мышей в суспензиях обратно пропорциональна скорости захвата метотрексата (4.7), однако эта скорость начинает уменьшаться вскоре после появления препарата в среде [Kessel et al., 1965]. При лейкозах человека этого эффекта не наблюдается.

Haest и соотр. (1972) предположили, что физической основой резистентности первого типа является способность клеточной мембраны к регуляции общего заряда поверхности мембраны изменением соотношения в ней фосфатидилглицерина (анион) и лизилфосфатидилглицерина (катион). Лекарственные вещества, катионы и анионы, отталкиваются от мембраны под действием сил кулоновского взаимодействия. В некоторых случаях резистентность первого типа может возникнуть в результате естественного отбора уже имеющейся генетической информации или переноса генов.

6.5.2. Резистентность второго типа: увеличение синтеза ферментов, амплификация ДНК

Чаще всего резистентные организмы возникают в результате замещения чувствительных клонов другими, характеризующимися повышенным уровнем синтеза ферментов (либо ферментов-рецепторов лекарственного вещества, либо ферментов, разрушающих это вещество).

А. Увеличение синтеза ферментов, разрушающих лекарственные вещества. По этому механизму возникают устойчивые к пенициллину *Staphylococcus aureus* в больницах (в результате отбора мутантов или захвата соответствующей плазмиды). Резистентные линии стафилококков, полученные от больных, синтезируют фермент β -лактамазу («пенициллазу»), гидролизующую пенициллин до биологически неактивной пеницилловой кислоты (разд. 13.1). Стафилококки, продуцирующие пенициллазу, сами чрезвычайно чувствительны к действию пенициллина, и при небольшом числе микробных клеток (при малом инокуле) для подавления их роста достаточны сравнительно малые дозы антибиотика. Конечный эффект зависит от различия скоростей уничтожения пенициллином бактерий и образования фермента стафилококками [Кпох, 1962]. Фактически сам пенициллин может индуцировать у некоторых штаммов *Staphylococcus aureus* синтез пенициллазы, однако при этом не возникает устойчивой резистентности. При удалении пенициллина из среды бактерии быстро прекращают синтез фермента и теряют резистентность. Наиболее подробно индукция синтеза пенициллазы исследована на *Bacillus cereus* [Pollock, Perget, 1951].

Известно, что в больницах более 90% персонала является носителями устойчивых к пенициллину и содержащих пенициллазу штаммов *Staph. aureus*. Вне клиник с этим явлением мож-

но столкнуться лишь в редких случаях. Такое избирательное развитие резистентных штаммов объясняется тем, что ничтожные количества пенициллина, постоянно вдыхаемые больничным персоналом, уничтожают чувствительные к нему штаммы, в результате чего в слизистой носа создаются идеальные условия для роста резистентных штаммов [Gould, 1957].

Резистентность к действию лекарственных веществ иногда вызывается увеличением синтеза ферментов, разрушающих эти вещества. Так, эффективность лечения острого лейкоза цитозин-арабинозидом (4.13) падает по мере возрастания числа злокачественных клеток с повышенным содержанием цитозиндеаминазы [Steuagt, Bugke, 1971]. А клетки острого лимфоцитарного лейкоза человека и мышинной саркомы 180/ТG с повышением уровня содержания щелочной фосфатазы, разрушающей биологически активный нуклеотид, продукт превращения 6-меркаптопурина, приобретают устойчивость к действию последнего [Rosman et al., 1974].

Резистентность насекомых, как правило, также возникает по механизму второго типа, чаще всего вследствие повышения уровня оксидазы со смешанными функциями [Casida, 1973], похожей на оксидазы эндоплазматического ретикулума человека (разд. 3.5). Это генетическое изменение приводит к появлению у насекомых резистентности ко всем основным типам хлорированных углеводородов, к фосфорорганическим пестицидам и карбаматам и в меньшей степени к некоторым новым пиретроидам и синергистам пиретрина [Tsukamoto, Casida, 1967]. Резистентность к фосфорорганическим пестицидам может быть связана также с уровнем фосфорорганической эстеразы и в некоторых случаях глутатион-S-трансферазы [Casida, 1973].

У насекомых, особенно мух, существуют два основных типа резистентности к хлорированным углеводородам: один из них вырабатывается по отношению к ДДТ, другой — к дильдрину, хлордану и линдану. Резистентность к ДДТ у мух обычно связана с увеличением скорости превращения ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтана) (6.41) в неактивный ДДЭ (дихлордифенилдихлорэтилен) в результате повышения уровня фермента «ДДТ-дегидрохлориназы» [Winteringham, Barnes, 1955]. Нормальные функции этого фермента неизвестны; по-видимому, в результате отбора возник мутант, синтезирующий его в большом количестве. Линдан в организме мух, устойчивых к его действию, быстро превращается в водорастворимые серусодержащие соединения, вероятно, меркаптуровые кислоты [Bradbury, Standen, 1959].

Б. Увеличение синтеза ферментов-рецепторов. С этим связана широко распространенная резистентность малярийных плазмодиев к лекарственным веществам, действующим на дигидрофолатредуктазу. Штаммы «Уганда (Пало-Алто)» и хлоридин-устойчивых *Plasmodium falciparum* содержат в 30—80 раз

больше этого фермента, чем чувствительные штаммы. Показано, что при этом сам фермент не изменяется, так как не меняется его сродство к молекулам ингибитора [Kan, Siddiqui, 1979].

При лечении лейкоза человека метотрексатом (4.47) злокачественные лейкоциты быстро приобретают к нему резистентность. При этом в лейкоцитах больных отмечают повышение уровня дигидрофолатредуктазы, которую блокирует метотрексат [Bertino et al., 1965]. В клетках саркомы и лимфомы мышей, устойчивых к действию метотрексата, 200-кратное увеличение количества этого фермента вызвано индуцированием активности генома метотрексатом [Alt et al., 1978]. Подробнее об амплификации генов см. Fox (1984) и Borst (1984).

6.5.3. Резистентность третьего типа: уменьшение синтеза ферментов

Резистентность опухолевых клеток человека к 6-меркаптопурину может возникать вследствие исчезновения фермента, превращающего это пролекарство в терапевтически активный нуклеозид 6-тиоинозин-5'-фосфат-инозин-5'-фосфатпирофосфорилазы [Brookman, 1963].

В экспериментальных опухолях резистентность к 6-меркаптопурину также возникает вследствие исчезновения фермента гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы, превращающего это пролекарство в активное начало [Наггар, 1976]. Вероятно, по этой же причине резистентность к действию этого лекарственного вещества возникает и у больных лейкозами [Rosman, Williams, 1973].

Резистентность в результате потери вредной клеткой способности к превращению пролекарства в нуклеотид вследствие исчезновения соответствующего фермента возникает и к таким препаратам, как 8-азагуанин [Brookman et al., 1961] и 5-фторурацил.

Может развиваться и резистентность типа «исчезновения мишени», среднего между вторым и третьим типом. Так, например, резистентность *Staphylococcus aureus* к действию эритромицина, наблюдаемая в клиниках, связана с появлением специфического для устойчивых штаммов фермента, метилирующего 50S субъединицу рибосом [Lai, Welsblum, 1971]. У некоторых штаммов пневмококков, резистентных к сульфаниламидам, были обнаружены химические изменения фермента-рецептора дигидрофолатсинтетазы [Ortiz, 1970].

Широко распространенная резистентность крыс к действию антикоагулянта зоокумарина (9.40) возникает, вероятно, по этому же механизму. Рибосомы животных, устойчивых к его действию, содержат меньше зоокумарина, чем рибосомы обычных особей, что вызвано заменой нормального белка другим, обладающим меньшим сродством к препарату [Martin, 1973].

Кроме упоминавшихся выше двух типов резистентности к

метотрексату, при лабораторных исследованиях был найден и третий тип. В этом случае, видимо, в результате отбора структура дигидрофолатредуктазы лейкозных клеток настолько изменяется, что фермент полностью теряет сродство к метотрексату, но свои нормальные функции в клетке продолжает выполнять. Трём типам устойчивости к метотрексату посвящен обзор Nagreg, Kellems (1981). Сообщается также и о некоторых случаях изменения фермента у разных типов комнатной мухи, устойчивых к действию фосфорорганических соединений и карбаматов [Plarr, 1976]. Этим ферментом оказалась АХЭ, сохраняющая способность гидролизовать АХ, но потерявшая чувствительность к ингибиторам, связывающимся с этим ферментом в местах, отличных от мест связывания АХ [разд. 13.3; O'Vrien, 1971]. Однако в значительно большем числе случаев резистентность насекомых к действию фосфорорганических соединений и карбаматов связана с увеличением в ЭР количества оксидаз со смешанной функцией, разрушающих эти инсектициды, или (только в случае фосфорорганических соединений) — с увеличением количества неспецифической эстеразы или глутатионзависимой алкил- (или арил-) трансферазы [Plarr, 1976].

Следует подчеркнуть, что при возникновении резистентности третьего и во многих случаях второго типа вредные клетки начинают шире использовать альтернативные биохимические пути.

6.5.4. Резистентность четвертого типа: увеличение образования метаболитов

Резистентность четвертого типа наблюдается в тех случаях, когда организм в избытке синтезирует соединения — антагонисты лекарственного вещества. Так, резистентность стафилококков, пневмококков и гонококков к действию обычных концентраций сульфаниламидных препаратов вызвана повышенным уровнем синтеза ПАБ [Landy, Gerstung, 1944], выделенной хроматографически [Moss, Lemberg, 1950].

6.5.5. Перенос генов

Классическим примером переноса генов служит возникновение устойчивых к пенициллину пневмококков при культивировании чувствительных штаммов в среде с добавлением экстракта из резистентных пневмококков, при этом устойчивость сохраняется и при последующих пересевах. Было показано, что трансформирующим фактором в этом случае является фрагмент ДНК, содержащий бактериальный ген. Этот метод позволяет вырабатывать у клеток резистентность к действию лекарственного вещества в его отсутствие [Hotchkiss, 1951].

Переносом генов вызвано и инфекционное возникновение резистентности к действию нескольких лекарственных веществ.

Это явление в некоторых случаях приводит к неэффективности лечения тяжелых желудочных инфекционных заболеваний обычно высокоэффективными лекарственными препаратами. В 1960 г. было впервые обнаружено, что в желудочно-кишечном тракте многие грамотрицательные бактерии содержат плазмиду (т. е. внехромосомную переносимую молекулу ДНК), называемую также «R-фактором» или эписомой. Когда два вида бактерий, один из которых содержит «R-фактор», находятся в контакте, может произойти заражение второго вида «R-фактором», в результате чего резистентность от одного вида передается другому. К бактериям, между которыми возможен такой перенос генетического материала, относятся возбудители дизентерии, холеры, брюшного тифа, туляремии и чумы. Присутствие «R-фактора» часто служит причиной резистентности этих бактерий одновременно к сульфазину, стрептомицину, тетрациклинам и аналогам всех этих препаратов вследствие их химической инактивации. Плазмиды *E. coli* передают бактериям способность инактивировать стрептомицин путем этерификации его молекулы адениловой кислотой [Takasawa et al., 1968], плазмиды *E. coli* и *Staph. aureus*, кроме того, способны инактивировать левомецетин ацетилированием, а канамицин — фосфорилированием [Doi et al., 1968].

«R-факторы» представляют собой частицы внехромосомного генетического материала, существующего независимо от действия лекарственных веществ. Одной из их основных функций является детоксикация чужеродных соединений аналогично функциям ЭР млекопитающих (разл. 3.5). Исследование банков бактерий показало, что эти плазмиды встречались у различных энтеробактерий задолго до начала применения антибиотиков столь же часто, как и у современных штаммов, чувствительных к действию этих препаратов, однако резистентность у старых штаммов встречалась значительно реже [Hughes, Datta, 1983].

Переносимая плазмидами резистентность к действию лекарственных веществ создает серьезные проблемы при лечении энтеробактериальных инфекций. Наиболее часто среди таких заболеваний встречаются бактериальная дизентерия и сальмонеллез, зачастую связанный с пищевым отравлением и вызываемый примерно 1200 серотипами *Salmonella* (следует отметить, что брюшной тиф также вызывается *Salmonella* — *S. typhi*). С медицинской точки зрения проблема резистентности возникла в 1959—1969 гг., когда в Японии было установлено возникновение устойчивости *Shigella* к действию тетрациклинов, стрептомицина, сульфаниламидов и левомецетина. Эпидемия 1968—1969 гг., вызванная устойчивой к этим препаратам *Shigella dysenteriae* I, унесла в Гватемале более 12 000 жизней и распространилась на Мексику. В 1972 г. в Индии, Мексике и Вьетнаме были обнаружены аналогичные резистентные штаммы *S. typhi* [Anon WHO, 1974].

О плазмидах и транспозонах см. Stuttard, Rozee (1979).

6.5.6. Преодоление резистентности

Не существует общих методов преодоления резистентности, но кое-что в этой области сделано и может оказаться полезным в отдельных случаях.

Генетические мутации насекомых, в результате которых возникает резистентность к инсектицидам, обычно лишают их преимуществ в борьбе за существование. Поэтому прекращение применения инсектицидов часто приводит к исчезновению резистентных форм. Например, восстановление чувствительности комаров-анофелесов в Индии произошло после смены типа применяемых инсектицидов [Raghavan, 1969]. У злостных вредителей посевов паутиных клещиков, приобретших устойчивость к фосфорорганическим инсектицидам, оказалась повышенной чувствительность к пиретроидам [Charman, Penman, 1979]. Выше отмечалось, что резистентность опухолей к 6-меркаптопурину связана с исчезновением гипоксантинфосфорибозилтрансферазы в опухолевых клетках; эти клетки не могут использовать гипоксантин, что, в свою очередь, повышает их чувствительность к действию метотрексата, ингибирующего синтез инозина [Наггар, 1976].

Резистентность второго типа можно снять блокированием разрушающего фермента. Так, кельтан-1,1-бис(пара-хлорфенил)этанол (6.43), близкий по структуре к ДДТ, снимает устойчивость к ДДТ у мух, блокируя фермент, превращающий ДДТ в 1,2-бис(пара-хлорфенил)-2-дихлорэтилен (ДДЭ) (табл. 6.1).

Т а б л и ц а 6.1. Влияние кельтана (6.43) на резистентность комнатной мухи к ДДТ [Perry, Mattson, Backner, 1953]

Количество вещества на одну муху, мкг		Ингибирование ферментативного превращения ДДТ в ДДЭ. %	Число погибших мух. %
ДДТ	Кельтан		
0,65	0,0	0	0
0,65	0,06	20	2
0,65	0,65	49	50
0,65	1,30	65	72
0,65	6,50	84	100

В лабораторных условиях для преодоления резистентности бактерий можно применять хелатирующие агенты. Например, у штаммов *Pseudomonas*, резистентных к полимиксину, чувствительность к нему восстанавливается под действием этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), по-видимому, вследствие вымывания ионов кальция и магния из плазматической мембраны [Brown, Richards, 1965]. ЭДТА восстанавливает также чувствительность у пенициллин-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных в больницах [Raval, 1969].

Под действием окситетрациклина, известного своими хелатирующими свойствами (разд. 11.8), восстанавливается чувствительность к пенициллину у резистентных штаммов *S. aureus* [Michael, Michael, Massell, 1967].

Плазмиды можно инактивировать *in vitro* кратковременной обработкой простыми аминокридинами [Mitsubishi et al., 1961; Vouanchoud, Scavizzi, Chabbert, 1968]. Восстановление чувствительности культуры *E. coli* к аминоциклитольным антибиотикам происходит под действием такого хелатирующего агента, как 7-гидрокситрополон, ингибирующего вызванное плазмидой аденилирование этих антибиотиков [Allen, 1981]. К сожалению, в клинической практике борьба с резистентностью, приобретающая все большее значение, возможна лишь с помощью повышения дозы лекарственного вещества до максимально переносимой или путем замены данного лекарственного вещества альтернативным.

6.5.7. Общие замечания о резистентности в условиях клиники

Следует отличать резистентность, развивающуюся в организме больного, от резистентности, возникающей вне его. При лечении больных туберкулезом стрептомицином, изониазидом или пара-аминосалициловой кислотой, возбудитель (*Mycobacterium tuberculosis*) может стать устойчивым к действию одного или нескольких из них. Было обнаружено, что выработка такой устойчивости происходит постепенно в результате отбора резистентных мутантов в организме больного. В то же время резистентные штаммы стафилококков часто попадают в организм больного извне, от других зараженных ими людей [Кпох, 1962].

Открытие резистентности трипаносом к нескольким лекарственным веществам и данные, свидетельствующие о наличии различных рецепторов, позволили П. Эрлиху предложить сочетанную терапию, т. е. лечение больного одновременно двумя или несколькими лекарственными веществами, действующими на разные рецепторы. В начале лечения эта стратегия помогает задержать развитие различных типов резистентности и в настоящее время широко применяется при лечении туберкулеза, рака и бактериальных инфекций. На практике такой подход дает возможность добиваться хороших результатов до возникновения резистентности.

Резистентные формы, по крайней мере в самом начале, возникают в одном регионе. Когда в Юго-Восточной Азии и Южной Америке возбудитель малярии уже потерял чувствительность к хингамину, во всех остальных областях она еще сохранялась. Опасные природные резервуары резистентных организмов представляют собой популяции, подвергавшиеся действию неверно выбранных доз.

Принимая во внимание широту использования лекарственных веществ и других избирательно токсичных агентов, а также

распространенность явления резистентности, остается только удивляться, что многие организмы все еще сохраняют чувствительность к ним.

Такое же явление резистентности отмечается в фармакодинамике, когда эффект лекарственного вещества исчезает или организм приобретает способность его разрушать (как, например, в случае барбитуратов, разд. 3.4) или же в результате снижения чувствительности рецепторов (как, например, в случае никотина и морфина).

Биохимические основы резистентности к лекарственным веществам подробно изложены в работах Mitsuhashi (1982), Вгуан (1982) и Mihich (1973), резистентность опухолей — Fox, Fox (1984). Толерантность в фармакодинамике рассматривается в разд. 3.5.3.

6.6. Терапевтическая интерференция

Термин «терапевтическая интерференция» был предложен Brownig, Gulbransen (1922) для описания открытого ими явления, заключавшегося в том, что обычная доза флавакридина (6.5), введенного мышам, зараженным трипаносомами, оказывалась неэффективной, если мыши предварительно получали с пищей парафуксин (10.5). Хотя сам парафуксин и обладает слабым трипаноцидным действием, в описываемом случае он применялся в низких неэффективных дозах. В табл. 6.2 приведены данные одного из типичных экспериментов. Следует отметить, что в отличие от резистентности к лекарственным веществам эффекты, обусловленные интерференцией, не обнаруживаются в последующих генерациях организмов.

Т а б л и ц а 6.2. Терапевтическая интерференция (на мышах, зараженных трипаносомозом) [Schaitzer, 1926]

Парафуксин	Флавакридин	Результат
0	0	Мыши погибли на 5—7-й день (степень паразитемии + + +)
0,05	0	То же
0,25	0	» »
0	0,5	Излечение на третий день
0,05	0,5	Мыши погибли на 6—7-й день (+ + +)
0,25	0,5	Мыши погибли на 7-й день (+ + +)

Из табл. 6.2 видно, что одна часть парафуксина может блокировать действие десяти частей флавакридина. Интерференция этих двух веществ была продемонстрирована и *in vitro*, при этом парафуксин предохранял микроорганизмы от гибели под

действием флавакридина [Von Jancsó, 1931]. Антагонизм этих соединений был показан и респирометрическим методом [Scheff, Nasskó, 1936]; каждое из них в отдельности подавляет процесс потребления глюкозы, тогда как смесь их таким действием не обладает.

Термин терапевтическая интерференция применим только в тех случаях, когда два вещества близки друг к другу по химическому строению и, следовательно, химическое взаимодействие между ними маловероятно. Это напоминает явление, часто встречающееся в фармакодинамике, когда увеличением ОММ агонист может быть превращен в антагонист, обладающий, однако, высоким сродством к рецептору (разд. 7.5.2).

В настоящее время в клинической практике известны многие пары лекарственных веществ, интерферирующих между собой. Поэтому квалифицированный врач всегда старается назначать одновременно как можно меньше лекарственных веществ.

Вопросы взаимодействия лекарственных веществ см. Melman, Gilman (1980).

Глава 7

ФАРМАКОДИНАМИКА

Фармакодинамика изучает избирательное действие токсических агентов на вредные и полезные клетки, принадлежащие одному организму, в противоположность химиотерапии, исследующей явления избирательной токсичности в тех случаях, когда вредные структуры представляют собой организмы, отличные от полезных.

Начало фармакодинамике, как науке, было положено работами Р. Бухгейма (1820—1879), выдвинувшего положение о том, что для создания рациональных основ терапии необходимо исследовать механизм действия лекарственных веществ научными методами.

Он считал необходимым изучение метаболизма и применение статистических методов обработки результатов эксперимента с тем, чтобы поднять фармакологию до уровня точных дисциплин и сделать ее равной химии и физиологии; при этом он подчеркивал важность проведения экспериментов на простых моделях.

7.0. Фармакодинамика и химиотерапия

Перед фармакодинамикой стоят по меньшей мере три проблемы, противоположные существующим в химиотерапии.

Во-первых, фармакодинамические эффекты, как правило, должны быть обратимы. Так, если больной находится под действием наркоза, то его нельзя оставить в этом состоянии навсегда. Для химиотерапии, наоборот, наиболее ценны агенты с максимально необратимым действием.

Во-вторых, фармакодинамические лекарственные вещества должны вызывать различную по интенсивности ответную реакцию организма. Действительно, для снятия спазмов или подавления избыточной секреторной активности следует применять точную дозу лекарственного вещества, нейтрализующую нежелательные эффекты без утраты соответствующих функций. В противоположность этому для химиотерапевтических средств желателен эффект типа «все или ничего», с точки зрения фармакодинамики неприемлемый.

В-третьих, для фармакодинамических исследований трудно получить достаточно большое количество однородного биологического материала для тестирования. Лучше всего начинать с простейшей возможной системы: избирательно токсичного аген-

та и популяции однородных клеток, на которую этот агент воздействует. После того как основные взаимосвязи в этой системе установлены, можно постепенно усложнять условия опыта, вводя дополнительные естественные факторы, для того чтобы в конце концов придти к решению практических задач. Таким образом, следует от опытов с популяциями однородных клеток переходить к опытам на тканях, затем к органам и, наконец, к целым организмам.

Однако уже в самом начале исследователь сталкивается с трудностями, так как получение популяций однородных, неповрежденных и нормально функционирующих клеток часто оказывается практически неосуществимым. Дело осложняется еще и тем, что при исследовании взаимодействий между различными видами клеток в экспериментальных объектах в большинстве случаев содержится высокий процент посторонних клеток, являющихся «местами потерь» (например, в синапсе) (разд. 3.4), что затрудняет достоверную количественную оценку результатов. Более того, давно установилась традиция начинать исследования на перфузируемых органах или даже на интактных животных.

К счастью, время от времени происходят события, которые можно расценивать, как шаг вперед на пути к идеалу, о котором мечтал Кларк — к фармакологии одной клетки. В настоящее время, например, можно зарегистрировать ответ одной нервной или мышечной клетки при ионофоретическом подведении лекарственного вещества в межнейрональное пространство [del Castillo, Katz, 1957; Katz, 1966].

В целом фармакодинамические средства менее специфичны, чем химиотерапевтические. Это обусловлено тем, что они могут воздействовать не на один, а на несколько рецепторов в организме, и напротив, разные фармакодинамические средства могут действовать на рецептор одного медиатора, например АХ. Поэтому они часто не могут радикально изменить течение заболевания и способны лишь приостановить или замедлить его развитие, а при длительном лечении возможны побочные эффекты. Казалось бы, химиотерапевтические исследования проще фармакодинамических. Однако при изучении действия химиотерапевтических средств необходимо проводить и фармакодинамические исследования с целью изучения побочного действия этих препаратов.

7.1. Поиск новых синтетических лекарственных средств

Фармакодинамические средства использовали еще в те далекие времена, когда люди жили племенами, но даже из лекарственных средств, известных в эпоху великих цивилизаций античности, лишь некоторые применяют до сих пор (опий, спорынья и белладонна). Прагматический характер философских воззрений Бэкона способствовал появлению в начале

XVII в. фармакопей — книг, содержащих перечень наиболее важных лекарственных средств и установленных для них стандартов. Одной из первых была Лондонская фармакопея 1618 г., включающая наряду со многими действительно ценными и используемыми до сих пор средствами много странных и бесполезных, таких как жир собак, угрей, аистов и ежей, экскременты разных животных и камни из мочевого пузыря больных. После выделения Sertürner в 1804 г. в чистом виде алкалоида морфина внимание было обращено к выделению биологически активных веществ из растительных и животных тканей.

Вначале химический синтез не представлялся перспективным методом получения лекарственных средств. Однако после того, как Велер в 1828 г. синтезировал мочевины, в медицинскую практику вошел целый ряд органических соединений. После ряда неудач были найдены и стали применяться для ингаляционного наркоза такие относительно простые вещества, как закись азота, эфир и хлороформ (1844—1847), что значительно расширило возможности хирургии, увеличив время проведения операций.

Началом современного подхода к поиску новых лекарственных средств явилось установление воспроизводимости биологических эффектов лекарственных веществ на лабораторных животных. Впервые это было установлено на примере средств для наркоза и после этого для клинических испытаний отбирались лишь вещества, проявлявшие максимальную активность в опытах на животных при отсутствии нежелательных побочных эффектов.

В период между 1860—1905 гг. интенсивно велись поиски среди органических синтетических соединений снотворных лекарственных средств. Первые препараты представляли собой относительно простые вещества — хлоралгидрат [Liebreich, 1869] и паралальдегид [Cervello, 1882], затем появились более сложные по структуре соединения и, наконец, был создан барбитал [Fischer, von Mering, 1903]. Возможности органического синтеза того времени ограничивали не только ассортимент самих седативных средств, но и спектр достижимого седативного действия [см. McIlwain, 1957]. Это стало особенно ясно после того, как были открыты разные типы нормального сна (и их соотношения) и созданы лекарственные вещества, достаточно избирательно влияющие на разные отделы мозга.

В последней четверти XIX в. интенсивный поиск жаропонижающих препаратов, отдаленной моделью которых служил хинин, позволил создать целый класс мягких синтетических анальгетиков, таких как ацетанилид [Cahn, Nepp, 1887], фенацетин (3.24), салицилат натрия, обладающий одновременно и противоревматическим действием [Buss, 1875] и, наконец, ацетилсалициловая кислота (аспирин) [Dreser, 1899].

Алкалоид кокаин, первый местный анестетик, был предложен Koller (при участии Зигмунда Фрейда) в 1884 г. К этому

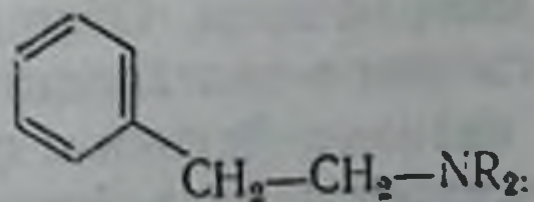
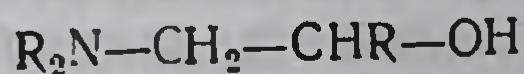
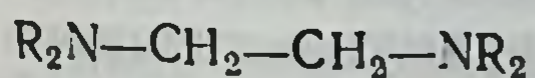
времени уже была осознана целесообразность и возможность получения простых аналогов природных соединений (разд. 7.3). Einhorn (1905) синтезировал местный анестетик новокаин, во многих отношениях превосходящий кокаин.

В последующие за этим 50 лет успехи в области химиотерапии значительно превзошли все то, что делалось в области фармакодинамики, представляющей собой область значительно более сложную, чем химиотерапия. Лишь в последние несколько десятилетий количественный и молекулярный подходы к фармакодинамическим исследованиям привели к заметному прогрессу в этой области.

7.2. Некоторые общие фрагменты молекулярной структуры фармакодинамических лекарственных средств

К удивительным явлениям природы относится способность многих растений выделять лишний азот в составе молекул, воздействующих на нервы и мышцы позвоночных (т. е. на те виды тканей, которые полностью отсутствуют у растений). Алкалоиды представляют собой типичные «отходы» метаболизма растений; их накопление происходит только в легко отделяемых частях растений, таких как кора, листья и плоды. Большинство алкалоидов биологически инертно по отношению к млекопитающим: из 25 алкалоидов опиума только четыре проявляют действие на человека.

Молекулярная структура алкалоидов, используемых в медицине, содержит ряд общих групп атомов. Так, они включают в себя третичную аминогруппу, связанную цепочкой из двух или трех (реже — четырех) насыщенных атомов углерода с другой аминогруппой (спиртовой или гидроксильной) или с ненасыщенным циклом, например (7.1), (7.2) и (7.3). Такие фрагменты присутствуют в молекулах лобелина, атропина, кокаина, хинина, стрихнина, морфина и др. Эти сложные молекулы содержат и другие группировки, циклы и заместители, однако их фармакологическое действие несомненно обусловлено наличием общих указанных выше фрагментов, которые могут быть частично включены в состав гетероциклического кольца, например, пиперидина (хотя для активности алкалоидов это значения не имеет). Если в молекуле алкалоидов содержится гидроксильная группа, то она большей частью ацилирована. Молекулярная структура алкалоидов напоминает строение таких активных азотсодержащих агонистов млекопитающих, как АХ (7.4), норадреналин (7.5), адреналин и гистамин (7.6).

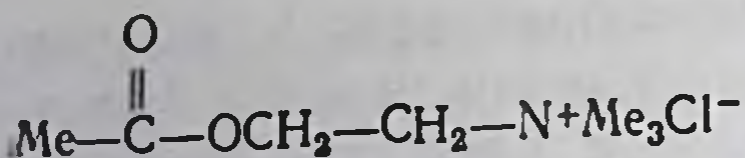


(7.1)

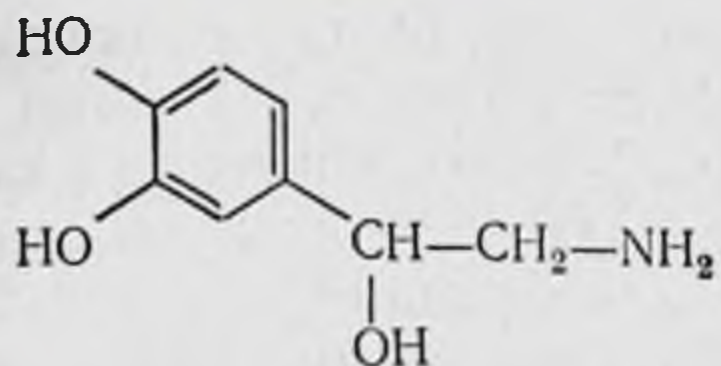
(7.2)

(7.3)

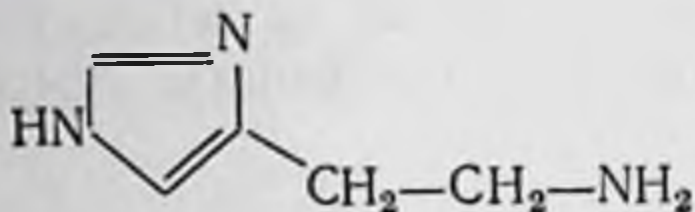
Фрагменты алкалоидов, ответственные за фармакологическую активность



Ацетилхолин (хлорид)
(7.4)



Норадреналин
(7.5)



Гистамин
(7.6)

Кроме того, такие же фрагменты входят в состав многих современных фармакодинамических агентов, особенно местных анестетиков, антигистаминных и противорвотных средств, транквилизаторов и препаратов, во многих случаях заменяющих атропин. Взаимное расположение атомов в этих группировках неслучайно. В 1935 г. в ходе исследований фармакодинамической активности соединений, в молекулах которых содержался тот же фрагмент структуры, связанный с различными ненасыщенными ароматическими и гетероароматическими циклами, Fougnieu и Bovet были найдены новые и очень важные классы лекарственных препаратов — антигистаминные средства и нейролептики.

Все эти вещества, будь то алкалоиды, нейромедиаторы или современные синтетические препараты, действуют на несколько рецепторов, похожих между собой по химической структуре. При одинаковом специфическом биологическом действии структурное строение соединений, содержащих вышеупомянутые фрагменты, может сильно различаться. Так, местные анестетики могут относиться к любому из двух типов — (7.1) или (7.2), углеродная цепочка может состоять из двух или трех атомов, незамещенных или содержащих в качестве заместителей небольшие по объему группы, например метил. Это позволяет сделать вывод, что рецепторы позвоночных не обладают столь же высокой специфичностью, как многие ферменты по отношению к их субстрату [Ariens, 1960; Fastier, 1964].

Этот вывод подтверждает то, что лишь немногие фармакодинамические средства абсолютно биологически специфичны. Обычно результат действия фармакодинамических агентов заставляет предположить наличие преимущественного взаимодействия с одним специфичным рецептором, но с другой стороны, их действие сопровождается рядом побочных эффектов, что указывает на взаимодействие с некоторыми другими рецепторами. Например, логично предположить, что каждое из шести следующих свойств лекарственного препарата — местноанесте-

зирующее, антигистаминное, спазмолитическое, обезболивающее, холинолитическое, а также способность продлевать рефрактерный период сердца — должно быть обусловлено его взаимодействием с особым рецептором. Однако каждое из семи следующих веществ: новокаин, мепирамин, папаверин, лидол, атропин, хинидин и спартеин, обладает всеми этими свойствами (хотя у каждого соединения одно из свойств выражено сильнее остальных). Поэтому можно предположить, что наличие этих общих свойств обусловлено способностью данных соединений выступать в некоторых тканях в роли антагонистов АХ, гистамина и, возможно, адреналина [Вигн, 1950].

Хотя специфичность рецепторов не так высока, как специфичность ферментов анаболизма и катаболизма, все же она не уступает, по меньшей мере, специфичности микросомных метаболизирующих ферментов (разд. 3.5). Так, в ганглиях никотин (но не мускарин) действует подобно АХ, а в постганглионарных парасимпатических синапсах подобно АХ действует мускарин (но не никотин). Далее, специфичными антагонистами АХ служат тубокурарин, избирательно блокирующий действие АХ в нервно-мышечном соединении, гексаметоний — в ганглиях и атропин — в парасимпатических постганглионарных синапсах.

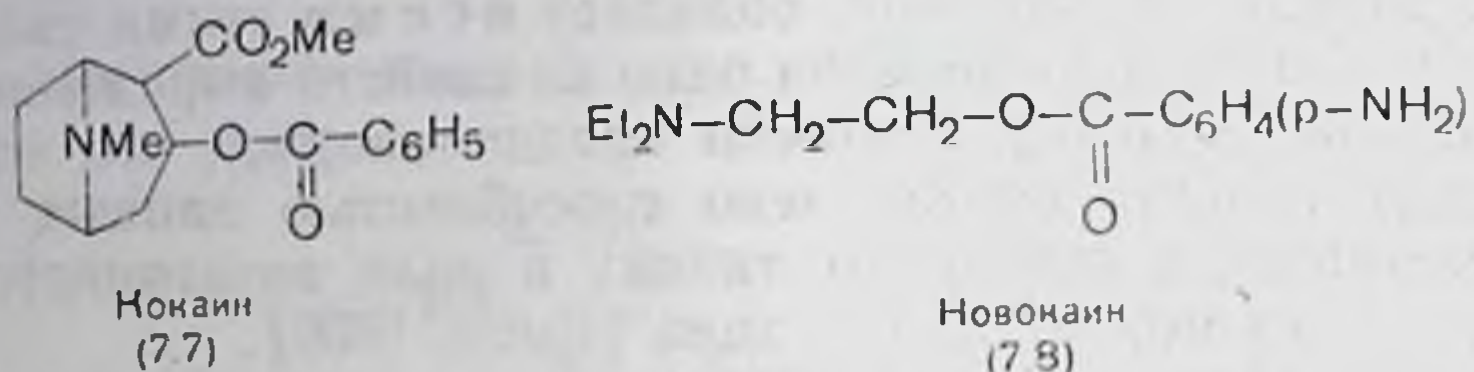
Даже если допустить, что рецепторы лишь умеренно специфичны, то и тогда возможно создание специфических лекарственных средств. Для этого следует: а) сочетать ионные (разд. 10) и липофильные (разд. 3.2 и 17.1) свойства соответствующих соединений таким образом, чтобы обеспечить наилучший доступ вещества к его месту действия и б) в состав молекул ввести такие блокирующие группировки, которые создавали бы стерические препятствия для взаимодействия с другим рецептором [Fastier, 1964]. В то же время необходимо сохранять максимально простую структуру лекарственного вещества, для того чтобы по возможности избежать появления побочных эффектов.

7.3. Упрощение структуры природных соединений

В конце прошлого века начал развиваться новый подход к созданию лекарственных веществ — путем упрощения структуры природных соединений с целью получения более простым синтетическим путем веществ аналогичного типа действия, не обладающих побочными эффектами, обусловленными наличием в молекуле природного соединения определенных группировок. Одним из первых достижений на этом пути было введение в медицинскую практику в 1875 г. салициловой кислоты, и вскоре после этого салициловая кислота, ее соли и другие производные, такие как ацетилсалициловая кислота, заменили кору ивы и салицилгликозид, содержащийся в ней.

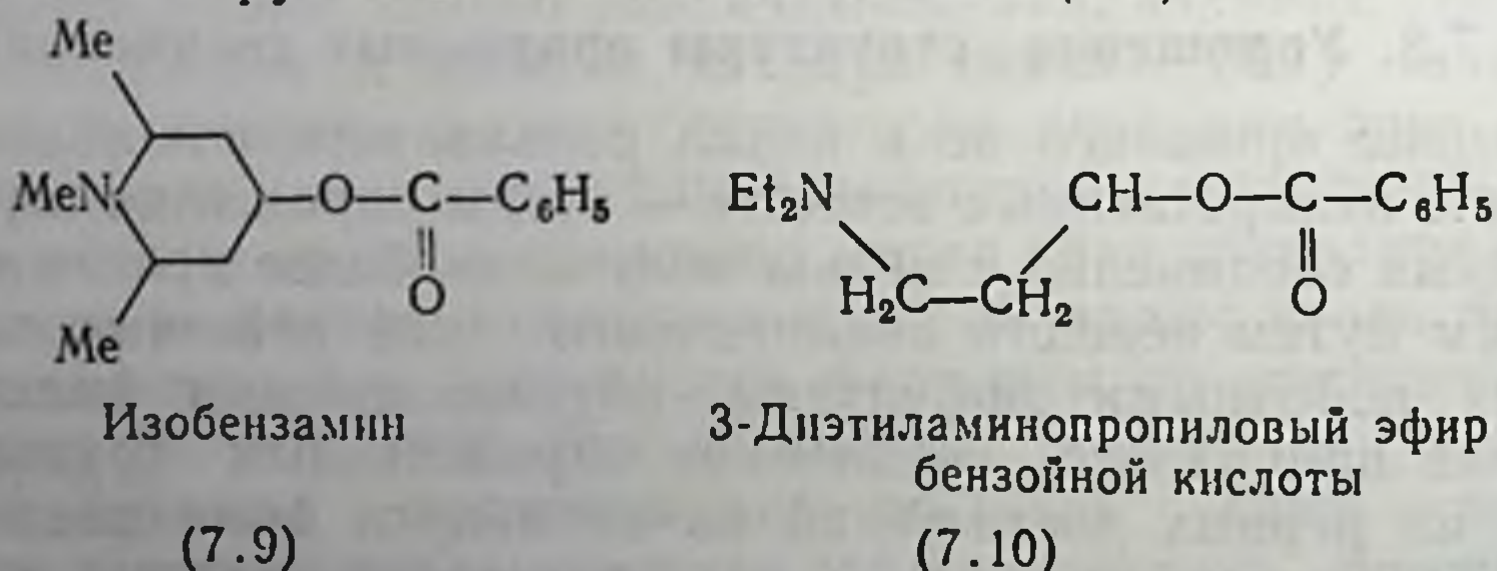
Первым достижением при модификации структуры алкалоидов, одновременно удовлетворяющим требования промышленности и клиники, стало создание местного анестетика новокаина (7.8) в результате упрощения структуры кокаина (7.7)

[Einhorn, 1905]. Новокаин в отличие от кокаина не проникает через слизистые, но зато его действие не сопровождается побочными эффектами, характерными для кокаина. Новокаин сразу же получил широкое распространение в стоматологии и применяется до настоящего времени.



7.3.1. Модификация молекулы кокаина

Основополагающий принцип модификации структуры алкалоидов состоит в раскрытии насыщенного гетероциклического кольца, что очень незначительно сказывается на физических и химических свойствах соединений. Так, в кокаине (7.7) две третичные аминогруппы входят в состав двух насыщенных циклов, в одном из которых содержится бензоилированный спиртовой гидроксил. Раскрытием одного из циклов кокаин был превращен в изомер бензамина (7.9), также обладающего местноанестезирующим действием. Размыкание второго насыщенного цикла привело к получению 3-диэтиламинопропилового эфира бензойной кислоты (7.10). Из-за отсутствия метоксикарбонильной группы основность эфира (7.10) выше, чем у кокаина. Ее удалось снизить уменьшением числа метиленовых групп между атомами азота и кислорода, восстановив таким образом способность соединения проникать через плазматические мембраны нервных клеток. При дальнейшем изменении структуры был получен новокаин: для достижения нужного соотношения гидрофильных и липофильных свойств была дополнительно введена аминогруппа в бензольное кольцо (7.8).

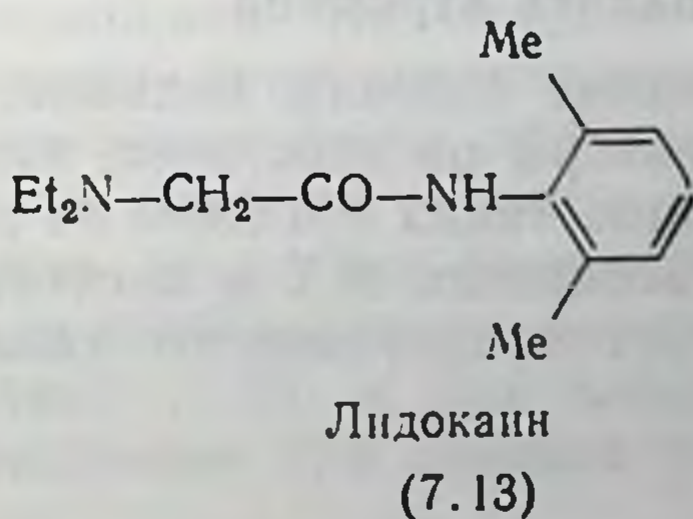
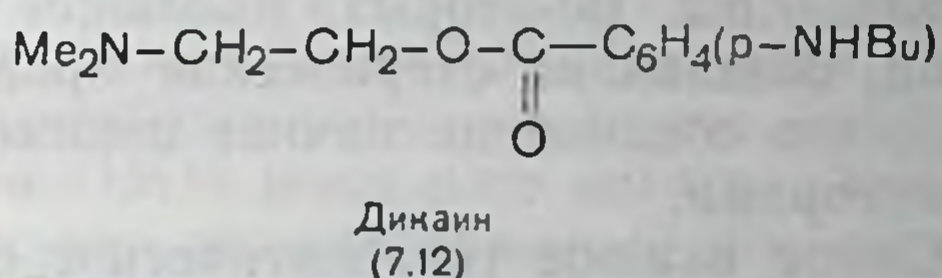
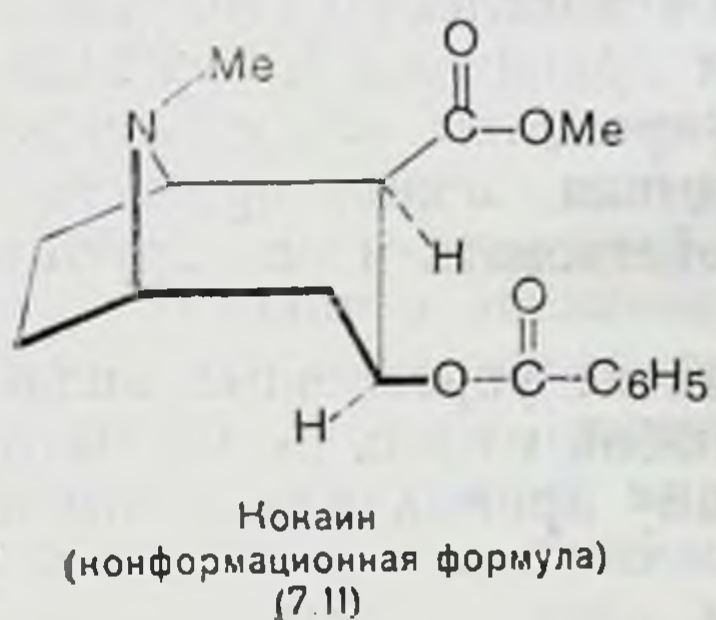


В настоящее время известно [Sinnema et al., 1968], что молекула кокаина (7.11) имеет жесткую трехмерную конфигурацию¹, тогда как в молекуле новокаина (7.8) свободное вра-

¹ Циклические структуры, имеющие каждую вторую связь двойную, — плоские и жесткие (например, бензол). Насыщенное кольцо без двойных связей (кокаин) — трехмерное и относительно жесткое. Алифатические молекулы (этанол) — трехмерные и гибкие.

щение вокруг простых связей позволяет лекарственному веществу достигать лучшего соответствия с рецептором.

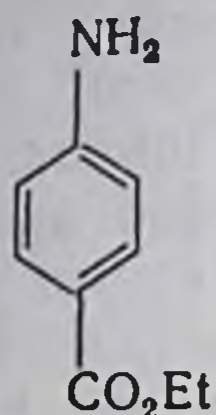
Дальнейшей модификацией молекулы новокаина были получены соединения, способные легко проникать через слизистые. Перестановка липофильных групп привела к широко используемому местному анестетику дикаину (7.12) [об аналогах новокаина см. обзор Baglow, 1968]. В настоящее время установлено, что огромное число химических веществ обладает местно-анестезирующим действием. Сложноэфирная группа в молекуле новокаина может быть заменена карбоксамидной группой или даже «перевернутой» амидной группой, как, например, в лидокаине. Характерная черта сложных эфиров — это их способность легко расщепляться под действием эстераз сыворотки, поэтому продолжительность анестезии является самоконтролируемой; при необходимости же продления действия анестетика следует предпочесть препараты амидного типа. В последнее время лидокаин нашел самое широкое применение при анестезии слизистых и в стоматологии.



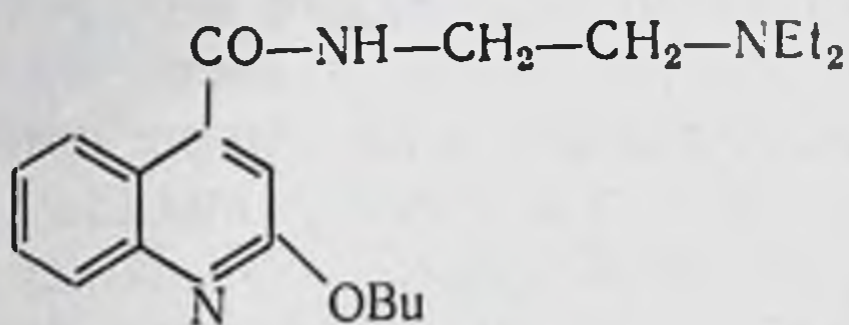
Одним из самых первых упрощенных аналогов кокаина является анестезин (этиловый эфир пара-аминобензойной кислоты) (7.14), имеющий простое строение. Из-за низкой растворимости этот препарат не пригоден для инъекционного введения и его применяют с целью анестезии воспаленных участков в составе присыпок или в виде масляных растворов. По-видимому, обезболивающее действие анестезина очень слабое, так как при физиологических значениях pH он не ионизируется (разд. 10.5).

Еще один местный анестетик амидного типа совкаин (7.15) — N-(2-диэтиламино) этиламид-2-бутоксихинолин-4-карбоно-

вой кислоты (ср. с лидокаином), часто используют для спинно-мозговой анестезии.



Анестезин
(7.14)



Совкаин
(7.15)

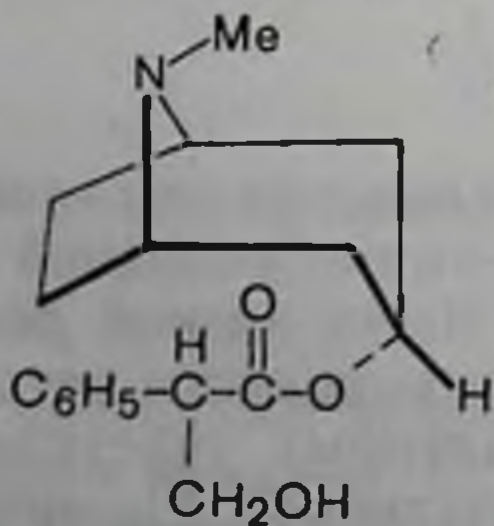
7.3.2. Некоторые общие замечания об упрощении структуры

Переходя к другим способам упрощения молекул природных соединений, следует подчеркнуть два важных обстоятельства. Во-первых, упрощаемое природное соединение почти всегда является антагонистом. Поэтому не следует слишком упрощать молекулу, так как это может привести к появлению агонистического действия, что следует из общих принципов, изложенных в разд. 7.5.2. Во-вторых, излишнее упрощение с удалением групп, создающих стерические препятствия, может привести к тому, что соединение начнет взаимодействовать и с другими рецепторами.

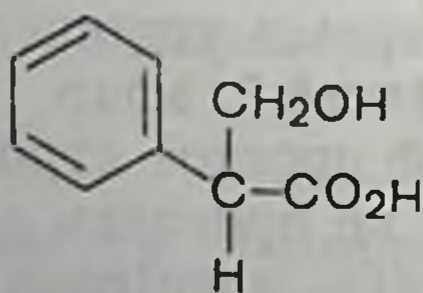
Самое важное терапевтическое отличие упрощенных аналогов кокаина заключается в том, что любой из них не вызывает в отличие от кокаина эйфории и поэтому привыкания к ним не вырабатывается.

7.3.3. Упрощенные аналоги атропина

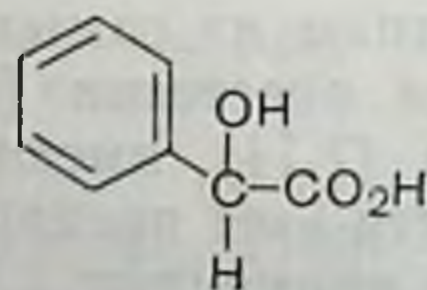
Создавая упрощенные аналоги кокаина, исследователи не знали, на какие рецепторы он действует, что затрудняло их работу. В случае атропина таких проблем не возникало; известно, что он является антагонистом АХ в постганглионарных рецепторах и препаратом антиму斯卡ринового типа.



Атропин
(конформационная формула)
(7.16)



Троповая кислота
(7.17)



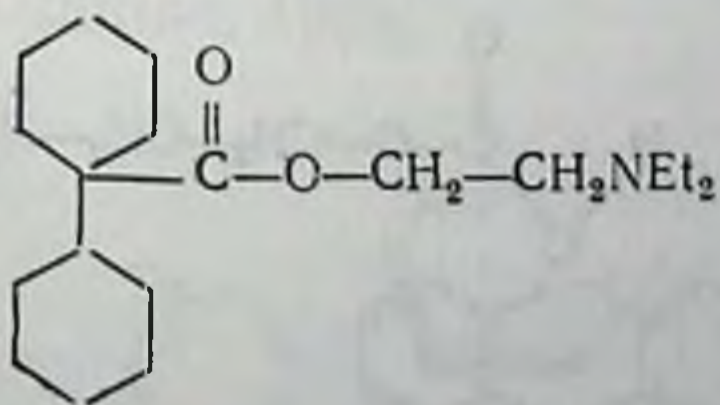
Миндальная кислота
(7.18)

В начале нашего века было установлено, что в молекулу атропина (D, L-гиосциамина) (7.16) и в молекулу кокаина

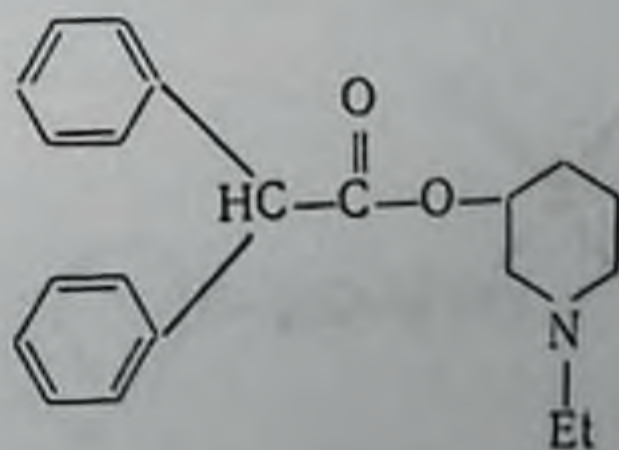
входит циклическая система тропина, однако она присутствует в них в разных конформациях, что ясно видно при сравнении формул (7.11) и (7.16) [Fodor, 1960]. Были предприняты попытки получить простейший аналог, проявляющий типичное анти-мускариновое действие в отдельных органах. Это позволило бы устранить неприятные побочные эффекты препарата: потерю зрительной аккомодации, сухость во рту, затрудненность мочеиспускания, а у легковозбудимых больных — стимуляцию ЦНС, приводящую к бессоннице, галлюцинациям, двигательному и психическому возбуждению. При этом, как и в случае кокаина, нужно было создать серию таких препаратов, каждый из которых имел бы свое назначение и показания к применению.

Достаточно быстро было установлено, что любое упрощение ацильного остатка троповой кислоты (7.17) снижает активность. Заменой остатка троповой кислоты остатком миндальной был получен гомотропин — препарат, вызывающий кратковременный паралич аккомодационной мышцы, удобный при офтальмологических операциях.

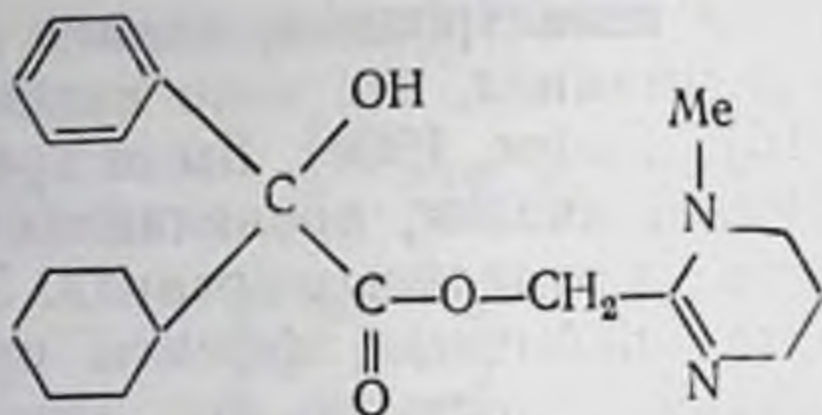
При дальнейших модификациях была разомкнута бициклическая система и, как и в случае кокаина, упрощена до диэтиламиноэтанола, являющегося простым производным холина и входящего в состав молекулы новокаина (7.8). При этом у соединения появилось местноанестезирующее действие, которое было устранено увеличением ОММ ацильного остатка. Так появился лекарственный препарат дицикловерин (7.19), широко применяемый для снятия спазмов и снижения повышенной подвижности толстой кишки. В дицикловерине ацильный остаток представлен дициклогексановой кислотой, однако можно также вводить остатки дифенил- и фенилуксусной кислоты и родственных им соединений. На гладкие мышцы кишечника дицикловерин оказывает антиму斯卡риновое действие, но обладает и прямым спазмолитическим эффектом на мышцу. Для получения заменителя атропина с чистой антиму斯卡риновой активностью пришлось несколько усложнить аминспиртовой компонент. Так были синтезированы пиперидолат (3-дифенилацетил-1-этилпиперидин) (7.20) и родственный ему оксифенциклимин (7.21), применяемые при спазмах органов брюшной полости.



Дицикловерин
(7.19)



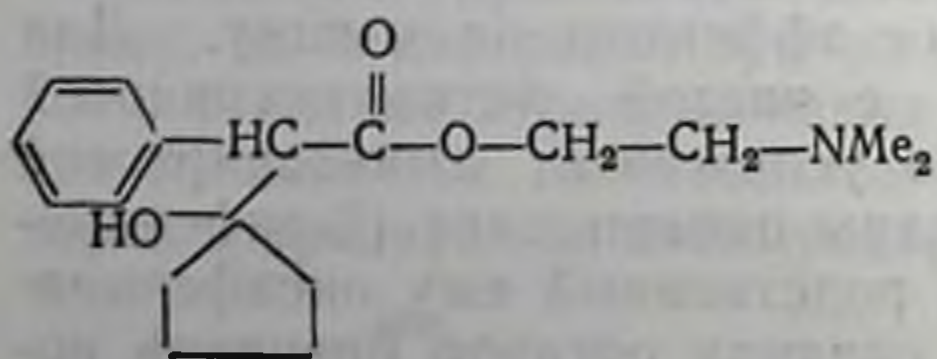
Пиперидолат
(7.20)



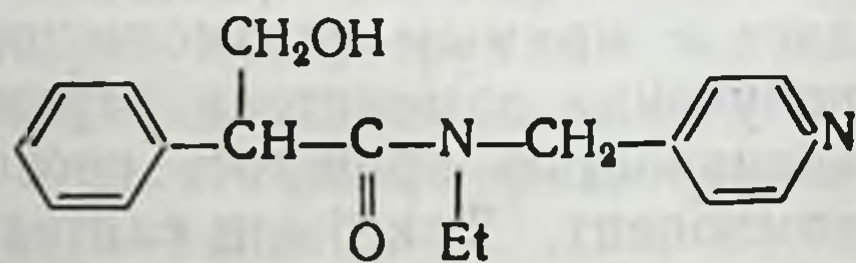
Оксифенциклимин
(7.21)

Существуют два препарата, избирательно вызывающих расширение зрачка — тропикамид (7.23) и циклопентолат (7.22). Они слабее гоматропина и не вызывают циклоплегии. Циклодол (7.24) — упрощенный аналог атропина, применяют для лечения ряда заболеваний ЦНС, например, совместно с леводофой при паркинсонизме.

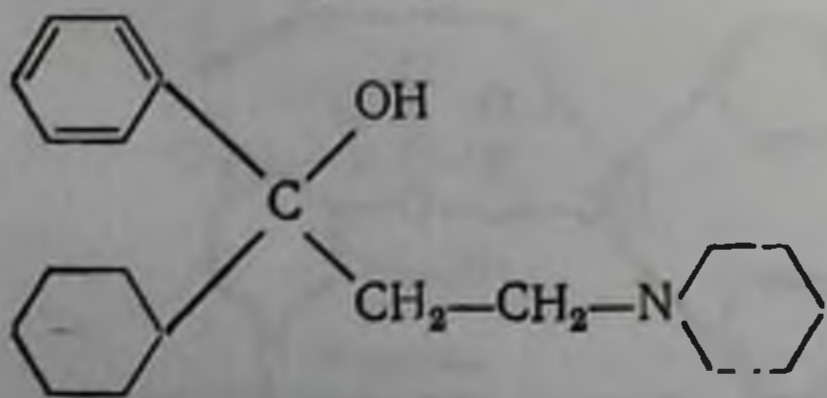
Предельной модификацией молекулы атропина является кватернизация атома азота гетероцикла с целью получения соединения, обладающего ганглиоблокирующим действием (в дополнение к антимускариновому), не проявляющимся при применении низких доз препарата [Bagret et al., 1953]. Типичный представитель соединений этой группы пропантелин (7.25) (диизопропилметил-2-ксантен-9-карбонилоксиэтиламмоний - бромид) — сильнодействующий лекарственный препарат, применяемый при заболеваниях, сопровождающихся спазмами гладкомышечных органов. Все эти упрощенные аналоги атропина созданы на основе принципов, изложенных выше; цель модификаций состояла в изменении распределения препарата по органам и тканям.



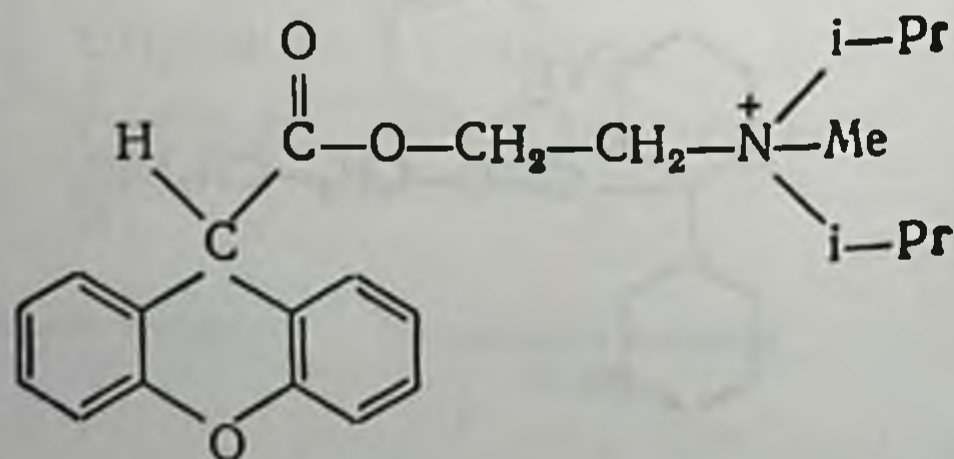
Циклопентолат
(7.22)



Тропикамид
(7.23)



Циклодол
(7.24)



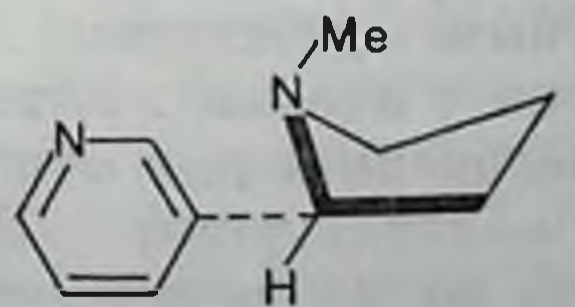
Пропантелин
(7.25)

Таблица 7.1. Лекарственные вещества, действующие на периферическую нервную систему

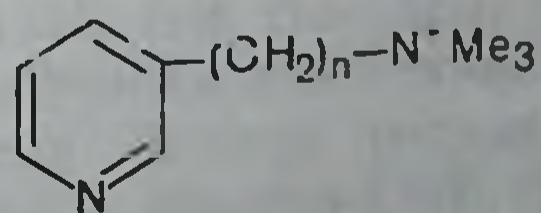
Синапсы	Стимуляторы			
	Природный медиатор	Аналог природного медиатора (миметик)	Вещество, предохраняющее медиатор от разрушения	Антагонист природного медиатора
1. Произвольная мышца (нервно-мышечное соединение)	АХ (7.4)	Никотин (7.26)	Физостигмин (2.8)	Тубокурарин (2.6)
2. Ганглионарные (симпатический и парасимпатический)	АХ	Никотин	Физостигмин	Гексаметоний (7.32)
3. Постганглионарные нервные окончания (парасимпатические)	АХ	Мускарин (7.50)	Физостигмин	Атропин (7.16)
4. Постганглионарные нервные окончания (симпатические)	Норадреналин (7.5)	Мезатон (7.51)	См. текст	Анаприлин (12.56)

7.3.4. Упрощенные аналоги никотина

Никотин — один из немногих алкалоидов, обладающих свойствами агониста. Он действует аналогично АХ в ганглионарных и произвольных нервно-мышечных синапсах (табл. 7.1). Никотин влияет на ЦНС, причем его воздействие одновременно эйфорическое и наркотическое (как при курении сигарет); поэтому никотин не применяют в медицине, но используют в сельском хозяйстве как инсектицид и фумигант. Природу и силу биологического действия никотина трудно изменить кватернизацией (дальнейшим метилированием) атома азота насыщенного (пирролидинового) цикла. Аналоги с раскрытым насыщенным циклом в виде четвертичных солей обладают типичной никотиноподобной активностью, например, в нервно-мышечном синапсе (опыты проводились на крысах и цыплятах). Соединение (7.27, $n=1$) столь же активно, как и сам никотин, а эффект соединения (7.27, $n=2$) в 2,6 раза выше, чем у никотина [Baglow, Hamilton, 1962].



Никотин
(конформационная формула)
(7.26)



Упрощенный аналог никотина
(7.27)

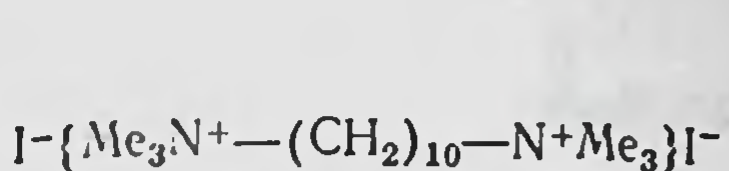
7.3.5. Упрощенные аналоги тубокурарина

Первые попытки упростить молекулу тубокурарина привели к созданию ряда полезных лекарственных препаратов. Различные алкалоиды при кватернизации приобретают курареподобные свойства. Даже простые алифатические четвертичные аммониевые основания, имеющие хотя бы одну метильную группу, обладают курареподобным действием. Однако для применения в хирургической практике их активность недостаточно высока. Ing (1936) пришел к выводу о том, что тубокурарин (2.6) и аналогично действующие четвертичные амины блокируют действие АХ на концевую пластинку в нервно-мышечном соединении.

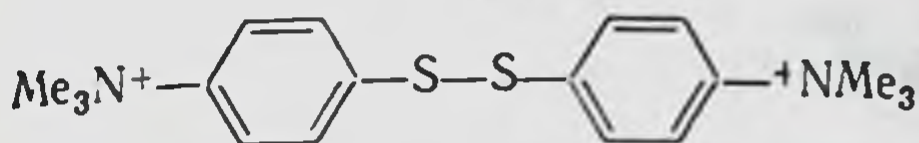
В 1948 г. было установлено, что вещества, содержащие два или более четвертичных атома азота, например декаметоний [1,10-бис(триметиламмоний)декан-диодид] (7.28), вызывают нервно-мышечный блок [Paton, Zaimis, 1948; Baglow, Ing, 1948]. Тщательные исследования показали, что эти соединения в первый момент действуют подобно АХ и вызывают деполяризацию, которую можно зафиксировать с помощью неполяризующихся серебряных электродов [Biggs, Paton, 1951], и только во второй фазе они, подобно тубокурарину, длительно блокируют действие АХ. Подобным образом действует и суксаметоний (7.29) [Bovet, Bovet-Nitti, 1949]. Эти лекарственные вещества вызывают слабую мышечную контрактуру с последующей длительной релаксацией, обусловленной тем, что они прочно адсорбируются рецептором, препятствуя связыванию с рецептором выделяющегося АХ. В течение ряда лет при кратковременной анестезии в качестве миорелаксанта применяли декаметоний, позже предпочтение было отдано суксаметонию, так как из-за легкости гидролиза эстеразами сыворотки крови большого действие препарата быстро прекращается. Антидоты этих деполяризующих курареподобных агентов пока не известны, тогда как действие тубокурарина или галламина легко снимается прозеринном. Еще одним агентом «самопрекращающегося» действия является дисульфид ИЭМ-632 (7.30), дисульфидная связь которого легко разрывается под действием цистеина [Хромов-Борисов, Гмиро, Магазаник, 1969]. Инактивация молекулы миорелаксанта ИЭМ-632 возможна также под действием и других восстановителей, способных разрывать —S—S—связь.

Одно из самых простых по структуре соединений, обладающих истинным тубокурариноподобным действием, галламин (7.31), не содержит метильных групп у атомов азота. В хирургической практике в качестве миорелаксанта для общей анестезии используют другой препарат — атракуриум (3.19) (см. разд. 3.6). Декаметоний в настоящее время не применяют.

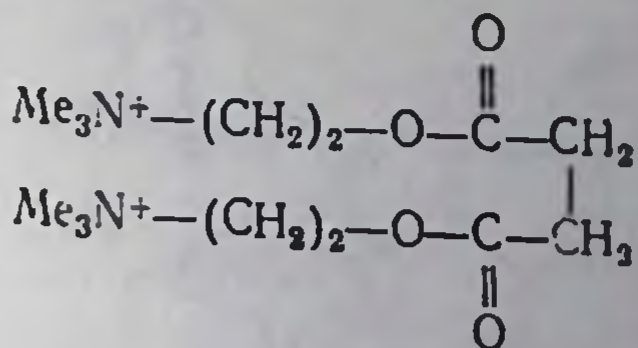
При исследовании гомологической серии бисониевых соединений, к которым относится и декаметоний, было показано, что его низший аналог гексаметоний (7.32) способен блокировать рецепторы АХ в автономных ганглиях, что отличает его



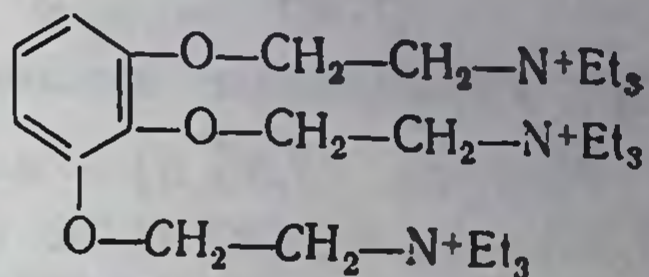
Декаметоний йодид
(7.28)



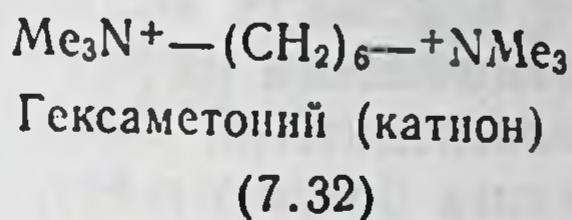
ИЭМ-632
(7.30)



Суксаметоний (катион)
(7.29)



Галламин
(7.31)

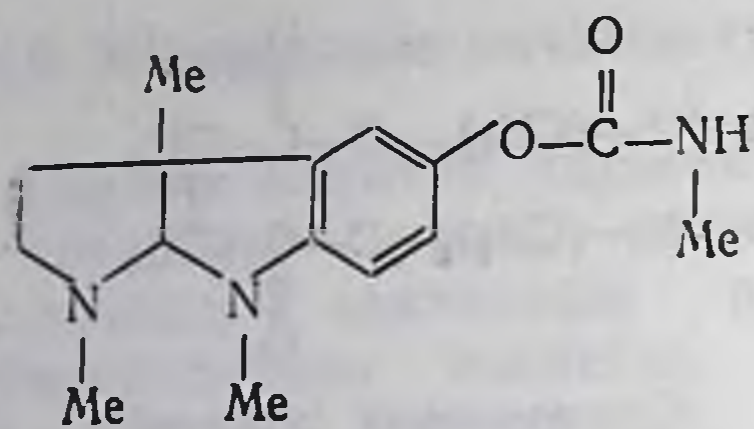


от тубокурарина, у которого это свойство выражено слабо. Поначалу эти бисониевые ганглиоблокирующие препараты использовали в клинике для лечения гипертонической болезни, однако в настоящее время врачи предпочитают лекарственные вещества, блокирующие симпатические нервные окончания (например, анаприлин), обладающие меньшими побочными эффектами.

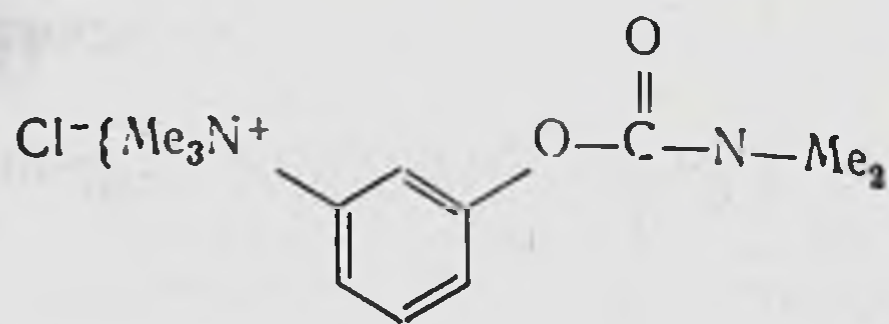
7.3.6. Упрощенные аналоги физостигмина

Алкалоид физостигмин, известный также под названием эзерин (7.33), блокирует фермент АХЭ (разд. 12.5) в синапсах типа нерв — нерв и нерв — мышца (см. табл. 7.1). Stedman (1926) пришел к заключению, что действие физостигмина обусловлено наличием метилкарбаматной группы и синтезировал простые фениловые эфиры моно- и диметилкарбаминовой кислоты. При этом было установлено, что для проявления активности в соединении необходимо присутствие основной группы, ионизирующейся при рН 7, поэтому в молекулу была введена четвертичная аммониевая группа. В результате этой работы в медицинскую практику вошел прозерин (7.34), заменивший физостигмин [Aeschlimann, Reinegt, 1931]. Прозерин лишен некоторых побочных эффектов физостигмина и является слабым агонистом АХ. Его широко применяют при миастении гравис — заболевания, характеризующегося мышечной слабостью, а также же при послеоперационной атонии мочевого пузыря.

Многие более простые карбаматы и фосфорорганические соединения, обладающие способностью блокировать АХЭ, применяют при глаукоме, а также в качестве антигельминтных средств и инсектицидов (разд. 13.3).



Физостигмин
(7.33)



Прозерин
(7.34)

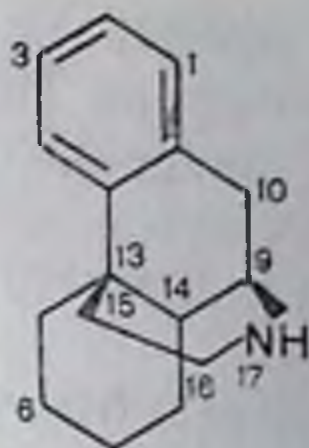
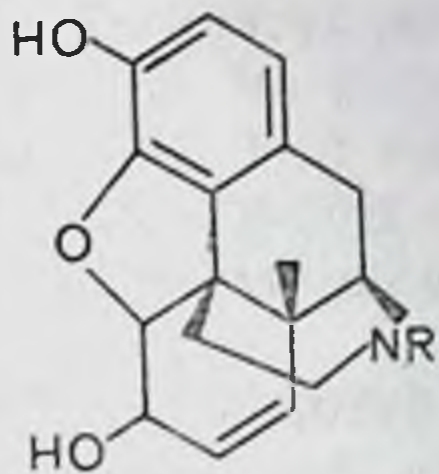
7.3.7. Упрощенные аналоги морфина

Морфин (7.35, а) — алкалоид, имеющий скелет морфинана (7.36), его молекула по форме напоминает сандалии с ремнем, роль которого играет пиперидиновый цикл. В форме (7.36) циклическая система фенантрена (три конденсированных шестиугольника) помещена в плоскость кольца, в то время как пиперидиновый цикл, отмеченный цифрами 9, 13, 14, 15, 16, 17, направлен в сторону наблюдателя. Попытки получить простой аналог морфина оставались безрезультатными вплоть до 1938 г., когда Eisleb и Schaumann при поисках спазмолитиков получили лидол (7.37). У молекул морфина и лидола есть две общие черты: пиперидиновый цикл и четвертичный атом углерода в положении 13 в ядре морфинана.

Обезболивающий эффект лидола в десять раз ниже, чем у морфина, но в отличие от последнего лидол хорошо всасывается при пероральном введении. Он не обладает противокашлевыми свойствами морфина и не вызывает запора. В настоящее время лидол применяют при родах, так как в обычных дозах он не влияет на дыхание плода, сохраняя анальгезирующие свойства.

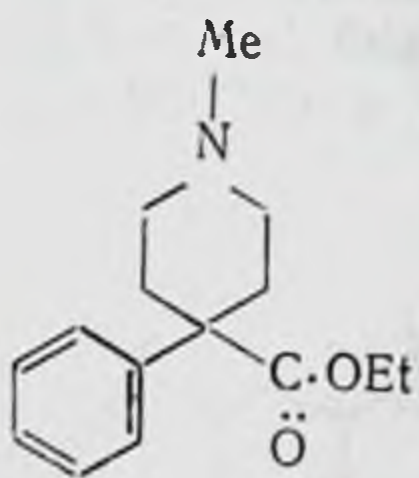
Создание лидола показало, что молекула морфина может быть значительно упрощена без потери биологического действия; в частности, традиционным принципом упрощения является закрытие насыщенного гетероциклического кольца. Во время второй мировой войны был создан метадон (7.38), негетероциклический анальгетик, столь же эффективный, как и морфин, при парентеральном введении, но превосходящий его по активности при пероральном введении. От морфина он отличается тем, что не подавляет диарею. Метадон и сейчас успешно используют в качестве болеутоляющего средства и, кроме того, его применяют при привыкании к героину, несмотря на то что он сам по себе также является наркотиком. История открытия синтетических опиоидных средств описана Bergel и Morrison (1948).

Успех метадона инициировал поиски упрощенных аналогов кодеина (3-метилового эфира морфина), являющегося обезболивающим средством, средним по действию между морфином и аспирином. Он в двенадцать раз менее активен, чем морфин, при системном введении; его часто назначают для смягчения кашля и при висцералгиях. Пропоксифен (7.39) широко используется в США как заменитель кодеина.

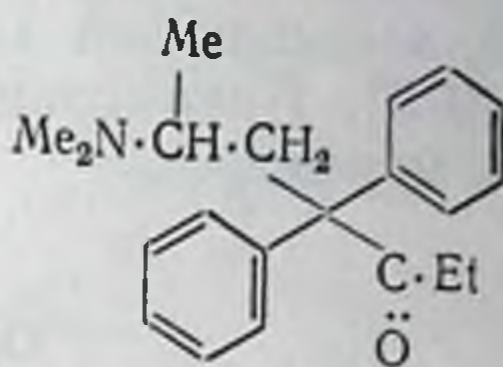


а) Морфин ($R = -Me$)
 б) Налорфин ($R = -CH_2CH=CH_2$)
 (7.35)

Морфинан
 (7.36)



Лидол
 (7.37)



Метадон
 (7.38)

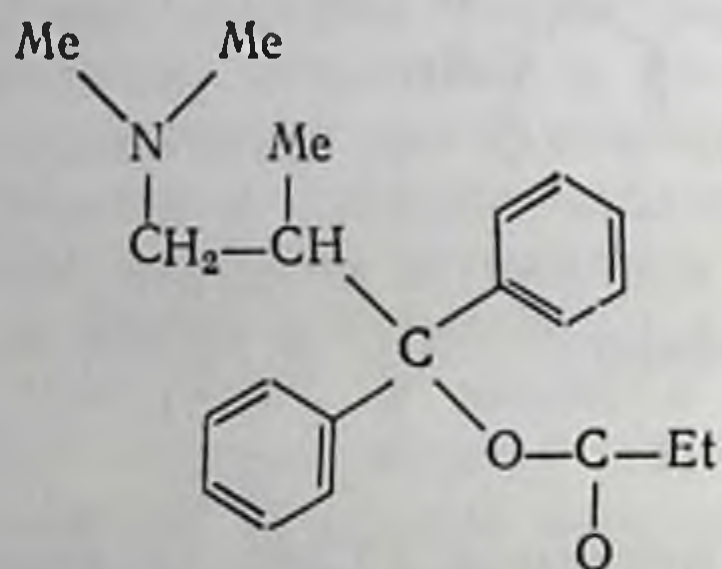
Следует отметить, что молекула метадона (7.38) не имеет ничего общего с молекулой морфина, кроме четвертичного атома углерода. Но даже эта особенность не существенна для опиоидной активности, поскольку четвертичный атом углерода может быть заменен третичным атомом азота (связанным с бензольным кольцом). Примером может служить этонитазин (7.40), обладающий морфиноподобным анальгезирующим действием, но в 1500 раз более активный [Cross, Turgian, 1957] и также представляющий собой сильный наркотик.

Для разделения обезболивающих и наркотических свойств морфина важным шагом было создание налорфина — N-аллильного аналога морфина (аллилнорморфин) (7.35, б). Этот препарат оказался эффективным обезболивающим средством, не вызывающим привыкания, но не получил широкого применения в клинике из-за стимулирующего действия на ЦНС: оказалось, что он действует как антагонист при отравлениях морфином. Такое парадоксальное агонист-антагонистическое действие налорфина было выявлено в 1975 г. одновременно с открытием агонистического действия морфина на рецепторы пептидов (разд. 12.8). Было установлено, что существуют три вида пептидных рецепторов, причем морфин и налорфин являются агонистами только двух из них, а за обезболивающее действие ответственен один тип рецепторов.

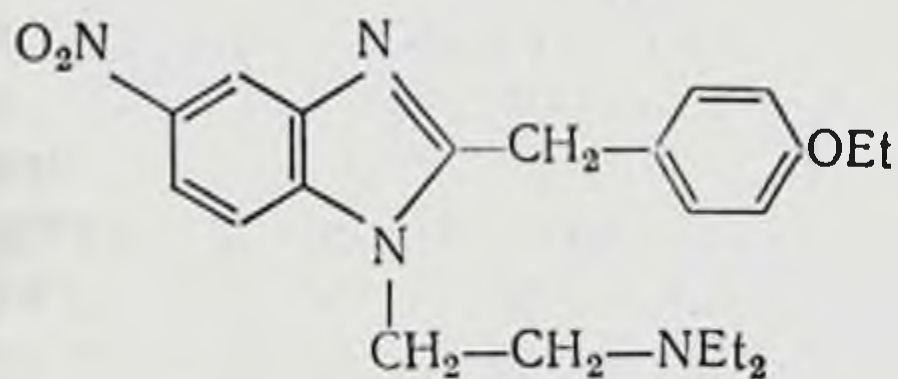
Введение аллильной группы в качестве заместителя к атому азота в цикле устранило эйфорическое действие вещества (необходимого условия возникновения наркомании) — так был получен пентазоцин [Bellville, Forrest, 1968]. Обезболивающее

действие этого препарата — N-метилбутенил-2'-гидрокси-5,9-диметил-6,7-бензоморфана [бензоморфан см. формулу (7.41)] при парентеральном введении примерно в 4 раза слабее, чем у морфина, что связано с возможной стимуляцией ЦНС (об этом свидетельствует, например, появление неконтролируемых, «бегущих» мыслей).

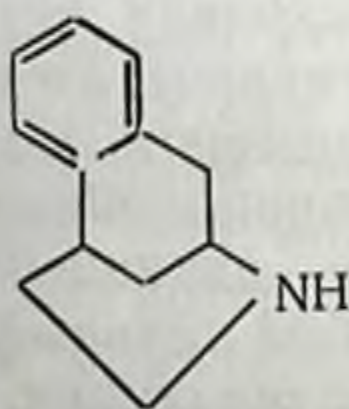
После налорфина был создан буторфанол, 9-циклобутилметил-морфинан-1,14-диол [морфинан см. (7.36)], обезболивающий эффект которого примерно в 5 раз сильнее, чем у морфина, при одинаковой его продолжительности. Действие буторфанола на ЦНС аналогично (но проявляется слабее) таковому пентазоцину в дозе, вызывающей такой же обезболивающий эффект [Dobkin, 1975]. Привыкание к буторфанолу развивается медленнее, чем к морфину.



Пропоксифен
(7.39)



Этонитазин
(7.40)



Бензоморфин
(7.41)

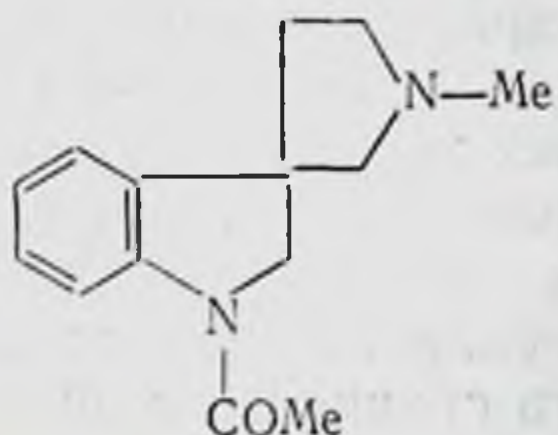
Декстрометорфан, (+)-N-метил-3-метоксиморфинан, упрощенный кодеин — широко применяемое средство от кашля. Он не обладает ни наркотическим, ни обезболивающим эффектами. Его левовращающий изомер, хотя и не применяется в медицине, обладает такими же обезболивающими и эйфорическими свойствами, как и морфин. Создание декстрометорфана завершило большую серию исследований, начатых Гриве [Grawe, 1947], показавшего что среди аналогов морфинана могут быть найдены эффективные обезболивающие средства.

7.3.8. Упрощенные аналоги других соединений

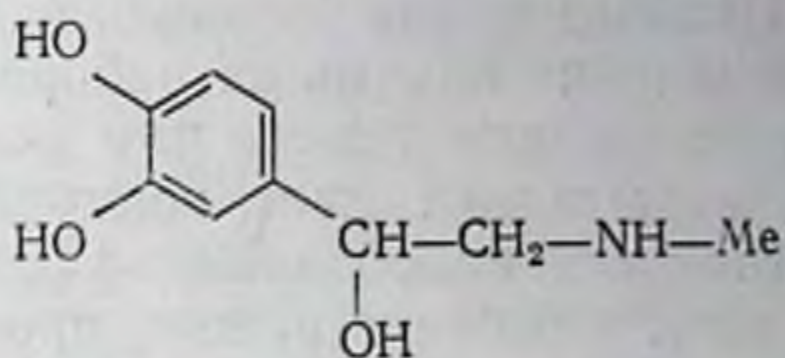
Энкефалины — пример природных упрощенных аналогов эндорфина, обладающие фармакологическими свойствами последних (разд. 12.8). Синтезированы некоторые укороченные анало-

ги биологически активных полипептидов (вещество Р). Для стимуляции желудочной секреции вместо природного гептадекапептида, гастрин, применяют синтетический пентапептид. Кроме того, путем упрощения природного нонапептида получено сильнодействующее антигипертензивное средство — моноамид каптоприл (разд. 9.4).

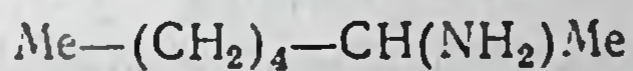
Судорожный эффект алкалоида стрихнина обусловлен антагонистическим действием на рецепторы глицина. В состав молекулы стрихнина входит семь циклов, но таким же действием обладает и фрагмент, содержащий только три цикла (7.42) [Herghenson et al., 1977].



Упрощенный стрихнин
(7.42)



Адреналин
(7.43)



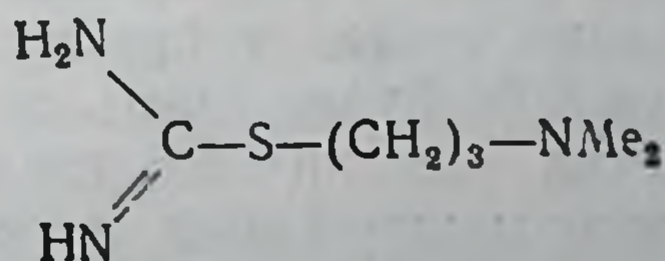
Туаминогептан
(7.44)

При удалении двух циклов из молекулы алкалоида хинина сохраняется присущая ему высокая противомаларийная активность (разд. 10.3.5).

Отсутствие лактонового цикла в сердечных гликозидах типа дигитоксина, содержащего в молекуле четыре цикла, не снижает их активности (разд. 14.1).

При упрощении молекулы женского полового гормона эстрадиола (12.32) получен широко применяемый диэтилстильбэстрол (12.31) (разд. 9.4.2).

При удалении бензольного кольца из молекулы адреналина (7.43) получен симпатолитик туаминогептан (7.44), проявляющий высокую альфа-адренергическую активность. Он применяется при ринитах, но не обладает возбуждающим действием на ЦНС.



Димаприт
(7.45)

Замена имидазольного цикла в молекуле гистамина (7.6) изотиомочевинной привела к созданию димаприта (7.45) — высокоизбирательного агониста H-2 гистаминовых рецепторов же-

лудка. Его активность лишь в 5 раз ниже, чем у гистамина [Durant, Ganellin, Parsons, 1977]; используется в качестве диагностического средства для стимуляции желудочной секреции. Гомологи димаприта, отличающиеся числом метиленовых групп, практически не активны.

7.4. Значение количественных подходов

Стандартизация условий проведения экспериментов, стремление к получению количественных данных, применение строгих статистических методов при обработке результатов за последние четыре десятилетия обеспечили фармакодинамике прочную базу. Использование экспериментальных и контрольных групп при проведении опытов на лабораторных животных, с последующим выполнением тех же или эквивалентных тестов при клинических испытаниях дает возможность достоверно оценивать эффективность и побочные эффекты лекарственных веществ и, кроме того, что очень важно, проводить сравнение с препаратами, уже завоевавшими всеобщее признание.

Не менее революционной для количественной фармакодинамики была мысль о необходимости учитывать соотношение размеров биологических объектов, высказанная А. Дж. Кларком (Лондон) в его книге «Клеточные механизмы действия лекарственных веществ» [Clark, 1933]. Чтобы подчеркнуть этот аспект фармакодинамики, на рис. 5.1 приведена мнемоническая диаграмма. На ней представлены типичные представители: млекопитающих — собака, насекомых — блоха, которая в 1000 раз меньше собаки, типичный микроб — стрептококк, размеры которого еще в 1000 раз меньше, и, наконец, типичная биологически активная молекула — ПАБ, в свою очередь в 1000 раз меньшая, чем микроб. Таким образом, на этой диаграмме объекты расставлены в ряд по шкале размеров, составляющей 10^{12} (миллион миллионов) относительных единиц.

Длина молекулы мышечного белка миозина в развернутом виде составляет примерно 8 нм. Ее можно сравнить с длиной мышечной клетки (около 60 мкм). Если построить молекулярную модель любого из фармакодинамических препаратов, ОММ которых обычно 150—300, из шариков — атомов, для которых 0,1 нм будет соответствовать 1 см, то окажется, что длина молекулы этого соединения составит примерно 5 см. Молекула белка в этом же масштабе будет иметь около 9 м в длину, а длина мышечной клетки составит 5,5 км при ширине 180 м. Сравнивая эти величины между собой, легко представить, какое множество бесполезных столкновений должно произойти, прежде чем молекула лекарственного вещества достигнет нужного рецептора, при этом вероятность его попадания в «места потерь» (определение см. в разд. 3.4) значительно выше. Тем не менее молекулы лекарственного вещества в конце концов достигают именно специфического рецептора. Среди различных

лекарственных веществ особенно выделяются такие природные агонисты, как адреналин, гистамин и АХ, проявляющие на изолированных органах сильное биологическое действие даже при разбавлениях 10^{-9} М [Clark, 1933].

В одном микрограмме лекарственного вещества содержится огромное число молекул — три тысячи миллионов миллионов, если принять его ОММ равной примерно 200. С другой стороны, для того чтобы покрыть поверхность стафилококка общей площадью около 2 мкм^2 молекулами лекарственного вещества, их нужно не более 4 000 000. Однако для фармакодинамических целей совсем необязательно покрывать всю поверхность клетки. Действительно, для подавления деятельности мышцы сердца или желудка лягушки или матки крысы молекул АХ, адреналина или гистамина нужно всего лишь 10^{14} на 1 г сырой мышцы. Такое количество вещества может покрыть лишь 1 см^2 поверхности, тогда как площадь всех клеток 1 г сердца лягушки составляет 6000 см^2 . Следовательно, для проявления биологической активности достаточно уже такого количества этих гормонов, при котором они покроют всего $1/6000$ поверхности клеток. Эти данные явились первыми доказательствами взаимодействия указанных веществ со строго специфичными рецепторами, занимающими лишь ничтожную долю общей поверхности клеток [Clark, 1933].

Подобными простыми расчетами целесообразно пользоваться при оценке экспериментальных данных для того, чтобы представить себе соотношение лекарственного вещества и биологического объекта. Например, минимальная эффективная концентрация АХ, как было обнаружено в опытах на сердце лягушки, составляет 5×10^{-19} , т. е. всего 330 молекул в 1 мл [Boyd, Pathak, 1965]. Очевидно, эта величина близка к предельной физиологической чувствительности. Основатель гомеопатии Г. Ганеман утверждал, что терапевтический эффект разнообразных лекарственных средств проявляется при разбавлениях $1:10^{60}$, что равнозначно нахождению одной молекулы вещества в сфере диаметром, равным орбите планеты Венера [Clark, 1933].

Примером усовершенствования тест-объектов, направленного на избегание большинства «мест потерь» лекарственного вещества, служит нервно-мышечное соединение. До недавнего времени его изучали на изолированных нервно-мышечных препаратах, содержащих большое количество весьма неоднородных мышечных и нервных клеток и посторонних структур. В 1957 г. была установлена возможность ионофоретического подведения лекарственного вещества от точечного источника на двигательную концевую пластинку портняжной мышцы лягушки. Такое введение АХ вызывает кратковременное изменение потенциала на несколько милливольт [del Castillo, Katz, 1957]. Эта модель оказалась наилучшей для установления корреляций структура-активность в ряду лекарственных веществ, действующих на нервно-мышечное соединение.

Развитие техники эксперимента позволяет устанавливать новые аспекты связи между структурой и биологической активностью лекарственных веществ. Например, Merritt и Putnam (1938), изучая вещества, способные подавлять электрогенные судороги, открыли новый противоэпилептический препарат фенитоин, в отличие от фенобарбитала не обладающий спотворным эффектом. Этот факт подтверждает необходимость применения различных физических измерений при проведении биологических экспериментов и поиске новых лекарственных средств (см. также разд. 6.2).

7.5. Механизм действия агонистов и антагонистов на рецепторы

Определение понятия «рецептор» см. разд. 2.1. Принято считать, что для большинства химиотерапевтических агентов наблюдаемая физиологическая реакция возникает сразу же после связывания агента с рецептором и продолжается все то время, которое агент остается на рецепторе (за исключением случаев, когда клетка погибает). Это применимо и к фармакодинамике. Механизм действия некоторых фармакодинамических лекарственных веществ, например фосфорорганических соединений, заключается в ингибировании определенных ферментов. При этом в ряде случаев идентифицируется атом, с которым при блокировании рецептора ковалентно связывается лекарственное вещество (разд. 13.3). Однако чаще всего связь между лекарственным веществом и рецептором не является ковалентной и поэтому взаимодействие между ними осуществляется в соответствии с законом действующих масс и может быть описано уравнениями, выведенными Ленгмюром для изотерм адсорбции (разд. 8.1) [Gaddum, 1926]. Во всех этих случаях реакция ткани определяется долей специфических рецепторных групп, занятых лекарственным веществом. Это так называемая «простая оккупационная теория», действие большинства антагонистов описывается с ее помощью довольно точно.

Однако действие агонистов — лекарственных веществ, активирующих рецепторы, значительно сложнее. Структурные требования к агонистам гораздо жестче, чем к антагонистам. Действие агонистов, как, впрочем, и действие других лекарственных веществ, всегда связано с высвобождением химической энергии, запасаемой в организме в виде макроэргических фосфатов.

7.5.1. Сравнение химической и электрической проводимости

Не менее 80% известных фармакодинамических агентов действуют исключительно на нерв или нервно-мышечное соединение. Большинству нервных клеток присущи определенные структурные особенности, позволяющие выделить три основные обла-

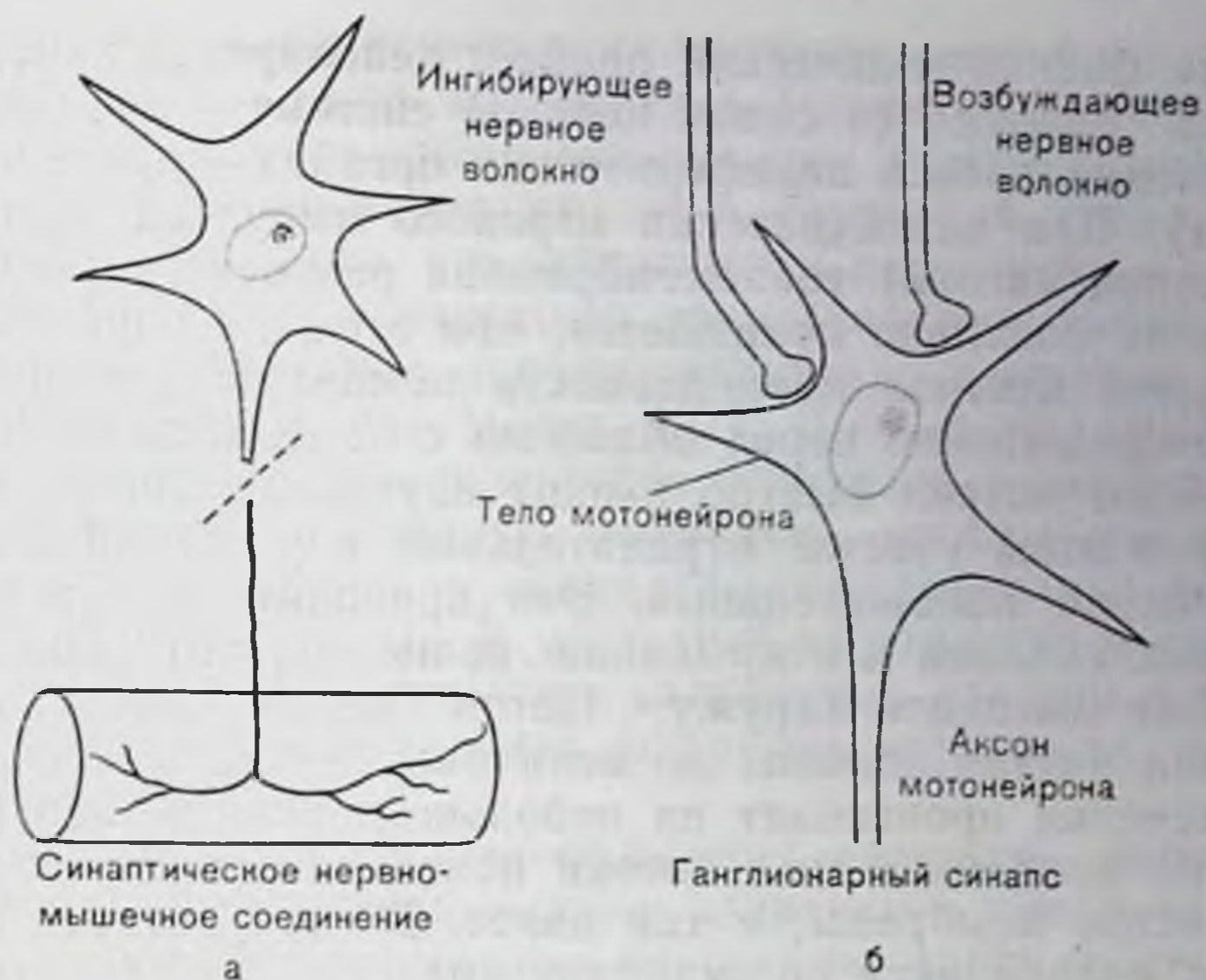


Рис. 7.1. Соединение, образованное: а) нервом и мышцей, б) тремя нервами.

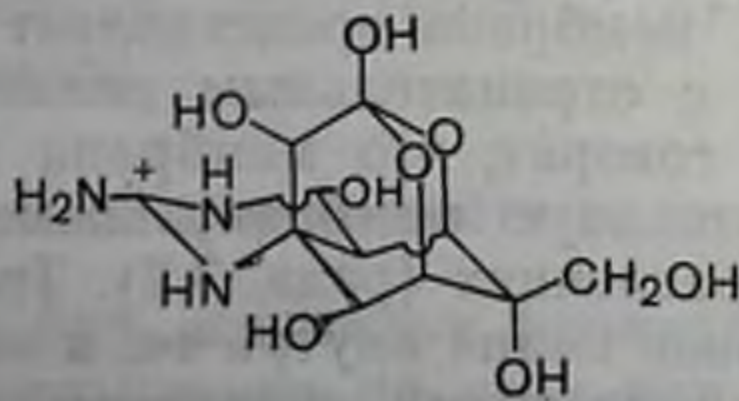
сти клетки: клеточное тело, дендриты и аксон. Обычно тело нейрона имеет сферическую или пирамидальную форму. Аксон отличается от дендритов не только строением, но и свойствами наружной мембраны и, как правило, длиннее и тоньше дендритов. В области синапса аксон расширяется, образуя на конце пресинаптическую бляшку, которая представляет собой передающую информацию часть контакта. Постсинаптическая мембрана, на которой расположены рецепторы, отделена от бляшки синаптической щелью, ширина которой обычно 20—40 нм. Скопление нейронов и нервных волокон могут образовывать нервные узлы — ганглии. На рис. 7.1 схематично представлены синапс нерв — нерв и нервно-мышечный синапс, в сущности подобные друг другу [Eccles, 1965; Katz, 1966].

В среде, окружающей нейрон, концентрация ионов натрия значительно выше, чем во внутренней, тогда как во внутренней среде значительно выше концентрация ионов калия. Благодаря различию концентраций ионов по разные стороны цитоплазматической мембраны в нервных и мышечных клетках обычно возникает отрицательный потенциал («потенциал покоя») величиной от 50 до 100 мВ (по сравнению с внешним, принимаемым за 0). Таким образом, мембрана представляет собой как бы миниатюрную батарею с отрицательным полюсом внутри. При снижении потенциала говорят, что мембрана деполяризуется. Через такую липопротеидную мембрану возможен активный транспорт в обоих направлениях (разд. 3.2). Транспорт ионов натрия из клетки и ионов калия внутрь ее, в направлении, противоположном электрохимическому градиенту этих ионов, осуществляет внутренний мембранный белок — Na^+/K^+ -АТФаза. Распространение нервного импульса по нервному волокну —

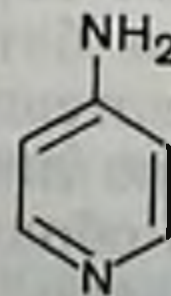
сложный физико-химический процесс деполяризации мембраны нервного волокна (в самой нервной системе — для двигательного волокна либо в периферических органах — для сенсорного волокна). При возникновении нервного импульса (например, в основании аксона) трансмембранная разность потенциалов в этом месте локально понижается, при этом на короткое время повышается местная проницаемость мембраны для ионов натрия непосредственно перед областью с изменившимся потенциалом. Ионы натрия быстро входят внутрь нервного волокна, изменяя в этом участке отрицательный внутренний потенциал мембраны на положительный. Это приводит к закрыванию натриевых каналов и открыванию калиевых, что позволяет ионам калия выходить наружу. Поток ионов восстанавливает потенциал внутри волокна до величины потенциала покоя. Все эти изменения происходят на небольшом участке нервного волокна, но вызванные ими потоки ионов деполяризуют следующий участок мембраны, и так далее. В результате нервный импульс, являющийся по существу кратковременным изменением мембранного потенциала («потенциала действия»), распространяется по волокну со скоростью, зависящей от диаметра волокна. Обычно скорость распространения нервного импульса изменяется в пределах от 0,1 до 100 м/сек⁻¹ [Hodgkin, 1964].

Позднее было показано, что катионные каналы гигантского аксона кальмара могут блокироваться ионами водорода. Исходя из величин напряжения, требуемого для преодоления этого блока, было рассчитано, что прохождение катиона натрия по натриевым каналам контролируется двумя кислотами с рK_a 4,6 и 5,8 соответственно [Wanke, Carbone, Testa, 1980].

Быстрый натриевый ток избирательно блокируется тетродотоксином (7.46) — сферической молекулой пергидрохиназолина, содержащей высокоосновную гуанидиновую группу, выступающую из нее наподобие языка. В природе это соединение встречается в некоторых видах рыб, амфибий и моллюсков. Перекрывая натриевый ток, тетродотоксин блокирует генерирование потенциала действия, а следовательно, и его передачу. Так как передача импульса в синапсах при этом не нарушается, млекопитающие обычно погибают от остановки дыхания [Nagahashi, Moore, Scott, 1964]. На транспорт ионов калия тетродотоксин не влияет.



Тетродотоксин
(7.46)



4-Аминопиридин
(7.47)

Гуанидиний — один из немногих катионов, способных, подобно иону натрия, вызывать потенциал действия [Watanabe et al., 1967], поэтому логично предположить, что гуанидиновая перегруппировка тетродотоксина входит в натриевый канал, а остальная часть молекулы его закрывает. Сакситоксин — пергидропурин с двумя гуанидиновыми группировками (выделен из океанских одноклеточных динофлаггелятов) действует почти идентично тетродотоксину [Gage, 1971; Goto et al., 1965].

Более сильное гетероциклическое основание 4-аминопиридин (7.47) избирательно блокирует калиевые каналы, увеличивая тем самым приток ионов кальция при деполяризации нервных окончаний [Thesleff, 1980]. В последнее десятилетие в медицинскую практику вошли блокаторы кальциевых каналов в качестве сосудорасширяющих средств, например верапамил, нифедипин (разд. 14.2).

Говоря о нормальном возбуждении нервного окончания, следует заметить, что прохождение одиночного импульса вызывает лишь небольшое повышение внутриклеточного соотношения $Na^+ : K^+$, в конечном счете восстанавливающегося до нормального (без изменения потенциала покоя) в результате транспорта ионов, требующего затраты энергии — так называемого «натрий-калиевого насоса» [Hodgkin, Huxley, 1952]. В состоянии покоя на мембране открыт только один из каналов — либо калиевый, либо натриевый (или оба закрыты). Оба канала одновременно могут быть открыты под действием вератридина или ДДТ [Baker, 1968], но каждый из них может быть блокирован независимо с помощью других ионов. В миокарде или гладкой мышце позвоночных катионы кальция замещают ионы натрия для поддержания входящего тока [Reuter, 1973].

В синапсе нервный импульс вызывает выделение из пресинаптической мембраны незначительных количеств химического вещества — нейромедиатора (или синаптического медиатора). Медиатор диффундирует через синаптическую щель и вступает во взаимодействие с рецептором на постсинаптической мембране мышечной или нервной клетки. Действие медиатора прекращается в результате его удаления из синаптической щели, либо обратным захватом пресинаптическими структурами (например, норадреналин), либо ферментативным разрушением (АХ). В синапсе быстро восстанавливается исходное состояние и он может принимать новый импульс.

Идея химической передачи нервного импульса принадлежит Т. П. Эллиоту, высказавшему предположение о том, что симпатический нервный импульс вызывает выделение некоего агента, диффундирующего через синапс и занимающего определенное место на другой стороне [Elliott, 1905]. Позднее Генри Дейл предположил, что АХ может играть роль медиатора в парасимпатической нервной системе [Dale, 1914]. И только в 1921 г. появились убедительные экспериментальные доказательства появления АХ в синапсе [Loewi, 1921], а в химической передаче нервного импульса

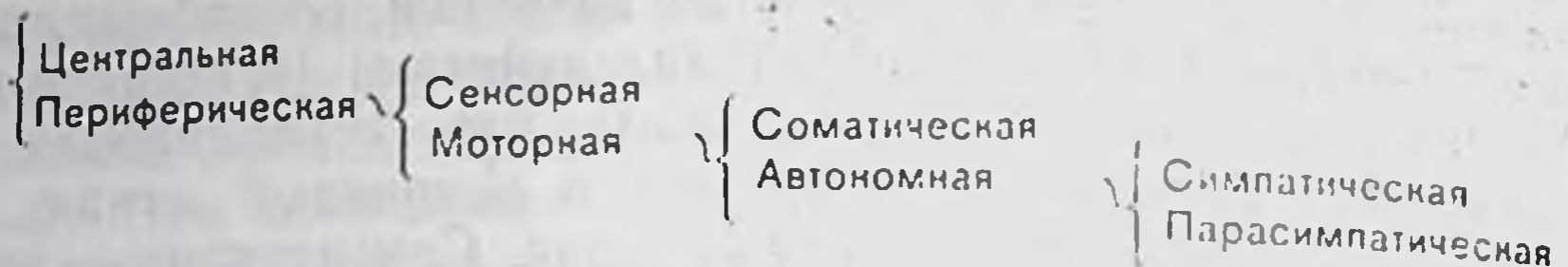
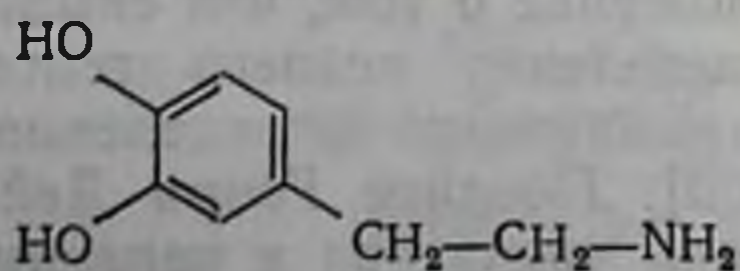


Рис. 7.2. Разделы нервной системы.

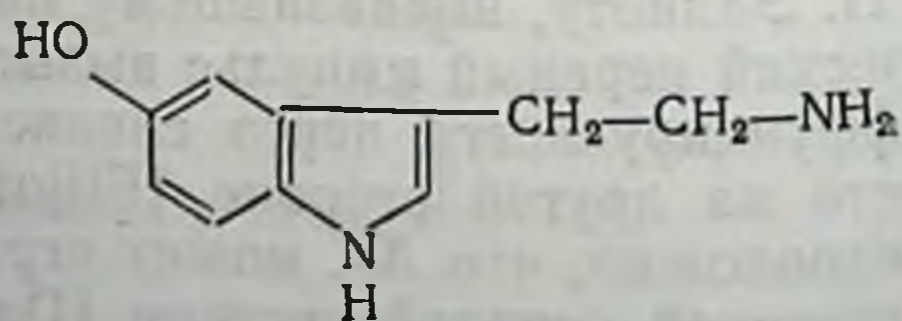
1926 г. был идентифицирован первый нейромедиатор — АХ [Loewi, Navgatil, 1926] и обнаружен гидролизующий его фермент АХЭ.

А. Классификация нервной системы. Прежде всего нервную систему можно разделить на два больших отдела: ЦНС (головной и спинной мозг) и периферическую систему (все остальные нервы). Периферическая нервная система подразделяется на сенсорную (собирающую информацию) и моторную (обеспечивающую выполнение того или иного действия). Моторная нервная система, в свою очередь, подразделяется на соматическую (действующую на любые произвольные мышцы) и автономную, а последняя подразделяется на функционально противоположные симпатическую и парасимпатическую системы, осуществляющие контроль на бессознательном уровне. Все эти разделы нервной системы представлены на рис. 7.2.

Б. Периферическая нервная система. Наиболее распространенный медиатор в периферической нервной системе — ацетилхолин (АХ), затем следует норадреналин. В последнее время открыты и другие нейромедиаторы, играющие хотя и второстепенную, но важную роль. Некоторые из них представляют собой, по-видимому, отголоски эволюции, так как известно, что у беспозвоночных дофамин (7.48) и 5-гидрокситриптамин (7.49) играют ту же роль, что АХ и норадреналин у млекопитающих (АХ принимает участие в ряде важных физиологических процессов и у беспозвоночных). Аденозин присутствует в некоторых пресинаптических адренергических нервных окончаниях млекопитающих, где действует, по-видимому, как модулятор выделения норадреналина. Из пуринергических нервов, активируемых АТФ, нервный импульс передается в кишечник человека [Burnstock et al., 1970], но медиатором, ответственным за нормальную перистальтику, является АХ. Подробную информацию о пуринергической передаче импульса можно найти в работах Burnstock (1981). О медиаторной (или гормональной) роли таких полипептидов, как брадикинин, вещество Р и энкефалин, в кишечнике см. Regoli (1982).



Дофамин
(7.48)



5-Гидрокситриптамин
(7.49)

Гормоны млекопитающих отличаются от нейромедиаторов тем, что выделяются во всю ткань или в кровоток, а не только в синапс. Гистамин (7.6) и адреналин (7.43) являются не нейромедиаторами, а гормонами.

Что же происходит в нервно-мышечном соединении (см. рис. 7.1) в момент поступления нервного импульса? Строение нервно-мышечного соединения было установлено сначала с помощью обычного светового микроскопа, а затем тщательно исследовано методом электронной микроскопии [Katz, 1962]. Типичный пример — соединение нерва с портняжной мышцей лягушки, в котором нервное окончание образует тончайшие веточки общей длиной около 1 мм, располагающиеся в канавках окончания мышечного волокна. Нерв и мышца отделены друг от друга синаптической щелью шириной около 10 нм. Только эта часть мышцы (а именно, концевая пластинка) чувствительна к действию АХ, хранящегося в пресинаптических окончаниях внутри синаптических пузырьков диаметром примерно 20—50 нм. В каждом нервно-мышечном соединении лягушки находится 3 млн таких пузырьков.

Вызванная АХ деполяризация концевой пластинки мышцы приводит к появлению потенциала действия, почти идентичного описанному выше нервного импульса. Примерно за одну миллисекунду АХ открывает канал и ионы натрия устремляются внутрь. При этом мембранный потенциал временно падает до нуля и мышца сокращается. Далее АХ разрушается под действием АХЭ, также содержащейся в концевой пластинке. Весь этот процесс протекает за несколько миллисекунд. Его можно воспроизвести введением АХ непосредственно в область концевой пластинки. Однако инъекция АХ внутрь мышечной клетки не вызывает ни деполяризации, ни сокращения мышцы.

Количество АХ, выделяемое нервным окончанием за один импульс, составляет $1,5 \times 10^{-10}$ мкг (5×10^6 молекул), т. е. в 200 раз больше, чем необходимо для деполяризации концевой пластинки (по данным опытов на кошках и крысах). Количество АХЭ, содержащегося в нервно-мышечном соединении, достаточно для гидролиза 10^9 молекул АХ за одну миллисекунду. Константа диссоциации комплекса, образуемого АХ с АХЭ, равна $2,6 \times 10^{-4}$ [Nachmansohn, 1959].

Таким образом, концевая пластинка представляет собой хемовозбудимую мембрану в отличие от электровозбудимой мембраны, покрывающей основную часть нервного волокна. Проводимость хемовозбудимой мембраны изменяется только под воздействием специфического химического агента — синаптического медиатора. Эти изменения ионной проводимости вызывают изменения мембранного потенциала, пропорциональные концентрации медиатора.

АХ служит медиатором не только в нервно-мышечных окончаниях, но и во всех автономных ганглиях (симпатических и парасимпатических), в парасимпатических окончаниях сенсор-



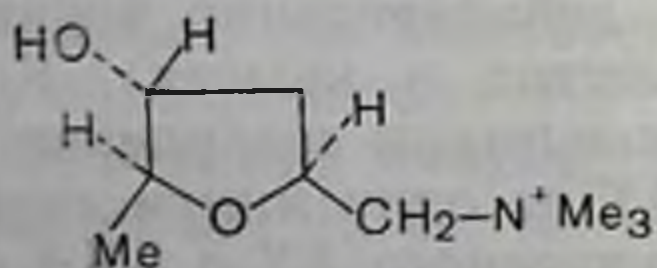
Рис. 7.3. Примеры, иллюстрирующие регулярную функцию автономной нервной системы.

ных и двигательных нервов и в некоторых синапсах ЦНС (см. табл. 7.1).

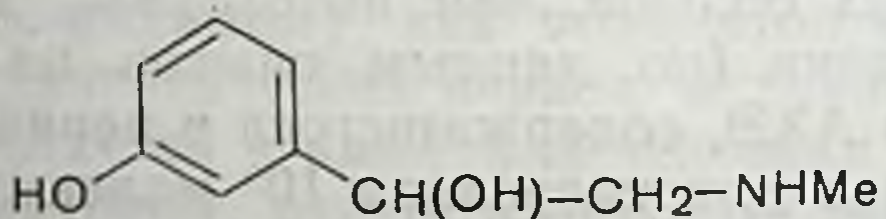
Еще Dale (1914) отмечал, что в некоторых структурах, подобно АХ, действует никотин (7.26), тогда как в других — мускарин (7.50). Эти два соединения оказались подходящими эталонами для тестирования холинергических синапсов¹.

Норадреналин (НА) (7.5) играет роль медиатора в органах, получающих симпатическую иннервацию (см. табл. 7.1). После передачи импульса НА дезактивируется в синапсе преимущественно в результате обратного захвата пресинаптическими окончаниями [Iversen, 1967] и лишь небольшая часть его метаболизирует в нейронах под действием МАО и вне нервных клеток — под действием КОМТ, метилирующей норадреналин по кислороду в положении 3.

От разрушающего действия этих двух ферментов норадреналин можно защищать соответственно с помощью фенелзина (9.46) и пирагаллола. Четыре вида рецепторов, с которыми взаимодействует норадреналин, рассматриваются в разд. 12.4.



L (+)-Мускарин (натрон)
(7.50)



Мезатон
(7.51)

На рис. 7.3 представлены элементы анатомической структуры автономной нервной системы, отличающейся от соматической (примером которой служит нервно-мышечное соединение) тем, что в каждом ее волокне содержится один лишний регулирующий элемент — синапс (расположенный в ганглиях). Симпати-

¹ По предложению С. В. Аничкова на основании разной чувствительности к этим двум веществам холинорецепторы делят на два класса: мускариночувствительные (м-холинорецепторы) и никотиночувствительные (н-холинорецепторы), см. Аничков С. В., Гребенкина Н. А. Бюлл. exper. биол. мед., 1946, т. 22, № 3, стр. 28. — *Примеч. ред.*

ческие ганглии расположены недалеко от спинного мозга, а парасимпатические — вблизи от иннервируемого органа. Все ганглионарные синапсы активируются АХ, а в постганглионарных синапсах передача импульса осуществляется с помощью АХ в парасимпатических волокнах и норадреналином — в симпатических.

Существует ли разница между стимулирующими (возбуждающими) и ингибирующими (тормозными) медиаторами? Как показано на рис. 7.3, стимуляция некоторых нервов приводит к ингибированию, а других — к возбуждению. При этом направленность действия медиатора в данной структуре определяется не его химическим строением, а анатомическими особенностями данной структуры. Например, в нервно-мышечном соединении и автономных ганглиях АХ служит возбуждающим медиатором, он деполяризует и, следовательно, возбуждает нервные клетки и вызывает сокращение мышцы. В то же время в сердце АХ служит ингибирующим медиатором.

В. Центральная нервная система (ЦНС). В ЦНС можно выделить пять основных отделов: 1 — кора головного мозга, являющаяся высшим центром обработки информации и управления абстрактным мышлением, памятью и сознанием; 2 — лимбическая система, расположенная под корой головного мозга, управляющая эмоциональными состояниями, висцеральной и двигательной активностью (включая гиппокамп, миндалевидное тело, гипоталамус, обонятельные доли, таламус и некоторые другие отделы); 3 — средний мозг, связывающий мозговые полушария со спинным мозгом и содержащий ретикулярную систему, регулирующую сон; 4 — мозжечок, небольшой отдел мозга, расположенный за полушариями и контролирующей координацию; 5 — спинной мозг, координирующий сенсорную информацию, поступающую от кожи, внутренних органов и мышц, с информацией, поступающей с более высоких уровней, а также передающий ее на эти уровни.

В синапсах ЦНС происходят изменения потенциала — быстрые и, практически не встречающиеся в периферической нервной системе, медленные. Полагают, что на медленные изменения потенциала влияют главным образом полипептиды; некоторые из них выделяются в синаптическую щель (даже из пресинаптических мембран, секреторирующих и нейромедиаторы периферического типа), другие выделяются клетками в окружающие ткани (несинаптическая секреция веществ, называемых некоторыми исследователями «нейрогормонами»).

Одним из медиаторов ЦНС является АХ, причем там обнаружены как никотиновые, так и, в большем количестве, мускариновые рецепторы [Кунгаг, 1978]. Три катехоламина — адреналин, норадреналин и дофамин также играют важную роль как нейромедиаторы, действующие каждый в своей системе нервов [Моогге, Влоот, 1979]. 5-Гидрокситриптамин — медиатор в среднем мозге и варолиевом мосту.

Медиаторную роль в ЦНС играют и некоторые аминокислоты. В головном мозге возбуждающими медиаторами являются, по-видимому, глутаминовая и аспарагиновая кислоты. γ -Аминomásляная кислота (ГАМК) и глицин служат тормозящими медиаторами, первая в супраспинальных, а вторая — спинномозговых нейронах [Gurtis, Johnston, 1970]. Из полипептидов наиболее изучены такие медиаторы, как эндорфины и энкефалины (разд. 12.7) и вещество Р (ундекапептид, участвующий в передаче болевых ощущений) [von Euler, Pernow, 1977], соматостатин, гастрин, холецистокинин, действие которых на кишечник достаточно исследовано. О ГАМК см. разд. 12.7.

В литературе есть данные, на основании которых можно предположить, что ингибиторы действуют путем подачи ионов хлора в клетку во время выхода из клетки ионов калия [Voakes et al., 1971]¹.

Мозг — чрезвычайно сложный орган, и пройдет, вероятно, немало времени, прежде чем будут исследованы его нейромедиаторы, все их функции и взаимодействия между ними. О клеточной биологии мозга см. Watson (1976).

Обзор химической фармакологии синапсов всех видов см. Triggle, Triggle (1976).

7.5.2. Основные гипотезы о механизме действия лекарственных веществ

В классической работе Clark (1937), основанной на применении изотерм адсорбции Ленгмюра (разд. 8.1), высказано предположение о том, что биологическое действие лекарственного вещества пропорционально доле рецепторов, занятых этим веществом, а максимальный эффект можно получить только в тех случаях, когда все рецепторы заняты лекарственным веществом. Эта простая «оккупационная теория» как нельзя более подходит для объяснения действия блокаторов (антагонистов). Но на основе этой теории оказалось невозможным объяснить кинетику действия на рецепторы агонистов — агентов, вызывающих положительную ответную реакцию: например, синаптического медиатора АХ и бесчисленного множества его синтетических агонистов.

В 1937 г. Clark писал: «Действие АХ определяется, по крайней мере, двумя независимыми факторами: во-первых, фиксацией вещества на определенном рецепторе и, во-вторых, способностью оказывать действие после фиксации».

Учитывая тот факт, что разные вещества вызывают отличные

¹ В настоящее время установлено, что при действии тормозных медиаторов (например, ГАМК) на синаптический рецептор изменяется проницаемость постсинаптической мембраны для ионов Cl^- (см. Комиссаров И. В. Механизмы химической чувствительности синаптических мембран. — Киев, 1986). — *Примеч. ред.*

по величине максимальные ответы, Агіенс (1954) ввел понятия сродства и внутренней активности. Величина сродства определяет образование комплекса лекарственного вещества с рецептором, а внутренняя активность — величину физиологического ответа. Таким образом, антагонисты обладают лишь сродством к рецептору. Внутренняя активность — это постоянное свойство агониста, константа, определяющая величину физиологического ответа, производимого одним комплексом вещество — рецептор. Агонисты, вызывающие максимальный ответ, возможный в данной ткани, называются полными агонистами; вызывающие ответ меньше максимального — частичными агонистами. По Агіенс (аналогично положениям теории Clark) максимальный ответ возможен только тогда, когда заняты все рецепторы, а абсолютная величина эффекта зависит от вещества и может изменяться от агониста к агонисту. Внутренняя активность вещества выражается отношением интенсивности биологического ответа к доле занятых рецепторов [Агіенс, 1954, 1964].

Кривая доза — эффект описывается уравнением первого порядка как для лекарственного вещества, так и для рецептора. При этом между теоретическими и экспериментально построенными кривыми часто наблюдается близкое соответствие [Агіенс, van Rossum, Simonis, 1957]. Эти авторы сравнивали внутреннюю активность различных лекарственных средств деполяризующего действия. Были построены кривые зависимости степени вызываемой веществами контрактуры мышцы от концентрации лекарственного вещества и обнаружено, что при достижении максимального эффекта (т. е. не увеличивающегося при дальнейшем повышении дозы вещества) сила мышечных сокращений различна для разных веществ. Дозу, вызывающую максимальный эффект, считали мерой сродства лекарственного вещества к рецептору. Обычно такие кривые представляют собой гиперболы (рис. 8.2).

Для понимания взаимодействия лекарственного вещества с рецептором традиционно подыскивали (явно) параллельное явление в энзимологии. Как известно, ферменты обладают независимыми друг от друга двумя типами специфичности: а) различные субстраты имеют разное сродство к рецептору и б) различные субстраты реагируют с разными скоростями. В 1957 г. Агіенс высказал предположение о том, что внутренняя активность связана с константой, отвечающей за превращение комплекса «фермент — субстрат» в продукты (разд. 9.1, уравнение 3). Так как лекарственное вещество при взаимодействии с рецептором остается неизменным, то полагали, что оно катализирует расщепление комплекса рецептор — субстрат и что именно это расщепление вызывает ответную реакцию. Поэтому лекарственное вещество рассматривали как эквивалент кофактора в химии ферментов [Welsh, 1948]. Одновременно была выдвинута и другая подобная гипотеза: подход к рецептору открывается агонистом, а закрывается антагонистом (аналогично идее Le-

vine о действии инсулина, открывающего проходы в мембране, обычно закрытые для глюкозы [Levine, Goldstein, 1955]. Эта гипотеза послужила основой современных представлений о том, что агонисты вызывают конформационные изменения биоструктуры.

«Сложная оккупационная теория» Ariens была вскоре дополнена теорией Stephenson (1956). Используя новые точные данные о действии АХ и гистамина на подвздошную кишку морских свинок, оценивая угол наклона кривой «концентрация — эффект», он обнаружил, что действие этих веществ не пропорционально количеству занятых рецепторов. Это позволило ему заключить, что: а) максимальный ответ может быть получен и тогда, когда вещество занимает только небольшую (или вообще ничтожную) часть доступных рецепторов, б) интенсивность биологической реакции нелинейно зависит от числа занятых рецепторов, в) разные лекарственные вещества обладают разной способностью вызывать ответную реакцию и поэтому для достижения реакции одинаковой интенсивности они занимают разное число рецепторов. Это свойство лекарственных веществ Stephenson назвал эффективностью. Эффективность определяется как величина, обратная пропорциональная доле занятых рецепторов, необходимая для получения такой ответной реакции, которая составляет 50% от максимально возможной для данной ткани. Считают, что лекарственное вещество обладает высокой эффективностью, если оно способно при минимальном числе занятых рецепторов давать максимально возможную для данного органа ответную реакцию.

Концепция внутренней активности Ariens в общем похожа на концепцию эффективности Stephenson, однако последняя использует большее количество данных для расчетов и представляется более обоснованной. Так, например, доза — это один из параметров эффективности, поскольку все члены гомологического ряда могут вызывать максимальную активность, но при разных дозах. Stephenson расширил существовавшее ранее деление всех лекарственных средств на агонисты и антагонисты, введя третий класс — частичные агонисты. Это вещества, обладающие умеренной активностью при высоком сродстве к рецептору, они могут вызывать в соответствующем органе лишь слабую реакцию, но могут также мешать агонисту в полной мере проявить свою активность. Данные, приведенные в табл. 7.2, являются примером зависимости изменения эффективности и сродства к рецептору от структуры заместителя в гомологической серии холинергических (мускариновых) агонистов. К сожалению, эффективность многих фармакодинамических средств до сих пор не определена. Широко распространенная концепция «незанятых рецепторов» (рецепторов, остающихся свободными при таких концентрациях вещества, которые обеспечивают максимальный терапевтический эффект) логически продолжает концепцию Stephenson.

Таблица 7.2. Эффективность и сродство, сравнение активности ионов алкилтриметиламмония (холинергических, мускариновых агонистов) на подвздошной кишке морской свинки [Stephenson, 1956]

Алкильная группа	Me	Et	Pr	Bu	Pent	Hex	Hept	Oct	Non	Dec
Эффективность	94	31	4,3	200	200	21	2,2	1,4	1,0	0,6
Сродство к рецептору $\times 10^{-3}$	0,2	0,6	1,6	3,8	8,5	19	41	63	110	190

Зная величины свободной энергии ассоциации ионов, можно рассчитать равновесное расстояние между центрами двух зарядов. Свободная энергия равна работе, необходимой для удаления одного точечного заряда от другого на бесконечно большое расстояние. Затраченную работу можно вычислить по уравнению Кулона [Pressman et al., 1946]. Используя это соотношение, Vigen (1965) вычислил равновесное расстояние между четвертичным атомом азота АХ и отрицательно заряженной группой рецептора, равное 0,329 нм [на основании различия свободной энергии взаимодействия АХ (7.4) и диметилбутилацетата (12.66), рассчитанных по данным экспериментов на подвздошной кишке морских свинок]. Он показал также, что между рецептором и основным центром АХ и его агонистов осуществляется более тесный контакт, чем в случае химически родственными антагонистов (по-видимому, вследствие более сильных ван-дер-ваальсовых взаимодействий «хвоста» нарушается взаимодействие «головы»). На этом основании было сделано предположение о том, что различие между агонистами и антагонистами заключается в более прочной связи агонистов с рецепторами, а следовательно, и в их способности вызывать конформационные изменения. Аналогичные расчеты были сделаны Belleau, Tani, Lie (1965).

Известно, что при увеличении ОММ молекулы усиливается ее антагонистическое действие. Молекула антагониста всегда более объемна, чем молекула соответствующего агониста, и очевидно, что большая молекула может дольше удерживаться на рецепторе за счет образования дополнительных ван-дер-ваальсовых связей, так как кинетическая энергия переноса молекулы, являющаяся важным фактором десорбции, не изменяется с ростом ОММ.

При переходе от чистого агониста к чистому антагонисту можно выделить три стадии. Из ряда аминов, обладающих симпатомиметическими свойствами, в качестве примера чистого агониста можно привести эфедрин (12.12). Однако наличие у него тахифилаксических (тахифилаксия — десенсибилизация, уменьшение чувствительности — равномерно снижающаяся ответная реакция на повторяющееся введение одной и той же

дозы лекарственного вещества) свойств указывает на скрытый антагонистический характер его действия. Типичный «частичный» агонист — эрготамин, проявляющий сильное симпатомиметическое действие, исчезающее при увеличении дозы. Наконец, примером чистого антагониста является фентоламин (12.48), проявляющий легкое агонистическое действие, вслед за которым наступает длительная депрессия.

Такой же переход можно проследить и у лекарственных веществ, действующих на парасимпатические структуры. При изучении действия этих соединений на нервно-мышечное окончание было показано, что по мере усложнения строения молекулы соединение постепенно теряет сильные агонистические свойства и приобретает антагонистические. Так, тридекаметоний еще обладает выраженным агонистическим действием, но проявляет и антагонистические эффекты, тогда как тубокурарин (2.6) обладает главным образом антагонистическими свойствами и лишь в особых условиях способен возбуждать концевую пластинку. Другим примером могут служить диалкилглутарамиды, например бемегрид (15.3). Если в этих соединениях заместителем является этильная группа, то вещество проявляет аналептические и судорожные свойства; при увеличении заместителя (бутильная и более объемные группы) вещества проявляют спотворные и противосудорожные свойства, а если заместитель — пропильная группа, то вещество в малых дозах вызывает судороги, а в больших обладает спотворным действием [Lausock, Schulman, 1967]. Для этих серий веществ характерно последовательное уменьшение скорости диссоциации комплекса с рецептором. Кроме того, лекарственные вещества, обладающие седативным действием, такие как дифенил (15.4) и 5-(1,3-диметилбутил)-5-этилбарбитуровая кислота, в зависимости от дозы либо подавляют, либо стимулируют нервную систему (в опытах на интактных мышцах) [Lausock, Schulman, 1967].

Оккупационной гипотезе действия лекарственных веществ противостоит кинетическая гипотеза [Paton, 1961], согласно которой биологический эффект, вызываемый агонистом, определяется не оккупацией рецепторов, а скоростью связывания вещества с рецептором. Однако величина эффекта зависит от числа свободных рецепторов. Эти выводы были сделаны на основании тщательных кинетических измерений действия гистамина, АХ и других агонистов на подвздошную кишку морских свинок. Оказалось, что сила каждого сокращения уменьшается сразу же после достижения максимума. Кинетическая теория пытается дать ответ на вопрос: почему повторные дозы стимуляторов обычно вызывают постепенно ослабляющуюся реакцию? Согласно этой гипотезе, если последующая доза следует за предыдущей через временной интервал, недостаточный для освобождения всех рецепторов, то уменьшение количества свободных рецепторов приводит к ослаблению ответа. Ослабление ответной реакции кишки морской свинки на повторное введение АХ, гистами-

на и ряда гомологических четвертичных аминов подтверждает это предположение [Paton, 1961]. Аналогичные результаты были получены и при изучении серии S-алкилизотиомочевин [Fastier, Reid, 1952]. Однако такие явления, по-видимому, редки, и им противоречит хорошо известный факт наличия «свободных рецепторов» (см. выше). Для изучения скоростей идеальной была бы такая система, в которой диффузия лекарственного вещества осуществлялась бы беспрепятственно, а регистрация ответной реакции следовала бы без всякой задержки сразу же за введением лекарственного вещества. Лишь немногие биологические системы отвечают этим требованиям. Историческое значение кинетической теории заключается в том, что она дала фармакологам большой объем знаний о кинетических аспектах изучаемых ими процессов. Скорость является обычно необходимым, но не достаточным, компонентом количественных исследований действия лекарственных веществ.

Конформационный и аллостерический факторы действия лекарственных веществ. Как только было обнаружено, что при взаимодействии с субстратом изменяется конформация фермента (разд. 9.0), были предприняты попытки применить эту идею к процессу взаимодействия лекарственных веществ с их рецепторами. Karlin (1967) постулировал, что рецептор может существовать в двух конформационных состояниях, находящихся в равновесии, называемых (T) и (R), причем только в одном из этих состояний, а именно R, рецептор способен инициировать возникновение физиологического ответа. Лекарственное вещество, в зависимости от строения, вступает во взаимодействие с рецептором в (T) или (R) конформации и, следовательно, действует в качестве антагониста или агониста. Основой этой гипотезы послужило открытие Monod — Wyman — Changeux (1965) аллостерических переходов ферментов (разд. 9.0). Самым убедительным доводом в поддержку идеи об участии аллостерических взаимодействий в функционировании рецепторов, вероятно, является кооперативность ответа, т. е. сигмовидная ответная реакция двигательной концевой пластинки лягушки на действие холинергических лекарственных веществ (например, карбахола), а не обычная гиперболическая.

В настоящее время в классическую оккупационную теорию внесено предположение о том, что агонисты способны вызывать по крайней мере конформационные изменения, приводящие к раскрытию ионного канала, и тем самым инициировать ответную физиологическую реакцию. Тем не менее предполагают, что различные лекарственные вещества могут вызывать конформационные изменения разной эффективности. Это допущение объясняет различную эффективность близких по химической природе лекарственных веществ. Позднее на основании измерения токов в концевой пластине мышцы лягушки при действии четырех агонистов было показано, что конформационных состояний рецептора может быть и больше двух [Colquhoun et al., 1975].

Следует упомянуть также о других аспектах действия лекарственных веществ, связанных с конформационными изменениями. Многие тест-объекты под действием большой дозы агониста временно теряют чувствительность после отмывки лекарственного вещества. Время восстановления чувствительности постоянно для данной ткани и не зависит от используемого лекарственного средства. Можно утверждать, что потеря чувствительности определяется переходом комплекса агонист-рецептор (AR) в другое конформационное состояние (AR') и его последующей диссоциацией; при этом лекарственное вещество покидает измененный рецептор (R'), способный затем медленно возвращаться в исходное состояние (R) [Katz, Thesleff, 1957]. Изучение кинетики развития и восстановления чувствительности после десенситизации мышцы цыпленка и лягушки под действием холинергических лекарственных веществ показало, что физиологическое действие лекарственного вещества пропорционально числу рецепторов, находящихся в активной конформации [Rany, Ritter, 1970].

Родственным явлением является и эффект «метафилии»: сродство рецептора к холинергическим антагонистам (тубокурарину, галламину) возрастает, если незадолго до их введения рецептор взаимодействовал с соответствующим агонистом (карбахолом) [Rany, Ritter, 1969], что объясняется тем, что под действием агониста происходит накопление формы (R'), с которой, предположительно, преимущественно связывается антагонист.

Конформационные изменения, вызываемые лекарственными веществами (например, аминазином, стрептомицином, сердечными гликозидами), были подробно изучены Levitzki (1973). К сожалению, до сих пор нет прямых доказательств (хотя существует множество косвенных) того, что лекарственные вещества вызывают изменение конформации рецептора (например, нет данных рентгеноструктурного анализа, используемых для изучения конформаций ферментов).

7.6. Классификация фармакодинамических средств

Существуют различные типы классификации фармакодинамических лекарственных средств. В некоторых из них лекарственные вещества классифицируются по области применения, далее в группах подразделяются в зависимости от механизма их действия. Так, гипотензивные средства делятся на препараты: а) центрального действия (например, клофелин); б) блокирующие симпатические ганглии (например, пентолин); в) блокирующие симпатические нервные окончания (например, анаприлин); г) снижающие тонус гладких мышц сосудистых стенок (например, нитриты); д) воздействующие на какие-либо молекулярные процессы, в частности, блокирующие ангиотензинообразующие ферменты (например, каптоприл) (разд. 9.4.3).

Более фундаментальной можно считать классификацию лекарственных препаратов по месту их действия. Этот тип классификации широко используется в данной книге. Поскольку большинство фармакодинамических средств действует на нервную систему, сначала будет рассмотрена ЦНС, затем — периферические волокна и нервные окончания, а также немногочисленные препараты, действующие на мышцы, железы и другие органы. Наконец, специальный раздел посвящен инсектицидам — нервным ядам.

7.6.1. Лекарственные препараты, действующие на ЦНС

Препараты, действующие на ЦНС, в зависимости от их общего эффекта, относят к одному из двух классов: депрессантов или стимуляторов. Можно было бы предположить, что угнетающее действие на ЦНС достигается воздействием антагонистов, а стимулирующее — воздействием агонистов, однако это далеко не всегда так.

Например, стрихнин, действующий как антагонист в тормозных нейронах, является сильным конвульсантом. Морфин — агонист рецепторов энкефалина, используется в клинике как сильный депрессант.

Вещества, угнетающие ЦНС (депрессанты), целесообразно разделить на следующие классы:

1. Общие анестетики, которые вводят либо ингаляционно (эфир, галотан), либо внутривенно (например, тиопентал) (разд. 15.0). Эти вещества угнетают высшие отделы мозга, а при повышении дозы блокируют центры продолговатого мозга и останавливают дыхание. После того как в 40-х годах в практику были введены миорелаксанты, необходимость в глубокой анестезии во время операций отпала.

2. Снотворные средства, такие как хлоралгидрат и барбитураты, действующие значительно мягче общих анестетиков и вводимые перорально. Часто эти препараты оказывают и обезболивающее действие. Более сложный характер имеет действие этанола: у некоторых людей наблюдается преимущественно угнетение сенсорных, а не двигательных элементов нервной системы, что вызывает состояние беспокойства.

3. Транквилизаторы (анксиолитики) обладают сильным снотворным эффектом, но действуют лишь на отдельные структуры головного мозга. Они представлены веществами класса бензодиазепинов, например диазепам (разд. 12.7).

4. Анальгетики. Сильные обезболивающие средства, такие как морфин (разд. 12.8) и слабые типа парацетамола, действуют на разные нервные центры. Морфин обладает и местным обезболивающим эффектом, особенно на кишечник. Ацетилсалициловая кислота — одновременно и мягкое обезболивающее средство и широко используемый противоревматический препарат.

5. Противосудорожные средства, не обладающие снотворным эффектом — например, дифенин, используют при эпилепсии. Фенobarбитал является одновременно и противосудорожным и снотворным средством.

6. Противокашлевые средства. К ним относятся декстрометорфан, не обладающий обезболивающим действием, и кодеин, обладающий как противокашлевой, так и обезболивающей активностью. Смягчают кашель лекарственные вещества, действующие на периферические нервные окончания или мышцы [Eddy, 1969].

7. Препараты, угнетающие аппетит, — как правило, симпатолитические лекарственные вещества, большая часть которых стимулирует ЦНС (например, декстрамфетамин). Только фенфлурамин не обладает этим нежелательным побочным действием.

8. Препараты, используемые при паркинсонизме. Эти препараты влияют на участки мозга, испытывающие недостаток дофамина. Наиболее часто применяют леводофу (3.43, б).

9. Нейролептики, называемые иногда «большими транквилизаторами» или психотропными препаратами. Примерами таких препаратов являются аминазин (12.110) и галоперидол (12.112). Препараты этого класса обладают антипсихотической активностью, способны подавлять бред, галлюцинации и другие психопатологические синдромы у больных шизофренией, блокируя рецепторы дофамина в полосатом теле головного мозга (разд. 12.9.).

10. Галлюциногены (психодислептики) в настоящее время в медицинской практике используются редко. Примеры таких препаратов: диэтиламид лизергиновой кислоты (ЛСД) и тетрагидроканнабинол, действующее начало *Cannabis indica* (марихуана).

Стимуляторы ЦНС (психостимуляторы) используются в медицине реже, чем депрессанты. Они подразделяются следующим образом:

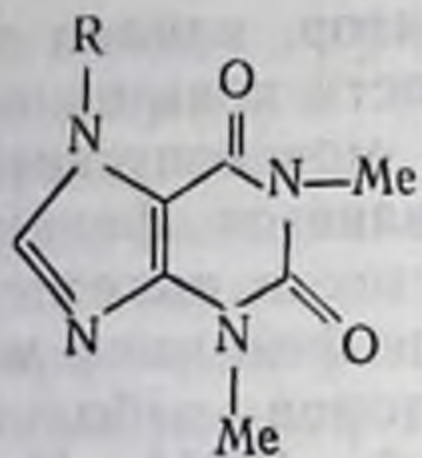
1. Психомоторные стимуляторы, вызывающие эйфорию, чувство физического и психического благополучия и активизирующие психическую и физическую деятельность организма в результате мобилизации психических и физических резервов организма. Наступающее чувство переутомления снимается следующей дозой препарата и так далее. Небольшие ежедневные порции чая или кофе — это слабовыраженная форма зависимости от препаратов такого типа. Отказ от применения почти всегда вызывает отдаленные последствия, основным симптомом которых является сильная головная боль. Стимулирующее действие кофеина определяется, по-видимому, антагонистическим действием на рецепторы аденозина в головном мозге [Snyder et al., 1981]. Кофеин (7.52, а) — постоянный компонент лекарственных препаратов от головной боли. Эфедрин (12.12) —

более сильный психомоторный стимулятор, однако злоупотребление им может привести к необходимости повышения доз из-за тахифилаксии. Он часто подавляет мочеиспускание. Более опасным психомоторным средством является фенамин (9.44), механизм действия которого заключается в вытеснении норадреналина и дофамина из депо. Действие фенамина можно снять блокированием синтеза этих медиаторов небольшой дозой α -метилтирозина [Sulser, Sanders-Bush, 1971]. По-видимому, оба эти нейромедиатора действуют как истинные лекарственные вещества в значительно более высоких концентрациях, чем существуют в организме в норме. Правовращающий стереоизомер фенамина (декстрамфетамин) в большей степени влияет на ЦНС, чем на периферическую нервную систему, и применяется при нарколепсии («приступы сонливости»). Использование фенамина для преодоления усталости и повышения работоспособности или достижения наркотического эффекта приводит ко многим физическим и умственным расстройствам. Нарушения режима сна, вызываемые психомоторными стимуляторами, даже кофеином, необходимы лишь в некоторых случаях (например, водителям в длительных рейсах). Теофиллин (7.52, б) почти такой же сильный стимулятор ЦНС, как и кофеин, и применяется в основном для расслабления гладких мышц бронхов при астме и затрудненном дыхании.

2. Антидепрессанты, применяемые при психозах, ингибиторы МАО, такие как трансамин (разд. 9.4), способствуют достижению необычно высоких концентраций норадреналина и 5-гидрокситриптамина в соответствующих участках головного мозга. Трициклические антидепрессанты, например имизин (12.114), по-видимому, осуществляют контроль за уровнем этих медиаторов, но другим путем (разд. 12.9). Карбонат лития, применяемый для уменьшения маниакальной компоненты маниакально-депрессивных психозов, возможно, помогает в обеих фазах. Электрошоковая терапия приводит, вероятно, к высвобождению дофамина в головном мозге [Green, Neale, Grahame-Smith, 1977].

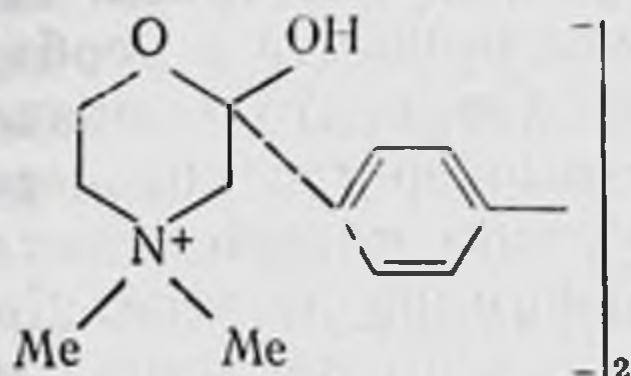
3. Антидоты угнетения ЦНС, вызванного лекарственными препаратами. Эти вещества в настоящее время практически не применяются. Например, при отравлении барбитуратами проводят детоксикацию больных промыванием желудка и кишечника. Типичным представителем этого класса аналептиков (стимуляторов), в больших дозах вызывающих судороги, является стрихнин, блокирующий ингибирующее действие глицина в спинном мозге [Curtis, Johnston, 1970; Eccles, 1957] и бикикуллин, блокирующий, подобно пикротоксину, ингибирующее действие ГАМК [Curtis et al., 1971].

4. Лекарственные препараты, снижающие АД за счет действия на ЦНС, такие как клофелин и метилдофа (разд. 9.4.2), по-видимому, являются избирательными стимуляторами метаболизма катехоламинов в ЦНС.



а) Кофеин (R=Me)
б) Теофиллин (R=H)

(7.52)



Катион гемихолина

(7.53)

7.6.2. Лекарственные вещества, действующие на периферические нервные волокна

Этот класс лекарственных веществ не включает ни одного стимулятора; к нему относятся в основном местные анестетики, широко применяемые в зубоврачебной практике и при спинно-мозговой анестезии. Соединения этой группы действуют преимущественно на небольшие волокна, в результате чего эффект проявляется в большей степени в сенсорных нервах, чем в двигательных. Местные анестетики повышают порог возбудимости и таким образом блокируют распространение нервного импульса, не вызывая деполяризации нервного волокна.

Местноанестезирующие средства не обладают ни снотворным, ни общим обезболивающим действием и в принципе скорее возбуждают, чем угнетают, ЦНС. Их действие, насколько можно судить на основании констант ионизации, осуществляется внутри нервного волокна (т. е. не снаружи и не в аксоплазме). Модификация молекулы кокаина (разд. 7.3) позволила выявить рецептор, специфический для этаноламинов. Концепция Nachmansohn (1959), объясняющая действие местных анестетиков конкуренцией их с АХ, не нашла поддержки. Считают, что эти вещества взаимодействуют с рецептором в натриевом канале и физически его блокируют [Narahashi, Frazier, 1971; Ritchie, 1975; Strichartz, 1976; Hille, 1977]. В 1956 г. Straub впервые отметил, что уменьшение проницаемости мембраны по отношению к ионам натрия должно блокировать генерирование потенциала действия. Так, имплантация микроэлектродов в изолированное волокно портняжной мышцы лягушки показало, что новокаин конкурирует с экзогенными ионами натрия, в результате чего подавляется ионная натриевая проводимость, возникающая в норме при стимуляции [Inoue, Frank, 1962].

Тот факт, что действие местных анестетиков может быть частично подавлено действием высокого внешнего давления [Kendig, Cohen, 1977], указывает, по-видимому, на то, что местноанестезирующее действие веществ зависит не только от их химической структуры [Metcalf, Burgin, 1968]. Поэтому не удивительно, что по крайней мере одно из десяти взятых наугад

веществ обладает слабым местноанестезирующим действием, правда, с плохим терапевтическим индексом.

О местных анестетиках, механизмах их действия и клиническом применении см. Covino, Vassalo (1976).

7.6.3. Лекарственные вещества, действующие на периферические нервные окончания

Обоняние и вкус обусловлены раздражением сенсорных нервных окончаний. Раздражители могут быть электрическими, тепловыми или механическими. Вератрин и амидины раздражают нервные окончания в сердце и в легких, что приводит к рефлекторному снижению АД. Кроме этого факта, почти ничего не известно о химическом раздражении окончаний сенсорных нервов под действием лекарственных веществ, поэтому в терапевтических целях это явление не используется.

В противоположность этому о химическом раздражении двигательных нервов написано уже немало, введением в эту область может служить раздел 7.5 (см. также табл. 7.1).

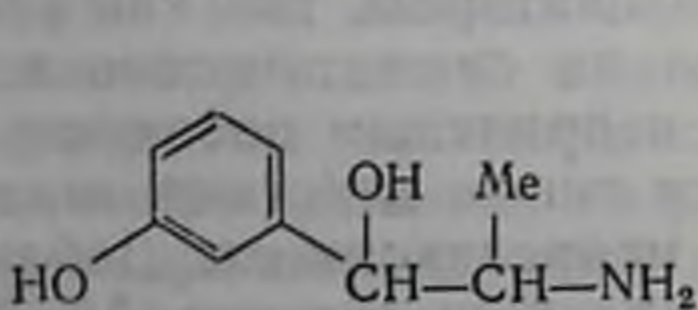
А. Холинергические синапсы. Лекарственные вещества, действующие подобно АХ, но обладающие более высокой избирательностью и большей продолжительностью действия, как и соединения, пролонгирующие действие этого нейромедиатора за счет блокирования АХЭ, широко используются при сердечной аритмии, глаукоме, миастении гравис или для стимуляции деятельности мочевого пузыря и желудочно-кишечного тракта после операции. Об открытии некоторых лекарственных веществ этого типа рассказывается в разд. 7.3; разд. 12.6 посвящен результатам исследования агонистов, а разд. 13.3 и 12.5 содержат информацию об ингибиторах АХЭ.

Как уже упоминалось в разд. 7.3, известны два механизма блокирования действия АХ в нервно-мышечном соединении: один — с деполяризацией, другой — без нее. Соответственно существуют два типа ганглиоблокаторов: одни (например, соли тетраэтиламмония, гексаметоний) блокируют рецепторы АХ, но не вызывают деполяризации, другие (например, соли тетраметиламмония) блокируют эти рецепторы и вызывают длительную деполяризацию [Paton, Peppy, 1953]. В настоящее время клиницисты потеряли интерес к ганглиоблокаторам, так как отсутствие избирательности в их действии на симпатические и парасимпатические ганглии приводит к неприятным побочным эффектам. Вещества, обладающие таким типом действия, широко применяются в клинике в качестве миорелаксантов. Действие веществ, блокирующих постганглионарное выделение АХ (например, атропин), обсуждается в разд. 7.3.

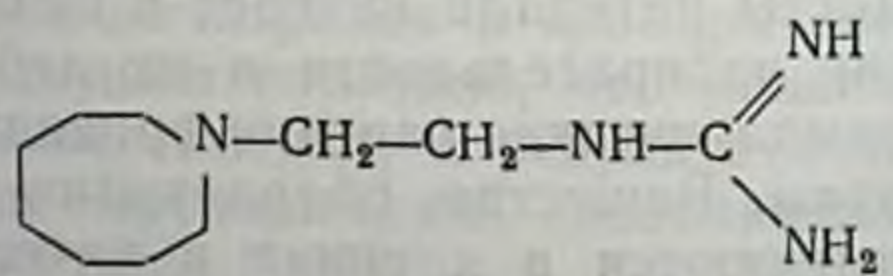
Существуют и другие ингибиторы, подавляющие синтез АХ в двигательных нервных окончаниях. Примером может служить гемихолин (7.53), в молекуле которого между гидроксильной группой и атомом азота легко угадываются элементы структуры

самого холина. Эти вещества, не нашедшие медицинского применения, препятствуют транспорту холина и тем самым лишают АХЭ ее субстрата. Действие этих веществ снимается холином [Birks, MacIntosh, 1957].

Б. Адренергические синапсы (до сих пор используется термин «адренергические», введенный Dale, хотя правильнее было бы использовать термин «норадренергические»). За время, прошедшее с момента опубликования первой работы Barger, Dale (1910), стали значительно более понятны многие фармакологические эффекты β -фенилэтиламина (использование символа « β » для обозначения положения заместителя в боковой цепи рядом с бензольным кольцом и « α » — для положения рядом с аминогруппой не имеет ничего общего с предложенным Алквистом разделением всех симпатических рецепторов на α - и β -типы) (разд. 12.4). В разд. 7.5.1 уже упоминалось, что при достижении импульсом пресинаптического окончания начинается выделение норадреналина, передающего импульс рецептору. Этот эффект ограничивается в основном обратным захватом норадреналина пресинаптической мембраной. Значительно меньшую роль играют при этом ферменты MAO и КОМТ. Известны лекарственные вещества, способные блокировать обратный захват норадреналина за счет адсорбции вместо него на нервном окончании. Buggen, Iversen (1965) и Trendelenburg (1972) установили структурные особенности подобных соединений. Создается впечатление, что введение гидроксильной группы в положения 3 и 4 и α -метилирование способствуют захвату, в то время как O-метилирование, замещение по атому азота и β -гидроксилирование снижают его. Перечисленные структурные особенности заметно отличаются от тех, которые необходимы для взаимодействия с α - или β -симпатическими рецепторами (разд. 12.4), что указывает на сложность установления соотношений «структура — активность» в этом классе веществ. Из всех соединений, блокирующих захват норадреналина пресимпатическими окончаниями, можно выделить метараминол (7.54), имеющий вчетверо большее сродство к рецептору, чем природный субстрат. Кокаин (7.11) и фенамин (9.44) также обладают подобным действием, хотя оно является лишь небольшой частью широкого спектра их биологического действия.



Метараминол
(7.54)



Октадин
(7.55)

Кроме того, β -фенилэтиламины способны накапливаться в пресинаптических окончаниях и вытеснять норадреналин из депо в синаптическую щель. При быстром осуществлении этого

процесса продолжительность действия лекарственного вещества ограничена определенным промежутком времени, так как запасы норадреналина в конечном счете истощаются. Эфедрин, действующий в основном по этому механизму [Schümann, 1961], успешно применяют при поллинозе. Препарат следует принимать по утрам, так как при дневном приеме его стимулирующее действие на ЦНС вызывает нарушение сна. На утро, когда запасы норадреналина в адренергических окончаниях восстанавливаются, новая доза эфедрина может оказаться для больного более полезной. (Эфедрин в отличие от норадреналина не разрушается в желудке, поэтому его можно применять перорально.) Фенамин (9.44) обладает и периферическими, и центральными эффектами, с преобладанием первых. Тирамин обладает только периферическим действием.

Сравнивая два вида эффектов, обсуждаемых в последних параграфах (ингибирование обратного захвата норадреналина пресинаптическими окончаниями и усиление выделения ими норадреналина) следует отметить, что несмотря на то что многие вещества, подобно метараминолу, тирамину и эфедрину проявляют оба эффекта, каждый из этих эффектов проявляется независимо. Другими словами, если вещества расположить в ряд по изменению интенсивности одного эффекта, то порядок соединений в подобном ряду для второго эффекта будет совершенно иным [Burgen, Iversen, 1965]. Тем не менее применение лекарственных веществ обоих типов приводит к временному повышению норадреналина у больного [Burg, Rand, 1958].

Вещества другого класса, накапливающиеся в пресинаптических окончаниях, вытесняют из депо норадреналин не быстрее, чем он может быть разрушен МАО. Примерами могут служить октадин (7.55), широко используемый в медицине при небольших повышениях АД для того, чтобы сначала заблокировать, а затем медленно истощить запасы норадреналина [Booga, Green, 1965] и более опасное средство — алкалоид резерпин, который в настоящее время применяют редко.

Многие β -фенилэтиламины могут не только конкурировать с норадреналином в связывании с пресинаптическими окончаниями, но и высвободиться при каждом нервном импульсе и активировать постсинаптические рецепторы, действуя тем самым как ложные медиаторы. Обычно их эффективность ниже, чем у норадреналина (как, например, в случае метараминола и α -метилдофамина), однако некоторые из них, особенно α -метилдофамин, значительно эффективнее норадреналина [Kopin, 1968].

Известны и ложные медиаторы, которые не захватываются пресинаптическими окончаниями, но действуют на рецепторы так же, как норадреналин. Из них наиболее широко применяют мезатон (7.51), в частности, при воспалении слизистых оболочек. Мезатон действует исключительно на α -рецепторы, в то время как изадрин (12.44) — только на β -рецепторы, а сальбута-

мол (12.54) — лишь на один тип β -рецепторов (подробнее см. разд. 12.4).

Действие некоторых депрессантов симпатической системы, например, α -метилтирозина, не применяемого в медицине, основано на том, что они препятствуют синтезу норадреналина. В то же время такие как пропранолол (анаприлин) (12.56) конкурируют с норадреналином за постсинаптические рецепторы и успешно используются в медицине для снижения повышенного АД (разд. 12.4).

Из всего вышесказанного ясно, что существует много различных механизмов действия адренергических аминов и это обуславливает их широкое применение в терапии для разных целей: как для повышения, так и для снижения АД; в качестве стимуляторов ЦНС при нарколепсии; при насморке, астме и аллергии; для снижения аппетита и остановки кровотечения. Подробнее о выделении, захвате и метаболизме норадреналина и его аналогов см. Iversen (1975), Schümann, Kroneberg (1977), о стереохимии катехоламинов — разд. 12.1 и обзор Patel, Miller, Trendelenburg (1974).

В организме человека большинство органов иннервируется как симпатическими, так и парасимпатическими нервами, которые противодействуют друг другу. Поэтому действие «парасимпатомиметического» лекарственного вещества может заключаться либо в стимуляции парасимпатических, либо в блокировании симпатических рецепторов.

Химическим аспектам нейрофармакологии посвящен ряд работ Triggle, Triggle (1976) и Cooper, Bloom (1982).

7.6.4. Лекарственные вещества, действующие на мышцы, железы и другие органы

В то время как большинство рассмотренных фармакодинамических лекарственных веществ действует на нервные окончания, эффекты большей части остальных препаратов проявляются на мышцах. Рассмотрим сначала роль природных агонистов в физиологических процессах. При достижении нервным импульсом нервно-мышечного соединения (разд. 7.5.1) происходит выделение АХ нервным окончанием, что заставляет концевую пластинку мышцы генерировать ток и передавать его внешней мембране соседних мышечных волокон. Они передают ее внутрь мышцы с помощью саркоплазматического ретикулума, являющегося резервуаром ионов кальция, удерживаемых с помощью белка кальсеквестрина. Появление тока вызывает быстрое выделение ионов Ca^{2+} , стимулирующих сокращение мышцы за счет связывания с белком, одним из компонентов тропонинового комплекса. Связывание кальция вызывает выделение миозина с последующим сокращением мышцы. То же самое происходит и при высвобождении АХ или норадреналина соответственно

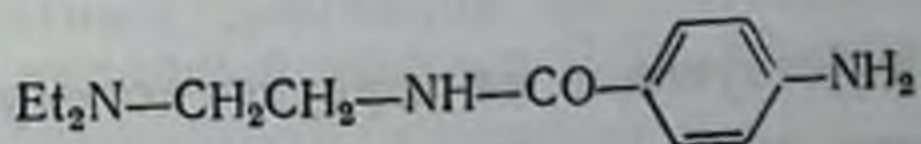
постганглионарными парасимпатическими или симпатическими окончаниями.

Помимо активации мышцы с помощью нейромедиаторов, гормон адреналин, постоянно секретируемый надпочечниками, поддерживает нормальный тонус гладких мышц, расслабляя мышцы легких в результате активации β_2 -рецепторов и стимулирую сердечную мышцу, действуя на β_1 -рецепторы. Другой тканевой гормон — гистамин (7.6) вызывает сокращение мускулатуры матки и кишечника, а также расслабление мышц кровеносных сосудов. Об агонистах и антагонистах рецепторов гистамина см. разд. 9.4.5. 5-Гидрокситриптамин (7.49), известный как нейромедиатор ЦНС, является еще и широко распространенным тканевым гормоном, вызывающим сильное сокращение гладких мышц.

Следует остановиться также на некоторых лекарственных веществах, выделенных из растений. Эргометрин оказывает сильное стимулирующее действие на гладкую мускулатуру матки и заставляет сокращаться мышечные волокна кровеносных сосудов. Папаверин, алкалоид, выделенный из мака, обладает прямым спазмолитическим действием на мышцы кишечника. Некоторые простые алифатические амидины, гуанидины, изомочевины, изотиомочевины (все они — сильные основания) повышают АД и вызывают сокращение мускулатуры кишечника [Fastier, 1949].

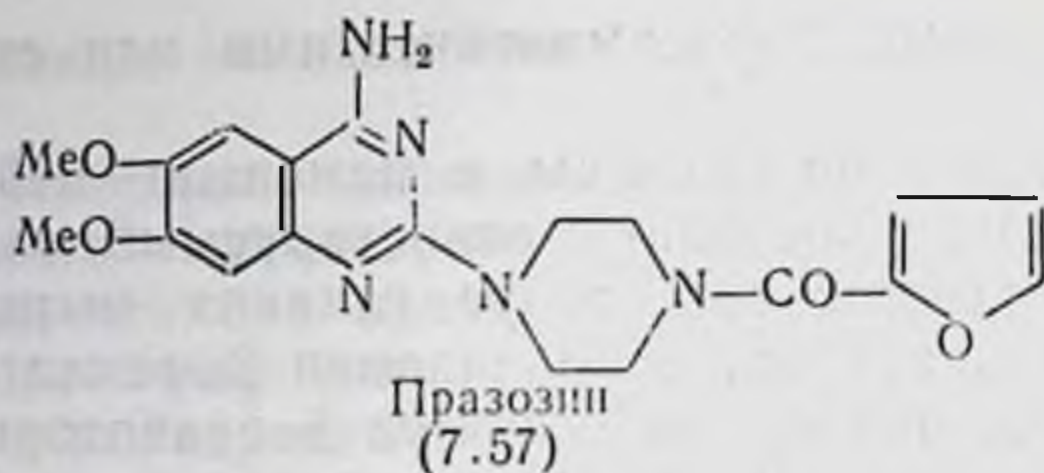
Основные сердечные гликозиды (из наперстянки, строфанта и пролески) оказывают прямое избирательное действие на сердечную мышцу, увеличивая силу ее сокращений (разд. 14.1). Хинидин — оптический изомер хинина (10.33) и новокаинамид (7.56) — ценные терапевтические средства, обладающие прямым действием на сердце, применяют при аритмии. Таким же действием обладают многие другие вещества, имеющие относительно липофильное кольцо, связанное с помощью сложноэфирного, эфирного, кетонного или карбинольного мостика с основной группой [Thomas, 1981].

Некоторые лекарственные вещества, используемые в качестве мягких гипотензивных средств, способны расслаблять мышцы сосудов в капиллярах всего организма, например, гидралазин (11.47), органические нитриты, неорганические нитриты и празозин (7.57) [Stokes, Weber, 1974]. Лекарственные вещества типа верапамила и нифедипина, блокирующие медленные кальциевые каналы в гладкой мышце и миокарде (разд. 14.2), широко применяют для снижения высокого давления и предотвращения стенокардии.



Новокаинамид

(7.56)



Лекарственные вещества, расслабляющие скелетные мышцы, независимо от того, проявляется ли их миорелаксирующий эффект в результате действия на ЦНС [как у мефанезина, изопротана (3.11) и бензодиазепинов] или же они действуют непосредственно на мышцу (дантролен) [Davidoff, 1978], часто вызывают у больного мышечную слабость — гораздо более неприятное явление, чем то спастическое состояние, для снятия которого их применяют. Однако для снятия острого спазма эти препараты назначают довольно часто.

Дицикловерин (7.19), помимо антиму斯卡ринового действия на постганглионарные нервные окончания, обладает еще и прямым действием на мускулатуру мочевого пузыря и применяется при недержании мочи [Awad, Downie, Kiguluta, 1979].

Более подробные сведения о строении и функциях мышц см. Smith (1972). Микрофибриллы, являющиеся примитивным аналогом мышц, рассматриваются в разд. 5.4.8.

Некоторые лекарственные вещества действуют на железы внутренней и внешней секреции. Гистамин вызывает секрецию соляной кислоты в желудке, а эффективность лекарственного препарата циметидина (9.58) при лечении язвы желудка и двенадцатиперстной кишки обусловлена его блокирующим действием на этот процесс.

Известны некоторые вещества, ингибирующие образование и выделение гормонов. Например, тиоцианат-ион (попадающий в организм при неумеренном потреблении капусты) ингибирует накопление йода в щитовидной железе. Лекарственные препараты — производные мочевины, такие как пропилтиоурацил и карбимазол — тормозят йодирование тирозина в тироглобулине и широко используются при гиперфункции щитовидной железы.

Многие лекарственные вещества стимулируют диурез, влияя на процессы выделения и обратного всасывания в почках (разд. 3.1). Известны вещества, обладающие непосредственным действием на гемопоз (например, фенилин, варфарин, кальциевая соль ЭДТА, метотрексат), на соединительную ткань (например, салицилаты, преднизолон, кортизон) и на опухоли.

О систематической фармакодинамике см. Gilman, Goodman и Gilman (1980).

7.6.5. Вещества, действующие на нервную систему насекомых

Очень немногие средства борьбы с насекомыми действуют аналогично фармакодинамическим препаратам (разд. 7.0). Большинство из них — инсектициды (разд. 6.4.1). Применяю-

щиеся в настоящее время препараты — нервно-паралитические отравляющие вещества. Механизм их действия становится более понятным при параллельном изучении их влияния на нервную систему человека (см. также разд. 7.5.1). Применение наиболее распространенных инсектицидов, хлорированных углеводородов и пиретроидов приводит к гибели насекомого в результате чрезмерной стимуляции центральной и периферической нервных систем. ЦНС насекомых состоит из двойной нервной цепочки, расположенной вентрально, с парными ганглиями в каждом сегменте, от которых отходят периферические нервы. Аксон такого нерва имеет 10 мкм в диаметре и покрыт тонкой немиелинизированной липопротендной оболочкой. Аксоны объединены в нервные волокна, окруженные подогнанными друг к другу слоями нейроглиальных клеток, и покрыты снаружи белковой оболочкой. Поляризация нерва в состоянии покоя сходна с поляризацией нерва у позвоночных (разд. 7.5.1). При электрической стимуляции возникают спайки, следующие один за другим с интервалом 1 мсек; однако потенциал действия распространяется со скоростью всего около $2 \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$, т. е. примерно в 50 раз медленнее, чем в значительно более крупных миелинизированных аксонах позвоночных.

Химические медиаторы в ЦНС насекомых изучены еще не полностью, однако известно, что АХ и октопамин играют в них важную роль. В ганглиях насекомых нейромедиатором служит АХ, а в нервно-мышечном соединении — L-глутаминовая кислота [Usherwood, Machili, 1968] — нейромедиатор, для которого до сих пор не найден избирательно действующий антагонист. Рецепторы нейромедиаторов надежно защищены селективно проницаемыми мембранами.

Основное действие ДДТ (6.41) заключается в стимуляции сенсорных, центральных и двигательных аксонов [Roeder, Weiant, 1948]. В отличие от фосфорсодержащих инсектицидов ДДТ не ингибирует АХЭ (разд. 12.3). Тем не менее общий эффект его действия заключается в существенном увеличении количества свободного АХ, по-видимому, вследствие выделения из связанной формы (например, из пресинаптических пузырьков) [Lewis, Waller, Fowler, 1960], т. е. не за счет ускорения синтеза АХ [Rothschild, Howden, 1961], а в результате нарушения структуры аксональных мембран.

Молекулы инсектицида вклиниваются в Na^+ -проводящие каналы и таким образом увеличивают натриевый ток, так как каналы не могут вернуться в закрытое, непроводящее состояние. В результате аксон все время поляризован, что приводит к его гибели вследствие гипервозбуждения. Ионы кальция, обладающие защитным действием на натриевые каналы, могут предотвращать подобный эффект ДДТ [Veeman, 1982]. Дейст-

¹ Этот «отрицательный температурный коэффициент» связан с образованием комплекса с переносом заряда бензольными кольцами ДДТ [Holap, 1974].

вне ДДТ ослабевает при повышении температуры¹ и почти исчезает при температуре выше 30 °С [Guthrie, 1950]. Параллельно уменьшению активности снижается и способность блокировать натриевые каналы. Поэтому у теплокровных животных токсическое действие ДДТ не проявляется (что очень важно, так как ДДТ столь же ядовит для насекомых, как синильная кислота для человека).

Токсическое действие ДДТ (по сравнению с пиретрином II) развивается медленно; сначала наблюдаются непроизвольные движения конечностей (но не крыльев) насекомых. Однако смерть наступает не вследствие изнеможения от этих движений, так как известно, что также быстро погибают и анестезированные насекомые. Действие линдана и хлорированных инсектицидов группы дильдрин — альдрин, развивается еще медленнее, причем отмечаются непроизвольные движения крыльев (а не конечностей).

Интоксикация, вызываемая ДДТ у насекомых, приводит к их гибели при условии, что доза инсектицида достаточно велика. Тем не менее, если гибели не происходит из-за низкой дозы или наличия резистентности, наблюдается вторичный эффект, а именно выделение избытка нейрофизиологически активного вещества, которое может выделяться также в результате действия вибрации или электрошока. Источником этого эндотоксина, часто являющегося причиной гибели насекомых, по-видимому, служит вентральная цепочка [Sternburg, Chang, Kearns, 1959]. Природа этого вещества до сих пор не установлена, известно только, что это не АХ. Это же вещество вырабатывается при действии фосфорорганических инсектицидов, однако линдан такого эффекта не дает.

Механизм действия линдана (6.45) и хлорированных циклодиенов группы дильдрин — альдрин, по-видимому, идентичен (но отличается от такового ДДТ). Они действуют на пресинаптические холинергические образования в ЦНС насекомых, способствуя как спонтанному, так и вызванному выделению АХ, от избытка которого насекомые, вероятно, и погибают. Эти вещества не блокируют АХЭ (в отличие от фосфорорганических инсектицидов, см. разд. 13.3) [Veeman, 1982] и активность их не уменьшается при повышении температуры, как это имеет место для ДДТ.

Применение циклодиенов, в частности альдрин, дильдрин и эндрин, считается небезопасным. Линдан, напротив, обладает очень высокой избирательностью и не оказывает вредного действия на человека. Он включен в основные фармакопеи мира в качестве инсектицида, акарицида и ларвицида. Спиртовой раствор линдана (0,2%) применяют местно для уничтожения головных вшей, а 1% эмульсию — для лечения чесотки у человека. Применение ДДТ в медицине (с теми же целями) за последнее десятилетие значительно снизилось. Тем не менее следует отметить, что он вполне безопасен для человека, а государ-

ственные запреты на его использование связаны со способностью ДДТ накапливаться в пищевых цепях птиц и рыб, где он вмешивается в метаболизм кальция, нарушая образование скелета (разд. 3.5.3). В 1956 г. в США проводились исследования на добровольцах с добавлением им в пищу по 35 мг ДДТ на человека ежедневно (т. е. в 200 раз выше среднего поступления с пищей в то время в США). Ни у кого из добровольцев за 18 мес приема препарата не появилось никаких симптомов, связанных с этим веществом [Hayes, Durham, Cueto, 1956].

Рабочие, занятые на производстве ДДТ с 1945 г., во время работы вдыхают дозы во много сотен раз выше средних, но у них не проявляется никаких признаков плохого самочувствия. При обследовании 35 человек, подвергавшихся действию ДДТ в течение 11—19 лет на одном из заводов в Калифорнии (производящем его постоянно с 1947 г.), не было обнаружено признаков каких-либо заболеваний, в том числе и рака, характерных для таких агентов. Было установлено, что накопление ДДТ в жировых тканях этих людей составляет от 38 до 647 промилле в сравнении с 8 промилле у населения; отмечалось также медленное накопление ДДТ в печени [Laws, Curley, Bigos, 1967; Wagnick, Carter, 1972]. Однако в опытах на мышах линии CFI (у 22% особей спонтанно возникают злокачественные опухоли печени) было показано, что при введении им с пищей 2 мг/кг ДДТ число опухолей увеличивается [Tomatis et al., 1972]. Увеличение дозы в десять раз вызвало образование злокачественных опухолей у животных линии Balb/C, не имеющих тенденции к их спонтанному образованию [Teggacini et al., 1973].

Пиретрин I, сложный эфир соединений (6.50) и (6.51), экстрагируют из растений вида *Chrysanthemum*. Его действие сходно с таковым для ДДТ, как по способности поддерживать в открытом состоянии натриевые каналы, так и по резкой отрицательной температурной зависимости эффекта. Пиретрин I высоко липофилен, легко проникает через кутикулу насекомых и гемолимфой переносится к месту действия — периферическим и центральным ганглиям. Пиретрин II, соответствующий эфир соединения (6.52), обладает более сильным снотворным действием: сначала, например, мухи падают на землю, однако позже они могут ожить. Хотя картины, полученные на осциллографе для ДДТ и пиретринов, различаются в деталях, все данные указывают на то, что мишени для этих веществ схожи и располагаются на мембранах нерва. Как и в случае с ДДТ, высокая концентрация ионов кальция блокирует действие пиретринов [Veeman, 1982].

Пиретрин обладает высокой избирательностью действия, малотоксичен для человека благодаря распространенности у млекопитающих оксидазы смешанного действия (разд. 3.5.1) и неспецифических эстераз.

Подробнее об инсектицидах см. разд. 6.4.1.

Глава 8

СИЛЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ ВЕЩЕСТВО С РЕЦЕПТОРОМ, ХИМИЧЕСКИЕ СВЯЗИ, АДСОРБЦИЯ

Оказавшись в непосредственной близости от рецептора, молекула лекарственного вещества (разд. 3) немедленно вступает с ним во взаимодействие. Длительность и избирательность этого взаимодействия определяется особенностями химической природы и лекарственного вещества и рецептора, а также типом связей между ними.

8.0. Типы химических связей

В прошлом была широко распространена точка зрения, согласно которой действие одних лекарственных веществ имеет «физическую» природу, а действие других — «химическую». Предполагалось также, что физические свойства лекарственного вещества определяют его способность проникать к месту действия, где происходит его химическое взаимодействие с тем или иным рецептором. В этих гипотезах значение слова «химический» почему-то всегда ограничивалось образованием ковалентных связей.

В настоящее время такое противопоставление понятий «физический» и «химический» представляется бессмысленным. И. Ленгмюр (1916, 1917) показал четкую взаимосвязь между физикой и химией этих взаимодействий: каждое вещество обладает определенными физическими свойствами, всегда обусловленными химическими особенностями его структуры. Таким образом, нельзя противопоставлять химические и физические свойства вещества — они являются лишь разными проявлениями одной и той же сущности. Например, повышение температуры воды до точки кипения является, казалось бы, чисто физическим процессом. Однако, как показал И. Ленгмюр, на самом деле при этом происходит деполимеризация, сопровождающаяся разрывом бесчисленного множества водородных связей между молекулами воды, т. е. фактически протекает химическая реакция.

Появление в 1939 г. книги Л. Полинга «Природа химической связи» имело огромное значение для систематизации знаний о разных типах связи между атомами. Для химии лекарственных веществ наиболее важны четыре типа химической связи: ковалентные, ионные (электростатические), водородные и ван-дер-

ваальсовы. Эти основные типы могут подразделяться на множество отдельных разновидностей. Образование или разрыв любой из этих связей представляет собой истинную химическую реакцию, протекающую с заметным изменением энергии. Современные представления о химической связи основаны на квантовой механике и понятии валентности, полученном также из квантовой химии. Прочность связей, обычно определяемую экспериментально, можно рассчитать, используя квантово-химические методы.

8.0.1. Ковалентная связь

Лекарственные вещества, образующие ковалентную связь с рецептором, такие как пенициллин и органические фосфаты, рассматриваются в главе 13. Действие большинства лекарственных веществ можно прекратить простым отмытием действующего агента (см. рис. 2.2 и его описание в тексте). Подобная быстрая обратимость означает, что проявление биологического эффекта не связано с образованием ковалентной связи. В то же время метаболизм (биологическая деструкция) лекарственных веществ всецело определяется разрывом ковалентных связей.

Ковалентная связь образуется за счет обобществления двумя атомами пары электронов, принадлежащих этим атомам. Она обычно значительно прочнее остальных. Прочность химической связи можно оценить по ее энергии; для ковалентных связей она колеблется в пределах 250—1000 КДж/моль¹. Так, энергия ординарной простой связи между двумя атомами углерода составляет в среднем 350 КДж/моль, двойной углерод-углеродной связи (C=C) — 600 КДж/моль, простой связи между атомами углерода и кислорода (C—O) — 350 КДж/моль, двойной связи C=O — 750 КДж/моль, простой связи углерода с азотом (C—N) — 300 КДж/моль и двойной связи C=N — 620 КДж/моль. Следует подчеркнуть, что энергия самой прочной связи, способной расщепляться неферментативно при «биологических» температурах 20—40 °С, не превышает 40 КДж/моль.

Если лекарственное вещество отмывается от ткани с трудом, то это еще не значит, что оно связано с этой тканью ковалентной связью. Лекарственное вещество может легко образовывать клатраты, представляющие собой физическое включение его молекул в изгибы молекул биополимера. Этот принцип уже давно используют в текстильной промышленности при окрашивании хлопчатобумажных тканей красителями типа «небесно-голубого» (8.8) с длинными и узкими молекулами. При использовании таких низкомолекулярных полиазокрасителей, известных под названием «прямых красителей», нет необходимости пользоваться протравой, а одежда, окрашенная таким способом, сохраняет

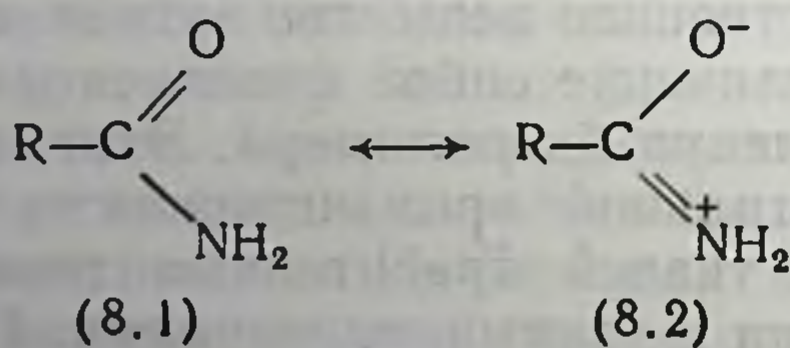
¹ Долгое время в химической и биологической литературе энергию было принято представлять в единицах ккал/моль; переход к этим единицам от КДж легко осуществить делением на 4,18.

цвет после многократной стирки [Larworth, 1940]. Проявлению клатратного эффекта в значительной мере способствует образование нековалентных связей.

Разновидностью ковалентной связи (хотя и менее прочной) является координационная связь, образующаяся в том случае, если оба электрона поступают от одного атома (согласно его валентности). Например, соединение иона водорода с анионом приводит к образованию неионизированной формы кислоты, а иона водорода с амином — катиона аммония ($\text{CH}_3\text{NH}_2 + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{NH}_3^+$). Это явление, называемое ионизацией, охватывает широкий ряд процессов (глава 10). Энергия связей в таких соединениях варьирует в широких пределах. Подобная координационная связь возникает и при замене протона (катиона водорода) катионом металла при образовании солей из неионизированных кислот. Образование комплексов металлов с помощью координационных связей см. главу 11. Координационная связь существует также между атомами азота и кислорода в молекулах оксидов азота ($\text{R}_3\text{N} \rightarrow \text{O}$) и в нитросоединениях ($\text{R}-\text{N} \begin{matrix} \text{O} \\ \diagup \\ \text{O} \end{matrix}$).

В так называемых сопряженных системах электронная плотность делокализована (принятый способ изображения таких систем в виде последовательности атомов, связанных чередующимися простыми и кратными связями, неточен — каждая из них не является целочисленной). К сопряженным системам относятся такие молекулы или их фрагменты, в которых каждая связь может быть условно обозначена как «полуторная» (например, бензол, бутадиен, пиридин). Часто такие молекулы можно представить набором так называемых «резонансных» (граничных) структур с разделенными зарядами, в которых атомы связаны уже только целочисленными связями, как это показано формулами (8.1) и (8.2). Резонансные структуры обозначают стрелкой с двумя концами, помещенной между ними. Атомы в резонансных структурах никогда не меняют взаимного положения, подвижны только электроны и заряды.

Сопряженные системы — плоские (планарные), что подтверждается данными рентгено-структурного анализа.



Амидная группа

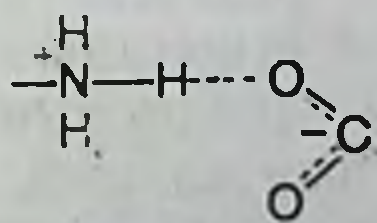
8.0.2. Связи, образующиеся за счет электростатических взаимодействий

Связи, образованные электростатическими силами, играют важную роль при взаимодействии лекарственных веществ с рецепторами, точно так же, как при реакциях субстратов с фер-

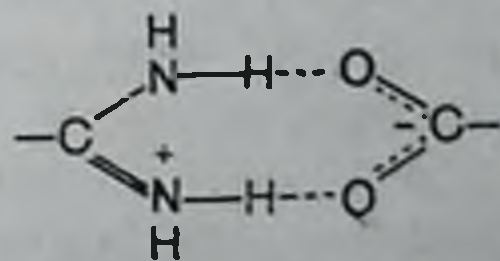
ментами. Это объясняется тем, что в подобных взаимодействиях участвуют силы с большим радиусом действия, которые начинают действовать уже на большом расстоянии между взаимодействующими атомами. Таким свойством обладает только этот тип связей. Их другая характерная особенность — легкость обмена ионов. В биологических средах, содержащих много конкурирующих ионов, продолжительность существования таких связей может составлять 10^{-5} с именно вследствие ионного обмена. Тем не менее электростатическая связь между лекарственным веществом и рецептором может существовать в течение длительного периода времени, особенно если расстояние между ними способствует образованию еще и короткодействующих связей, таких как водородные и ван-дер-ваальсовы.

Наиболее часто электростатические связи образуются между ионами (отсюда и их название «ионные» или «солеобразующие»). Кроме того, они могут существовать и между ионом и диполем или между двумя диполями. Все они образуются за счет чисто электростатических сил. Энергия ионной связи составляет примерно 20 КДж/моль, причем ее прочность уменьшается обратно пропорционально квадрату расстояния между разноименными зарядами. Типичный пример соединений с ионной связью — хлорид натрия (Na^+Cl^-). В водном растворе ион может двигаться почти свободно в поле действия своего противоиона, другими словами, ионная связь не имеет строгой направленности в пространстве.

Простейшим примером стабилизации ионной связи за счет образования другого типа связи могут служить катионы всех аминов (за исключением четвертичных ионов аммония), образующие с анионами карбоновых кислот одновременно и ионные, и водородные связи, как в случае (8.3), где анион представлен в мезомерной форме (т. е. с делокализованным зарядом). Считают, что в этих солях, образованных с помощью водородных связей, энергия связи составляет 40 КДж/моль. Амидины образуют более прочно связанные соли (8.4). Кроме того, две молекулы могут быть связаны друг с другом ионными силами в одной точке и ван-дер-ваальсовыми — в другой, как при интеркалляции 9-аминоакридина в ДНК (разд. 10.3.2), что значительно повышает прочность связи.



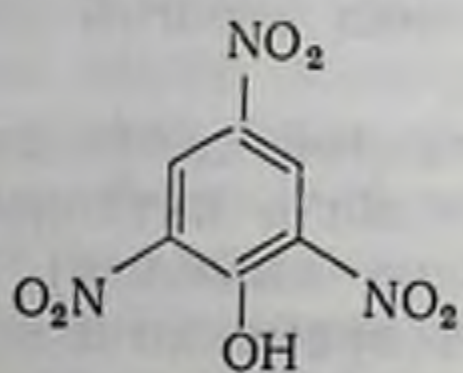
Соль амина
(8.3)



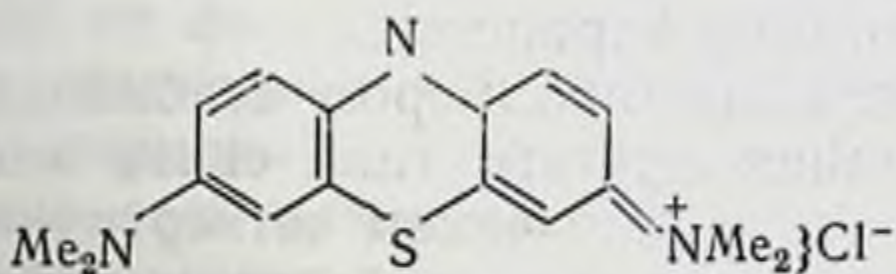
Соль амидина.
(8.4)

Стабилизацию ионных пар (т. е. пар противоположно заряженных ионов) за счет короткодействующих сил можно наглядно проиллюстрировать с помощью аналитического метода экст-

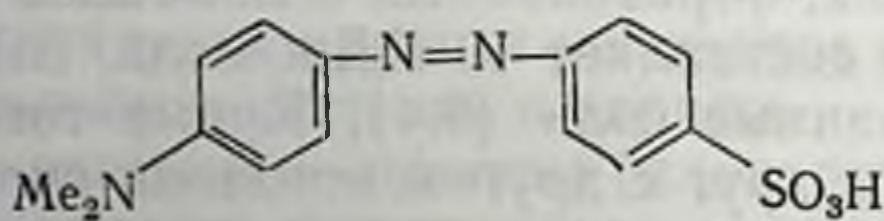
ракции ионов. Например, пикриновая кислота (8.5) в водном растворе легко определяется титрованием водным раствором метиленового синего (8.6) в присутствии хлороформа. Ни метиленовый синий (хлорид сильного основания), ни пикриновая кислота почти не растворяются в хлороформе, тогда как пикрат метиленового синего растворяется в нем хорошо. Концом реакции считают появление слабого, не исчезающего синего окрашивания в водной фазе [Bolliger, 1939]. Обычно свойства соли не отличаются от свойств составляющих ее ионов. Однако в тех случаях, когда два плоских иона контактируют большой поверхностью, например, такие ионы как (8.5) и (8.6), возникающая между ними связь (ионная+вторичные) оказывается столь прочной, что ионы теряют окружающие их обычно молекулы гидратационной воды, и соль становится жирорастворимой. Аналогичным образом катионные органические вещества типа акрихина (6.10) можно определять в присутствии не смешивающегося с водой растворителя, используя окрашенные сульфокислоты, например метиленовый оранжевый (8.7) [Brodie et al., 1945] или бромтимоловый синий. Подобная экстракция ионов может служить моделью процессов адсорбции катионов лекарственного вещества рецепторами и проникновения молекул лекарственных веществ через полупроницаемые мембраны с помощью носителей (разд. 3.2).



Пикриновая кислота
(8.5)



Метиленовый синий
(8.6)



Метиловый оранжевый
(8.7)

Ион-дипольную связь легко представить себе, если вспомнить, что многие неионизированные вещества имеют очень большие дипольные моменты, и поэтому некоторые из составляющих их атомов несут частичный положительный, а другие — частичный отрицательный заряды (см. разд. 17.2 о классификации заместителей по заряду). Такие молекулы могут притягиваться ионами и образовывать с ними связь (с частью молекулы, обладающей частичным зарядом, противоположным по знаку заряду иона). Такие связи несколько слабее, чем чисто ионные связи. Самым общеизвестным примером ион-дипольной связи можно считать присоединение молекул воды ко всем ионам

(в водных растворах), за счет чего возникают гидратированные ионы, резко отличающиеся по своим свойствам от негидратированных ионов в кристаллах.

Родственное антибактериальным сульфаниламидам соединение диафенилсульфон (9.17) наиболее широко используется при лечении проказы. Показано, что соответствующий фермент (дигидрофолатсинтетазу) лучше ингибируют анионы сульфадиазинов и большинства антибактериальных сульфаниламидов. Диафенилсульфон тем не менее не ионизируется, а образует ион-дипольную связь с ферментом. Благодаря этому он обладает минимальным количеством побочных эффектов и может применяться в течение длительного времени, что необходимо при лечении проказы.

Наконец, существуют относительно слабые диполь-дипольные связи, энергия которых обратно пропорциональна третьей степени расстояния между взаимодействующими частицами. В модели АХЭ, предложенной Вильсоном и Бергманном (рис. 12.3, том 2), показано, что диполь-дипольная связь образуется между атомом азота с двойной связью имидазольного цикла (в ферменте) и частично положительно заряженным атомом углерода сложноэфирной группы АХ.

8.0.3. Водородная связь

Водородные связи образуются лишь при очень малом расстоянии между взаимодействующими атомами и достаточно строго ориентированы в пространстве, поэтому они обладают высокой избирательностью и направленностью, что очень важно при связывании лекарственного вещества с рецептором. Кроме того, они играют основную роль в стабилизации конформаций молекул белков и нуклеиновых кислот.

Высокая концентрация положительного заряда в исключительно малом объеме дает возможность атому водорода выступать в роли связующего между двумя электроотрицательными атомами (в основном между O, N и F): например, —O—H...N—. Атом, участвующий в образовании водородной связи, должен обладать октетом валентных электронов, в котором по крайней мере одна пара электронов остается неподеленной. Атомы, связанные водородной связью, могут находиться в одной и той же или в разных молекулах. Энергия связи обычно составляет 3—5 ккал/моль. Для образования водородной связи атомы должны располагаться на одной прямой с группой OH или NH и на определенном расстоянии от нее (например, для связи O—H...O это расстояние должно быть равно 0,27 нм). Естественно, что они легко разрываются при нагревании.

Чем больше различие в сродстве к электрону у двух атомов, связанных водородной связью (даже если это атомы одного элемента, например, азота), тем она прочнее. Этот тип связи по своей природе является средним между координационной и

электростатической связями. Водородные связи с атомом серы слабые, еще слабее связи водорода с атомами галогенов (за исключением фтора); водородную связь с атомом углерода лишь с трудом удастся обнаружить. Водородные связи можно обнаружить по изменениям инфракрасных спектров, констант ионизации, температуре плавления, летучести и растворимости веществ.

Лед, бумага и нейлон — типичные примеры твердых веществ, механические свойства которых определяются в основном водородными связями [Kollman, Allen, 1972].

8.0.4. Ван-дер-ваальсовы связи

Этот тип связи (или «силы» по другой номенклатуре) может возникать только в тех случаях, когда геометрия двух молекул дает возможность двум атомам, способным к образованию такой связи, подойти друг к другу на достаточно близкое расстояние. Многие полагают, что этот тип связи имеет первостепенное значение в соединении лекарственного вещества с рецептором. Наличие в молекуле лекарственного вещества ионизированной группы способствует сближению молекул до расстояния, на котором начинают действовать ван-дер-ваальсовы силы. Примером такого последовательного образования связей могут служить аминокридины (разд. 10.3).

Взаимодействие между антигеном и его антителом происходит исключительно за счет сил с малым радиусом действия, т. е. ван-дер-ваальсовых и водородных связей [Pardee, Pauling, 1949]. Ван-дер-ваальсовы связи образуются, когда любые два атома, принадлежащие разным молекулам, оказываются на достаточно близком расстоянии. Они возникают благодаря тому, что все молекулы обладают энергией, достаточной для колебаний их атомов. Временные диполи, образующиеся в атомах за счет этих колебаний, индуцируют диполи в других, соседних молекулах, что в конечном итоге и приводит к возникновению притяжения между ними. Энергия ван-дер-ваальсовых сил изменяется обратно пропорционально седьмой степени расстояния, и поэтому они действуют только на очень коротких расстояниях. (Так, если расстояние между двумя атомами увеличивается в 2 раза, притяжение между ними падает до $1/128$ исходной величины; в случае ионной связи притяжение снизилось бы только до $1/4$ начального значения, а величина диполь-дипольного взаимодействия — до $1/8$.)

Прочность ван-дер-ваальсовой связи увеличивается с возрастанием относительной атомной массы (ОАМ); она пренебрежимо мала для атомов водорода и составляет примерно 2 КДж/моль для атомов с ОАМ 12—16, что играет важную роль во взаимодействии лекарственного вещества с рецептором. Их действие начинает проявляться тогда, когда две молекулы могут настолько сблизиться, что многие атомы одной молекулы

вступают в ван-дер-ваальсово взаимодействие с атомами другой. Таким образом, в результате тесного контакта агента с рецептором между ними может возникнуть очень прочная связь, энергия которой, например, может составлять 20 КДж/моль.

Непосредственно измерить прочность ван-дер-ваальсовых взаимодействий нельзя, однако их значения можно рассчитать методом молекулярных орбиталей или как разность между общей суммой сил, действующих между двумя молекулами или между молекулой и окружающей средой, и всеми остальными силами, кроме ван-дер-ваальсовых. Из всех сил межатомных взаимодействий с достаточной достоверностью можно вычислить силы ион-ионного, ион-дипольного и диполь-дипольного взаимодействий. (Понятие «диполь» здесь обозначает постоянный диполь, величина и ориентация которого известны или могут быть легко определены, в то время как ван-дер-ваальсовы силы действуют между осциллирующими диполями.)

В действительности ван-дер-ваальсовы силы являются равнодействующими четырех видов сил, а именно: лондоновского притяжения, притяжения Дебая, зависящей от температуры силы Киссома и силы отталкивания Борна. Последние появляются следующим образом: два атома в органической молекуле обычно находятся на расстоянии около 0,14 нм, тогда как атомы разных молекул не могут подойти так близко друг к другу. Две молекулы начинают отталкиваться друг от друга, если соответствующие атомы сближаются на расстояние около 0,3 нм (для атомов С, О или N, но только на 0,24 нм для двух атомов водорода). Эти минимальные расстояния представляют собой сумму двух ван-дер-ваальсовых радиусов (0,12 нм для Н и 0,155 нм для N)¹. Мощные силы отталкивания начинают проявляться для несвязанных между собой атомов, даже если они принадлежат одной молекуле, когда они сближаются на расстояние, равное сумме их ван-дер-ваальсовых радиусов. Это отталкивание устанавливает верхний предел ван-дер-ваальсовому притяжению.

О ван-дер-ваальсовых связях см. Pitzer (1959).

8.0.5. Другие типы химических связей

Комплексы с переносом заряда являются особым электронным проявлением некоторых нелокализованных ковалентных связей. Как уже отмечалось выше, в молекулах с двумя или более сопряженными двойными связями часть электронов делокализована и образует π -электронное облако, охватывающее всю систему сопряженных связей. Вследствие дальнейшей делокализации, вызванной влиянием сильно поляризованных заместителей, в этом π -электронном облаке может создаваться дефицит или избыток π -электронов по сравнению с нормальным

¹ Для других атомов ван-дер-ваальсовы радиусы приведены в табл. 9.1, а также в работе Bondi (1964).

(т. е. содержащим по два π -электрона на каждую двойную связь). Поэтому желательно различать, особенно для циклических систем, соединения с дефицитом π -электронов (например, нитробензол и пиридин) и соединения с избытком электронов (например, анилин и пиррол) [Albert, 1968]. Соединения с большим дефицитом π -электронов способны образовывать очень непрочные комплексы с молекулами, содержащими большой избыток π -электронов. По-видимому, в такой системе имеется возможность почти свободного обмена электронами, подобно существующему между двумя конденсированными кольцами в одной молекуле. Термодинамические основы этого явления далеко не всегда понятны, но оно наглядно проявляется в том, что в ультрафиолетовых или видимых спектрах этих соединений появляется новый пик.

Комплексы с переносом заряда привлекли внимание исследователей 30 лет назад [Benesi, Hildebrand, 1948]. Позже было обнаружено, что рибофлавин образует подобные комплексы с триптофаном, а также 5-гидрокситриптамиином (серотонином). Полагают, что связи такого типа могут играть важную роль в химических процессах, протекающих в человеческом организме [Szent-Györgyi, 1960]. Первоначально название «комплексы с переносом заряда» относилось к процессам переноса электронов, происходящим под действием света. Для более полного ознакомления с комплексами с переносом заряда см. Slifkin (1971).

Гидрофобная связь. Этот термин был предложен Кауцтапп (1954) для описания ван-дер-ваальсовых сил притяжения между атомами неполярных участков двух молекул, окруженных молекулами воды. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия осуществляются на таких коротких расстояниях, что молекулы воды не могут проникнуть между взаимодействующими молекулами. Другими словами, притяжение молекул воды друг к другу за счет образования водородных связей (см. конец разд. 3.1) приводит к тому, что участки молекул, не содержащие атомов кислорода и азота, которые сами способны к образованию водородных связей, стремятся быть вытолкнуты из воды. Таким образом, понятие «гидрофобная связь» не предполагает наличия связей какого-либо нового типа. Этот термин не имеет термодинамического смысла, в отличие от четырех основных типов связи, обсуждавшихся ранее.

Hildebrand (1979) отмечал, что концепция «гидрофобных связей» не согласуется с фактами; он утверждал, что сама концепция гидрофобного эффекта представляется нереальной. Ни одно гидрофобное вещество еще не было обнаружено: все вещества гидрофильны, это относится к углеводородам, но в очень малой степени. Для доказательства гидрофильности углеводородов Гильдебранд привел в качестве примера следующий факт: энергия, необходимая для испарения одного моля бутана из водного раствора (при 1 атм и 25°C), на 0,65 ккал больше, чем для испарения одного моля чистого жидкого бутана.

Он указывает также на то, что если вылить некоторое количество октана на лед, можно наблюдать как лед мгновенно смачивается углеводородом [Hildebrand, 1979].

Tanford (1979), постоянно использовавший и защищавший термин «гидрофобная связь», признавал, что работа адгезии (в эрг/см² при 25 °С) гексана с гексаном составляет —35,8, гексана с водой —39,5, а воды с водой —144,0. Таким образом, притяжение молекул гексана молекулами воды примерно на 10% больше, чем притяжение молекул гексана друг к другу. Тем не менее притяжение молекул воды друг к другу в 3,6 раза больше, чем молекул гексана и воды. Вот почему молекулы гексана выталкиваются из воды.

О «гидрофобном эффекте» см. Tanford (1980) и Ben Naim (1980); о гидрофильных и липофильных участках молекул — разд. 171.; о типах и способах образования химических связей — Pauling (1967); о валентности — Speakman (1968).

8.1. Адсорбция

Адсорбция определяется суммой всех химических связей, образующихся между молекулами или молекулами с поверхностью. Других причин адсорбции, кроме рассмотренных выше типов химической связи, нет.

Когда говорят об адсорбции какого-либо вещества, подразумевают, что оно обратимо концентрируется на поверхности. Сущность явления адсорбции стала понятна только после работ Langmuir (1916, 1917, 1918). Процесс адсорбции обусловлен теми же типами связей (в особенности ван-дер-ваальсовыми, водородными и ионными), что и химические реакции, происходящие во всем объеме вещества. Ранее предполагали, что существует «химическая» и «физическая» адсорбция, однако теперь ясно, что любая адсорбция может быть только химической, так как все связи, возникающие при адсорбции, — химические.

Поверхность обладает двумя особенностями, которые и определяют количественные различия между реакциями, протекающими на поверхности и в растворе. Во-первых, на поверхности создается 100% концентрация вещества. Поскольку адсорбируемое вещество обладает ничтожной растворимостью (растворимое не концентрировалось бы на поверхности), то при такой его концентрации вероятность химического взаимодействия значительно возрастает. Так, например, на поверхности кристалла хлорида серебра концентрация равна 7 М, в чем легко убедиться, рассчитав ее, исходя из ОММ. С другой стороны, в насыщенном растворе (1×10^{-5} М) хлористого серебра практически нет.

Другая особенность поверхности заключается в том, что она содержит ненасыщенные валентности, которые в твердом веществе затрачиваются на связывание друг с другом составляющих его атомов. На рис. 8.1 приведена схема фрагмента кристаллической решетки углерода, поясняющая это явление. Очевидно,

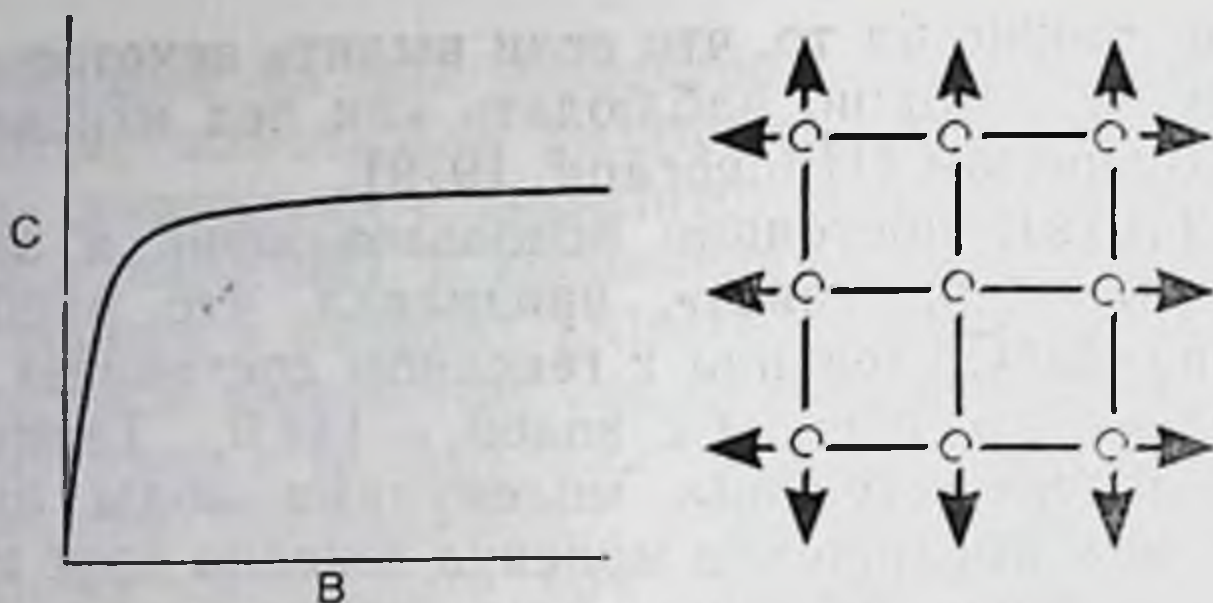


Рис. 8.1. Остаточные валентности атомов углерода на поверхности угля.

Рис. 8.2. Типичная изотерма Langmuir.

C — концентрация адсорбированного вещества (x/m). B — общая концентрация вещества.

что чем мельче истолчен кусок угля, тем больше в нем остаточных валентностей и тем более активным адсорбентом он окажется.

Если при адсорбции не происходит образования ковалентных связей, то это — обратимый процесс, и положение его равновесия устанавливается в соответствии с законом действующих масс. В 1918 г. Ленгмюр вывел из этого закона уравнение, позволяющее получить более точные количественные характеристики адсорбции, чем это было возможно ранее.

$$\frac{X}{m} = \frac{abc}{1 + ac}.$$

Из этого уравнения следует, что при постоянной температуре (т. е. в изотермических условиях) отношение массы адсорбированного вещества (x) к массе адсорбента (m) пропорционально дроби в правой части уравнения, где (c) — концентрация неадсорбированного вещества, а (a) и (b) — константы. Это уравнение показывает, что адсорбент насыщается при высоких значениях c (так как если c много больше единицы, то правая часть уравнения становится равной « b »). Эта так называемая «изотерма» адсорбции графически представляет собой гиперболу (рис. 8.2).

Очевидно, что уравнение Ленгмюра универсально и применимо, в частности, к такому общеизвестному простейшему случаю ионной адсорбции, как присоединение иона водорода в молекуле аммиака (в результате чего образуется катион аммония), который описывается такой же гиперболой.

При адсорбции лекарственных веществ специфическими рецепторами часто наблюдают такое явление, когда биологический эффект от каждого последующего удвоения дозы становится все менее ощутимым; при этом кривая зависимости эффекта от дозы также представляет собой гиперболу [Clark, 1933]. Эта закономерность иногда осложняется метаболической деструкцией вещества (см. «Места потерь» в разд. 3.4).

Для явлений, изучаемых общей химией, изотерма Ленгмюра в большинстве случаев согласуется с экспериментальными данными при условии, что адсорбированный слой является мономолекулярным. Тем не менее известны и некоторые другие типы адсорбции; в связи с этим Giles и соотр. была создана следующая общая система классификации (1960):

1. L-кривые, нормальные изотермы Ленгмюра (см. рис. 8.2), характеризующие адсорбцию молекул, ориентированных на поверхности горизонтально. Чем больше вещества адсорбировано, тем более затруднена дальнейшая адсорбция.

2. S-кривые, соответствующие вертикальной ориентации молекул относительно поверхности. На том этапе, который характеризуется начальным участком сигмоидной кривой, чем больше вещества уже адсорбировано, тем легче происходит дальнейшая адсорбция. Этот эффект получил название кооперативного.

3. H-кривые, характеризующие случаи с высокой степенью сродства; на этих кривых начальные значения концентраций твердого адсорбированного вещества очень велики; такие кривые часто получаются, если вещество адсорбируется в виде мицелл, а также при адсорбции ионов, имеющих высокую степень сродства и способных обмениваться с ионами, обладающими малой степенью сродства.

4. C-кривые, соответствующие линейной зависимости между константами распределения в тех случаях, когда вещество проникает в адсорбент легче, чем растворитель.

Следует помнить, что белки и другие крупные молекулы в «растворе» находятся в коллоидном состоянии. Такие суспензии, хотя и прозрачны на вид, обеспечивают огромную поверхность для адсорбции. Так, например, площадь поверхности белков, содержащихся в 1 см³ сыворотки крови человека, составляет 100 м³.

8.2. Небиологические примеры избирательности

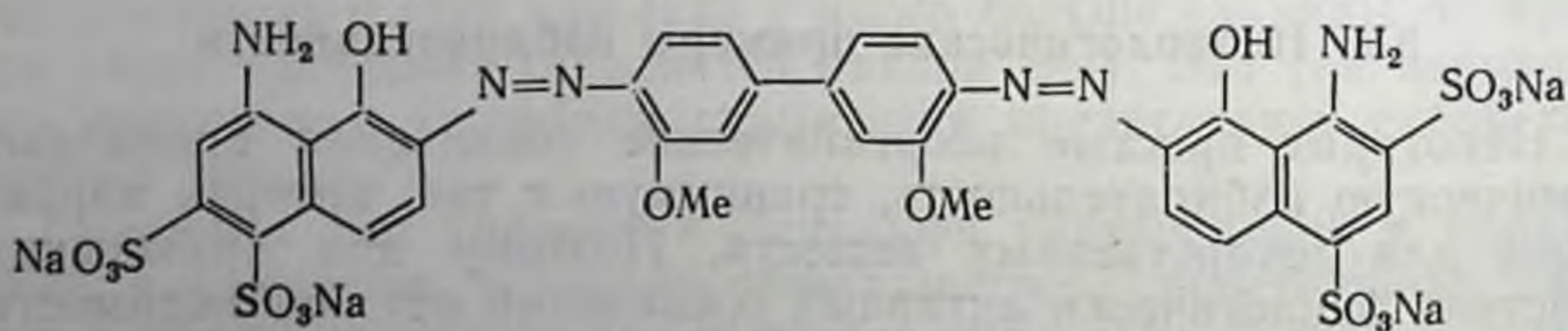
Некоторые простые неорганические соединения проявляют химическую избирательность, сравнимую с той, которая характерна для лекарственных веществ. Поэтому для объяснения действия биологически активных соединений нет необходимости предполагать существование каких-либо биологических сил.

Примеры можно найти в двух областях прикладной химии — крашении и флотации, где требуются химические реагенты, обладающие достаточно высокой избирательностью взаимодействия с близкими по структуре химическими соединениями. Эти параллели, на первый взгляд не имеющие отношения к изучению избирательной токсичности, на самом деле могут пролить свет на сложные проблемы биологической специфичности.

В промышленности такие химически сходные волокна, как целлюлоза и ацетат целлюлозы, часто используются для созда-

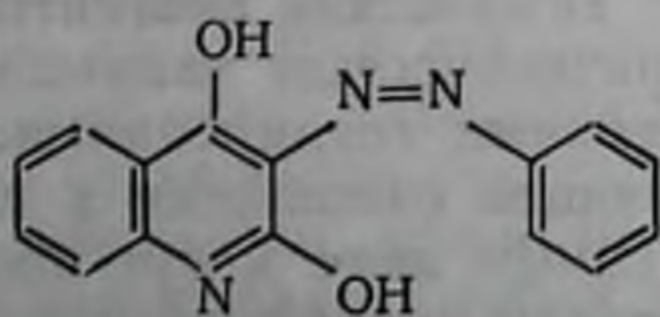
ния невидимого рисунка на ткани, а затем окрашиваются в контрастные тона одновременно. Если в одну ванну для крашения поместить красители «хлоразол небесно-голубой FFS» (8.8) и «дисперсол желтый 3G» (8.9), то они окрасят волокна целлюлозы в чистый голубой цвет, а волокна ацетата целлюлозы в чисто желтый и в результате получится ткань, например, с желтым рисунком на голубом фоне. Таким образом, каждый из этих двух видов волокон интенсивно и избирательно реагирует только с одним из красителей и не взаимодействует с другим. Волокно целлюлозы состоит из длинных, почти плоских, плотно упакованных молекул. Каждая молекула содержит большое число заместителей, способных к образованию водородных связей. Поэтому нет ничего удивительного в том, что молекулы большинства водорастворимых красителей, обладающих сродством к непротравленной целлюлозе, также являются удлиненными, плоскими и содержат много заместителей, способных образовывать водородные связи [Larworth, 1940; Ruggli, 1934]. Именно такие свойства характерны для хлоразола небесно-голубого. В молекуле ацетилцеллюлозы из каждой шести гидроксильных групп пять ацетилировано, благодаря чему молекула приобретает свойства липофильного эфира. Этим объясняется хорошая растворимость в эфирах красителей, обладающих сродством к ацетилцеллюлозе. Крашение такого типа — это простой распределительный процесс, не нуждающийся в наличии специфических группировок у красителя, например, способных к образованию водородных связей. Фактически наличие этих групп в молекуле красителя не только не обязательно, но и нежелательно (так, введение одной сульфо-группы приводит к утрате сродства к ацетилцеллюлозе).

О связи между строением и избирательностью красителей см. Larworth (1940) и Green (1937).



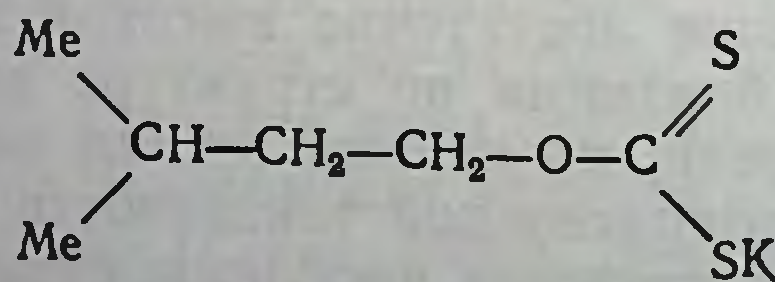
Небесно-голубой

(8.8)



Дисперсол желтый

(8.9)



Изоамилксантат калия

(8.10)

В горнодобывающей промышленности флотационные агенты обычно используют для разделения составляющих смешанных руд. Размельченную руду помещают в цистерну с водой, через которую пропускается поток пузырьков воздуха. После добавления специфичного «коллектора» отделенный им минерал поднимается на поверхность и удаляется механически. Для флотации сульфида ртути достаточно разбавленного раствора амилксантогената калия (1 часть на 100 000). Аналогично, стеарат натрия вызывает флотацию силиката меди, в обоих случаях весь кварц (песок) остается на дне цистерны. Эти и подобные им процессы хорошо известны каждому горному инженеру и широко используются в промышленности. Для более подробного ознакомления с явлением флотации см. Sutherland и Wark (1955).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abeles R., Maycock A.* — Acc. Chem. Res, 1976, vol. 9, p. 318.
- Abelson H., Penman S.* — Nature, New Biol., 1972, vol. 237, p. 144.
- Adams E., Mucleod I.* — Medicine, Baltimore, 1977, vol. 56, p. 315.
- Adamson R., Bridges J., Williams R.* — Biochem. J., 1966, vol. 101, p. 71P.
- Adcock E.* — J. Exper. Biol., 1940, vol. 17, p. 449.
- Adler S., Tchernomoretz I.* — Ann. Trop. Med. Parasit., 1942, vol. 36, p. 11.
- Africk J., Fullon J.* — Brit. J. Dermatol., 1971, vol. 84, p. 151.
- Agarwal R., Spector T., Parks R.* — Biochem. Pharmacol., 1977, vol. 24, p. 693.
- Agrawal K., Sartorelli A.* — In: Antineoplastic and Immunosuppressive Agents/ Eds. Sartorelli A., Johns C. — Berlin: Springer, 1975.
- Aigami K., Inamoto Y., Takaishi N., Fujikura Y.* — J. Med. Chem., 1976, vol. 19, p. 536.
- Aigami K., Inamoto Y., Takaishi N. et al.* — J. Med. Chem., 1975, vol. 18, p. 713.
- Aito A. (ed.)* Conjugation Reactions in Drug Biotransformation. — Amsterdam: Elsevier, 1978.
- Albert A.* — Med. J. Austral., 1944, vol. i, p. 245.
- Albert A.* — Angew. Chem., Internat. edn., 1967, vol. 6, p. 919 (review).
- Albert A.* — Heterocyclic Chemistry, an Introduction. — London: Athlone Press, 2nd edn., 1968.
- Albert A.* — Adv. Heterocycl. Chem., 1976, vol. 20, p. 117 (review).
- Albert A., Armarego W., Spinner E.* — J. Chem. Soc., 1961, p. 2689, 5267.
- Albert A., Brown D.* — J. Chem. Soc., 1954, p. 2060.
- Albert A., Brown D., Cheeseman G.* — J. Chem. Soc., 1952, (a) p. 1620, (b) p. 4219.
- Albert A., Gibson M., Rubbo S.* — Brit. J. Exper. Path., 1953, vol. 34, p. 119.
- Albert A., Goldacre R., Phillips J.* — J. Chem. Soc., 1948, p. 2240.
- Albert A., Howell C.* — J. Chem. Soc., 1962, p. 1591.
- Albert A., Howell C., Spinner E.* — J. Chem. Soc., 1962, p. 2595.
- Albert A., Rees C., Tomlinson A.* — Brit. J. Exper. Path., 1956, vol. 37, p. 500.
- Albert A., Reich F.* — J. Chem. Soc., 1961, p. 127.
- Albert A., Rubbo S., Burvill M.* — Brit. J. Exper. Path., 1949, vol. 30, p. 159.
- Albert A., Rubbo S., Goldacre R.* — Nature, Lond., 1941, vol. 147, p. 332.
- Albert A., Rubbo S., Goldacre R., Baflour B.* — Brit. J. Exper. Path., 1947, vol. 28, p. 69.
- Albert A., Rubbo R., Goldacre R. et al.* — Brit. J. Exper. Path., 1945, vol. 26, p. 160.
- Aldridge W.* — Biochem. J., 1958, vol. 69, p. 367.
- Allen J., Atherton F., Hall M. et al.* — Nature, Lond., 1978, vol. 272, p. 56.
- Allen J., Lees L.* — Antimicrob. Agents Chemother., 1980, vol. 17, p. 1973.
- Allen L., Huffman J., Cook P. et al.* — Antimicrob. Agents Chemother., 1977, vol. 12, p. 114.
- Allen N.* — Chem. Eng. News, 1981, vol. 59, (Aug. 31), p. 9.
- Allen T., Brown D., Cowden W. et al.* — J. Antibiot., 1984, vol. 37, p. 376.
- All F., Kellems R., Bertino J., Schimke R.* — J. Biol. Chem., 1978, vol. 253, p. 1357.
- Alving C., Steck E., Chapman W. et al.* — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1978, vol. 75, p. 2959.
- American Cancer Society. — Cancer Facts and Figures. — New York: Amer. Cancer Soc., 1983.
- American Thoracic Society. — Amer. Rev. Respir. Dis., 1980, vol. 121, p. 611.

- Ames B., Dubin D. — *J. Biol. Chem.*, 1960, vol. 235, p. 769.
- Anderson K., Liao S. — *Nature, Lond.*, 1968, vol. 219, p. 277.
- Andrea T., Cavalieri R., Goldfine I., Jorgensen E. — *Biochemistry*, 1980, vol. 19, p. 55.
- Anon. WHO Chronicle, 1974, p. 386.
- Anon. *Nature, Lond.*, 1983, vol. 302, p. 280.
- Anton A. — *J. Pharmacol.*, 1960, vol. 129, p. 282.
- Anton A., Solomon H. (eds.). — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1973, vol. 226, p. 1.
- Arcamone F., Cassinelli G., Fantini G. et al. — *Biotechnol. Bioeng.*, 1969, vol. 11, p. 1101.
- Ariens E. — *Arch. Internat. Pharmacodyn. Thér.*, 1954, vol. 99, p. 32.
- Ariens E. — In: *Adrenergic Mechanisms*/Eds Vane J., Wolstenholme G., O'Connor M. — London: Churchill, 1960.
- Ariens E. *Molecular Pharmacology*. — New York: Academic Press, 1964.
- Ariens E., van Rossum J., Simonis A. — *Pharmacol. Rev.*, 1957, vol. 9, p. 218.
- Armstrong D. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1966, vol. 56, p. 64.
- Armstrong G., Bradbury F., Standen H. — *Ann. Appl. Biol.*, 1951, vol. 38, p. 555.
- Arndt R., Schulz-Harder B., Schulz-Harder J. — *Biochem. Pharmacol.*, 1982, vol. 31, p. 3120.
- Ashton F., Crafts A. *Mode of Action of Herbicides*. — New York: Wiley, 2nd edn, 1981.
- Audus L. (ed.). *Herbicides*. — New York: Academic Press, 2nd edn (2 vols), 1976.
- Avery O., MacLeod C., McCarty M. — *J. Exper. Med.*, 1944, vol. 79, p. 137.
- Awad S., Downie J., Kiruluta H. — *Canad. J. Surg.*, 1979, vol. 22, p. 515.
- Axelrod J. — *J. Biol. Chem.*, 1955, vol. 214, p. 753.
- Aziz S., Knowles C. — *Nature, Lond.*, 1973, vol. 242, p. 417.
- Bacchi C. — *J. Protozool.*, 1981, vol. 28, p. 20.
- Bacon J., Milne B., Taylor I. et al. — *Biochem. J.*, 1965, vol. 95, p. 28C.
- Baddiley J., Hancock I., Sherwood P. — *Nature, Lond.*, 1973, vol. 243, p. 43.
- Bailey A., Mansfield J. (eds) *Phytoalexins*. — London: Blackie; New York: Halstead, 1982.
- Baker B., Shapiro H. — *J. Pharm. Sci.*, 1966, vol. 55, p. 308.
- Baker P. — *Brit. Med. Bull.*, 1968, vol. 24, p. 179.
- Baldwin B., Clarke C., Wilson I. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1968, vol. 162, p. 614.
- Baldwin E. *An Introduction to Comparative Biochemistry*. — Cambridge: University Press, 3rd edn., 1948a.
- Baldwin E. — *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, 1948b, vol. 3, p. 91.
- Ball W., French O. — *Bull. Univ. Calif. Agric. Exper. Station*, 1935, No. 596.
- Ballard B., Nelson E. — *J. Pharm. Sci.*, 1962, vol. 51, p. 915.
- Banerjee S., Yalkowsky S., Valvoni S. — *Environ. Sci. Tech.*, 1980, vol. 14, p. 1227.
- Bard R., Gunsalus L. — *J. Bact.*, 1950, vol. 59, p. 387.
- Barger G., Dale H. — *J. Physiol.*, 1910, vol. 41, p. 19.
- Burlin G. *The Pyrazines*. — New York: Wiley Interscience, 1982, p. 5.
- Barlow R. *Chemical Pharmacology*. — London: Methuen, 2nd edn, 1968.
- Barlow R. *Quantitative Aspects of Chemical Pharmacology*. — London: Croom Helm, 1980.
- Barlow R., Hamilton J. — *Brit. J. Pharmacol.*, 1962, vol. 18, pp. 510, 543.
- Barlow R., Ing. H. — *Brit. J. Pharmacol.*, 1948, vol. 3, p. 298.
- Barnes J., Magee P., Boyland E. et al. — *Nature, Lond.*, 1957, vol. 180, p. 62.
- Barnett J., Ralph A., Munday K. — *Biochem. J.*, 1970, vol. 116, p. 537.
- Barr P., Jones A., Verhelst G., Walker R. — *J. Chem. Soc., Perk. 1*, 1981, p. 1665.
- Barrett P. — *Proc. Brit. Weed Control Conf.*, 1974, vol. 12, p. 229.
- Barrett W., Rutledge R., Plummer A., Yonkman F. — *J. Pharmacol.*, 1953, vol. 108, p. 305.
- Bartz Q. — *J. Biol. Chem.*, 1948, vol. 172, p. 445.
- Barza M., Scheife R. — *J. Maine Med. Assoc.*, 1977, vol. 68, p. 194.
- Bauer D., Sadler P. — *Nature, Lond.*, 1961, vol. 190, p. 1167.

- Bauer D., St. Vincent C., Kempe C. et al.* — *Lancet*, 1963, ii, p. 494.
- Bauer D., Selway J., Batchelor J. et al.* — *Nature, Lond.*, 1981, vol. 292, p. 369.
- Baur E., Preis H.* — *Z. phys. Chem.*, 1936, vol. 32B, p. 65.
- Beckett A., Boyes R., Triggs E.* — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1968, vol. 20, p. 92.
- Beeman R.* — *Annu. Rev. Entomol.*, 1982, vol. 27, p. 253.
- Bell P., Roblin R.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1942, vol. 64, p. 2905.
- Belleau B., Tani H., Lie F.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1965, vol. 37, p. 2283.
- Bellville J., Forrest W.* — *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1968, vol. 9, p. 142.
- Belozersky A., Spirin A.* — *Nature, Lond.*, 1958, vol. 182, p. 111.
- Benesi H., Hildebrand J.* — *Amer. Chem. Soc.*, 1948, vol. 70, p. 3978.
- Ben-Naim A.* *Hydrophobic Interactions.* — New York: Plenum Press, 1980.
- Bennett J.* — *Ann. Intern. Med.*, 1977, vol. 86, p. 319 (review).
- Bennett J.* — *New England J. Med.*, 1979, vol. 301, p. 126.
- Bennett J., Bueding E.* — *J. Molec. Pharmacol.*, 1973, vol. 9, p. 311.
- Bennett L., Simpson L., Golden J., Barker T.* — *Cancer Res.*, 1963, vol. 23, p. 1574.
- Berdy J. (ed.)*. *CRC Handbook of Antibiotic Compounds.* — Florida; Boca Raton, 1980—82, 10 vols.
- Bergel F., Morrison A.* — *Quart. Rev. Chem. Soc. Lond.*, 1948, vol. 2, p. 349.
- Bergel F., Stock J.* — *J. Chem. Soc.*, 1954, vol. 2409.
- Bergel F., Todd A.* — *J. Chem. Soc.*, 1937, p. 1504.
- Berger M.* — *J. Neurochem.*, 1957, vol. 2, p. 30.
- Bergey D.* *Manual of Determinative Bacteriology.* — London: Ballière, Tindall and Cox, 8th edn, 1974.
- Bergmann F., Kwietny H., Levin G., Brown D.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1960, vol. 82, p. 598.
- Bernard C.* — *Compt. rend. Acad. Sci. Paris*, 1856, vol. 43, p. 825.
- Bertino J., Cashmore A., Fink N. et al.* — *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1965, vol. 6, p. 763.
- Biagi G., Barbaro A., Guerra M. et al.* — *J. Med. Chem.*, 1974, vol. 17, p. 28.
- Bicker V.* — *Nature, Lond.*, 1974, vol. 252, p. 726.
- Bird A., Marshall A.* — *Biochem. Pharmacol.*, 1967, vol. 16, p. 2275.
- Birks R., MacIntosh F.* — *Brit. Med. Bull.*, 1957, vol. 13, p. 157.
- Bittar E.* *Membranes, Structure and Function.* — New York: Wiley, 4 vols, 1980—1.
- Blackman G.* — *Agriculture*, 1946, vol. 53, p. 16.
- Blackman G.* — *Nature, Lond.*, 1854, vol. 174, p. 1179.
- Blackwell G., Carnuccio R., de Rosa M. et al.* — *Nature, Lond.*, 1980, vol. 287, p. 147.
- Blair D., Clarke V., Fontanilles F. et al.* — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1969, vol. 160, pp. 811, 915, 933.
- Blake J.* — *Amer. J. Med. Sci.*, 1848, vol. 15, p. 63.
- Blaschko H.* — *Pharmacol. Rev.*, 1952, vol. 4, p. 415.
- Blaschko H.* — *Pharmacol. Rev.*, 1959, vol. 11, p. 307.
- Blokhin N., Vozny E., Garin A.* — *Cancer*, 1972, vol. 30, p. 390.
- Blokhuis G., Veldstra H.* — *FEBS Letters*, 1970, vol. 11, p. 197.
- Blum R., Carter S.* — *Ann. Intern. Med.*, 1974, vol. 80, p. 249.
- Boakes R., Bradley P., Brookes N. et al.* — *Brit. J. Pharmacol.*, 1971, vol. 41, p. 462.
- Bock M., Haberkorn A., Herlinger H. et al.* — *Arzneim. Forsch.*, 1971, vol. 22, p. 1564.
- Bodor N.* — *Drugs of the Future*, 1981, vol. 6, p. 165.
- Bodor N.* — *Trends Pharmacol.*, 1982, vol. 3, p. 53.
- Bodor N., Woods R., Raper C. et al.* — *J. Med. Chem.*, 1980, vol. 23, p. 474.
- Bolin J., Filman D., Matthews D. et al.* — *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, p. 13650.
- Bollag W.* — *Eur. J. Cancer*, 1972, vol. 8, p. 689.
- Bonner J., Varnet J.* *Plant Biochemistry.* — New York: Academic Press, 3rd edn., 1976.
- Bonting S.* — In: *Membranes and Ion Transport*/Ed Bittar E. — New York: Wiley Interscience, 1970, vol. 1, chap. 8.

- Borisy G., Taylor E.* — *J. Cell Biol.*, 1967, vol. 34, pp. 525, 535.
- Borkovec A.* — *Environ. Health Perspect.*, 1976, vol. 14, p. 103.
- Borst P.* — *Nature, Lond.*, 1984, vol. 309, p. 580.
- Bouanchaud D., Scavizzi M., Chabbert Y.* — *J. Gen. Microbiol.*, 1968, vol. 54, p. 417.
- Boura A., Green A.* — *Annu. Rev. Pharmacol.*, 1965, vol. 5, p. 183.
- Bourne G.* *Division of Labor in Cells.* — New York: Academic Press, 2nd edn., 1970.
- Bovet D.* — *Rendiconti Istituto super. Sanità, Rome*, 1947, vol. 10, p. 1161.
- Bovet D., Bovet-Nitti F.* — *Rendiconti Istituto super. Sanità, Rome*, 1949, vol. 12, p. 7.
- Bowers W., Ohta T., Cleere J., Marsella P.* — *Science*, 1976, vol. 193, p. 542.
- Bownes M.* *Differentiation of Cells.* — London and New York: Chapman and Hall, 1981.
- Boyce C., Jones T., Van Tongeren W.* — *Bull. World Health Org.*, 1967, vol. 37, p. 1.
- Boyd I., Pathak C.* — *J. Physiol.*, 1965, vol. 176, p. 191.
- Boyland E., Wallace D., Williams D.* — *Brit. J. Cancer*, 1955, vol. 9, p. 62.
- Bradbury F., Standen H.* — *Nature, Lond.*, 1959, vol. 183, p. 983.
- Brady L.* (ed.). *Radiation Sensitizers.* — New York: Masson, 1980.
- von Brand T.* — *Z. Parasitenkund.*, 1974, vol. 45, p. 109.
- Brain R.* — *Chem. Indust.*, 1965, p. 1955.
- Briggs M., Christie G.* (eds). *Advances in Steroid Biochemistry and Pharmacology.* — New York: Academic Press, 1977.
- Brockman R.* — *Cancer Res.*, 1963, vol. 23, p. 1191.
- Brockman R., Kelley G., Stutts P.* et al. — *Nature, Lond.*, 1961, vol. 191, p. 469.
- Brockman H.* — *Fortis. Chem. org. Naturstoffe*, 1960, vol. 18, p. 1.
- Brodie B.* — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1956, vol. 8, p. 1.
- Brodie B.* *The Pharmacologist.* — Washington, 1964, vol. 6, p. 12.
- Brodie B., Axelrod J.* — *J. Pharmacol.*, 1949, vol. 97, p. 58.
- Brodie B., Gillette J., Ackerman H.* *Concepts in Biochemical Pharmacology.* — Berlin: Springer, 1971, parts 1 and 2 (see Gillette, Mitchell, 1975, for part 3).
- Brodie B., Gillette J., LaDu B.* — *Annu. Rev. Biochem.*, 1958, vol. 27, p. 427.
- Brodie B., Hogben C.* — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1957, vol. 9, p. 345.
- Brodie B., Kurz H., Schanker L.* — *J. Pharmacol.*, 1960, vol. 130, p. 20.
- Brooks G.* *Chlorinated Insecticides.* — Cleveland, Ohio: CRC Press, 2 vols, 1974.
- Brooks G., Pratt G., Jennings R.* — *Nature, Lond.*, 1979, vol. 281, p. 570.
- Brotzu G.* — *Lav. Ist. Igiene Cagliari, Sardinia*, 1948.
- Brown A.* — *Bact. Rev.*, 1964, vol. 28, p. 296.
- Brown A.* *Ecology of Parasites Pesticides.* — New York: Wiley, 1978.
- Brown D., Grigg G.* — *Med. Res. Rev.*, 1982, vol. 2, p. 193.
- Brown D., Mason S.* — *J. Chem. Soc.*, 1956, p. 3443.
- Brown G.* — *J. Biol. Chem.*, 1962, vol. 237, p. 536.
- Brown H., Matzuk A., Ilves I.* et al. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1961, vol. 83, p. 1764.
- Brown H., Rogers E.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1950, vol. 72, p. 1864.
- Brown M., Richards R.* — *Nature, Lond.*, 1965, vol. 207, p. 1391.
- Brown W., Pearce L.* — *J. Exper. Med.*, 1919, vol. 30, p. 483.
- Browning C.* — *Nature, Lond.*, 1955, vol. 175, pp. 570, 616.
- Browning C., Gilmour W.* — *J. Path. Bact.*, 1913, vol. 18, p. 144.
- Browning C., Gulbransen R.* — *J. Path. Bact.*, 1922, vol. 25, p. 395.
- Browning C., Morgan G., Robb J., Walls L.* — *J. Path. Bact.*, 1938, vol. 46, p. 203.
- Bruck S.* (ed.) *Controlled Drug Design.* — Boca Raton; Florida: CRC Press, 1983.
- Brugmans J., Thienpont D., Van Wijngaarden I.* et al. — *J. Amer. Med. Assoc.*, 1971, vol. 217, p. 313.
- Brulé G., Eckhardt S., Hall T., Winkler A.* *Drug Therapy of Cancer.* — Geneva: World Health Organization, 1973.
- Bryan L.* *Bacterial Resistance and Susceptibility.* — Cambridge: University Press,

- 1982 (Бриан Л. Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химическим препаратам. — М.: Медицина, 1984).
- Buchheim R.* Über die «scharfen» Stoffe. — Arch. Heilk., 1872, s. 1.
- Büchel K.* Chemistry of Pesticides. — New York: Wiley, 1983.
- Büchel K., Schäfer G.* — Zeits. Naturforsch., 1970, vol. 25b, p. 1465.
- Bueding E.* — In: Drugs, Parasites and Hosts/Eds. Goodwin L., Nimmo-Smith R. — London: Churchill, 1962, p. 15.
- Bueding E., Fisher J.* — Biochem. Pharmacol., 1966, vol. 15, p. 1197.
- Bueding E., Fisher J.* — Molec. Pharmacol., 1970, vol. 6, p. 532.
- Bueding E., Hawkins J., Cha Y.-N.* — Agents and Actions, 1981, vol. 11, p. 380.
- Bunting J., Perrin D.* — J. Chem. Soc. B, 1967, p. 950.
- Burchall J., Hitchings G.* — Molec. Pharmacol., 1965, vol. 1, p. 126.
- Burgen A.* — Brit. J. Pharmacol. Chemother., 1965, vol. 25, p. 4.
- Burgen A., Iversen L.* — Brit. J. Pharmacol. Chemother., 1965, vol. 25, p. 34.
- Burger M., Noonan K.* — Nature, Lond., 1970, vol. 228, p. 512.
- Burn J.* — Brit. Med. J., 1950, ii, p. 691.
- Burn J., Rand M.* — J. Physiol., 1958, vol. 144, p. 314.
- Burns B., Paton W.* — J. Physiol., 1951, vol. 115, p. 41.
- Burnstock G. (ed.).* Purinergic Receptors. — London and New York: Chapman and Hall, 1981.
- Burnstock G., Costa M.* Adrenergic Neurons. — London and New York: Chapman and Hall, 1975.
- Burton D., Clarke K., Gray G.* — J. Chem. Soc., 1964, p. 1314.
- Buss E.* — Zbl. f. d. med. Wiss., 1875, p. 276.
- Butler T.* — J. Pharmacol., 1948, vol. 92, p. 49.
- Butler T.* — J. Pharmacol., 1953, vol. 109, p. 340.
- Butler T.* — J. Amer. Pharm. Assoc., 1955, vol. 44, p. 367.
- Butler T., Waddell W., Poole D.* — Biochem. Pharmacol., 1965, vol. 14, p. 937.
- Cahn A., Hepp P.* — Berl. klin. Woch., 1887, vol. 24, pp. 4, 26.
- Cairns J.* — J. Mol. Biol., 1963, vol. 6, p. 208.
- Calabresi P., Turner R.* — Ann. Intern. Med., 1966, vol. 64, p. 352.
- Caldwell J.* — In: Metabolic Basis of Detoxication/Eds. Jakoby W., Bend J., Caldwell J. — New York: Academic Press, 1982.
- Came P., Caliguiri L. (eds).* Chemotherapy of Viral Infections. — Berlin: Springer, 1982.
- Cameron I., Pool T.* The Transformed Cell. — New York: Academic Press, 1981.
- Campbell P., Kilby B.* Basic Biochemistry for Medical Students. — London: Academic Press, 1975.
- Campbell P., Smith A.* Biochemistry Illustrated. — London: Churchill-Livingstone; New York: Longman, 1982.
- Campion J., Tichon M.* — Proc. Sixth Austral. Weeds Conf. — Toowoomba, Queensland: Harrison, 1981.
- Candy D., Kilby B. (eds).* Insect Biochemistry and Function. — London and New York: Chapman and Hall, 1975.
- Carmichael J., Bell F.* — J. Comp. Path. Therap., 1944, vol. 54, p. 49.
- Carson D., Chang K.-P.* — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1981, vol. 100, p. 1377.
- Carson S.* — Biochem. Pharmacol., 1982, vol. 31, p. 1806.
- Carson S., Godwin S., Massoulie J., Kato G.* — Nature, Lond., 1977, vol. 266, p. 176.
- Carter G., Huppertz J., Wain R.* — Ann. Appl. Biol., 1976, vol. 84, p. 333.
- Carter S.* — Endeavour, 1972, vol. 31, p. 77.
- Carter S., Blum R.* — Progr. Biochem. Pharmacol., 1976, vol. 11, p. 158.
- Carter S., Ichikawa T., Mathe G., Umezawa H.* Fundamental and Clinical Studies of Bleomycin. — Baltimore: University Park Press, 1976.
- Carter S., Sakurai Y., Umezawa H. (eds)* New Drugs in Cancer Chemotherapy. — New York: Springer, 1981.
- Carly T., Eskra J., Lombardino J., Hoffman W.* Prostaglandins, 1980, vol. 19, p. 51.
- Casida J.* — Annu. Rev. Biochem., 1973, vol. 42, p. 259.
- Casida J., Holmstead R., Khalifa S. et al.* — Science, 1974, vol. 183, p. 520.

- Cavalli-Sforza L., Lederberg J.* — Genetics, 1956, vol. 41, p. 367.
- Cervello V.* — Arch. per le Sci. med., 1882, vol. 6, p. 177.
- Chain E.* — Annu. Rev. Biochem., 1948, vol. 17, p. 657.
- Chance B., Sacktor B.* — Arch. Biochem. Biophys., 1958, vol. 76, p. 509.
- Changeux J.-P.* — Proc. Nobel Symp., 1969, vol. 11, p. 235.
- Changeux J.-P.* — Trends Pharmacol. Sci., 1980, vol. 1, p. 198.
- Chapman D.* Biological Membranes. — London: Academic Press, 1968—82, 4 vol.
- Chapman R., Penman D.* — Nature, Lond., 1979, vol. 281, p. 298.
- Chappell J.* — Biochem. J., 1966, vol. 100, p. 43P.
- Chen M., Prusoff W.* — J. Biol. Chem., 1979, vol. 254, p. L049.
- Chen M., Ward D., Prusoff W.* — J. Biol. Chem., 1976, vol. 251, p. 4833.
- Chien M., Grollman A., Horwitz S.* Biochemistry, 1977, vol. 16, p. 3641.
- Chignell C.* — Molec. Pharmacol., 1970, vol. 6, p. 1.
- Christopherson J.* — Lancet, 1918, ii, p. 325.
- Clark A.* — J. Physiol., 1926, vol. 61, p. 530.
- Clark A.* — J. Physiol., 1927, vol. 64, p. 123.
- Clark A.* The Mode of Action of Drugs on Cells. — London: Edward Arnold, 1933.
- Clark A.* — In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie/Eds. Heffter A., Heubner W. — Berlin: Springer, 1937, vol. E—4, p. 63.
- Clark R., Panchen A.* Synopsis of Animal Classifications. — London, New York: Chapman and Hall, 1971.
- Clemons G., Sisler H.* Phytopathology, 1969, vol. 59, p. 705.
- de Clerq E.* — In: Control of Virus Diseases/Ed. Kurstak E. — New York: Marcel Dekker, 1983.
- de Clerq E., Degreef H., Wildiers J. et al.* — Brit. Med. J., 1980, vol. 281, i, p. 1178.
- de Clerq E., Descamps J., de Somer P. et al.* — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1979, vol. 76, p. 2947.
- de Clerq E., Descamps J., de Somer P., Hóly A.* Science, 1978, vol. 200, p. 563.
- de Clerq E., Hóly A.* — J. Med. Chem., 1979, vol. 22, p. 510 (review).
- Couts J.* Insecticide Mode of Action. — New York: Academic Press, 1983.
- Cohen G., Gibby E., Mehta R.* — Nature, Lond., 1981, vol. 291, p. 662.
- Cohen N.* — Boil. Rev., 1966, vol. 41, p. 503.
- Cohen S.* — Annu. Rev. Biochem., 1963, vol. 32, p. 83.
- Cohen S.* — Med. Biol., 1976, vol. 54, p. 299.
- Cohn E., McMeekin T., Edsall J., Weare J.* — J. Amer. Chem. Soc., 1934, vol. 56, p. 2270.
- Colebrook L., Kenny M.* — Lancet, 1936, i, p. 1279.
- Coleman J.* — Biochem. Biophys. Acta, 1973, vol. 300, p. 1 (review).
- Collander R.* — Acta Botan. Fenn., Finland, 1933, vol. 11, p. 1.
- Collander R.* — Trans. Farad. Soc., 1937, vol. 33, p. 985.
- Collander R.* — Acta Physiol. Scand., 1947, vol. 13, p. 363.
- Collander R.* — Acta Chem. Scand., 1954, vol. 5, p. 774.
- Colquhoun D., Dionne V., Steinbach J., Stevens C.* — Nature, Lond., 1975, vol. 253, p. 204.
- Condon M., Petrillo E., Ryono D. et al.* — J. Med. Chem., 1982, vol. 25, p. 250.
- Connemacher R., Mandel H.* — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1965, vol. 20, p. 98.
- Conney A.* — Pharmacol. Rev., 1967, vol. 19, p. 317.
- Conney A., Bruns J.* — Adv. Pharmacol., 1962, vol. 1, p. 31.
- Conney A., Levin W., Ikeda M. et al.* — J. Biol. Chem., 1968, vol. 243, p. 3912.
- Connors T., Cox P., Farmer P. et al.* — Biomed. Mass Spectrom., 1974, vol. 1, p. 130; Biochem. Pharmacol., 1974, vol. 23, p. 115.
- Cook D.* — J. Molec. Biol., 1967, vol. 29, p. 167.
- Cooper J., Bloom F.* Biochemical Basis of Neuropharmacology. — Oxford: University Press, 1982.
- Cornforth J., Milborrow B., Ryback G.* — Nature, Lond., 1965, vol. 206, p. 715.
- Cotzias G., Van Woert M., Schiffer L.* — New Engl. J. Med., 1967, vol. 276, p. 374.

- Covino B., Vassallo H.* Local Anaesthetics: Mechanisms of Action and Clinical Use. — New York: Grune and Stratton, 1976.
- Cowdry E., Ruangsiri C.* — Arch. Pathol., 1941, vol. 32, p. 632.
- Cramer H.* — Pflanzenschutz Nachr. Bayer, 1967, vol. 20, p. 1.
- Crathorn A., Hunter G.* — Biochem. J., 1958, vol. 69, p. 47P.
- Criss W.* — Cancer Res., 1973, vol. 33, pp. 51, 57.
- Crooke S., Bradner W.* — Cancer Treat. Rev., 1976, vol. 3, p. 121.
- Crow W., Nicholls W., Sterns M.* — Tetr. Lett., 1971, p. 1353.
- Crowthier A., Levi A.* — Brit. J. Pharmacol., 1953, vol. 8, p. 93.
- Cruickshank I.* — Annu. Rev. Phytopath., 1963, vol. 1, p. 351.
- Crum Brown A., Fraser T.* — Trans. Roy. Soc., Edinburgh., 1869, vol. 25, pp. 151, 693.
- Crumplin G., Midgley J., Smith J.* — Top. Antibiot. Chem., 1980, vol. 3, p. 1 (review).
- Crutchler W., Moschella S.* — Brit. J. Dermatol., 1975, vol. 92, p. 199.
- Cucinell S., Conney A., Sansur M., Burns J.* — Clin. Pharmacol. Ther., 1965, vol. 6, p. 420.
- Culp L., Black P.* — J. Virol., 1972, vol. 9, p. 611.
- Curd F., Davey D., Rose F.* — Ann. Trop. Med. Parasit., 1945, vol. 39, p. 208.
- Curtis D., Duggan A., Felix D. et al.* — Brain Res., 1971, vol. 33, p. 57.
- Curtis D., Johnston G.* — Handb. Neurochem., 1970, vol. 4, p. 115.
- Cushny A.* — J. Physiol., 1909, vol. 38, p. 359.
- Cushny A.* Biological Relations of Optically Isomeric Substances. — Baltimore: Williams and Wilkins, 1926.
- Dale H.* — J. Pharmacol., 1914, vol. 6, p. 147.
- Daniels M.* — Biochem. J., 1971, vol. 122, p. 197.
- Das H., Goldstein A., Kanner L.* — Molec. Pharmacol., 1966, vol. 2, p. 158.
- Dauwalder M., Whaley W., Kephart J.* — Sub-cell. Biochem., 1972, vol. 1, p. 225.
- Davidoff R.* — Neurobiology, 1978, vol. 28, p. 46.
- Davidse L., Gerritsma O., Hofman J., Velthuis G.* — Fifth Internat. Congr. Pestic. Chem., IUPAC, Kyoto, Japan, 1982.
- Davidson J.* Biochemistry of the Nucleic Acids, 8th edn. — New York: Academic Press, 1976.
- Davis C., Harvey R.* — Proc. N.E. Weed Sci. Soc., 1979, vol. 33, p. 112.
- Davis S.* — J. Pharm. Pharmacol., 1973, vol. 25, pp. 1, 293.
- Davson H., Danielli L.* The Permeability of Natural Membranes. 2nd edn. — Cambridge; University Press, 1952.
- Dawson P., Gutteridge W., Gull K.* — Molec. Biochem. Parasit., 1983, vol. 7, p. 267.
- Dean R., Barrett A.* — Essays Biochem., 1976, vol. 12, p. 1.
- Deeves R., Serrano R., South D.* — J. Biol. Chem., 1976, vol. 249, p. 7737.
- Dekker J.* — Neth. J. Plant. Path., 1968, vol. 74 (Suppl. 1), p. 127.
- Del Castillo J., Katz B.* — Proc. Roy. Soc. B, 1957, vol. 146, p. 339.
- Del Castillo J., Mello W., Morales T.* — Brit. J. Pharmacol., 1964, vol. 22, p. 463.
- De Ley J., Docky R.* — Biochim. Biophys. Acta, 1960, vol. 40, p. 277.
- Delp C., Klopping H.* — Plant. Dis. Rep., 1968, vol. 52, p. 95.
- Desowitz R., Bell T., Williams J. et al.* — Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1970, vol. 19, p. 775.
- Dickerson R., Geis I.* Structures and Action of Proteins (with Stereo Supplement.). — New York: Harper and Row, 1969.
- Dill W., Fisker R., Reutner T. et al.* — Antibiot. Chemother., 1957, vol. 7, p. 99.
- DiLuzio N.* — Trends Pharmacol. Sci., 1983, vol. 4, p. 344.
- Dimond A., Horsfall J.* — Annu. Rev. Plant. Physiol., 1959, vol. 10, p. 257.
- Dixon M., Webb E., Enzymes.* — 3rd edn. — London: Longmans; New York: Academic Press, 1979.
- Dobkin A.* — Clin. Pharmacol. Ther., 1975, vol. 18, p. 547.
- Dodd M.* — J. Pharmacol., 1946, vol. 86, p. 311.
- Doerge R. (ed.)* Wilson and Gisvold's Textbook of Organic, Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. — Philadelphia: Lippincott, 8th edn., 1982.

- Doi O., Miyamoto N., Tanaka N., Umezawa H. — *Appl. Microbiol.*, 1968, vol. 16, p. 1282.
- Dolin M. — In: *Bacteria/Eds. I. Gunsalus, R. Stanier.* — New York: Academic Press, 1961, vol. 2, p. 425.
- Domagk G. — *Dtsch. med. Woch.*, 1935, vol. 61, p. 250.
- Domagk G. — *Klin. Woch.*, 1936, vol. 15, p. 1585.
- Dominguez R. — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1933, vol. 33, p. 1146.
- Douch P. — *Xenobiotica*, 1976, vol. 6, p. 531.
- Dreser H. — *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 1899, vol. 76, p. 306.
- Dring L., Smith R., Williams R. — *Biochem. J.*, 1970, vol. 116, p. 425.
- Dubos R. — *J. Exper. Med.*, 1939, vol. 70, p. 1.
- Duggar B. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1948, vol. 51, p. 177.
- Dunitz J. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1952, vol. 74, p. 995.
- Durant G., Ganellin C., Parsons M. — *Agents and Actions*, 1977, vol. 7, p. 39.
- Eagle H. — *J. Pharmacol.*, 1945, vol. 85, p. 265.
- Eccles J. *The Physiology of Nerve Cells.* — Baltimore; Johns Hopkins Press, 1957, p. 193—5.
- Eccles J. — *Sci. Amer.*, 1965, vol. 212, No. 1, p. 56.
- Eddy N., Friebel H., Hohn K., Halbach H. — *Bull. World Health Org.*, 1969, vol. 40, p. 639.
- Edelman I., Bogoroch R., Porter G. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1963, vol. 50, p. 1169.
- Edgerton L., Blanpied G. — *Nature, Lond.*, 1968, vol. 219, p. 1064.
- Edgington L., Walton G., Miller P. — *Science*, 1966, vol. 153, p. 307.
- Edwards D. — *Progr. Med. Chem.*, 1982, vol. 18, p. 87.
- Ehrlich P. — *Proc. Roy. Soc., Lond. B.*, 1900, vol. 66, p. 424.
- Ehrlich P. *Three Harber lectures, to Royal Inst. Public Health.* — London: Lewis, 1907.
- Ehrlich P. — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1909, vol. 42, p. 17.
- Ehrlich P. *Theorie und Praxis der Chemotherapie.* — Leipzig: Klinkhardt, 1911.
- Ehrlich P., Bertheim A. — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1912, vol. 45, p. 756.
- Ehrlich P., Hata S. *Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen.* — Berlin: Springer, 1910.
- Ehrlich P., Morgenroth J. — *Berl. klin. Woch.*, 1900, p. 453.
- Ehrlich P., Shiga K. — *Berl. klin. Woch.*, 1904, p. 329.
- Einhorn A. — *Dtsch. med. Woch.*, 1905, vol. 31, p. 1668.
- Eisleb O., Schaumann O. — *Dtsch. med. Woch.*, 1938, vol. 65, p. 967.
- Elderfield R. — *Chem. Eng. News*, 1946, vol. 24, p. 2598.
- Elion G. — *Fed. Proc.*, 1967, vol. 26, p. 898.
- Elion G. — *Adv. Enzyme Regul.*, 1980, vol. 18, p. 53.
- Elion G., Burgi E., Hitchings G. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1952, vol. 74, p. 411.
- Elion G., Callahan S., Rundles R., Hitchings G. — *Cancer Res.*, 1963, vol. 23, p. 1207.
- Elion G., Furman P., Fyfe J. et al. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977, vol. 74, p. 5716.
- Elion G., Hitchings G. — In: *Antineoplastic and Immunosuppressive Agents/Eds. A. Sartorelli, D. Johns.* — Berlin: Springer, 1975, part 2, p. 404.
- Elion G., Kovensky A., Hitchings G. et al. — *Biochem. Pharmacol.*, 1966, vol. 15, p. 863.
- El Khadem H. *Anthracycline antibiotics.* — New York: Academic Press, 1982.
- Elliott M., Farnham A., Janes N. et al. — *Nature, Lond.*, 1967, vol. 213, p. 493.
- Elliott M., Farnham A., Janes N. et al. — In: *Mechanisms of Pesticide Action/Ed. G. Kohn.* — Washington: Amer. Chem. Soc., 1974.
- Elliott M., Farnham A., Janes N. et al. — *Nature, Lond.*, 1973, vol. 246, p. 169.
- Elliott M., Janes N., Potter C. — *Annu. Rev. Entomol.*, 1978, vol. 23, p. 443.
- Elliott T. — *J. Physiol.*, 1905, vol. 32, p. 401.
- Ellouz F., Adam A., Ciobaru R., Lederer E. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1974, vol. 59, p. 1317.
- Ennor A., Rosenberg H., Rossiter R. et al. — *Biochem. J.*, 1960, vol. 75, p. 179.

- Entomological Society of America. — Pesticide Handbook: «Entoma»/Eds R. Caswell, K. Devold, L. Gilbert, 1981, 29th ed.
- Ernst L., Dallner G., Azzone G. — J. Biol. Chem., 1963, vol. 238, p. 1124.
- von Euler U., Pernow B. (eds). Substance P. — New York: Raven Press, 1977.
- Evans P., Gee J. — Nature, Lond., 1980, vol. 287, p. 60.
- Everell A., Lowe L., Wilkinson S. — Chem. Commun. Chem. Soc., Lond., 1970, p. 1020.
- Ewins A., Ashley J., Barber H. et al. — J. Chem. Soc., 1942, p. 103.
- Eyre P. — J. Pharm. Pharmacol., 1970, vol. 22, p. 26.
- Fairland A., Bowman I. — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1975, vol. 69, p. 268.
- Fairley N. — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1946, vol. 40, p. 105.
- Falco E., Goodwin L., Hitchings G. et al. — Brit. J. Pharmacol., 1951, vol. 6, p. 185.
- Farber S., Mitus A. — In: Actinomycin/Ed. Waksman S. — New York: Wiley, 1968.
- Fastier F. — Brit. J. Pharmacol., 1949, vol. 4, p. 315.
- Fastier F. — Annu. Rev. Pharmacol., 1964, vol. 4, p. 351.
- Fastier F., Reid C. — Brit. J. Pharmacol., 1952, vol. 7, p. 417.
- Faust R., Shearin S. — Nature, Lond., 1974, vol. 248, p. 60.
- Fears R., Richards D. — Biochem. Soc. Trans., 1981, vol. 9, p. 571.
- Fenner F., McAuslan B., Mims C. et al. — The Biology of Animal Viruses. — New York: Academic Press, 1974.
- Fenner F., White D. Medical Virology. — New York: Academic Press. — 2nd edn., 1976.
- Ferguson J. — Proc. Roy. Soc. B, 1939, vol. 127, p. 387.
- Ferguson J. Colloques internationaux du Centre national de la Recherche scientifique, Paris, 1951, No. 26: Mecanisme de la Narcose, p. 25.
- Ferone R., Burchall J., Hitchings G. — J. Molec. Pharmacol., 1969, vol. 5, p. 49.
- Ferreira A., Vane J. — Annu. Rev. Pharmacol., 1974, vol. 14, p. 57.
- Fieser L., Fieser M. — J. Amer. Chem. Soc., 1935, vol. 57, p. 491.
- Fildes P. — Lancet, 1940a, i, p. 955.
- Finch J., Lutter L., Rhodes D. et al. — Nature, Lond., 1977, vol. 269, p. 29.
- Fincan J., Coleman R., Michell R. Membrances and their Cellular Function. — Oxford: Blackwell; New York: Wiley-Halstead, 1978, 2nd edn.
- Fischer E., von Mering J. Therapie der Gegenwart, 1903, vol. 44, p. 97.
- Fishman W., Anlyan A. — Cancer Res., 1974, vol. 7, p. 808.
- Fleming A. — Brit. J. Exper. Path., 1929, vol. 10, p. 226.
- Fletcher W., Kirkwood R. Herbicides and Plant Regulators. — London: Granada, 1982.
- Florey H., Abraham E., Chain E. et al. — Lancet, 1940, ii, p. 226; *ibid.*, 1941, ii, p. 177.
- Florey H., Chain E., Heatley N. et al. Antibiotics. — Oxford: University Press, 1949.
- Florkin M., Mason H. Comparative Biochemistry. — New York: Academic Press, 1960—64, 7 vols.
- Flower R. — Pharmacol. Rev., 1974, vol. 26, p. 33.
- Fodor G. — In: The Alkaloids/Eds. R. Manske, H. Holmes. — New York: Academic Press, 1960, vol. 6, p. 145.
- Foster A., Jarman M., Kinas R. et al. — J. Med. Chem., 1981, vol. 24, p. 1399.
- Fourneau E., Tréfouel J., Tréfouel Mme. J., Vallee J. — Ann. Inst. Pasteur, 1924, vol. 38, p. 81.
- Fouts J. — Fed. Proc., 1962, vol. 21, p. 1107.
- Fox B., Fox M. Antitumor Drug Resistance. — New York: Springer, 1984.
- Fox H. — Trans. New York Acad. Sci., 1953, vol. 15, p. 234.
- Fox M. — Nature, Lond., 1984, vol. 307, p. 212.
- Franklin M. Xenobiotica, 1972, vol. 2, p. 517.
- Franklin T. — Biochem. J., 1963a, vol. 87, p. 449.
- Franklin T. — Biochem. Biophys. Acta, 1963b, vol. 76, p. 138.
- Franklin T. — Symp. Soc. General Microbiol., 1966, vol. 16, p. 192.
- Franklin T. — Biochem. J., 1971, vol. 123, p. 267.

- Franklin T., Snow G. *Biochemistry of Antimicrobial Action*. — London and New York: Chapman and Hall, 3rd edn., 1981.
- Franks F. (ed.) *Water, a Comprehensive Treatise*. — New York: Plenum Press, 1972—82, 7 vols.
- Freeman K. — *Canad. J. Biochem.*, 1970, vol. 48, p. 479.
- Fridovich I. — *Annu. Rev. Biochem.*, 1975, vol. 44, p. 147.
- Friedheim E. — *Amer. J. Trop. Med.*, 1949, vol. 29, p. 173.
- Fühner H. — *Arch. exper. Path. Pharmacol.*, 1918, vol. 82, pp. 51, 81.
- Fujita T., Iwasa J., Hansch C. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1964, vol. 86, p. 5175.
- Fujita T., Nishioka T. — *Progr. Phys. Org. Chem.*, 1975, vol. 12, p. 49.
- Fuller A. — *Biochem. J.*, 1942, vol. 36, p. 548.
- Fyfe J., Keller P., Furman P. et al. — *J. Biol. Chem.*, 1978, vol. 235, p. 8721.
- Gaddum J. — *J. Physiol.*, 1926, vol. 61, p. 141.
- Gaddum J. — *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1936, vol. 29, p. 1373.
- Gage P. — In: *Neuropoisons*/Ed. Simpson L. — New York: Plenum Press, 1971.
- Gale E. — *J. Gen. Microbiol.*, 1947, vol. 1, p. 53.
- Gale E., Cundliffe E., Reynolds P. et al. *The Molecular Basis of Antibiotic Action*. — London: Wiley, 2nd edn., 1981.
- Garattini S., Mussini E., Randall L. (eds). *The Benzodiazepines*. — New York: Raven Press, 1973.
- Gauri K. (ed.). *Antiviral Chemotherapy, Design of Inhibitors of Viral Functions*. — New York: Academic Press, 1981.
- Gelboin H., Wortham J., Wilson R. — *Nature, Lond.*, 1967, vol. 214, p. 281.
- Gemell M., Shearer G. — *Vet. Rec.*, 1968, vol. 82, p. 252.
- Gent M., Prestegard J. — *Biochemistry*, 1974, vol. 13, p. 4021.
- Gescher A., Gibson N., Hickman J. et al. — *Brit. J. Cancer*, 1982, vol. 45, p. 843.
- Gibaldi M., Perrier D. *Pharmacokinetics*. — New York: Marcel Dekker, 1975.
- Gibson F. — *Biochem. J.*, 1964, vol. 90, p. 256.
- Gilbert B., Leme L., Ferreira A. et al. — *Bull. World Health Org.*, 1973, vol. 49, p. 633.
- Giles C., MacEvan T., Nakhwa S., Smith D. — *J. Chem. Soc.*, 1960, p. 3973.
- Gillette J. — *Adv. Pharmacol.*, 1966, vol. 4, p. 219.
- Gillette J., Conney A., Cosmides G. et al. (eds). *Microsomes and Drug Oxidations*. — New York: Academic Press, 1969.
- Gillette J., Mitchell J. *Concepts in Biochemical Pharmacology*. — Berlin: Springer, 1975, part 3.
- Gilligan D., Plummer N. — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1943, Vol. 53, p. 142.
- Gilman A. G., Goodman L., Gilman A. (eds). *Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics*. — New York: Macmillan, 1980.
- Gilman A., Philips F. — *Science*, 1946, vol. 103, p. 409.
- Giloni L., Takeshita M., Johnson F. et al. — *J. Biol. Chem.*, 1981, vol. 256, p. 8608.
- Gingell R., Bridges J. — *Xenobiotica*, 1973, vol. 3, p. 599.
- Glasby J. (ed.). *Encyclopaedia of antibiotics*. — New York: Wiley, 2nd edn., 1979.
- Goldacre R., Loveless A., Ross W. — *Nature, Lond.*, 1949, vol. 163, p. 667.
- Goldberg I., Friedman P. — *Annu. Rev. Biochem.*, 1971, vol. 40, p. 775.
- Goldberg M., Gold D., Flescher E., Lengy J. — *Biochem. Pharmacol.*, 1980, vol. 29, p. 838.
- Goldman L. — *Med. Clin. North Amer.*, 1970, vol. 54, p. 1339 (review).
- Goldstein A., Aronow L., Kalman S. *Principles of Drug Action*. — New York: Wiley, 2nd edn., 1974.
- Gomperts B. *The Plasma Membrane* — London: Academic Press, 1976.
- Gönnert R., Schraujstätter E. — *Arzneim. Forsch.*, 1960, vol. 10, p. 881.
- Good N. — *Plant Physiol.*, 1961, vol. 36, p. 788.
- Goodman L., Wintrobe M., Dameshek W. et al. — *J. Amer. Med. Assoc.*, 1946, vol. 132, p. 126.
- Goodwin B. *Handbook of Intermediary Metabolism of Aromatic Compounds*. — London and New York: Chapman and Hall, 1976.

- Goodwin T. (ed.) *Biochemistry of Chloroplasts*. — London: Academic Press, 1966.
- Goss W., Dietz W., Cook T. — *J. Bact.*, 1965, vol. 89, p. 1068.
- Goto T., Kishi Y., Takahashi S., Hirata Y. *Tetrahedron*, 1965, vol. 21, p. 2059.
- Gottlieb J., Hill C. — *New Engl. J. Med.*, 1974, vol. 290, p. 193.
- Gould G., Hitchins A. — *Nature, Lond.*, 1963, vol. 197, p. 622.
- Gould J. — *Nature, Lond.*, 1957, vol. 180, p. 282.
- Govindjee R. *Photosynthesis*. — New York: Academic Press, 1982, 2 volds.
- Grant P., Sargent J. — *Biochem. J.*, 1960, vol. 76, p. 229.
- Green A. — In: *Thorpe's Dictionary of Applied Chemistry*, 4th edn., 1937, vol. 1, p. 90.
- Green A., Heale D., Grahame-Smith D. *Psychopharmacology*, 1977, vol. 52, p. 195.
- Gregoriadis G. — *Nature, Lond.*, 1977, vol. 265, p. 407.
- Grewe R. — *Angew. Chem.*, 1947, vol. 59, p. 194.
- Grigg G. — *Molec. Gen. Genet.*, 1970, vol. 106, p. 228.
- Grigg G., Edwards M., Brown D. — *J. Bact.*, 1971, vol. 107, p. 599.
- Grollman A. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1966, vol. 56, p. 1867.
- Grollman A. — *J. Biol. Chem.*, 1968, vol. 243, p. 4089.
- Grollman A. *Drug Design*, 1971, vol. 2, p. 231 (review).
- Grollman A., Horwitz S. *Drug Design*, 1971, vol. 2, p. 261 (review).
- Grollman A., Takeshita M. — *Adv. Enzyme Regulat.*, 1980, vol. 18, p. 67.
- Gross F., Turrian H. *Experientia*, 1957, vol. 13, p. 401.
- Grundberg F., Schnitzer R. — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1953, vol. 83, p. 220.
- Guengerich F., Dannan G., Wright S. et al. *Xenobiotica*, 1982, vol. 12, p. 701.
- Guldberg C., Waage P. *Les Mondes*, 1864, vol. 5, p. 107.
- Gull K., Trinci A. — *Nature, Lond.*, 1973, vol. 244, p. 292.
- Gustavsson S., Lööf L., Adami H. et al. — *Lancet*, 1983, ii, p. 124.
- Guth P., Amaro J., Sellinger O., Elmer L. — *Biochem. Pharmacol.*, 1965, vol. 14, p. 769.
- Guthrie F. — *J. Econ. Entomol.*, 1950, vol. 43, p. 559.
- Gutman M., Coles C., Singer T., Casida J. *Biochemistry*, 1971, vol. 10, p. 2036.
- Guttman P., Ehrlich P. — *Berl. klin. Woch.*, 1891, vol. 28, p. 953.
- Gysin H. — *Chem. and Indust.*, 1962, vol. 1393.
- Habermann E. — *Annu. Rev. Pharmacol.*, 1974, vol. 14, p. 1.
- Haest C., de Gier J., op den Kamp J. et al. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, vol. 255, p. 720.
- Hahn F. *Antibiotics, Modes and Mechanisms of Microbial Growth Inhibitors*. — Berlin: Springer, 1983, vol. 6.
- Hai T., Abo M., Hampton A. — *J. Med. Chem.*, 1982, vol. 25, p. 1184.
- Hakala M. — In: *Drug Resistance and Selectivity*/Ed. E. Mihich. — New York: Academic Press, 1973.
- Hamilton-Miller J. — *Bact. Rev.*, 1973, vol. 37, p. 166.
- Hampton A. — *J. Med. Chem.*, 1976, vol. 19, p. 1279.
- Hansch C. — *J. Med. Chem.*, 1968, vol. 11, p. 920.
- Hansch C. *Drug Design*, 1971, vol. 1, p. 271 (review).
- Hansch C., Anderson S. — *J. Med. Chem.*, 1967, vol. 10, p. 745.
- Hansch C., Fujits T. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1964, vol. 86, p. 1610.
- Hansch C., Kim K., Sarma R. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1973, vol. 95, p. 6447.
- Hansch C., Leo A., Unger S. et al. — *J. Med. Chem.*, 1973, vol. 16, p. 1207.
- Hansch C., Quinlan J., Lawrence G. — *J. Org. Chem.*, 1968, vol. 33, p. 347.
- Hansch C., Steward A., Anderson S., Bentley D. — *J. Med. Chem.*, 1968, vol. 11.
- Harper M., Kellems R. — *Cancer Bull.*, 1981, vol. 33, p. 43.
- Harrap K. — In: *Scientific Foundations of Oncology*/Eds. Symington T. R., Carter. — London: Heinemann, 1976, p. 641.
- Hartley G., Graham-Bryce I. *Physical Principles of Pesticide Behaviour*. — New York: Academic Press, 1980—81, 2 vols.
- Hashimoto Y., Makita T., Miyata H. et al. — *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1968, vol. 12, p. 536.

- Hassall K.* The Chemistry of Pesticides, their Metabolites, Mode of Action, and Use in Crop Protection. — London: Macmillan, 1982.
- Hata A.* — *Kitasato Arch. Exper. Med.*, 1932, vol. 9, p. 1.
- Hatanaka H., Sano K.* — *Z. Neurol.*, 1973, vol. 204, p. 309.
- Haussler M., Norman A.* — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1969, vol. 62, p. 155.
- Hecht G.* — *Arch. Exper. Path. Pharmacol.*, 1936, vol. 183, p. 87.
- Hee S., Sutherland R.* The Phenoxyalkanoic Herbicides. — Boca Raton (Florida): CRC Press, 1981.
- Heidelberger C., Griesbach L., Cruz O. et al.* — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1958, vol. 97, p. 470.
- Hellberg H.* — *Acta Chem. Scand.*, 1959, vol. 13, p. 1106.
- Hershenson F., Prodan K., Kochman R. et al.* — *J. Med. Chem.*, 1977, vol. 20, p. 1448.
- Hertzberg R., Dervan P.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1982, vol. 104, p. 313.
- Hewitt R., Kushner S., Stewart H. et al.* — *J. Lab. Clin. Med.*, 1947, vol. 32, p. 1314.
- Heymann B.* — *Z. Angew. Chem.*, 1924, vol. 37, p. 585.
- Heymann B., Kothe R., Dressel O., Ossenbeck A.* — U.S. Pat. 1218654—5 (cf. 1 308 071), 1917.
- Higashi Y., Strominger J., Sweeley C.* — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1967, vol. 57, p. 1878.
- Higuchi T., Stella V.* (eds.). Pro-drugs as Novel Drug Delivery Systems. — Washington D.C.: American Chemical Society, 1975.
- Hildebrand J.* — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1979, vol. 76, p. 194.
- Hill B., Bailey B., White J., Goldman I.* — *Cancer Res.*, 1979, vol. 39, p. 2440.
- Hill G., Sedransk N., Rochlin D. et al.* — *Cancer*, 1972, vol. 30, p. 900.
- Hille B.* — *J. Gen. Physiol.*, 1977, vol. 69, p. 497.
- Himmelweit F.* (ed.) The Collected Papers of Paul Ehrlich, with Biography. — Oxford: Pergamon Press, 1956.
- Hirai T., Hirashima A., Itoh T. et al.* — *Phytopathology*, 1966, vol. 56, p. 1236.
- Hiron P., Millburn P.* — In: Foreign Compound Metabolism/Ed. Hathaway D. — London: Chemical Society, 1981.
- Hiron P., Millburn P., Smith R.* *Xenobiotica*, 1976, vol. 6, p. 55.
- Hitchings G.* — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1952, vol. 46, p. 467.
- Hitchings G.* — *Adv. Enzyme Regul.*, 1982, vol. 20, p. 375.
- Hlubucek J., Hora J., Toubé T., Weedon B.* — *Tetr. Lett.*, 1970, p. 5163.
- Hodgkin A.* The Conduction of the Nervous Impulse. — Liverpool: University Press, 1964.
- Hodgkin A., Huxley A.* — *J. Physiol.*, 1952, vol. 117, p. 500.
- Hofschneider P., Martin H.* — *J. Gen. Microbiol.*, 1968, vol. 51, p. 23.
- Hogben C., Schanker L., Tocco D., Brodie B.* — *J. Pharmacol.*, 1957, vol. 120, p. 540.
- Hogben C., Schanker L., Tocco D., Brodie B.* — *J. Pharmacol.*, 1959, vol. 125, p. 275.
- Holan G.* — *Nature, Lond.*, 1971, vol. 232, p. 644.
- Holan G., O'Keefe D., Virgona C., Walser R.* — *Nature, Lond.*, 1978, vol. 272, p. 734.
- Hollister L.* Clinical Pharmacology of Psychotherapeutic Agents. — New York: Churchill-Livingstone, 1978.
- Homer R., Mees G., Tomlison T.* — *J. Sci. Food Agric.*, 1960, p. 309.
- Horsfall J.* — In: Pest Control: Strategies for the Future, Washington, D.C.: National Academy of Science, 1972, p. 216.
- Horwitz S., Grollman A.* — *Antimicrob. Agent Chemother.*, 1968, vol. p. 21.
- Horwitz S., Parness J., Schiff P., Manfredi J.* — Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1982, vol. 46, p. 219.
- Hotchkiss R.* — Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1951, vol. 16, p. 457.
- Houslay M., Stanley K.* Dynamics of Biological Membranes. — New York: Wiley, 1982.
- Huang C.* — *Biochemistry*, 1969, vol. 8, p. 344.
- Hughes D.* — *J. Gen. Microbiol.*, 1962, vol. 29, p. 39.
- Hughes R., Chapple D.* — *Brit. J. Anaesth.*, 1981, vol. 53, p. 31.

- Hudges V., Datta H.* — *Nature Lond.*, 1983, vol. 302, p. 725.
- Hunt P., Francis J., Peck G. et al.* — *Med. J. Austral.*, 1979, i, p. 107.
- Hurwitz J., Furth J., Malamy M., Alexander M.* — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1962, vol. 48, p. 1222.
- Hutson D., Roberts T.* (eds.). *Progress in Pesticide Biochemistry*. — London: Wiley, 1982, vol. 2.
- Human J.* — *Brit. Pat.*, 1949, 652, 300.
- Inbar M., Ben-Bassat H., Sachs L.* — *Nature New Biol.*, 1972, vol. 236, p. 3.
- Ing H.* — *Physiol. Rev.*, 1936, vol. 16, p. 527.
- Inoue F., Frank G.* — *J. Pharmacol.*, 1962, vol. 136, p. 190.
- Inoue Y., Perrin D.* — *J. Chem. Soc.*, 1962, p. 2600.
- Ioannides C., Lum P., Parke D.* — *Xenobiotica*, 1984, vol. 14, p. 119.
- Iqbal K., Ottaway J.* — *Biochem. J.*, 1970, vol. 119, p. 145.
- Israel M., Potti G.* — *J. Med. Chem.*, 1982, vol. 25, p. 187.
- Ito K., Nakahara I., Sakamoto Y.* — *Gann*, 1964, vol. 55, p. 379.
- Iversen L.* *The Uptake and Storage of Noradrenaline in Sympathetic Nerves*. — Cambridge: University Press, 1967.
- Iversen L.* — In: *Handbook of Psychopharmacology/Eds. Iversen L., Iversen S., Snyder S.* — New York: Plenum Press, 1975.
- Ives D., Lemon T.* — *Roy. Inst. Chem. Reviews*, 1968, vol. 1, p. 62.
- Izaki K., Matsushashi M., Strominger J.* — *J. Biol. Chem.*, 1968, vol. 243, p. 3180.
- Jackson G., Muldoon R., Akers L.* — *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1963, p. 703.
- Jacobs M., Glassman H., Parpart A.* — *J. Cell. Compar. Physiol.*, 1935, vol. 7, p. 197.
- Jacobs W., Heidelberger M.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1919, vol. 41, p. 1587.
- Jacoby G., Gorini L.* — In: *Antibiotics/Eds. Gottlieb D., Shaw P.* — New York: Springer, 1967, vol. 1, p. 726.
- Jaffe J., McCormack J.* — *Molec. Pharmacol.*, 1967, vol. 3, p. 359.
- Jain S., Tsai C.-C., Sobell H.* — *J. Molec. Biol.*, 1977, vol. 114, p. 317.
- Jakoby W.* (ed.). *Enzymatic Basis of Detoxication*. — New York: Academic Press, 1980, 2 vols.
- Jakoby W., Bend J., Caldwell J.* (eds.). *Metabolic Basis of Detoxication*. — New York: Academic Press, 1982.
- von Jancsó N.* — *Zbl. Bakt. Abt. I. Orig.*, 1931, vol. 122, p. 393.
- von Jancsó N.* — *Klin. Woch.*, 1932, vol. 11, p. 1305.
- Jenner T., Testa B.* *Concepts in Drug Metabolism*. — New York: Marcel Dekker, 1981, 2 vols.
- Jensen E., Jacobson H.* — *Recent Progr. Horm. Res.*, 1962, vol. 18, p. 387.
- Jewsbury J., Cooke M., Weber M.* — *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1977, vol. 71, p. 67.
- Jonas A., Weber G.* — *Biochemistry*, 1971, vol. 10, p. 1335.
- Jordan A., Trevern M.* — *Nature, Lond.*, 1978, vol. 272, p. 719.
- Jordan D.* — In: *Molecular Associations in Biology/Ed. Pullman B.* — New York: Academic Press, 1968, p. 221.
- Juan S., Segura E., Cazzuli J.* — *Internat. J. Biochem.*, 1978, vol. 9, p. 395.
- Kan S., Siddiqui W.* — *J. Protozool.*, 1979, vol. 26, p. 660.
- Kaplan A., Ben-Porat T.* — *J. Molec. Biol.*, 1966, vol. 19, p. 320.
- Kappler F., Hai T., Abo M., Hampton A.* — *J. Med. Chem.*, 1982, vol. 25, p. 1179.
- Karlin A.* — *J. Theoret. Biol.*, 1967, vol. 16, p. 306.
- Karlin A.* — *Life Sci.*, 1974, vol. 14, p. 1385.
- Karlson P., Sekeris C.* — *Biochim. Biophys. Acta*, 1962, vol. 63, p. 489.
- Kasai M., Changeux J.-P.* — *J. Membr. Biol.*, 1971, vol. 6, pp. 1, 24, 58.
- Kato H., Eggers H.* — *Virology*, 1969, vol. 37, p. 632.
- Kato T.* — In: *Pesticide Chemistry/Eds. Miyamoto J., Kearney P.* — Oxford: Pergamon Press, 1983.
- Katz B.* — *Proc. Roy. Soc., B*, 1962, vol. 155, p. 455.
- Katz B.* *Nerve, Muscle and Synapse*. — New York: McGraw-Hill, 1966.
- Katz B., Thesleff S.* — *J. Physiol., Lond.*, 1957, vol. 138, p. 63.

- Katz N., Zicker F., Pereira F. — Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1977, vol. 26, p. 234.
- Kaufman H. — Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1962, vol. 109, p. 251.
- Kauzman W. — In: Mechanisms of Enzyme Action/Eds. McElroy W., Glass B. — Baltimore: Johns Hopkins Press, 1954.
- Keifford N. — Bolan. Gazz., 1966, vol. 127, p. 159.
- Keighley E. — Brit. Med. J., 1962, ii, p. 93.
- Keilin D. — Ergebnis. Enzymforsch., 1933, vol. 2, p. 239.
- Kelly J., Hall C., Whittak H. et al. — Res. Vet. Sci., 1977, vol. 22, p. 161.
- Kendig J., Cohen E. — Anesthesiology, 1977, vol. 47, p. 6.
- Kennedy K., Rockwell S., Sartorelli A. — Cancer Res., 1980, vol. 40, p. 2356.
- Kerkenaar A. — In: Pesticide Chemistry/Eds. Miyamoto J., Kearney P. — Oxford: Pergamon Press, 1983.
- Kerkenaar A., Uchiyama M., Versluis G. — Pestic. Biochem. Physiol., 1981, vol. 16, p. 97.
- Kerr M., Wain R. — Ann. Appl. Biol., 1964, vol. 54, p. 441.
- Kessel D., Hall T., Reyes P. — Molec. Pharmacol., 1969, vol. 5, p. 482.
- Kessel D., Hall T., Roberts D., Wodinsky I. — Science, 1965, vol. 150, p. 752.
- Хромов-Борисов Н. В., Гмиро В. Е., Магазаник Л. Г. — Докл. АН СССР, 1969, т. 186, с. 236.
- Khwaia T. — Cancer Treat. Rept., 1982, vol. 66, p. 1853.
- Kidder G. — In: Protozoa in Chemical Zoology (Florkin M., Scheer B., eds.), New York: Academic Press, 1967, pp. 127, 144.
- Kikuth W. — Dtsch. med. Woch., 1932, vol. 58, p. 530.
- King H., Lourie E., Yorke W. — Ann. Trop. Med. Parasit., 1938, vol. 32, p. 177.
- Kini M., Copper J. — Biochem. J., 1962, vol. 82, p. 164.
- Kiso M., Fujita T., Kurihara N. et al. — Pestic. Biochem. Physiol., 1978, vol. 8, p. 33.
- Kittleson A. — Science, 1952, vol. 115, p. 84.
- Klein E., Milgrom H., Stoll H. et al. — In: Cancer Chemotherapy/Eds. Brodsky I., Kahn S. — New York: Grune and Stratton, 1972.
- Klevens H. — J. Phys. Colloid Chem., 1948, vol. 52, p. 130.
- Kmetec E., Bueding E. — J. Biol. Chem., 1961, vol. 236, p. 584.
- Knowles C., Roulston W. — J. Econ. Entomol., 1973, vol. 66, p. 1245.
- Knox R. The Scientific Basis of Medicine, Ann. Rev. — London: Athlone Press, 1962.
- Kobayashi K., Ishizuka K. — Weed Sci., 1974, vol. 22, p. 131.
- Kodama O., Yamashita K., Akatsuka T. — Agric. Biol. Chem., 1980, vol. 44, p. 1015.
- Kohn K., Spears C. — J. Molec. Biol., 1970, vol. 51, p. 551.
- Kohn L. — Annu. Rpts Med. Chem., 1977, vol. 12, p. 211.
- Koller K. — Wien. med. Wochenschr., 1884, vol. 34, pp. 1276, 1309.
- Kollonitsch J., Barash L., Kahan F., Kropp H. — Nature, Lond., 1973, vol. 243, p. 347.
- Kollman P., Allen L. — Chem. Rev., 1972, vol. 72, p. 283.
- Könemann H. — Toxicology, 1981, vol. 19, p. 209.
- Könemann H., Zelle R., Busser F., Hammers W. — J. Chromatogr., 1979, vol. 178, p. 559.
- Koshland D. — Fed. Proc., 1964, vol. 23, p. 719.
- Koshland D., Neet K. — Annu. Rev. Biochem., 1968, vol. 37, p. 359.
- Kozloff L., Lute M., Crosby L. et al. — J. Virol., 1970, vol. 5, p. 726.
- Kozloff L., Lute M., Henderson K. — J. Biol. Chem., 1957, vol. 228, p. 511.
- Krakoff I., Brown N., Reichard P. — Cancer Res., 1968, vol. 28, p. 1559.
- Krebs H. — Endeavour, 1957, vol. 16, p. 125.
- Kreis W. — In: Cancer. A Comprehensive Treatise/Ed. Becker F. — New York: Plenum Press, 1977.
- Kremer W. — Ann. Intern. Med., 1975, vol. 82, p. 684.
- Krishnamoorthy H. Gibberellins and Plant Growth. — New York: Wiley, 1975.
- Kritschewsky J. — Z. Immunitäts., 1928, vol. 59, p. 1.
- Krueger R., Mayer G. — Science, 1970, vol. 169, p. 1213.
- Krüger P. — Radiat. Res., 1955, vol. 3, p. 1.

- Krüger-Thiemer E.* — *Klin. Woch.*, 1960, vol. 38, p. 514.
- Krüger-Thiemer E.* — *J. Theoret. Biol.*, 1966, vol. 13, p. 212.
- Krüger-Thiemer E., Büniger P.* — *Arzneim. Forsch.*, 1961, vol. 11, p. 867.
- Krüger-Thiemer E., Büniger P.* — *Chemotherapia*, 1965, vol. 10, pp. 61, 129.
- Крылов В. А.* — *Вопр. вирусологии*, 1976, т. 2, с. 186.
- Kuchino Y., Borek E.* — *Nature, Lond.*, 1978, vol. 271, p. 126.
- Kuhar M.* — In: *Psychopharmacology*/Eds. Lipton M., Di Mascio A., Killam K. — New York: Raven Press, 1978.
- Kuhn R., Weygand F., Möller E.* — *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1943, vol. 76, p. 1044.
- Kumar A., Blankenship D., Kaufman B., Freisheim J.* — *Biochemistry*, 1980, vol. 19, p. 667.
- Küntzel H., Noll H.* — *Nature, Lond.*, 1967, vol. 215, p. 1340.
- Kuntzman R., Mark L., Brand L. et al.* — *J. Pharmacol.*, 1966, vol. 152, p. 151.
- Kwan S., Wedd T.* — *J. Biol. Chem.*, 1967, vol. 242, p. 5542.
- Kydonieus A., Beroza M.* *Insect Suppression with Controlled Release Pheromone Systems.* — Boca Raton, Florida: CRC Press, 1982.
- Kyte J.* — *Nature, Lond.*, 1981, vol. 292, p. 201.
- La Du B., Mandel H., Way E.* *Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition.* — Baltimore: Williams and Wilkins, 1971.
- Lai C., Weisblum B.* — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1971, vol. 68, p. 856.
- Laidlaw P., Dobell C., Bishop A.* — *Parasitology*, 1928, vol. 20, p. 207.
- Laidler K., Shuler K.* — *J. Chem. Phys.*, 1949, vol. 17, pp. 851, 856.
- Lambley D., Ware J.* — *Brit. J. Urol.*, 1967, vol. 39, p. 147.
- La Montagne J., Galasso G.* — *J. Infect. Dis.*, 1978, vol. 138, p. 928.
- Landy M., Gerstung R.* — *J. Bact.*, 1944, vol. 47, p. 448.
- Lang A.* — *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1970, vol. 21, p. 537.
- Langen P.* *Antimetabolites of Nucleic Acid Metabolism.* — London: Gordon and Breach, 1975.
- Langley J.* — *J. Physiol.*, 1878, vol. 1, p. 339.
- Langley J.* — *J. Physiol.*, 1905, vol. 33, p. 374.
- Langmuir I.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1916, vol. 38, p. 2221.
- Langmuir I.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1917, vol. 39, p. 1848.
- Langmuir I.* — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1918, vol. 40, p. 1361.
- Lapworth M.* — In: *Thorpe's Dictionary of Applied Chemistry*, 4th edn., 1940, vol. 4, pp. 224, 235.
- Large E.* — *The Advance of Fungi.* — London: Cape, 1940.
- Lasser N.* — *J. Lipid Res.*, 1966, vol. 7, pp. 403, 413.
- Lattore R., Hall J.* — *Nature, Lond.*, 1976, vol. 264, p. 363.
- Lcuger P., Martin H., Muller P.* — *Helv. Chim. Acta.*, 1944, vol. 27, p. 892.
- Lawley P., Brookes P.* — *J. Molec. Biol.*, 1967, vol. 25, p. 143.
- Laws E., Curley A., Biros F.* — *Arch. Environ. Health*, 1967, vol. 15, p. 766.
- Laycock G., Shulman A.* — *Nature, Lond.*, 1967, vol. 213, p. 995.
- Lazarus M., Rogers W.* — *Austral. J. Sci. Res.*, 1951, vol. 4B, p. 163.
- Leake C., Koch D., Anderson H.* — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1930, vol. 27, p. 717.
- Lederberg J.* — *J. Bact.*, 1957, vol. 73, p. 144.
- Lederberg J., Lederberg E.* — *J. Bact.*, 1952, vol. 63, p. 399.
- Lederer E.* — *J. Med. Chem.*, 1980, vol. 23, p. 819 (review).
- Lee A.* — *Trends Pharmacol. Sci.*, 1982, vol. 3, p. 145.
- Lee H., Soliman M.* — *Science*, 1982, vol. 215, p. 989.
- Lee L.-S., Cheng Y.-C.* — *Biochemistry*, 1976, vol. 15, p. 3686.
- Lee R., Hodsdon M.* — *Biochem. Pharmacol.*, 1963, vol. 12, p. 1241.
- Le Févre P.* — *Pharmacol. Rev.*, 1961, vol. 13, p. 39.
- Lefrancier P., Derrien M., Jamet X. et al.* — *J. Med. Chem.*, 1982, vol. 25, p. 87.
- Le Goffic F., Capmau M., Tangy F., Baillarge M.* — *Eur. J. Biochem.*, 1979, vol. 102, p. 73.
- Lehninger A.* *Principles of Biochemistry.* — New York: Worth, 1982.
- Leo A., Hansch C.* — *J. Org. Chem.*, 1971, vol. 36, p. 1539.
- Leo A., Hansch C., Elkins D.* — *Chem. Rev.*, 1971, vol. 71, p. 525.
- Leo A., Iow P., Silipo C., Hansch C.* — *J. Med. Chem.*, 1975, vol. 18, p. 865.

- Lerman L. — J. Molec. Biol., 1961, vol. 3, p. 18.
- Lerner A. — Lancet, 1983, ii, p. 112.
- Letham D., Goodwin P., Higgins T. (eds.). — In: Phytohormones and Related Compounds. A Comprehensive Treatise. — Amsterdam: Elsevier-North Holland, 1978.
- Letham D., Palni L. — Annu. Rev. Plant Physiol., 1983, vol. 34, p. 163.
- Letham D., Shannon J., McDonald I. — Proc. Chem. Soc., 1964, p. 230.
- Levi J., Wiernik P. — Cancer, 1976, vol. 38, p. 36.
- Levin V. — J. Med. Chem., 1980, vol. 23, p. 682.
- Levine R., Goldstein M. — Recent Progr. Horm. Res., 1955, vol. 11, p. 343.
- Levine R., Hall T., Harris C. — Cancer, 1963, vol. 16, p. 269.
- Levitski A. — In: A Guide to Molecular Pharmacology/Ed. Featherstone R. — New York: Marcel Dekker, 1973, p. 305.
- Lewis D., Lowe G. — Chem. Commun., Chem. Soc., Lond., 1973, p. 713.
- Lewis S., Waller J., Fowler K. — J. Insect Physiol., 1960, vol. 4, p. 128.
- Ley T. — New Engl. J. Med., 1982, vol. 307, p. 1469.
- Lichtliter W., Naider F., Becker J. — Antimicrob. Agents Chemother., 1976, vol. 10, p. 483.
- Liebreich O. — Wien. med. Wochenschr., 1869, p. 1087.
- Lindberg B. — Ark. Kemi, 1970, vol. 32, p. 317.
- Little J., Hall W., Douglas R. et al. — Amer. Rev. Respir. Dis., 1978, vol. 118, p. 295.
- Loewenstein W., Kanno Y. — J. Cell. Biol., 1967, vol. 33, p. 235.
- Loewi O. — Arch. ges. Physiol., 1921, vol. 189, p. 239.
- Loewi O., Navratil E. — Arch. ges. Physiol., 1926, vol. 214, pp. 678, 689.
- Loike J. — Trends Pharmacol. Sci., 1984, vol. 5, p. 30.
- Long J., Siegel M. — Chem. Biol. Interact., 1975, vol. 10, p. 383.
- Loo J., Riegelman S. — J. Pharm. Sci., 1968, vol. 57, p. 918.
- Lown J., Joshua A. — Chem. Commun. Chem. Soc., Lond., 1982, p. 1298.
- Lueck L., Wurster D., Higuchi T. et al. — J. Amer. Pharm. Assoc. Sci. Edn., 1957, vol. 46, pp. 694, 698.
- Lwoff A. — Proc. Roy. Soc. B, 1961, vol. 154, p. 1.
- Luzzi L. — J. Pharm. Sci., 1970, vol. 59, p. 1367.
- Macadam R., Williamson J. — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1972, vol. 66, p. 897.
- McCollister R., Gilbert W., Ashton D., Wyngaarden J. — J. Biol. Chem., 1964, vol. 239, p. 1560.
- Macfarlane M. — Biochem. J., 1961, vol. 80, p. 45P.
- Macfarlane M. — Nature, Lond., 1962, vol. 196, p. 136.
- McIlwain H. Chemotherapy and the Central Nervous System. — London: Churchill, 1957.
- McMorris T., Seshadri R., Weihe G. et al. — J. Amer. Chem. Soc., 1975, vol. 97, p. 2544.
- McQueen E. — Brit. J. Pharmacol. Chemother., 1968, vol. 33, p. 312.
- Macris B., Goergopoulos S. — Phytopathology, 1969, vol. 59, p. 879.
- Magee P. — In Ciba Symposium. Cellular Injury/Eds. de Reuk A., Knight J. — London: Churchill, 1965.
- Maggi N., Furesz S., Sensi P. — J. Med. Chem., 1968, vol. 11, p. 368.
- Maggi N., Pasqualucci C., Ballotta R., Sensi P. — Chemotherapia, 1966, vol. 11, p. 285.
- Магидсон О. В., Григоровский А. А. — Хим.-фарм. промышленность СССР, 1933, с. 187.
- Mahoney W., Duksin D. — J. Biol. Chem., 1979, vol. 254, p. 6572.
- Mandava N. Plant Growth Substances. — Washington: American Chemical Society, 1979.
- Mandelstam J. — Biochem. J., 1962, vol. 84, p. 294.
- Manson P. — Ann. Trop. Med., 1968, vol. 2, p. 49.
- Mansour T., Bueding E. — Brit. J. Pharmacol. Chemother., 1953, vol. 8, p. 431.
- Mansour T., Bueding E. — Brit. J. Pharmacol. Chemother., 1954, vol. 9, p. 459.
- Mao J., Putterman M., Wiegand R. — Biochem. Pharmacol., 1970, vol. 19, p. 391.
- Marantz R., Shelanski M. — J. Cell Biol., 1970, vol. 44, p. 234.

- di Marco A., Arcamone F.* — *Arzneim. Forsch.*, 1975, vol. 25, p. 368.
- Mark L., Burns J., Brand L. et al.* — *J. Pharmacol.*, 1958, vol. 123, p. 70.
- Marquardt R., Brosemer R.* — *Biochim. Biophys. Acta*, 1966, vol. 128, p. 454.
- Marshall E.* — *J. Biol. Chem.*, 1937, vol. 122, p. 263.
- Martin A.* — *Biochem. Soc. Trans.*, 1973, vol. 1, p. 1206.
- Martin B.* — *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, 1967, vol. 31, p. 420.
- Martin K.* — *Brit. J. Pharmacol.*, 1969, vol. 36, p. 458.
- Matsubara T., Nakamura Y., Tochina Y.* — *Xenobiotica*, 1975, vol. 5, p. 205.
- Matthyse A., Adrams M.* — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, vol. 199, p. 511.
- Mattochia L., Lelli A., Cioli D.* — *Molec. Biochem. Parasit.*, 1981, vol. 2, p. 295.
- Mauss H., Mietsch F.* — *Klin. Woch.*, 1933, vol. 12, p. 1276.
- Mayer F., Mehrle P., Crutcher P.* — *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 1978, vol. 107, p. 326.
- Mayer S., Maickel R., Brodie B.* — *J. Pharmacol.*, 1959, vol. 127, p. 205.
- Mehrle P., Haines T., Hamilton S. et al.* — *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 1982, vol. 111, p. 231.
- Meister A., Tate S.* — *Annu. Rev. Biochem.*, 1976, vol. 45, p. 559.
- Melmon K., Gilman A.* — In: *Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics.* — New York: Macmillan, 1980.
- Mercer F.* — *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1960, vol. 11, p. 1.
- Merritt H., Putnam T.* — *Arch. Neurol. Psychiat.*, 1938, vol. 39, p. 1003.
- Metcalf R.* — *Annu. Rev. Entomol.*, 1980, vol. 15, p. 219.
- Metcalf R., Luckman W. (eds.)*. *Introduction to Insect Pest Management* — New York: Wiley-Interscience, 1982.
- Metcalf J., Burgen A.* — *Nature, Lond.*, 1968, vol. 220, p. 587.
- Meyer F., Meyer H., Bueding E.* — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, vol. 210, p. 257.
- Meyer H.* — *Arch. Exper. Path. Pharmacol.*, 1899, vol. 42, p. 109.
- Meyer K., Hemmi H.* — *Biochem. Z.*, 1935, vol. 277, p. 39.
- Michael T., Michael J., Massell B.* — *J. Bact.*, 1967, vol. 93, p. 1749.
- Mitchaelis L., Hill E.* — *J. Gen. Physiol.*, 1933, vol. 16, p. 859.
- Mihich E.* *Drug Resistance and Selectivity.* — New York: Academic Press, 1973.
- Milanesi G., Ciferri O.* — *Biochemistry*, 1966, vol. 5, p. 3926.
- Mirlee M., Moulton S., Murphy C., Taylor P.* — *J. Med. Chem.*, 1976, vol. 19, p. 615.
- Misra A., Hunger A., Keberle H.* — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1966, vol. 18, pp. 246, 531.
- Mitchell P.* — *Biochem. Soc. Symp.*, 1963, vol. 22, p. 142.
- Mitchell P., Moyle J.* — *Biochem. J.*, 1956, vol. 64, p. 19P.
- Mitchell P., Moyle J.* — *J. Gen. Microbiol.*, 1957, vol. 16, p. 184.
- Mitchell P., Moyle J.* — *J. Gen. Microbiol.*, 1959, vol. 20, p. 434.
- Mitsuhashi S.* *Drug Resistance in Bacteria.* — Stuttgart: George Thieme Verlag, 1982.
- Mitsuhashi S., Harada K., Kameda M.* — *Nature, Lond.*, 1961, vol. 189, p. 947.
- Molitor H.* — *J. Pharmacol.*, 1936, vol. 58, p. 337.
- Moncada S., Vane J.* — *Brit. Med. Bull.*, 1978, vol. 34, p. 129.
- Monod J., Wyman J., Changeux J.-P.* — *J. Molec. Biol.*, 1965, vol. 12, p. 88.
- Moon R., Grubbs C., Sporn M., Goodman D.* — *Nature, Lond.*, 1977, vol. 267, p. 620.
- Moore R., Bloom F.* — *Amer. Rev. Neurosci.*, 1979, vol. 2, p. 113.
- Morgenroth J., Levy R.* — *Berl. klin. Woch.*, 1911, vol. 48, pp. 1560, 1979.
- Moriarty F.* *Ecotoxicology: The Study of Pollutants of Ecosystems.* — London: Academic Press, 1983.
- Moss F., Lemberg R.* — *Austral. J. Exper. Biol. Med. Sci.*, 1950, vol. 28, p. 667.
- Moyer A., Coghill R.* — *J. Bact.*, 1947, vol. 53, p. 329.
- Mueller P., Rudin D.* — *Nature, Lond.*, 1967, vol. 213, p. 603.
- Muir R.* — *Proc. Roy. Soc., B*, 1921, vol. 92, p. 1.
- Müller W., Crothers D.* — *J. Molec. Biol.*, 1968, vol. 35, p. 251.
- Müller W., Zahn R., Bittlingmaier K., Falke D.* — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1977, vol. 284, p. 34.

- Murphy R., Hammarström S., Samuelson B. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1979, vol. 76, p. 4275.
- Murray A. — Biochem. J., 1966, vol. 100, p. 664.
- Musajo L., Rodighiero G. — Photochem. Biol., 1970, vol. 11, p. 27.
- Nachmansohn D. Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity. — New York: Academic Press, 1959.
- Nagai K., Yamaki H., Suzuki H. et al. — Biochim. Biophys. Acta, 1969, vol. 179, p. 165.
- Narahashi T., Frazier D. — Neurosci. Res., 1971, vol. 4, p. 65 (review).
- Narahashi T., Moore J., Scott W. — J. Gen. Physiol., 1964, vol. 47, p. 965.
- National Academy of Sciences, USA. Toxicants Occuring Naturally in Foods. — Washington, 2nd edn., 1973.
- Neidle S. (ed.) Topics in Nucleic Acid Structures. — London: Macmillan Press, 1982.
- Neidle S., Sanderson M. — In: Molecular Aspects of Anti-Cancer Drugs/Eds. Neidle S., Waring M. — London: Macmillan Press, 1983.
- Nelson D., Bugge C., Elion G. et al. — J. Biol. Chem., 1979, vol. 254, p. 3959.
- Nelson E. — J. Pharm. Sci., 1961, vol. 50, p. 181.
- Nelson E., O'Reilly I. — J. Pharmacol., 1960, vol. 129, p. 368.
- Nelson E., O'Reilly I. — J. Pharm. Sci., 1961, vol. 50, p. 417.
- Neumann R., Voss G. — Experientia, 1977, vol. 33, p. 23.
- Nicholson A., Stone B., Clark C., Ferres H. — Brit. J. Clin. Pharmacol., 1976, vol. 3, p. 429.
- Nikaido H. — Angew. Chem. Internat. Edn., Engl., 1979, vol. 18, p. 337.
- Nisonoff A., Hopper J., Spring S. The Antibody Module. — New York: Academic Press, 1975.
- Nogami H., Matsuzawa T. — Chem. Pharm. Bull., Japan, 1963, vol. 9, p. 532.
- Noguer A., Wernsdorfer W., Kanzelsov R., Hempel J. — WHO Chronicle, 1978, vol. 32, p. 9.
- Nomura M., Tissières A., Lengyel P. Ribosomes. — New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1974.
- Notari R. — J. Pharm. Sci., 1973, vol. 62, p. 865.
- Notari R. (ed.) Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics. — New York: Marcel Dekker, 1980, 3rd revn.
- Novak V. Insect Hormones. — London and New York: Chapman and Hall, 1975, 2nd edn.
- Nys G., Rekker R. — Chim. Thér., 1973, vol. 8, p. 521.
- Oberley L. (ed.) Superoxide Dismutase. — Boca Raton, Florida: CTC Press, 1982, 2 vols.
- Oberley L., Buettner G. — Cancer Res., 1979, vol. 39, p. 1141.
- O'Brien J. — J. Theoret. Biol., 1967, vol. 15, p. 307.
- O'Brien R. Insecticides, Action and Metabolism. — New York: Academic Press, 1967.
- O'Brien R. — Drug Design, 1971, vol. 2, p. 161.
- O'Brien R. (eds.) The Receptors: A Comprehensive Treatise. — New York: Plenum Press, 1979.
- O'Brien R., Morris J. — Arch. Mikrobiol., 1972, vol. 84, p. 225.
- Offe H., Siefken W., Domagk G. — Naturwiss., 1952, vol. 39, p. 118.
- Olden K., Pratt R., Yamada K. — Cell, 1978, vol. 13, p. 461.
- Oliver M., Roberts S., Hayes D. et al. — Lancet, 1963, i, p. 143.
- Omura T., Sato R., Cooper D. et al. — Fed. Proc., 1965, vol. 24, p. 277.
- Oppenheimer N., Rodrigues L., Hecht S. — Biochemistry, 1979, vol. 18, p. 3439.
- Ortiz P. — Biochemistry, 1970, vol. 9, p. 355.
- Ortiz P., Beilan H., Matthews J. — J. Med. Chem., 1982, vol. 25, p. 1174.
- Osborne D. — Nature, Lond., 1968, vol. 219, p. 564.
- Overby L., Duff R., Mao J. — Ann. N.Y. Acad. Sci., 1977, vol. 284, p. 310.
- Overton E. Studien über die Narkose. — Jena: Gustav Fischer, 1901, 195 pp.
- Oxford A., Raistrick H., Simonart P. — Biochem. J., 1939, vol. 33, p. 240.
- Oxford J. (ed.) Chemoprophylaxis and Virus Infections of the Respiratory Tract. — Cleveland, Ohio: Chemical Rubber Co, 1977.

- Pachter I., Raffauf R., Ullyot G., Ribeiro O.* — J. Amer. Chem. Soc., 1960, vol. 82, p. 5187.
- Palade G.* — Anat. Rec., 1952, vol. 114, p. 427.
- Pallos F., Casida J.* (eds.) Chemistry and Action of Herbicide Antidotes. — New York: Academic Press, 1977.
- Pappenheimer J., Heissey S., Jordan E.* — Amer. J. Physiol., 1961, vol. 200, p. 1.
- Paracelsus* (von Hohenheim T., known as) (1493—1541) Works/Ed. Peuckert W. — Basel: Schwabe, 1965, 5 vols; see also Pagel (1958).
- Pagel W.* Paracelsus: an Introduction to Philosophical Medicine. — Basel: Karger, 1958.
- Pardee A., Pauling L.* — J. Amer. Chem. Soc., 1949, vol. 71, p. 143.
- Parke D., Smith R.* (eds.) Drug Metabolism from Microbe to Man. — London: Taylor and Francis, 1976.
- Parks R., Crabtree G., Kong C.* et al. — Ann. N.Y. Acad. Sci., 1975, vol. 255, p. 412.
- Patel P., Miller O., Trendelenberg U.* — Pharmacol. Rev., 1974, vol. 26, p. 323.
- Paton W.* — Proc. Roy. Soc. B, 1961, vol. 154, p. 21.
- Paton W., Perry W.* — J. Physiol., 1953, vol. 119, p. 43.
- Paton W., Zaimis E.* — Nature, Lond., 1948, vol. 162, p. 810.
- Patrick R., Barchas J.* — Nature, Lond., 1974, vol. 250, p. 737.
- Patterson D., Roberts B.* — Food Cosmet. Toxicol., 1972, vol. 10, p. 501.
- Pauling L.* The Chemical Bond. — Ithaca, N.Y.: Cornell University Press, 1967.
- Paven-Langston D., Langston R.* International Ophthalmological Clinics: Ocular Viral Disease. — Boston: Little, Brown Co, 1975.
- Payne J., Hudhes R.* — Brit. J. Anaesth., 1981, vol. 53, p. 45.
- Pedersen P., Greenwall J., Chan T., Morris N.* — Cancer Res., 1970, vol. 30, p. 2620.
- Perrin D.* — Adv. Heterocycl. Chem., 1965, vol. 4, p. 43.
- Perrin D., Dempsey B., Serjeant E.* pK_a Prediction for Organic Acids and Bases. — London and New York: Chapman and Hall, 1981.
- Perutz M., Kendrew J., Watson H.* — J. Molec. Biol., 1965, vol. 13, p. 669.
- Peters L.* — Pharmacol. Rev., 1960, vol. 12, p. 1.
- Peterson C., Edgington L.* — J. Agric. Food. Chem., 1969, vol. 17, p. 898.
- Phillips G., Power D., Robinson C., Davies J.* — Biochim. Biophys. Acta, 1970, vol. 215, p. 491.
- Phillips R., Love A., Mitchell T., Neptune E.* — Nature, Lond., 1965, vol. 206, p. 1367.
- Pick E.* Lymphokines. — New York: Academic Press, 1980.
- Pitzer K.* — Adv. Chem. Phys., 1959, vol. 2, p. 59.
- Plapp F.* — Annu. Rev. Entomol., 1976, vol. 21, p. 179.
- Plempel M., Bartmann K., Büchel K., Regel E.* — Dtsch. med. Woch., 1969, vol. 94, pp. 1356, 1365.
- Plimmer H., Thompson J.* — Proc. Roy. Soc. B, 1907, vol. 79, p. 505.
- Plowman J., Paull K.* — J. Med. Chem., 1982, vol. 25, p. 107.
- Poate H.* — Lancet, 1944, ii, p. 238; Med. J. Austral., 1944, i, p. 242.
- Poland A., Knutson J.* — Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1982, vol. 22, p. 517.
- Pollack J., Woog M.* — Biochem. J., 1971, vol. 123, p. 347.
- Pollock M., Perret C.* — Brit. J. Exper. Path., 1951, vol. 32, p. 387.
- Pople J.* — Proc. Roy. Soc. A, 1951, vol. 205, p. 163.
- Porter K., Bonneville M.* Fine Structure of Cells and Tissues. — Philadelphia: Lea and Febiger, 4th edn., 1973.
- Porter K., Bruni C.* — Cancer Res., 1959, vol. 19, p. 997.
- Potts A.* — Invest. Ophthalmol., 1962, vol. 1, p. 522.
- Powles R., Clink H., Spence D.* et al. — Lancet, 1980, i, p. 327.
- Prakash N., Schechter P., Mamont P.* et al. — Life Sci., 1980, vol. 26, p. 181.
- Prebble J.* Mitochondria, Chloroplasts, and Bacterial Membranes. — London: Lingman, 1981.
- Pressman D., Grossberg A., Pence L., Pauling L.* — J. Amer. Chem. Soc., 1946, vol. 68, p. 250.

- Prestwick G., Gayen A., Kline T.* — Chem. Eng. News, 1983, vol. 61 (March 7th), p. 7.
- Prusoff W.* — Pharmacol. Rev., 1967, vol. 19, p. 209.
- Puck T.* — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1977, vol. 74, p. 4491.
- Quigley G., Wang A., Ughetto G.* — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1980, vol. 77, p. 7204.
- Quinn G., Axelrod J., Brodie B.* — Biochem. Pharmacol., 1958, vol. 1, p. 152.
- Rabaté E.* La Destruction des mauvaises Herbes. — Paris: Libraire de l'Académie de l'Agriculture, 1927.
- Raeymaekers A., Allewijn F., Vandenberg J. et al.* — J. Med. Chem., 1966, vol. 9, p. 545.
- Raghavan N.* — Bull. Ind. Soc. Malar. Commun. Dis., 1969, vol. 4, p. 209.
- Rall D., Zubrod C.* — Fed. Proc., 1960, vol. 19, p. 80.
- Ranga H., Ritter J.* — J. Molec. Pharmacol., 1969, vol. 5, p. 394.
- Rang H., Ritter J.* — J. Molec. Pharmacol., 1970, vol. 6, pp. 357, 383.
- Rapoport S.* The Blood-Brain Barrier in Physiology and Medicine. — New York: Raven Press, 1976.
- Rauen H.* — Arzneim. Forsch., 1964, vol. 11, p. 855.
- Rawal B.* — Med. J. Austral., 1969, i., p. 612.
- Rebhun L.* — Science, 1975, vol. 189, p. 1002.
- Redi F.* Osservazioni intorno agli Animali viventi che si trovano neglo Animali viventi. — Florence: Piero Matini, 1684.
- Rees H.* Insect Biochemistry. — London and New York: Chapman and Hall, 1977.
- Regoli D.* — Trends Pharmacol. Sci., 1982, vol. 3, p. 286.
- Reich E., Goldberg I., Rabinowitz M.* — Nature, Lond., 1962, vol. 196, p. 743.
- Reiner L., Leonard C., Chao S.* — Arch. Internat. Pharmacodyn. Ther., 1932, vol. 43, pp. 186, 199.
- Rekker R.* The Hydrophobic Fragmental Constant. — Amsterdam: Elsevier, 1977.
- Remmer H.* — Proc. First Internat. Pharmacol. Meeting (Stockholm), Oxford: Pergamon Press, 1962, vol. 6, p. 235.
- Rendi R., Ochoa S.* — J. Biol. Chem., 1962, vol. 237, p. 3711.
- Renoux M., Renoux G.* — J. Immunopharmacol., 1979, vol. 1, p. 247.
- Renshaw R., Ware J.* — J. Amer. Chem. Soc., 1925, vol. 47, p. 2989.
- Reuter H.* — Progr. Biophys. Molec. Biol., 1973, vol. 26, p. 1.
- Reyes P., Heidelberger C.* — Molec. Pharmacol., 1965, vol. 1, p. 14.
- Reyn A., Schmidt H., Trier M., Bentzon M.* — Brit. J. Vener. Dis., 1973, vol. 49, p. 54.
- Reynolds J. (ed.)*. Martindale, the Extra Pharmacopoeia. — London: Pharmaceutical Press, 1982.
- Rich S.* — Phytopathology, 1954, vol. 44, p. 203.
- Richmond D., Somers E.* — Ann. Appl. Biol., 1962, vol. 50, p. 33.
- Ringold H.* — In: Mechanisms of Action of Steroid Hormones/Eds. Villet C., Engels L. — Oxford: Pergamon Press, 1961.
- Ritchie J.* — Brit. J. Anaesth., 1975, vol. 74, p. 191.
- Ritschel W., Hammer G.* — Internat. J. Clin. Pharmacol. Ther., 1980, vol. 18, p. 298.
- Robbins W., Crafts A., Raynor R.* Weed control. — New York: McGraw Hill, 1952.
- Roberts H.* — Nature, Lond., 1954, vol. 174, p. 1178.
- Roberts K., Hymas J.* Microtubules. — London: Academic Press, 1980.
- Robinson D., MacDonald M.* — J. Pharmacol., 1966, vol. 153, p. 250.
- Robinson G.* — In: Recent Advances in Medical Microbiology/Ed. Water-son A. — London: Churchill, 1966, p. 254.
- Rockstein M. (ed.)* Biochemistry of Insects. — New York: Academic Press, 1978.
- Rodighiero G., Dell'Acqua F.* Topics in Photomedicine, 1980, p. 319.
- Roeder K., Weiant E.* — J. Cell. Compar. Physiol., 1948, vol. 32, p. 175.
- Roehl W.*, 1920, reported in Heymann B. (1924), q. v.
- Roehl W.* — Archiv. Schiffs Tropenhyg., 1926, vol. 30, Beiheft 3, 11.
- Rogers L.* — Brit. Med. J., 1912, p. 1424.

- Rolinson G., Sutherland R.* — Brit. J. Pharmacol. Chemother., 1965, vol. 25, p. 638.
- Röller H., Dahm K., Sweeley C., Trost B.* — Angew. Chem. Internat. Edn, English, 1967, vol. 6, p. 179.
- Roseman T., Higuchi W.* — J. Pharm. Sci., 1970, vol. 59, p. 353.
- Rosman M., Lee M., Creasey W., Sartorell A.* — Cancer Res., 1974, vol. 34, p. 1952.
- Rosman M., Williams H.* — Cancer Res., 1973, vol. 33, p. 1202.
- Roszkowski A.* — J. Pharmacol., 1965, vol. 149, p. 288.
- Roth B., Cheng C.* — Progr. Med. Chem., 1982, vol. 19, p. 270.
- Roth B., Falco E., Hithings G.* — J. Med. Pharm. Chem., 1962, vol. 5, p. 1103.
- Roth H., Nierhaus K.* — J. Molec. Biol., 1975, vol. 94, p. 111.
- Roth I., Lewis C., Williams R.* — J. Bact., 1960, vol. 80, p. 772.
- Rothschild G.* — In: Management of Insect Pests with Semiochemicals/Ed. Mitchell E. — New York: Plenum Press, 1981.
- Rothschild J., Howden G.* — Nature, Lond., 1961, vol. 192, p. 283.
- Roux S., Yguerabide J.* — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1973, vol. 70, p. 762.
- Rowland G., O'Neil G., Davies D.* — Nature, Lond., 1975, vol. 255, p. 487.
- Rubbo S., Albert A., Gibson M.* — Brit. J. Exper. Path., 1950, vol. 31, p. 425.
- Rubbo S., Gillespie J.* — Nature, Lond., 1940, vol. 146, p. 838.
- Ruggli P.* — J. Soc. Dyers Colourist, Jubilee Number, 1934, p. 77.
- Russo R., Bartosek I., Villa S. et al.* — Xenobiotica, 1976, vol. 6, p. 201.
- Ryan D., Thomas P., Reik L., Levin W.* — Xenobiotica, 1982, vol. 12, p. 727.
- Sager G., Nilsen O., Jacobsen S.* — Biochem. Pharmacol., 1979, vol. 28, p. 905.
- Sakai H., Borisy G., Mohri H.* Biological Functions of Microtubules and Related Structures. — New York: Academic Press, 1982.
- Salmon A., Jones R., Mackrodt W.* — Xenobiotica, 1981, vol. 11, p. 723.
- Salser J., Balis M.* — Cancer Res., 1965, vol. 25, pp. 539, 544.
- Samson F.* — Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1976, vol. 16, p. 143.
- Sarkar S., Thach R.* — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1968, vol. 60, p. 1479.
- Sartorelli A., Lazo J., Bertino J.* Molecular Action and Targets for Cancer Chemotherapeutic Agents. — New York: Academic Press, 1981.
- Sartorelli A., Le Page G.* — Cancer Res., 1958, vol. 18, p. 457.
- Sasaki T.* — Pharm. Bull., Tokyo, 1954, vol. 2, p. 104.
- Saunders L.* The Absorption and Distribution of Drugs. — London: Balliere Tindall, 1974.
- Sausville E., Peisach J., Horwitz S.* — Biochemistry, 1978, vol. 17, p. 2740.
- Sceals M., Stavola M., Rice S.* — J. Chem. Phys., 1979, vol. 70, p. 3297.
- Schaefer H., Zesch A., Stüttgen G.* Skin Permeability. — Berlin: Springer, 1982.
- Schaeffer H., Beauchamp L., de Miranda P. et al.* — Nature, Lond., 1978, vol. 272, p. 583.
- Schaeffer H., Schwender C.* — J. Med. Chem., 1974, vol. 17, p. 6.
- Schaeffer P.* — Bact. Rev., 1969, vol. 33, p. 48.
- Schanker L.* — J. Pharmacol., 1959, vol. 126, p. 283.
- Schanker L.* — Annu. Rev. Pharmacol., 1961, vol. 1, p. 29.
- Schanker L., Shore P., Brodie B., Hogben C.* — J. Pharmacol., 1957, vol. 120, p. 528.
- Schutz A., Bugie E., Waksman S.* — Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1944, vol. 55, p. 66.
- Schuzschneider B., Ristow H., Kleinkauf H.* — Nature, Lond., 1974, vol. 249, p. 757.
- Scheff G., Hasskó A.* — Zbl. Bakt., Abt. I, Orig., 1936, vol. 136, p. 420.
- Scheibel L., Saz H.* — Compar. Biochem. Physiol., 1966, vol. 18, p. 151.
- Schenkman J., Kupfer D.* (eds.) Hepatic Cytochrome P-450 Monooxygenase Systems. — Oxford: Pergamon Press, 1982.
- Scherrer R., Howard S.* — J. Med. Chem., 1977, vol. 20, p. 53.
- Schloerb P., Blackburn G., Grantham J. et al.* — Surgery, 1965, vol. 58, p. 5.
- Schnedeberg O.* — Arch. exper. Pathol. Pharmacol., 1912, vol. 67, p. 1.
- Schneider G.* — Naturwiss., 1964, vol. 51, p. 416.
- Scholtan W.* — Arzneim. Forsch., 1968, vol. 18, p. 505.
- Scholtan W.* — Arzneim. Forsch., 1978, vol. 28, p. 1037.

- Schönhöfer F. — *Medizin Chem.*, 1938, vol. 3, p. 62.
- Schubert D., Jacob F. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1970, vol. 67, p. 247.
- Schulemann W., Schönhöfer E., Wingler A. — *Klin. Woch.*, 1932, ii, p. 381.
- Schultz F. — *Z. Physiol. Chem.*, 1940, vol. 265, p. 113.
- Schultzen O., Naunyn B. — *Arch. Anat. Physiol.*, 1867, p. 349.
- Schumann H. — *Arch. Exper. Path. Pharmacol.*, 1961, vol. 241, p. 200.
- Schumann H., Kroneberg G. *New Aspects of Storage and Release Mechanisms of Catecholamines.* — Berlin: Springer, 1970.
- Schwartz H. In: *Molecular Aspects of Anti-Cancer Drug Action*/Eds. Neidle S., Waring M. — London: Macmillan, 1983.
- Schwarz M., Miller R. — *J. Med. Entomol.*, 1979, vol. 15, p. 300.
- Seeman P., Roth S., Schneider H. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1971, vol. 225, p. 171.
- Segal H., Doyle D. (eds.) *Protein Turnover and Lysosome Function.* — New York: Academic Press, 1978.
- Sekeris C. — *Biochem. J.*, 1971, vol. 124, p. 43P.
- Sekizawa Y., Watanabe T., Shimura M. et al. — *Fifth Internat. Congr. Pestic. Chem. (IUPAC)*, Kyoto, Japan, 1982.
- Selbie F. — *Brit. J. Exper. Pathol.*, 1940, vol. 21, p. 90.
- Selling H., Vonk J., Sijpesteijn A. — *Chem. Indust.*, 1970, p. 1625.
- Senft A. — *J. Parasitol.*, 1970, vol. 56, p. 314.
- Senga K., O'Brien D., Scholten M. et al. — *J. Med. Chem.*, 1982, vol. 25, p. 243.
- Seydel J. — *J. Quant. Chem.*, 1981, vol. 20, p. 131.
- Shalkin A., Tatum E. — *Amer. J. Bot.*, 1961, vol. 48, p. 760.
- Sherbert G. (ed.) *Neoplasia and Cell Differentiation.* — Basel: Karger, 1974.
- Sherbert G. (ed.) *Regulation of Growth in Neoplasia.* — Basel: Karger, 1981.
- Shirota F., DeMaster E., Nagasawa H. — *J. Med. Chem.*, 1979, vol. 22, p. 463.
- Shono T., Unai T., Casida J. — *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1978, vol. 9, p. 96.
- Shulman A., Laycock G. — *Eur. J. Pharmacol.*, 1967, vol. 1, p. 295; vol. 2, p. 17.
- Siegel M. *The Plant Cell Wall.* — Oxford: Pergamon Press, 1962.
- Sijpesteijn A. — *World Rev. Pest Control*, 1970, vol. 9, p. 85.
- Sijpesteijn A., Janssen M. — *Antonie Van Leeuwenhoek.* — 1959, vol. 25, p. 422.
- Sinclair J., Stevens B. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1966, vol. 56, p. 508.
- Singer S., Nicolson G. — *Science*, 1972, vol. 175, p. 720.
- Sinnema A., Maat L., Van der Gugten A., Beyerman H. — *Rec. Trav. chim. Pays-Bas*, 1968, vol. 87, p. 1027.
- Siperstein M., Fagan V. — *Cancer Res.*, 1964, vol. 24, p. 1108.
- Skipper H., Schabel F. — In: *Cancer Medicine*/Eds. Holland J., Frei E. — Philadelphia: Lea and Febiger, 1973.
- Skipper H., Schabel F., Wilcox W. — *Cancer Chemother. Rpts*, 1964, vol. 35, p. 1.
- Slade R. — *Chem. Indust.*, 1945, vol. 40, p. 314.
- Slater T. — *Nature, Lond.*, 1966, vol. 209, p. 36.
- Slijkin M. *Charge Transfer Interactions of Biomolecules.* — London: Academic Press, 1971.
- Smallman B., Fiske R. — *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 1958, vol. 36, p. 575.
- Smith C. — *J. Pharmacol.*, 1956, vol. 116, p. 67.
- Smith D. *Muscle.* — New York: Academic Press, 1972.
- Smith D., Hanawalt P. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1967, vol. 149, p. 519.
- Smith J., Matthews R. — *Biochem. J.*, 1957, vol. 66, p. 323.
- Smith K. *Plant Viruses.* — New York and London: Chapman and Hall, 6th edn., 1977.
- Smith R. *Excretory Function of Bile: the Elimination of Drugs and Toxic Substances in Bile.* — London and New York: Chapman and Hall, 1973.
- Smith R., Kirkpatrick W. *Ribavirin, a Broad Spectrum Antiviral Agent.* — New York: Academic Press, 1980.
- Snyder S., Katims J., Annau Z. et al. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, vol. 78, p. 3260.
- Soloway S. — *Adv. Pest Control*, 1965, vol. 6, p. 85.

- Sompolinsky D., Zaidenzaig Y., Schlomowitz R.* — J. Gen. Microbiol., 1970, vol. 62, p. 351.
- Speakman J.* A Valency Primer. — London: Edward Arnold, 1968.
- Speller D.* Antifungal Chemotherapy. — London: Wiley, 1980.
- Sperber I.* — Pharmacol. Rev., 1959, vol. 11, p. 109.
- Srivastava P., Robins R.* — J. Med. Chem., 1983, vol. 26, p. 445.
- Stamp T.* — Lancet, 1939, ii, p. 10.
- Stebbing N.* — Trends Pharmacol. Sci., 1983, vol. 4, p. 390.
- Stedman E.* — Biochem. J., 1926, vol. 20, p. 719.
- Stedman E., Stedman E.* — Biochem. J., 1931, vol. 25, p. 1147.
- Stedman E., Stedman E., Easson L.* — Biochem. J., 1932, vol. 26, p. 2056.
- Steel C.* Growth Kinetics of Tumours. — Oxford: Clarendon Press, 1978.
- Steele J., Uchytel T., Durbin R. et al.* — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1976, vol. 73, p. 2245.
- Steidle H.* — Arch. exper. Path. Pharmacol., 1930, vol. 157, p. 89.
- Stein W.* Movement of Molecules across Cell Membranes. — London: Academic Press, 1967.
- Steinert M.* — Exper. Cell. Res., 1965, vol. 39, p. 69.
- Stephenson R.* — Brit. J. Pharmacol., 1956, vol. 11, p. 379.
- Sternberg J., Chang S., Kearns C.* — J. Econ. Entomol., 1959, vol. 52, p. 1070.
- Sterns M.* — Crystallogr. Molec. Struct., 1971, vol. 1, p. 372.
- Stewart C., Burke P.* — Nature New Biol., 1971, vol. 233, p. 109.
- Stewart D., Jacobs M.* — J. Cell. Comp. Phys., 1936, vol. 7, p. 333.
- Stillinger F.* — Science, 1980, vol. 209, p. 451.
- Stokes G., Weber M.* — Brit. J. Med., 1974, ii, p. 298.
- Stone J., Mordue W., Batley K., Morris H.* — Nature, Lond., 1976, vol. 263, p. 207.
- Straub R.* — Arch. internat. Pharmacodyn. Ther., 1956, vol. 107, p. 414.
- Straub W., Trendl E.* — Arch. exper. Path. Pharmacol., 1937, vol. 185, p. 1.
- Street J.* Pesticide Selectivity. — New York: Marcel Dekker, 1975.
- Strichartz G.* — Anesthesiology, 1976, vol. 45, p. 421.
- Striebel H.* — Experientia, 1976, vol. 32, p. 457.
- Strominger J., Threnn R., Scott S.* — J. Amer. Chem. Soc., 1959, vol. 81, p. 3803.
- Strominger J., Tipper D., Ensign J. et al.* — Biochemistry, 1967, vol. 6, pp. 906, 921, 930.
- Strugger S.* — Jena Z. Med. Naturwiss., 1940, vol. 73, p. 97.
- Stryer L.* Biochemistry. — San Francisco: Freeman, 2nd edn., 1981.
- Stullard C., Rozee K.* Plasmids and Transposons. — New York: Academic Press, 1979.
- Stutte C. (ed.).* Plant Growth Regulators: Chemical Activity, Plant Responses, and Economic Advantage. — Washington: American Chemical Society, 1977.
- Sueoka N., Quinn W.* — Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1968, vol. 33, p. 695.
- Sulser F., Sanders-Bush E.* — Annu. Rev. Pharmacol., 1971, vol. 11, p. 209.
- Summers L.* The Bipyridinium Herbicides. — London: Academic Press, 1980.
- Sutherland K., Wark I.* Principles of Flotation. — Melbourne: Australian Institute of Mining and Metallurgy, 1955.
- Symoens J., Rosenthal M., de Brabander M., Goldstein G.* — Springer Semin. Immunopathol., 1979, vol. 2, p. 49 (review).
- Szczeklik A., Nizakowski R., Splawinski J. et al.* — Lancet, 1979, i, p. 1111.
- Szent-Györgi A.* Submolecular Biology. — New York: Academic Press, 1960.
- Takasawa S., Utahara R., Okanishi M. et al.* — J. Antibiot., Tokyo, 1968, vol. 21, p. 477.
- Takeda K., Leasure J., Lok M. et al.* — Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1981, vol. 22, p. 224.
- Takitu T., Muraoka Y., Nakatani T. et al.* — J. Antibiot., 1978, vol. 31, p. 1073.
- Tanford C.* — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1979, vol. 76, p. 4175.
- Tanford C.* The Hydrophobic Effect: Formation of Micelle and Biological Membranes. — New York: Wiley, 2nd edn., 1980.
- Tapley D., Cooper C.* — Nature, Lond., 1956, vol. 178, p. 1119.
- Tardrew P., Mao J., Kenney D.* — Appl. Microbiol., 1969, vol. 18, p. 159.

- Tate M., Ellis J., Kerr A. et al. — Carbohydr. Res., 1982, vol. 104, p. 105.
- Tatum A., Cooper G. — J. Pharmacol., 1934, vol. 50, p. 198.
- Taylor H., Burden R. — Proc. Roy. Soc. B, 1972, vol. 180, p. 317.
- Taylor J., Green A., Cori G. — J. Biol. Chem., 1948, vol. 173, p. 591.
- Temin H., Mizutani S. — Nature, Lond., 1970, vol. 226, p. 1211.
- Templeman W., Sexton W. — Proc. Roy. Soc. B, 1946, vol. 133, p. 300.
- Teorell T. — Arch. internat. Pharmacodyn. Thér., 1937, vol. 57, pp. 205, 226.
- Terracini B., Testa M., Cabral J., Day N. — Internat. J. Cancer., 1973, vol. 11, p. 747.
- Theodorides V., Gyurik R., Kingsbury W., Parish R. — Experientia, 1976, vol. 32, p. 702.
- Thesleff S. — Neuroscience, 1980, vol. 5, p. 1413.
- Thomas R. — In: Burger's Medicinal Chemistry/Ed. Wolff M. — New York: Wiley, 1981.
- Thorne R., Bygrave F. — Nature, Lond., 1974, vol. 248, p. 351, Biochem. J., 1974, vol. 144, p. 551.
- Thovert G. — Compt. rend. Acad. Sci. Paris, 1910, vol. 150, p. 270.
- Tidd O., Paterson A. — Cancer Res., 1974, vol. 34, p. 738.
- Tipper D., Strominger J. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1965, vol. 54, p. 1133.
- Tischer W., Strotmann H. — Biochim. Biophys. Acta, 1977, vol. 460, p. 113.
- Tisdale W., Williams I. — U.S. Pat., 1 972 961 (1934).
- Tocchini-Valenti G., Marino P., Colvill A. — Nature, Lond., 1968, vol. 220, p. 275.
- Tolmsoff W. — Phytopathology, 1962, vol. 52, p. 755.
- Tréfouel J., Tréfouel Mme. J., Nitti F., Bovet D. — Compt. rend. Soc. Biol., Paris, 1935, vol. 120, p. 756.
- Treherne J. — J. Physiol., 1956, vol. 133, p. 171.
- Treherne J. The Neurochemistry of Arthropods. — Cambridge: University Press, 1966.
- Trendelenberg U. — In: Catecholamines/Eds Blashko H., Muscholl E. Handbuch der experimentellen Pharmakologie. — Berlin: Springer, 1972, vol. 33.
- Trevan J. — Proc. Roy. Soc. B, 1927, vol. 101, p. 483.
- Triggle D., Triggle C. Chemical Pharmacology of the Synapse. — London: Academic Press, 1976.
- Tritton T., Yee G. — Science, 1982, vol. 217, p. 248.
- Truffaut G., Pastac I. — Fr. Pat., 425 295 (1932).
- Truffaut G., Pastac I. — Chim. Indust., 1944, vol. 51, p. 79.
- Trump B., Duttera S., Byrne W., Arstila A. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1970, vol. 66, p. 433.
- Tsukamoto M., Casida J. — Nature, Lond., 1967, vol. 213, p. 49.
- Tu Y., McCalla D. — Chem. Biol. Interact., 1976, vol. 14, p. 81.
- Turner W., Bauer D., Nimmo-Smith R. — Brit. Med. J., 1962, i, p. 1317.
- Tymonko J., Foy C. — Abstr. Weed Sci. Soc. Amer., 1978, p. 70.
- Tzagoloff A. Mitochondria. — New York: Plenum Press, 1982.
- Uhlenhuth H. — Dtsch. med. Woch., 1907, vol. 33, p. 1237.
- Umezawa H. — Biomédicine, 1973, vol. 18, p. 459.
- Umezawa H., Hooper I. Aminoglycoside Antibiotics. — Berlin: Springer Verlag, 1982.
- Unwin P., Milligan R. — J. Cell Biol., 1982, vol. 93, p. 63.
- Unwin P., Zampighi G. — Nature, Lond., 1980, vol. 283, p. 545.
- Usherwood P., Machili P. — J. Exper. Biol., 1968, vol. 49, p. 341.
- Valdivieso M., Bodey G., Gottlieb J., Freireich E. — Cancer Res., 1976, vol. 36, p. 1821.
- Van Beck W., Smets L., Emmelot P. — Nature, Lond., 1975, vol. 255, p. 457.
- Vane J. — Nature New Biology, 1971, vol. 231, p. 232.
- Vanyushin B., Belozersky A., Kokurina N., Kadirova D. — Nature, Lond., 1968, vol. 218, p. 1067.
- Varner J., Chandra G. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1964, vol. 52, p. 100.
- Vazquez D. — Nature, Lond., 1964, vol. 203, p. 257.
- Veldstra H. — Pharmacol. Rev., 1956a, vol. 8, p. 339.

- Veldstra H.* — In: *Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Substances/* Eds Wain R., Wightman F. — London: Butterworth, 1956b.
- Verloop A., Hoogenstraaten W., Tipker J.* — *Drug Design*, 1976, vol. 7, p. 165.
- Vianna G.* — *Arch. Brazil. Med.*, 1912, vol. 2, p. 422.
- Vickerman K.* — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1962, vol. 56, p. 487.
- Viegtlin C.* — *Physiol. Rev.*, 1925, vol. 5, p. 63.
- Vogel H.* — *Fed. Proc.*, 1959, vol. 18, p. 345.
- Volz K., Matthews D., Alden R. et al.* — *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, p. 2528.
- Vonk J., Sijpesteijn A.* — *Pest Sci.*, 1971, vol. 2, p. 160.
- Waddell W., Butler T.* — *J. Clin. Invest.*, 1959, vol. 38, p. 720.
- Wagner J.* — *J. Pharm. Sci.*, 1961, vol. 50, p. 359.
- Wain R.* — *Ann. Appl. Biol.*, 1955, vol. 42, p. 151.
- Wain R.* — *Nature, Lond.*, 1963, vol. 200, p. 28.
- Wain R.* — In: *The Physiology and Biochemistry of Herbicides/Ed. Audus L.* — London: Academic Press, 1964.
- Wakita S., Kurokawa T., Tejima I. et al.* *Pesticide Chemistry/Eds. Miyamoto J., Kearney P.* — Oxford: Pergamon Press, 1983.
- Walker M., Strike T.* — *Cancer Clin. Trials*, 1980, vol. 3, p. 105.
- Wallach D., Zahler P.* — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1966, vol. 56, p. 1552.
- Walls L.* — *Chem. Indust.*, 1951, p. 606 (review).
- Wanke E., Carbone E., Testa P.* — *Nature, Lond.*, 1980, vol. 287, p. 62.
- Warburg O.* — *Naturwiss.*, 1927, vol. 15, p. 1.
- Warburg O., Christian W.* — *Biochem. Z.*, 1943, vol. 314, p. 149.
- Warnick S., Carter J.* — *Arch. Environ. Health*, 1972, vol. 25, p. 265.
- Watanabe A., Tasaki I., Singer I., Lerman L.* — *Science*, 1967, vol. 155, p. 95.
- Watson J., Crick F.* — *Nature, Lond.*, 1953, vol. 171, p. 737.
- Watson W.* *Cell Biology of the Brain.* — London and New York: Chapman and Hall, 1976.
- Watts S., Rapson E., Atkins A., Lee D.* — *Biochem. Pharmacol.*, 1982, vol. 31, p. 3035.
- Waud D.* — *Trends Pharmacol. Sci.*, 1981, vol. 2, p. 52.
- Weber G., Borris D., De Robertis E. et al.* — *Molec. Pharmacol.*, 1971, vol. 7, p. 530.
- Wegner D.* — *Arzneim. Forsch.*, 1981, vol. 31, p. 566.
- Weiss B., Fertel R.* — *Adv. Pharmacol. Chemother.*, 1977, vol. 14, p. 189.
- Welch A.* — *Cancer Res.*, 1961, vol. 21, p. 1475.
- Welch A., Prusoff W.* — *Cancer Chemother. Rpts.*, 1966, vol. 6, p. 29.
- Welsh J.* — *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1948, vol. 83, p. 568.
- Wendel H.* — *Fed. Proc.*, 1964, vol. 23, p. 387.
- Wense T.* — *Arch. ges. Physiol.*, 1939, vol. 241, p. 284.
- Wharton J.* — *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 1979, vol. 133, p. 833.
- White G., Thorn G.* — *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1975, vol. 5, p. 380.
- Whitley R., Soong S., Dolin R. et al.* — *New Engl. J. Med.*, 1977, vol. 297, p. 289.
- Whitlick J., Israel D.* — *J. Biol. Chem.*, 1984, vol. 259, p. 5400.
- Whittaker V.* — *Biochem. Soc. Symp.*, 1963, vol. 23, p. 109.
- WHO, see World Health Organization.
- Widmark E.* — *Acta Med. Scand.*, 1920, vol. 52, p. 88.
- Wilbrandt W.* — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1959, vol. 11, p. 65.
- Wilbrandt W., Rosenberg T.* — *Pharmacol. Rev.*, 1961, vol. 13, p. 109.
- Wilkinson C. (ed.)* *Insecticide Biochemistry and Physiology.* — New York: Plenum Press, 1976.
- Williams A., Klein E.* — *Cancer*, 1970, vol. 25, p. 450.
- Williams R.* *Detoxication Mechanisms.* — London and New York: Chapman and Hall, 2nd edn., 1959.
- Wilson S.* — *Vet. Rec.*, 1949, vol. 61, p. 395.
- Wing R., Drew H., Tokano T. et al.* — *Nature, Lond.*, 1980, vol. 287, p. 755.
- Winteringham F., Barnes J.* — *Physiol. Rev.*, 1955, vol. 35, p. 701.
- Wise E., Park J.* — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1965, vol. 54, p. 75.
- Wiselogle F.* *A Survey of Antimalarial Drugs (1941—1945).* — Ann Arbor, Michigan: W. Edwards, 1946.

- Wodzicki K. — Bull. World Health Org., 1973, vol. 48, p. 461.
- Wohl A., Glimm E. — Biochem. Z., 1910, vol. 27, p. 349.
- Wong H., Tolpin E., Lipscomb W. — J. Med. Chem., 1974, vol. 17, p. 785.
- Wood J., Wolfe W., Irving G. — Science, 1947, vol. 106, p. 395.
- Wood R., Hitchings G. — J. Biol. Chem., 1959, vol. 234, p. 2377.
- Woodruff H. — In: Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs/Eds. Newton B., Reynolds P. — Cambridge: University Press, 1966.
- Woods D. — Brit. J. Exper. Path., 1940, vol. 21, p. 74.
- Woolf J., Nixon J. — Biochemistry, 1981, vol. 20, p. 4263.
- Woolfe G. — Progr. Drug Res., 1965, vol. 8, p. 11 (review).
- World Health Organization. — WHO Official Records, 1971, No. 190, p. 176.
- World Health Organization. — The Work of WHO 1976—7. Annual Report of the Director-General, WHO Official Records 1977 No. 243, Geneva.
- World Health Organization. — The Work of WHO, 1980—1, Biennial Report of the Director-General, Geneva, 1982.
- Worthing C. The Pesticide Manual: A World Compendium. — Malvern (England): British Crop Protection Council; USA: State Mutual Books, 7th edn., 1983.
- Wren A., Massey V. — Biochim. Biophys. Acta, 1965, vol. 110, p. 329.
- Wright S. The Metabolism of Cardiac Glycosides. — Springfield, Illinois: Charles C. Thomas, 1960.
- Wyatt G., Kalf G. — J. Gen. Physiol., 1957, vol. 40, p. 833.
- Yamamoto I. — Annu. Rev. Entomol., 1970, vol. 15, p. 257.
- Yorke W., Adams A., Murgatroyd F. — Ann. Trop. Med. Parasit., 1931, vol. 25, p. 351 (cf. Yorke W., Murgatroyd F., idem., 1930, vol. 24, p. 449).
- Zaffaroni A. — Acta Endocrinol. Suppl., 1974, vol. 185, p. 423.
- Ziegler I., Hamm V., Berndt J. — Cancer Res., 1983, vol. 43, p. 5356.
- Zimmerman P. — Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1942, vol. 10, p. 152.
- Zubay G., Watson M. — J. Biophys. Biochem. Cytol., 1959, vol. 5, p. 51.
- Zwolinski B., Eyring H., Reese G. — J. Phys. Colloid Chem., 1949, vol. 53, p. 1426.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абсциссы, синтез 199
 Агонисты 14
 — действие на рецепторы 324
 — чистый, переход к чистому антагонисту, стадии 335
 Адренергические синапсы 344
 Аденозин 328
 Адреналин, упрощенный аналог 321
 Адсорбция, типы 361, 363
 8-Азагуанин, применение 162
 Азатиоприн, применение 163
 6-Азаурацил, применение 163
 5-Азацитидин, применение 153
 Азот, выделение растениями 307
 — метаболизм 181
 Аксон 325
 Актиномицеты, и антибиотики 253
 Алкалоиды, структура 307
 Алкилтриметиламмоний, эффективность и средство 335
 Аллетрин 274
 Аллопуринол, ингибирующие свойства 180
 Альбумин сывороточный, связывание лекарственных веществ 102, 103
 Альдрин 273
 Амебиаз, возбудители болезни, осложнения 20
 Амебиазы, применение амебоцидных препаратов 261
 Аминоакридин, накопление в нуклеиновых кислотах 47
 — противобактериальное действие 45, 46
 Аминоноксидуредин 149
 Аминокислоты, медиаторная роль в ЦНС 332
 Амины адренергические, применение 346
 Амосканат 264
 Амфотерицин, лечение системных грибковых заболеваний 262
 Анальгетики 339
 Анестезия 311
 — избирательная токсичность 14
 — общие 339
 Анкилостомидоз, возбудители, распространение 24
 Антагонизм, ослабление действия лекарственного вещества 114
 Антагонисты, действие на рецепторы 324
 — токсическое воздействие 14
 Антибиотики, открытие 252
 — применение 251
 Антигельминтные препараты ветеринарные 267
 — — получение 262
 Антидоты растений 289
 Антимускариновая активность 313
 Антрацены, синтез 47
 Архитектура внутриклеточная 217
 Агг्रेस «сложная оккупационная теория» 334
 Аскариды, выведение из организма 266
 Аспирин 306
 Атракуриум 317
 Атропин, аналоги упрощенные 312
 — модификация молекулы 314
 АТФ (аденозинтрифосфат), метаболизм 179
 Ацетанилид 306
 Ацелирование лекарственных веществ 105
 Ацетилхолин, структура 308
 — медиатор в периферической нервной системе 328
 Ацикловир, действие, получение 151
 — , применение против вируса герпеса 256
 Бактериальные инфекции 20
 — клетки 213
 Барбан 288
 Барбитал 306
 Барбитураты как антагонисты 115
 БВДУ, действие на вирус оспы 152
 Белки, аминокислотная последовательность 165
 — структура 166
 Беномил 282, 285
 Бильгарциоз, борьба с ним 290
 Биологическая активность веществ, основные свойства 67
 Биологические методы борьбы с вредными организмами 15
 Биоресметрин 275
 Биохимия сравнительная 201
 Бластицидин 290
 Блеомицины, действие на ДНК 156
 Болезни, вызываемые жгутиковыми 259
 Бор, изотопы, лечение опухолей мозга 73
 Бордосская жидкость 280
 Буторфанол 320
 Бруцеллез, причина заражения 22
 Вагинит трихомонадный, лечение метронидазолом 261
 Ван-дер-ваальсовы связи в соединении лекарственного вещества с рецептором 358
 Везикулы пресинаптические 233
 Видарабин 150, 256
 Вирус, заражение клетки 236
 — процесс инфицирования клетки 255
 — , структура, величина, форма 234
 — , типы 235
 Вирусные заболевания 22
 Витамин В₁₂, избирательность действия 72
 Внутриклеточная архитектура 217
 Вода, структура 78
 Водородная связь при связи лекарственного вещества с рецептором 357
 Всасывание лекарственных веществ замедленное 137
 — — — в желудке 88
 — — — из толстого кишечника 89
 — — — тонкого кишечника 88
 — — — твердых 136
 — — — через кожу 89
 Галламин 317
 Галлюциногены 340
 Галогеноводороды, высвобождение 108
 Гаглин 325
 Гаглиноблокаторы 343
 Гексаметилбензамид 279
 Гексаметоний 317
 Гельминтозы, формы заболеваний 22, 24
 Гематоэнцефалический барьер 92
 Гентамицин, избирательность 170
 Гены, перенос, причины 298
 Гептахлор 273
 Гербициды, 188, 286

- , вносимые в почву 288
- для «химической вспашки» 288
- контактные 189
- триазиновые, влияние метильных групп на растворимость 58
- , уничтожение однодольных сорняков 287
- цианофенальные 287
- Герпеса вирус, действие фоскарнета 152
- Гетероциклы «замена при создании новых лекарственных веществ» 67
- Гиббереллины, применение 198
- Гигиена в борьбе с инфекционными заболеваниями 24
- Гидратация ковалентная, обнаружение 60, 61
- Гидроксимочевина 145
- Гикантон, применение 164
- Гипоксические клетки в опухолях 208
- Гистамин 308
- Гликозиды сердечные 347
- Гликолиз 180
- Глифосат 288
- Глюкоза, транспорт в эритроциты 84
- Глюкуроны, образование при метаболизме 106
- Гормоны для лечения рака 206
 - позвоночных 190
 - растений 197
- Грибковые заболевания 22
- Грибы, уничтожение спор фунгицитами 285
- Гризеофульвин для лечения грибковых заболеваний 261
 - , избирательность действия 72
- Грызуны, разносчики болезней 291
- Гуанидин 327

- Дактиномицин, действие на РНК 161
- Дапсон 255
- ДДТ, действие на человека 351
 - , токсическое 349, 350
- ДДТ, устойчивость к биодеградации 271
- Декаментрин 278
- Декстрометорфан 320
- Делапон 288
- Дельтаметрин 275
- Дефолланты 289
- Диазином, применение 279
- Диазинон 278
- Дильдрин 273
- Димаприт 321
- Диметилфталат 279
- Диметоат 278
- Дикофол 278
- Диктиосомы 233
- Диметилнитрозалин, метаболизм 127
- Диносеб 287
- Диоксид серы 280
- Диурон 289
- Дифторметилорнитин для лечения кокцидоза 72
- Диффузия лекарственных веществ через мембрану 82, 83
- Дицикловерин 313
- Дицикловерин 348
- Диэтил-мета-толуамид 279
- Диэтилстильбэстрол 321
- ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) 13
 - взаимодействие с лекарственными веществами 153
 - ингибирующие синтез антиметаболиты 146
 - разрушение под действием лекарственных веществ 154
 - , синтез с помощью ингибиторов 143
- Дозы вводимых лекарственных веществ 15
- Доза-эффект, связь 248
- Дозировка лекарственного вещества 133
 - сульфамидов 135
- Доксорубин, действие на ДНК 154
- Дрожжи, избирательность действия 75

Железа ионы, токсичность для бактерий 49

Заболевания, вызванные червями *Necator* или *Ancylostoma*, лечение 266

Закон Дика 82

Зонды молекулярные для изучения рецепторов 55

Зоокумарин 291

- Ивермектин 279
- Идоксуридин 256
- Избирательность лекарственных веществ биохимическая 13, 139
 - — — на основе цитологического различия 30
 - — — , обусловленная биохимическими различиями 29
 - — — на основе различий в распределении 70
 - — — три фактора 29
 - — — небιологические примеры 363
- Изониазид 254
- Изоферменты 172
- Иммунная система человека 208
- Иммунодепрессанты 212
- Иммуностимуляторы 211
- Ингибиторы дигидрофолатгидрогеназы, роль в синтезе ДНК 144
 - дыхательной цепи 185
 - , подавляющие синтез АХ в нервных окончаниях 343
 - синергические свойства 112
- Инсектициды 270
- Инсектициды фосфорорганические 276
- Инфицирование клетки вирусом 255
- Ионизация и противобактериальная активность 65
- Инсектициды фосфорорганические 276
- Инфекции бактериальные 20
 - протозойные 18
- Инфекционные болезни и их возбудители 18
 - — представляющие серьезную опасность 21
- Ионизация лекарственных веществ, электронные влияния 64
- 5-Йоддезоксисуридин 148
- Йод, изотоп радиоактивный как рентгеноконтрастное средство 73
 - , накопление в щитовидной железе 72
- 5-Йодурацил 149

- Кальциферол 291
- Камфехлор 273, 278
- Каптан 281
- Каптоприл 321
- Карбарзон 245
- Карбарил 278
- Карбоксин против базидномитозов 282
- Кауфук силиконовый 138
- Кельтан, влияние на резистентность комнатной мухи к ДДТ 300
- Классификация животных и растений от простейших до высших 30, 31
- Клетки, зараженные вирусами 236
- Клетка, ультраструктура 218
- Клеточная архитектура 203
 - стенка грибов 213
 - — многоклеточных растений 212
- Коканин 306
 - , конфигурация молекулы 310
 - , модификация молекулы 310
- Кокцидоз, профилактика, лечение 259
- Комплексы стероид — рецептор, образование 54
- Константы Реккера 99
- Концентрация лекарственного вещества, зависимость от времени 132
- Кофенин, действие на ДНК 159
- Кофермент 176

- Коэффициент распределения, биологическая значимость 100
 — — — лекарственных веществ, история вопроса 94
 — — — — — , методы определения 96
 Криолит 278
 Кровеносная система, капилляры, свойство мембраны IV типа 90
 Ксенобиотики, метаболизм, литература 111
 Ксантоксины 48
 Stark, работы по обоснованию существования рецепторов 38
- Леводопа, применение при болезни Паркинсона 123
 Левомицетин, свойства противобактериальные 167
 Легкие, проницаемость тканей 90
 Лейкантон 123
 Лейкоз, лечение метотрексатом 297
 — , терапия лекарственная 26
 Лейшманиоз, лечение сурьмой 260
 — , формы болезни, возбудители 20
 Лекарственные вещества, активность внутренняя 333
 — — взаимодействующие с ДНК 153
 — — взаимодействующие с рецепторами с помощью электростатических сил 354
 — — действующие на железы внутренней и внешней секреции 348
 — — — на мышцы 346
 — — — — нервную систему насекомых 348
 — — — — парасимпатические структуры 336
 — — — — периферическую нервную систему 315, 342, 343
 — — — — ЦНС 339
 — — жаропонижающие 306
 — — , зависимость эффекта от числа свободных рецепторов 336
 — — избирательность 13
 — — ингибирующие образование и выделение гормонов 348
 — — — синтез белков 166
 — — — — РНК 160
 — — , конформационный фактор действия 337
 — — , концепция «незанятых рецепторов» 334
 — — механизм действия, гипотезы 332
 — — , образование комплекса с рецептором 333
 — — , образующие ковалентную связь с рецептором 353
 — — , оккупационная гипотеза действия 336
 — — , применяемые при паркинсонизме 340
 — — пролонгированного действия 137
 — — разрушающие ДНК 154
 — — самораспадающиеся 116
 — — связь между структурой и биологической активностью 324
 — — синтетические, поиск 305
 — — спонтанные 306
 — — способность расслаблять мышцы 347
 — — , структура молекулярная 307
 — — исследования клинические 28
 — — угнетающие аппетит 340
 — — , усовершенствование тест-объектов 323
 — — фармакодинамические, классификация 338
 — — эффективность 334
 — — — по Stephenson 334
 Лидол, обезболивающий эффект 318
 Лидокаин, применение в стоматологии 311
 Лизосомы 233
 Линдани 278
 — , инсектицидное действие 272
 — лечение чесотки 279
 Липиды, метаболизм 183
- распределение в биологических мембранах 220
 Липосомы 234
- Малатион 278
 Малярийные плазмодии, резистентность 296
 Малярия, препараты для лечения 259
 — , возбудители 18
 — , распространение 18
 МДП (мурамылдипептид), действие 209
 — , применение 210
 Медиаторы стимулирующие и ингибирующие 331
 — ЦНС 331
 Медь, ионы, функциональное действие 49
 Мембрана(ы) бактерий 93, 222
 — второго типа 83, 84
 — искусственные 223
 — животных клеток 221
 — нервного волокна, деполяризация 325, 326
 — первого типа 80, 83
 — — — толщина, состав 81
 — плазматическая 219
 — природные, проницаемость 80, 81
 — раковых клеток 223
 — растительных клеток 93, 221
 — третьего типа 84, 86
 — четвертого типа 86
 6-Меркаптопурии 122
 — механизм действия 148
 Местноанестезирующие средства 342
 Метаболизм лекарственных веществ в эндоплазматическом ретикулуме 106
 — — — микросомный 107
 — — — нетоксичных в токсичные вещества 127
 — — — в цитозоле печени 110
 — — — , общие сведения 105
 — пуринов и птеридинов 180
 — чужеродных веществ 200
 Метадон 318
 Металаксил 284
 Металл для проявления бактерицидной активности оксидов 50
 Метилдофа 123
 Метильные и метиленовые группы, влияние на биологическую активность веществ 56—69
 Метисазон 257
 Метоксифлор 278
 Метомил 278
 Метотрексат, лечение лейкоза 297
 Метрифонат 279
 Метрифонат, лечение заболеваний, вызванных *S. haematobium* 264
 Метронидазол 261
 Мидантан 256
 Миелолейкоз, лечение гидроксимочевной 145
 Миконазол, лечение грибковых заболеваний 261
 Микроорганизмы, исторический обзор 237
 Микросомы и эндоплазматический ретикулум 227
 Микротрубочки 229
 Микрофибриллы 232
 Митохондрии и одноклеточные организмы 226
 — набухание 225
 — , строение 224, 226
 Миндальная кислота 312
 Митомицин, свойства 154
 Митрамицин, действие на РНК 163
 Мозг головной и спинной 328
 Мозг, распределение в нем лекарственного вещества 93
 Моллюскициды 290
 Морфактины 289
 Морфин, аналоги упрощенные 318
 Морфин, депрессант 339

— обезболивающие и наркотические свойства 319
— строение молекулы 318
Морфинан 320
Мурейн, биосинтез 215
Мышьяк, производные, свойства 292
Набам 281
Накопление (депонирование) лекарственного вещества 29, 75, 101
Назидиксовая кислота 254
— — действие на ДНК 159
Налорфин 319
Натрия катиона, диффузия 85
— салицилат 306
Неинфекционные болезни 25
Нейролептики 340
Нейрон 325
Нематоды, действие на них лекарственных веществ 265
Нематоциды 290
Нервная система, классификация 328
— — моторная 328
— — периферическая 328
— — сенсорная 328
— — функция регулярная 330
— — центральная см. Центральная нервная система (ЦНС) 331
Нервно-мышечное соединение в момент поступления нервного импульса 329
Нервные клетки, три основные области 324, 325
Нервный импульс, возникновение 326
— — скорость распространения 326
— — химическая передача 327
Нерецепторное действие 55
Никотин 280
— , аналоги упрощенные 315
— для защиты растений 277
Ниридазол, лечение шистоматоза 263
Ниссол, средство против клещей 128
Нистатин, применение 262
Новокаин 307, 309
Норадреналин 308
— как медиатор 330
— — в периферической нервной системе 328
Норбормид 291
Нуклеиновые кислоты, накопление аминокридинов 47
Оксамниквин 264
Оксин, бактериальгическая активность 49
— — в присутствии металла 50
— для защиты предметов от плесени 281
Окситетрациклин 300
Оксифенциклимин 313
Оксофенарсин 245
Октанол для определения коэффициента распределения лекарственного вещества 96
Онхоцеркоз, возбудители, переносчики болезни, лечение 23
Острицы, выведение из организма 267
Пиретрины 351
Папаверин 347
Паракват, аналоги 189
Паргилен, применение при лечении алкоголизма 124
Паральдегид 306
Парафуксин 302
Пенициллин, действие 252
Пентазоцин 319
Пентапептид 321
Пестициды, активация 128
Перенос генов 298
— лекарственных веществ, исследования 104, 105
Перметрин 275, 278
Пероксисомы 233
Пероральное введение лекарственных веществ 134

Пестициды для защиты растений 269
Печень, выведение лекарственных веществ 92
— крыс, источник ферментов ЭР в экспериментах 109
Пиклоран 287
Пилокарпин 127
Пиноцитоз 87
Пиперидолат 313
Пиретрины 274, 351
Пиретроиды фотостабильных 275, 276
Плазмодий 145
Плазмиды, инактивация 301
Полипептиды, медиаторная роль 328
Полхлорбифенилы, загрязнение окружающей среды 274
Потенциалы окислительно-восстановительные (редокс потенциалы) 65
Почки, структурный состав, транспорт лекарственных веществ 90, 91
Птеридин, гидратация 61, 62
— , растворимость производных 66
Празиквантел 264
Пробеназол 284
Проводимость химическая и электрическая 324
Прозерин 317
Прокарбазин, действие на ДНК 160
Пролекарства 117, 118
— в ряду антибиотиков 121
— — терапии рака 121
— дизайн 125
— самораспадающиеся 126
— с N-метильной группой 120
Пронтозил и стрептоцид 119
Пропантелин 314
Пропоксибен 319
Простагландины, действие 190
Противовирусные агенты для растений 290
— препараты 148, 149, 255
Противокашлевые средства 340
Противомалярийные препараты 244
Противоопухолевая терапия, аспект цитологический 205
Противоопухолевые лекарственные вещества 268
— — — избирательное распределение 74
Противосудорожные средства, не обладающие снотворным эффектом 339
Протозойные инфекции, препараты для лечения 258
Психические заболевания, терапия 25
Психомоторные стимуляторы 340
Радиофармацевтические препараты, применение в диагностике 72
Раковые опухоли, развитие 26
— — типы 26
— — химиотерапия 27
Распределение лекарственного вещества 76, 77
— — — между кровью и спинномозговой жидкостью 92
— — — — — тканями 89
Растворимость ароматических азотсодержащих веществ 66
— , влияние стерических факторов 56
— жидкостей в воде 98
Растения, выделение азота 307
Растения, роль фитохром в морфогенезе 199
Резистентность в условиях клиники 301
— — фармакодинамике 302
— к лекарственным веществам, открытие 292
— малярийных плазмодиев 296
— насекомых 296
— опухолевых клеток 297
— , переносимая плазмидами 299
— преодоление 300
— приобретенная 293
— природная 293
— I типа, открытие 294

— II типа 295
— III типа 297
— IV типа 298
— типа «исчезновения мишени» 297
— трипаносом 301
— —, три типа 292
Реккера константы 99
Репелленты 279
Рецепторы, взаимодействие с лекарственными веществами 36
— выделение молекул его содержащих 55
— для антибиотиков 55
— изофункциональные 53
— как часть нуклеиновой кислоты 44
— на мембранах 39
— — ферментах 40
— обратимость взаимодействия с ними лекарственных веществ 51
— последовательные 53
Рибавирин, его аналоги 150
Рибосомы 228
Рифампицины, действие на РНК 160
Рицид 284
РНК (рибонуклеиновые кислоты) 141
РНК, действие на нее флавана 164
— матричные 142
— транспортные 142
Родентициды 291
Ротенон для защиты растений 277

Сакситоксин 327
Сальварсан 241
Salmonella для контроля за размножением крыс и полевок 291
Сера, фунгицид 281
Серная кислота, распределение при опрыскивании 70
Симазин 289
Синапсы адренергические 344
— холинергические 343
—, ширина 204
Синергизм для подавления роста бактерий-мутантов 113
— определение 112
Синергисты для прекращения метаболической деструкции 113
Синильная кислота 280
Скорость переноса лекарственных веществ через мембрану 131
Снотворные средства 339
Совкаин для спинномозговой анестезии 312
Спирты первичные, зависимость концентрации от растворимости 59
—, растворимость в воде 57
Стафилококки, подавление 57
Стерилизация как генетический метод биологической борьбы 16
Стерические свойства молекул 44
— — влияние на взаимодействие с рецепторами и ферментами 63
— — — — ковалентную гидратацию 60
— — — — растворимость 56
— — — — хелатообразование 63
Стрептоцид, активность противобактериальная 42
Стрихнин алкалоид, судорожный эффект 321
Стрихинин, конвульсант 339
— упрощенный 321
Структура и биологическая активность лекарственного вещества, ранние корреляции 33, 34, 35
— вещества, связь с активностью 68
— природных соединений, упрощение 309
Сульфаниламиды противобактериальные 42
Сульфамидопиримидиновые препараты, растворимость 57, 58
Сульфамидные препараты, открытие 243
— — дозировка 135
— — метаболизм 136
— механизм действия 250

Сульфакризондин (пронтозил), открытие 249
Сурамин 244

Табачная пыль для защиты растений 277
Терапевтическая интерференция 302
Тетрациклины, избирательность действия 71
— свойства противобактериальные 168
Тетродотоксин 326
Тиабендазол 289
Тимин-3 пропеналь, действие на ДНК 158
Тинидазол 255
Ткани млекопитающих, проницаемость 87
Токсичность избирательная, успехи 17
Транквилизаторы 339
Трансформация и лектины 207
Трепонематозы, распространение 22
Триазины, гербициды, вносимые в почву 289
Триазин-пиромазин 279
Тридеморф 283
Трикарбоновые кислоты, свойства 185
Триметоприм 145
Трипаносомоз, возбудители, формы заболевания 19
—, лечение 259
Трипаносомы, резистентность 293, 301
— способность к накоплению токсинов 71
Трипарсамид 244
Тритилморфолин 290
Трифлуридин 149, 256
Трихлорфон 278
Тропикамид 314
Троповая кислота 312
Туаминогептан 321
Тубокурарин, аналоги упрощенные 316
Туберкулез, лечение больных 301
—, распространение 21

Уравнения регрессионные для определения коэффициентов распределения лекарственных веществ 96
Уретриты, распространение 22
Уротропин 117

Фагоцитоз
Фармакодинамика, наука 304
— проведение экспериментов 322
— соотношение размеров биологических объектов 322
Фармакодинамические исследования, материалы для тестирования 305
Фармакодинамические лекарственные вещества, классификация 338
— — — при неинфекционных болезнях 25
— — — реакция организма 304
— эффекты, обратимость 304
Фармакокинетика 130
Фармакопоя Лондонская 306
Фенамин, метаболизм у кролика 107
Фенасал, действие на болезни, вызванные цестодами 265
Фенацетин 306
β-фенилэтиламин 345
Фентоламин 336
Фенвалерат 275, 278
Феноксисульфусная кислота, повышение избирательности гербицидного действия 129
Фенциклат 276
Ферменты-аналоги 172
— метаболические в организме 111
— микросомные, реакции окислительные 107
— разрушающие лекарственные вещества 295
— — рецепторы 296
— скоростьлимитирующие, чувствительность 52
Феромоны насекомых 196
— растений 197
Физостигмин, активность 317

Физостигмин, аналоги упрощенные 317
Фика закон 82
Филяриатоз, возбудители, лечение 23
Фитоалексины 285
Фитохромы в морфогенезе растений 199
Флаван, действие на РНК 164
Флемицины, действие на ДНК 158
Флуцитозин, применение 152
Фолевая кислота как противоопухолевое средство 144
Фоскарнет, действие против вируса герпеса 152
Фосфамидон 278
Фосфолипиды, синтез 184
Фосфор, метаболизм 183
Фосфорорганические инсектициды 276
Фотосинтез 187
5-фтордезоксинуридиловая кислота, активность цитостатическая 147
Фторуксусная кислота, превращение в организме 127
5-Фторурацил, антиметаболит 147
Фузидиевая кислота, применение 170
Фумиганты 280
Фунгициды 261
— контактные 280
— применение 280
— системные 282
— уничтожающие споры грибов 285
Фурадонин 254
Фурацилин, действие 164

Холекальциферол 48
Холин, диффузия в эритроциты 84
Холинергические синапсы 343
Хелатирующие агенты для преодоления резистентности 300
Хелатообразование 63
Хилла реакция 188
Химioterапeвтические средства до 1935 года 243
Химioterапeвтический индекс 241, 247
Химioterапeгия в 1935 году 249
— — борьбе с инфекционными заболеваниями 21
— — лечении рака 206
— история вопроса 238
Химические связи 359
— типы 352
Хиназолин, гидратация 61
Хлоралгидрат 306
Хлордан 273
Хлордифеорм 277
Хлоропласты 227

Хлорталония 281
Хлорпирифос 278
2-Хлорэтанфосфоновая кислота 129
Холинорецептор 39

Циклогексимид, применение 171
Циклогуанил 145
Циклодиены, применение 350
Циклопентолат 314
Циклофентрин 276
Цисплатин, применение 154
Цитарабин, антиметаболит 148
ЦНС, воздействие лекарственных веществ 339
— медиаторы 331
— основные отделы 331
— процесс в синапсах 331

Шагаса болезнь, ее переносчики 20
— — лечения нифуртимоксом 260
Шикимовая кислота, метаболизм 179
Шистосомоз, возбудители, формы болезни 23
— лечение 263

Экдизон 48
Эктопаразиты животных 279
Эдифенфос 284
Экдизоны, структура 194, 195
Электронная плотность молекул 44
Электронные влияния в реакциях с разрывом ковалентной связи 66
Эмбихин для химиотерапии рака 269
Эндрия 273
Эндосульфат 273, 278
Эритромицин, свойства противобактериальные 168
Эритроциты, проницаемость 90
Эрлих, вклад в химиотерапию 238
— работы по обнаружению рецепторов 38
Энкефалины 320
Эргометрин 347
Эргостерин, синтез 283
Эрготамин 336
Этиримол, борьба с мучнистой росой 282
Этонитазин 319
Эфедрин 340
— применение при поллинозе 345

Ювенильный гормон, активность 195

Ядерный магнитный резонанс для получения рецепторов 56
Ядро клетки 223

ОГЛАВЛЕНИЕ К ВТОРОМУ ТОМУ

Часть вторая

Глава 9. Антиметаболиты: аналоги коферментов и субстратов ферментов, обладающие антагонистическим действием

9.0. Ферменты

9.1. Антиметаболиты: определение, происхождение и механизм действия

9.2. История изучения антиметаболитов до 1940 года

9.3. Антагонисты фолиевой кислоты

9.4. Другие аналоги метаболитов, играющие важную роль в профилактике и терапии

9.5. Ингибиторы «переходного состояния»

9.6. Последовательное блокирование

9.7. Аналоги метаболитов, образующие ковалентные связи

9.8. Особые случаи взаимосвязи между агонистами и антагонистами

9.9. Фармакогенетика

Глава 10. Ионизация

10.0. Природа ионизации

10.1. Константа ионизации (K_a)

10.2. Различия в ионизации, обеспечивающие избирательность

10.3. Вещества, обладающие большей биологической активностью в ионизированном состоянии

10.4. Вещества, менее активные в ионизированном состоянии

10.5. Вещества, проявляющие биологическое действие в виде ионов и неионизированных молекул

10.6. Ионизация рецепторов

10.7. Заключение

Глава 11. Вещества, связывающие металлы

11.0. Металлы в живой клетке

11.1. Биохимические различия, способствующие избирательности

11.2. Химизм хелатообразования

11.3. Количественные аспекты связывания металлов

11.4. Химические различия, способствующие избирательности

11.5. Различные механизмы биологического действия хелатирующих агентов (введение)

11.6. Уменьшение токсического действия металла в результате хелатообразования, антидоты

11.7. Уменьшение токсического действия металлов хелатообразованием

11.8. Тетрациклины

11.9. Вещества, биологическое действие которых отчасти обусловлено хелатообразованием

11.10. Особые случаи образования прочных комплексов

11.11. Основные принципы создания новых хелатирующих агентов, перспективы их применения

- Глава 12. Стерические факторы**
- 12.0. Некоторые основные принципы
 - 12.1. Оптическая изомерия
 - 12.2. Геометрическая изомерия
 - 12.3. Конформации
 - 12.4. Рецепторы катехоламинов
 - 12.5. Ацетилхолинэстераза
 - 12.6. Холинорецепторы
 - 12.7. Рецепторы ГАМК и бензодиазепины
 - 12.8. Морфин и рецепторы опиатов
 - 12.9. Психотерапевтические агенты
 - 12.10. Заключение
- Глава 13. Ковалентная связь и избирательная токсичность**
- 13.0. Препараты мышьяка, сурьмы и ртути
 - 13.1. Пенициллины
 - 13.2. Цефалоспорины и другие β -лактамы ингибиторы образования клеточных стенок
 - 13.3. Фосфорорганические соединения и карбаматы
 - 13.4. Алкилирующие агенты
 - 13.5. Летальный синтез
 - 13.6. Различные примеры
- Глава 14. Химия поверхностных явлений, модификация мембран поверхностно-активными соединениями**
- 14.0. Поверхностные явления *in vitro*
 - 14.1. Поверхностные явления и действие лекарств, диуретики, сердечные гликозиды
 - 14.2. Ионофоры
 - 14.3. Повреждение мембран биологически активными агентами
 - 14.4. Защита мембран биологически активными агентами
- Глава 15. Биологическая активность, не связанная со структурой**
- 15.0. Общие биологические депрессанты (снотворные средства, общие анестетики, летучие инсектициды)
 - 15.1. Соединения, нарушающие митоз
- Глава 16. Совершенствование путей поиска лекарственных веществ**
- 16.0. Множественный регрессионный анализ
 - 16.1. Альтернативные методы
 - 16.2. Стереохимический подход
- Глава 17. Некоторые количественные данные**
- 17.0. Расчет степени ионизации по данным pK_a и pH
 - 17.1. Групповые гидрофобные константы фрагментов и коэффициенты распределения веществ (табл. 64, 65 и обсуждение)
 - 17.2. Электронные эффекты (значения σ -констант Гаммета и Тафта)
 - 17.3. Ядерный магнитный резонанс
 - 17.4. Поиск литературных данных

Список литературы

Руководство

А. АЛЬБЕРТ

Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии

Том I

Зав. редакцией *В. С. Залевский*
Редактор *Л. Б. Пиотровский*
Редактор издательства *Г. Ф. Аншакова*
Переплет художника
А. Е. Григорьева
Художественный редактор *В. Л. Фисенко*
Технический редактор *Н. В. Сорокина*
Корректор *М. П. Молокова*

ИБ № 5685

Сдано в набор 20.12.88. Подписано к печати 19.04.89. Формат бумаги 60×90/16. Бумага тип. № 1. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 25,0. Усл. кр.-отт. 25,0. Уч.-изд. л. 28,29. Тираж 7000 экз. Заказ 735.
Цена 2 р. 30 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина». 101000 Москва, Петроверигский пер., 6/8

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 113105, Москва, Нагатинская ул., д. 1.



57.50m

1923

67.52