

ПЕРМСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Н. Ю. Лисовенко

МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Н. Ю. Лисовенко

МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

*Допущено методическим советом
Пермского государственного национального
исследовательского университета в качестве
учебного пособия для студентов, обучающихся
по специальности «Фармация»*



Пермь 2022

УДК 615.2+547
ББК 52.8+24.23
Л634

Лисовенко Н. Ю.

Л634 Медицинская химия [Электронный ресурс] : учебное пособие / Н. Ю. Лисовенко ; Пермский государственный национальный исследовательский университет. – Электронные данные. – Пермь, 2022. – 6,03 Мб ; 369 с. – Режим доступа: <http://www.psu.ru/files/docs/science/books/uchebnie-posobiya/lisovenko-medicinskaya-chimiya.pdf>. – Заглавие с экрана.

ISBN 978-5-7944-3788-1

Пособие содержит необходимый теоретический материал к лекционному курсу «Медицинская химия». Рассмотрены основные понятия медицинской, фармацевтической химии, стадии биологического изучения лекарственного вещества, основы стратегии создания новых синтетических лекарственных веществ.

Предназначено для студентов химического факультета направления «Фармация», а также для всех, кто желает познакомиться с основами механизма действия физиологически активных соединений, поиском биологически активных веществ, интерпретацией механизма их действия на молекулярном уровне и разработкой на этой основе новых лекарственных средств.

УДК 615.2+547
ББК 52.8+24.23

*Издается по решению ученого совета химического факультета
Пермского государственного национального исследовательского университета*

Рецензенты: кафедра органической химии ННГУ им. Лобачевского (зав. кафедрой, д-р хим. наук, профессор РАН **А. Ю. Федоров**);

зав. лабораторией молекулярной биотехнологии ИЭГМ УрО РАН – филиала ПФИЦ УрО РАН, д-р биол. наук, доцент **Ю. Г. Максимова**

ISBN 978-5-7944-3788-1

© ПГНИУ, 2022
© Лисовенко Н. Ю., 2022

ПРЕДИСЛОВИЕ

Бурный и драматичный 2020 г. закончился. Человеческая цивилизация столкнулась с новыми угрозами, которые повлияли на судьбы миллиардов людей. Вместе мы увидели, как научное сообщество в кратчайшие сроки разрабатывает вакцины и лекарства против COVID-19. Исходя из этого, поиск и разработка высокоэффективных лекарственных препаратов является одной из современных задач, стоящих перед учеными всего мира.

Основная цель учебного пособия «Медицинская химия» состоит в формировании у студентов целостного представления о процессе создания лекарств – от момента выдвижения идеи синтеза веществ определенного строения, проведения скрининга и усовершенствования структуры до стадии клинических испытаний и организации производства. В связи с этим в учебном пособии рассмотрены темы, изучение которых позволяет получить элементарные сведения о биологических мишенях для физиологически активных веществ, переносе биологически активных соединений через мембраны, фармакокинетики и метаболизме лекарственных веществ в организме, о современных подходах к конструированию лекарств и видах фармакологических испытаний новых химических соединений, а также о методах количественной оценки связи «структура – активность».

Курс «Медицинская химия» взаимосвязан со многими дисциплинами, так как в создании каждого нового лекарственного вещества используются достижения таких наук, как органическая и фармацевтическая химия, биоорганическая и биологическая химия, неорганическая химия, фармакология, химическая технология и др.

ВВЕДЕНИЕ

С давних лет человечество мечтает о лекарстве, которое при действии на организм обладало бы максимальной избирательностью, благодаря чему эффективно устранялась бы причина болезни, но не возникали нежелательные побочные эффекты. Наиболее ярко эта идея выражена в концепции «магической пули», выдвинутой основателем химиотерапии Паулем Эрлихом.

В то же время весь накопленный к настоящему моменту опыт медицинской химии и фармакологии свидетельствует об отсутствии абсолютной специфичности действия известных лекарственных веществ: все они способны вызывать многообразные фармакологические эффекты, одни используются для терапии определенной патологии, а другие – являются причиной побочного действия и токсичности. Полный набор фармакологических эффектов, которые может проявить некое вещество в различных условиях эксперимента, называется *спектром биологической активности данного вещества*. В процессе исследования нового фармакологического вещества характеристики спектра его биологической активности выявляются не сразу: некоторые эффекты обнаруживаются уже при первом тестировании «в пробирке», другие – при изучении его действия на экспериментальных животных, третьи – при проведении клинических испытаний и последующем использовании препарата в медицинской практике. Нередко новое действие выявляется у вещества, применяемого в медицине в течение многих лет. Такое открытие может стать основой для использования препарата по новому назначению. Например:

1) вальпроат был первоначально предложен в качестве анксиолитика в 1961 г., а как противоэпилептическое средство – в 1989 г.;

2) аллпростадил – как антиагрегантное средство в 1988 г. и как препарат, стимулирующий эрекцию, в 1994 г.;

3) аспирин был предложен в качестве анальгетика в 1899 г., а его антиагрегантное действие было открыто лишь в 1971 г.;

4) талидомид, обладающий анксиолитическим и снотворным эффектами, был введен в медицинскую практику в 50-х гг.

В начале 60-х гг. из-за наличия тератогенности он стал причиной врожденных дефектов более чем у 8000 новорожденных в Европе, что привело к запрету на его применение и ужесточению требований к исследованию безопасности лекарственных препаратов вообще. Теперь, 40 лет спустя, талидомид переживает «второе рождение». Он активно испытывается в клинике как потенциальное противоопухолевое и антимагистатическое средство, как препарат для симптоматической терапии СПИДа. Это обусловлено его недавно открытыми антиангиогенным эффектом и антагонистическим действием по отношению к фактору некроза опухоли. В сентябре 1997 г. администрация по лекарствам и пищевым продуктам США даже устроила специальное открытое совещание, посвященное современным оценкам соотношения польза / риск при использовании талидомида в медицинской практике.

Если бы можно было предсказать вероятность проявления веществом конкретных видов биологической активности заранее, то его дорогостоящее исследование в эксперименте и клинике проводилось бы более прицельно и позволило бы выявить многие полезные и побочные эффекты на ранних стадиях изучения препарата. Основа для такого предсказания известна достаточно давно и связана с утверждением, что биологическая активность вещества является функцией его химической структуры. Надо «всего лишь» выявить вид этой функции и в дальнейшем «подставить в уравнение» структурную формулу исследуемого вещества, получив в результате прогностическую оценку его биологической активности. В сущности, именно так и поступают в медицинской химии: анализируя химическое строение соединений с известной биологической активностью, выделяют элементы, «ответственные» за проявление / отсутствие того или иного эффекта, и далее «конструируют» молекулы более активных и менее токсичных аналогов.

УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

<p>АД – артериальное давление</p> <p>АДФ – аденозиндифосфат</p> <p>АТФ – аденозинтрифосфат</p> <p>АМФ – аденозинмонофосфат</p> <p>цАМФ – циклический АМФ</p> <p>БАВ – биологически активное вещество</p> <p>ВП – вторичный посредник</p> <p>ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография</p> <p>ГАМК – у-аминомасляная кислота</p> <p>ГДФ – гуанозиндифосфат</p> <p>ГМФ – гуанозинмонофосфат</p> <p>цГМФ – циклический ГМФ</p> <p>ГЭБ – гематоэнцефалический барьер</p> <p>/-ДОФА- / – диоксифенилаланин</p> <p>ЗДМ – закон действия масс</p> <p>ИФ – ингибитор фермента</p> <p>ИБС – ишемическая болезнь сердца</p> <p>ИНЗСД – инсулинонезависимый сахарный диабет</p> <p>ЛВ – лекарственное вещество</p> <p>ЛС – лекарственное средство</p> <p>ЛФ – лекарственная форма</p> <p>НК – нуклеиновые кислоты</p> <p>НПВС – нестероидные противовоспалительные средства</p> <p>ОНД – отраслевой нормативный документ</p>	<p>ПАВ – поверхностно-активное вещество</p> <p>ПАУ – полициклические ароматические углеводороды</p> <p>ПК – пищеварительный канал</p> <p>РСИ – рентгеноструктурное исследование</p> <p>СД – сахарный диабет</p> <p>СМ – сульфонилмочевина</p> <p>ССС – сердечно-сосудистая система</p> <p>ТСХ – тонкослойная хроматография</p> <p>Ф – фермент</p> <p>ЧСС – частота сердечных сокращений</p> <p>ЦНС – центральная нервная система</p> <p>ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота</p> <p>ЭР – эндоплазматический ретикулум</p> <p>ЭПР – электронный парамагнитный резонанс</p> <p>ЯМР – ядерный магнитный резонанс</p>
---	--

Раздел I
КРАТКИЙ ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК
СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ.
ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ЦЕЛИ МЕДИЦИНСКОЙ
И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

1. ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Решение проблемы защиты здоровья в жизнедеятельности человека является основополагающей задачей, поскольку только при наличии здорового, жизнеспособного потомства возможно сохранение биологического вида в условиях изменяющейся среды обитания. Данная задача имеет только комплексное решение: должны быть решены проблемы экологического, экономического, социального, технического, интеллектуального характера.

Создание новых лекарственных препаратов является той теоретически и практически важной областью защиты здоровья человека, в которой эрудированный и грамотный химик может в полной мере использовать свои знания. Комплексные знания неорганической, физической и аналитической химии, биохимии и органической химии являются той базой, которая позволяет химику синтезировать новые соединения, установить их структуру, изучить физико-химические свойства и предложить вещество для практического использования. Именно последний аспект чаще всего вызывает у химика затруднения, если речь идет об использовании вещества в качестве лекарства. Связано это, прежде всего, с отсутствием знаний в области медицины и отсутствием взаимопонимания между химиком и фармакологом, принимающим вещество для биологических испытаний. Разное понимание проблемы, разная терминология, разная направленность мышления мешают химику и фармакологу оптимальным путем решить поставленную задачу. Разрешить подобные разногласия помогает новая научная дисциплина, сформировавшаяся на стыке медицины и химии в середине 70-х гг. XX в., – медицинская химия.

В целом же о медицинской химии как о науке можно говорить со времени существования химии, т.е. с XVI столетия.

Изыскание лекарственных средств и применение всевозможных веществ в качестве лекарств было известно и в более отдаленные периоды. Как показывает история медицины, не было вещества, которое в той или иной форме не подвергалось бы испытанию в качестве лекарственного средства. Все эти исследования впоследствии послужили становлению медицинской химии как науки.

Учение о лекарствах является одной из самых древних медицинских дисциплин. Лекарственная терапия в самой примитивной форме существовала уже в первобытном человеческом обществе. С древнейших времен в качестве источника лекарственных препаратов использовали в основном готовое растительное или животное сырье (классическим примером является *кора хинного дерева* – эффективное средство против малярии).

В странах Древнего мира (Египет, Индия, Китай, Греция и др.) изучением и применением лекарственных средств занимались служители религиозного культа, но постепенно врачевание и связанное с ним приготовление лекарств сосредоточились в руках своего рода специалистов медицины. К их числу принадлежит выдающийся деятель V–IV вв. до н. э., греческий врач Гиппократ (460–377 гг. до н. э.), оставивший после себя большую врачебную школу и создавший систему использования лекарственных средств. Гиппократ написал книги о болезнях, приготовлении лекарств и систематизировал около 200 лекарственных средств.

Впервые мысль о том, что в лекарствах растительного или животного происхождения содержатся вещества, способные оказывать лечебное действие, наряду с бесполезными и даже вредными, была высказана римским врачом и фармацевтом Клавдием Галеном (131–201 гг. до н. э.).

Последователь Гиппократа ввел в медицину и обосновал новые положения. Он сделал первые шаги к очистке лекарственных препаратов. Историческое значение его деятельности в фармации заключается в изменении представления о лекарстве и в идее о возможности извлечения из растений или органов животных действующих веществ, которые ранее называли «действующими началами». Для извлечения действующих веществ из растений он использовал вина, уксусы, получал экстракты,

настои, отвары. Спиртовые вытяжки из лекарственных растений применяют и в настоящее время, а настойки и экстракты дошли до наших дней под названием «галеновые препараты». Гален проводил также наблюдения за действием лекарств на свиней и обезьян.

1.1. Период алхимии (IV–XV вв.)

Этот период в истории человечества имеет отношение к развитию химии и фармации. Развитие естествознания и открытие неорганических солей, окислов, кислот, обладающих целебным действием, поставило под сомнение целесообразность применения только лишь галеновых препаратов. Этому в значительной мере способствовали арабы (VII–XII вв.), продвинувшие развитие ботаники, физики, химии (по-арабски – алхимии) и других естественных наук. Они и содействовали отделению медицины от фармации. Но последнее не привело к созданию рациональной теории о лекарственных средствах. Напротив, поиски алхимиками «философского камня», эликсиров долгой жизни, вечной молодости и других средств, в существование или возможность создания которых они верили, отодвинули на ряд столетий прогресс медицинской науки. Положительной же стороной являлось то, что алхимия накопила в своих исканиях опыт получения новых химических веществ и доказала, что многие вещества минерального, растительного или животного происхождения являются сложными комплексами, а не простыми веществами, как это предполагалось ранее. Алхимиками были разработаны методы очистки веществ (перегонка, возгонка, осаждение, фильтрование, кристаллизация), получены новые химические вещества (серная, соляная, азотная кислоты, различные соли). В период алхимии науки еще не существовало. За это время не было создано ни одной теории. Вот почему алхимию называют периодом «младенчества» науки. Но все ценное, что получено алхимиками, послужило основой для последующего развития химии, в том числе и медицинской химии.

Во времена алхимии уровень развития химии и фармации в Средней Азии был значительно выше, чем в западных странах. В этом немалая заслуга выдающегося персидского ученого-

энциклопедиста, врача и философа, астронома и ботаника, математика и поэта Ибн-Сины. В Европе он был известен как Авиценна (980–1037). Авиценну по праву считают одним из основателей фармации. Неувядаемую мировую славу принесло Авиценне создание «Канона врачебной науки» – главного медицинского труда его жизни. В пяти томах этого труда он обобщил достижения греческой, индийской, ирано-арабской медицины. Второй том представляет руководство, содержащее всестороннее описание 811 лекарственных средств минерального, растительного и животного происхождения. Многие из них до настоящего времени используются в медицине (камфора, препараты белены, ревеня, спорыньи и др).

1.2. Период иатрохимии (XVI–XVII вв.)

Все же благодаря объективным результатам практической деятельности алхимиков создалось представление о составе лекарственных средств. В эпоху Возрождения на смену алхимии пришла иатрохимия (*от греч. iatros – врач, лечебная химия*). Родоначальником ее стал швейцарский врач и химик Парацельс Филипп Ауреол Теофраст Бомбаст фон Гогенгейм (1493–1541).

Сущность учения Парацельса заключалась в том, что организм человека представляет совокупность химических веществ и недостаток какого-либо из них может вызвать заболевание. Исходя из этого, для исцеления Парацельс применял химические соединения различных металлов (ртути, свинца, меди, железа, сурьмы, мышьяка и др.), а также растительные лекарственные средства.

Парацельс и его последователи развили учение о дозах и представление о ядовитости лекарственных средств в зависимости от доз, а внедрение количественной категории в мышление врачей было, несомненно, прогрессивным шагом. Кроме того, лекарства должны быть проверены на практике, а их число должно постоянно увеличиваться за счет новых препаратов. Так перед химией были поставлены довольно четко очерченные научные задачи, и как медицинскую химию (или иатрохимию) ее стали преподавать на медицинских факультетах университе-

тов. Уже в начале XVII в. была организована специальная кафедра иатрохимии в Марбургском университете в Германии.

В этот же период на Руси при Иване Грозном (1530–1584) начала работу в 1581 г. Аптекарская палата (административный орган по управлению фармацией и медициной), преобразованная в 1620 г. в Аптекарский Приказ. В это же время успешно развивались организованные при Иване Грозном аптекарские огороды в Москве, Коломне, Рязани, Новгороде. В городах стали открываться аптеки и больницы. В 1594 г. в Москве была организована школа лекарей. С этого периода начался подъем русской национальной медицины, фармации, фармакологии, опиравшихся на труды Гиппократ, Галена, Авиценны и опыт народной медицины.

1.3. Период зарождения и развития химических теорий (XVII–XX вв.)

Медицинская химия, зародившаяся в период иатрохимии в XVI в., получила свое дальнейшее развитие в XVII–XVIII вв.

В XIX в. из растительного сырья впервые были выделены действующие начала в чистом виде. В 1806 г. из опия был выделен морфин, в 1818 г. – стрихнин, в 1820 г. – хинин, кофеин, в 1831 г. – атропин, в последующие годы – папаверин, пилокарпин, кокаин и др. До конца XIX в. было выделено около 30 алкалоидов растений. Эти индивидуальные вещества действовали так же, как лекарственные растения, но значительно сильнее. С появлением чистых веществ появилась возможность их дозирования.

Параллельно в фармакологических экспериментах физиологи начали использовать лабораторных животных. Так, в 1819 г. известный французский физиолог Ф. Мажанди впервые исследовал действие стрихнина на сердце лягушки.

Во второй половине XIX в. благодаря созданию структурной теории (Кекуле, Бутлеров, Купер), а также исследованиям многих химиков-органиков началось бурное развитие органической химии, и это привело к подлинной революции в области синтеза лекарств. Появились чисто синтетические лекарственные препараты, например синтетические галогенпроизводные (с

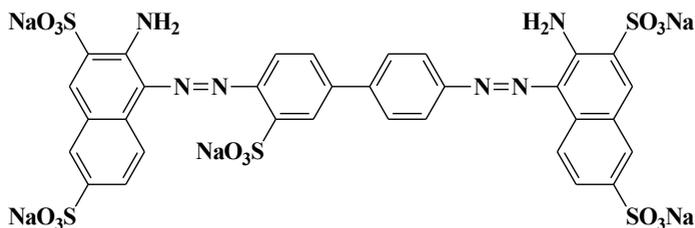
1869 г. хлораль стал применяться в качестве седативного и успокаивающего средства) и салициловая кислота, используемая в качестве обезболивающего средства.

К концу позапрошлого века синтез лекарств приобрел уже промышленные масштабы. В 1888 г. фирма Байера выпустила эффективное жаропонижающее средство *фенацетин*, а в 1899 г. – известное противовоспалительное лекарство *аспирин* (ацетилсалициловую кислоту).

В 1891 г. Д. Я. Романовским в Петербурге на стыке медицины и химии было сделано выдающееся открытие. Используя специальный набор красителей для микроскопии (эозин метиленовый синий), он показал, что у больных, получавших хинин, малярийные плазмодии оказывались поврежденными. Уже через два дня паразитов в крови больных обнаружить не удавалось. Результаты этих опытов позволили автору 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. Я. Романовский предсказал, 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. Предсказания Д. Я. Романовского настолько не соответствовали уровню развития науки того времени, что не привлекли внимания ученых. Однако именно эту идею возродил немецкий врач и бактериолог, лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине Пауль Эрлих (совместно с И. И. Мечниковым), основав химиотерапию.

Термин «химиотерапия» был предложен П. Эрлихом, который определил ее как «использование лекарственных веществ, поражающих паразита и не причиняющих вреда организму-хозяину». Начало работы П. Эрлиха в химиотерапии принято датировать 1899 г. (до этого он занимался приложением химии к биологии, сделал выдающиеся открытия в иммунохимии). Первые работы П. Эрлиха в химиотерапии были связаны с

использованием красителей для лечения лабораторных животных. В 1904 г. П. Эрлих добился излечения мышей, зараженных трипаносомами, применив для этого азокраситель трипановый красный, ставший, таким образом, первым химиотерапевтическим препаратом, созданным руками человека. Однако в экспериментах на людях трипановый краситель оказался неэффективным. После этого Эрлих обратился к органическим соединениям мышьяка.

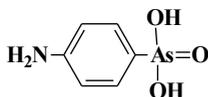


Трипановый красный

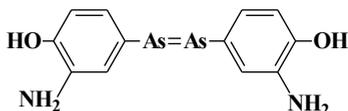
В начале XX в. о действии мышьяка на инфекционные болезни уже было кое-что известно. В 1902 г. английские ученые ввели мышам, зараженным трипаносомами, мышьяковистую кислоту (HAsO_2). Все мыши погибли, но «здоровыми», так как мышьяк уничтожил и трипаносом. В то время это было расценено как большой успех. В 1906 г. было показано, что препарат мышьяка *атоксил* (п-аминофениларсоновая кислота) оказывает слабое лечебное действие при трипаносомозе у людей. Это открытие побудило П. Эрлиха начать систематические исследования мышьякосоудержащих соединений, и в 1910 г. был найден препарат для лечения сифилиса – арсфенамин (сальварсан), вещество с лабораторным номером 606.

Арсфенамин, синтез которого описали в работе Р. Ehrlich, А. Bertheim (1912), был освоен промышленностью и выпущен в продажу под названием «сальварсан». В силу высокой токсичности, легкой окисляемости (легко окисляется до оксофенарсина, который в 1932 г. получили для лечения сифилиса) и не всегда точного соблюдения инструкции к применению лечение сальварсаном нередко сопровождалось несчастными случаями и

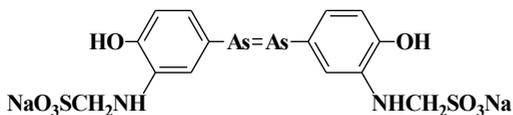
даже смертельными исходами, что подрывало доверие к препарату. Появилась необходимость решать вопрос о выборе правильной дозы препарата при лечении. Позднее П. Эрлих разработал более растворимое и эффективное производное – неоарсфенамин (миоарсенол – препарат № 914), но ввести его в практику не успел.



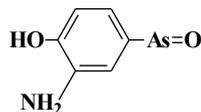
Атоксил



Арсфенамин (сальварсан)



Неоарсфенамин



Оксофенарсин

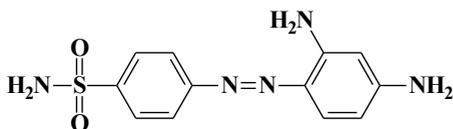
Сегодня нет сомнений в том, что, несмотря на недостатки арсфенамина, его появление было первым выдающимся достижением в химиотерапии и открыло новую эру в лечении инфекционных болезней.

Концепция химиотерапии предполагала уже не просто возможность использования химических веществ для лечения патологий (болезней), но *необходимость модификации структур* предполагаемых лекарственных соединений с тем, чтобы максимально эффективно воздействовать на пораженный орган.

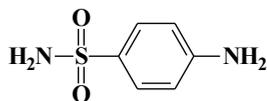
Эрлих разработал также теорию рецепторов и структурных изменений физиологически активных органических соединений, происходящих при взаимодействии с рецептором, которая (вместе с его концепцией химиотерапии) явилась *отправной точкой современной медицинской химии*.

В последующие 30 лет было обнаружено и синтезировано значительное число химических соединений, использовавшихся для лечения заболеваний, но одно из подобных открытий зани-

мает особое место. В 1935 г. немецкий микробиолог Герхард Домагк (1895–1964) открыл первый из противобактериальных сульфаниламидных препаратов – пронтозил, что означало переломный момент в развитии химиотерапии, которую ранее представляли как способ борьбы только с протозойными инфекциями (протозойные инфекции, или протозоозы, вызываются паразитами, относящимися к типу одноклеточных простейших. Среди протозойных инфекций наибольшую медико-социальную значимость имеют малярия, амебиаз и другие кишечные протозоозы). К открытию пронтозила Г. Домагк пришел необычным путем. При работе со стрептококками ему понадобилось ослабить патогенность бактерий. Он решил использовать методику Эрлиха и стал подбирать подходящий препарат из ряда азокрасителей. Среди прочих соединений он исследовал пронтозил (синтезирован ранее в 1932 г. Митчелом и Клэрером) и обнаружил, что обработанные красителем стрептококки не действуют на мышей. Пронтозил оказался эффективным и при лечении зараженных стрептококками мышей. Коллеги сдержанно отнеслись к открытию: слишком много потенциально активных веществ, в том числе азокрасителей, оказывались неэффективными по отношению к людям. Но вмешался случай. У маленькой дочери Г. Домагка развился стрептококковый сепсис, и она была на грани смерти. Г. Домагк добился разрешения ввести ей пронтозил, и врачи были поражены скоростью, с которой наступило выздоровление. Краситель был запатентован и впервые применен на практике в Англии в 1936 г. для лечения послеродового сепсиса.



Пронтозил (красный стрептоцид)



Белый стрептоцид

В конце 1935 г. французские исследователи из института Л. Пастера обнаружили, что пронтозил, действуя *in vivo* (в организме), не действует на бактерии *in vitro* (в пробирке) и стано-

вится активным только в присутствии восстановителя. Позднее они показали, что в организме млекопитающих пронтозил восстанавливается до сульфаниламида (белый стрептоцид), который оказался не менее активным, чем пронтозил, но значительно более растворимым. Если бы не работа французских исследователей, то поиск новых активных сульфаниламидных препаратов, вероятно, еще длительное время велся бы в ряду окрашенных сульфаниламидов. Пронтозил фактически являлся предшественником действующего лекарственного вещества, т.е. пролекарством.

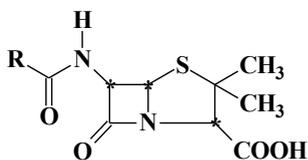
При работе со стрептоцидом был сделан еще ряд основополагающих открытий. В 1937 г. Маршаллом было показано, что лечебный эффект стрептоцида пропорционален его концентрации в крови. Так было положено начало аналитическому контролю за уровнем лекарственных препаратов в крови.

Механизм действия сульфаниламидов был установлен Вудсом в 1940 г. Он определил, что п-аминобензойная кислота (ПАБ) ингибирует антимикробное действие стрептоцида и других сульфаниламидных препаратов. Ингибирующая активность ПАБ оказалась очень высокой. Одна молекула ПАБ может подавить активность от 5000 до 25 000 молекул стрептоцида. Вместе с тем было установлено, что ПАБ служит фактором роста бактерий, т.е. так же жизненно важна для бактерий, как и витамины для человека. Ввиду этого отсутствие ПАБ препятствует росту микроорганизмов и приводит их к гибели. В первую очередь это относится к микроорганизмам, которые нуждаются во внешних источниках ПАБ и не способны синтезировать ее сами. Поскольку организм хозяина (человека) не нуждается в таком строительном материале, как ПАБ, сульфаниламидные препараты не мешают его жизнедеятельности.

Позднее было синтезировано свыше 30 000 соединений сульфаниламидного ряда, из которых около 50 были введены в медицинскую практику.

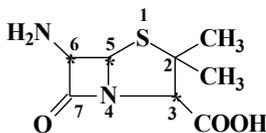
Через семь лет после появления сульфаниламидных препаратов в клинической практике стали использовать первый антибиотик – пенициллин. В 1929 г. британский бактериолог А. Флеминг (1881–1955) обнаружил, что один штамм плесневого гриба *Penicilliumnotatum*, случайно попавший в культуру ста-

филококков, вырабатывает какое-то низкомолекулярное вещество, высокотоксичное для грамположительных бактерий и вызывающее их гибель. Однако вещество показалось ему недостаточно стойким для того, чтобы его выделять. Более А. Флеминг данным веществом не занимался. В 1938 г. английский фармаколог Говард Флори, работавший в области поиска противобактериальных препаратов, предположил, что из бактерий и грибов можно выделить более сильные противобактериальные вещества, чем известные в то время перекись водорода, этанол, уксусная кислота. Систематические исследования привели Х. В. Флори и сотрудников к пенициллину. В 1940 г. пенициллин был получен в очищенном виде (Х. В. Флори, Э. Б. Чейн). Первоначально в клинике пенициллин применяли в виде смеси природных гомологов, но позднее установили, что если продуцент (*Penicillium chrysogenum*) выращивать на среде, содержащей фенилуксусную кислоту, то можно выделить самый активный среди природных пенициллинов – бензилпенициллин.



$R = C_6H_5CH_2-$,
 $CH_2=CH-CH_2-$,
 $CH_3(CH_2)_4CH_2-$ и т.д.

6-Аминопенициллиновая кислота

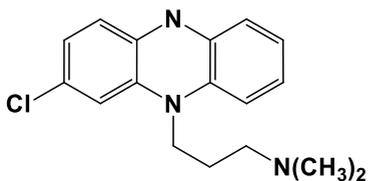


Разработка современных технологий получения пенициллина сделала его одним из самых дешевых химиотерапевтических препаратов.

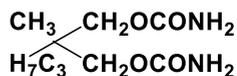
Успешные работы с пенициллином стали началом широкого поиска антибиотиков в культурах низших организмов. Был получен широкий спектр антибиотиков различного природного происхождения, обладающих антибактериальной, противогрибковой, противоопухолевой и другими видами активности. Более того, успехи при получении сульфаниламидов и антибиотиков вызвали поиск новых простых низкомолекулярных синтетиче-

ских соединений, обладающих различными видами биологической активности.

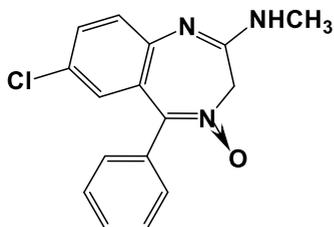
В 50–60-е гг. были созданы многие психотропные препараты, такие как сильные транквилизаторы (*хлорпромазин*, *мепробамат*, *хлордиазепоксид* (первый представитель класса бензодиазепинов)), а также антидепрессанты (например, *имипрамин*), в результате чего появилась возможность лечения депрессий, шизофрении и других нервных расстройств.



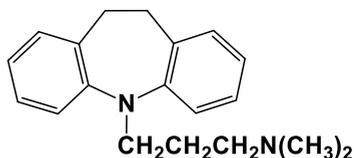
Хлорпромазин



Мепробамат



Хлордиазепоксид



Имипрамин

В табл. 1 приведены основные направления развития научных и технологических разработок в области создания лекарственных средств.

Таблица 1

Основные направления развития научных и технологических разработок в области создания лекарственных средств

№ п/п	Период	Создание лекарственных средств			
1	Доисторические времена	Использование естественных ресурсов (растения, животные, минералы)			
2	Средние века	Выделение действующих компонентов из природного сырья			
3	С XIX в.	Лабораторные химические методы			
		Выделение натуральных биологически активных веществ	Синтез соединений и выделение фармакологически активных компонентов		
4	С XX в.	Индустриальные технологии производства лекарств			
		Обычный химический синтез	Создание лекарств на основе растительного и животного сырья	Биотехнологии	Получение новых форм известных препаратов

Можно считать, что к началу 70-х гг. XX в. в результате бурного развития синтетической органической химии были синтезированы низкомолекулярные химические соединения, которые в той или иной степени используются для лечения практически всех известных в настоящее время заболеваний. Подчеркнем, что подавляющее большинство работ по созданию вышеупомянутых лекарственных препаратов было сделано без всякого «осознанного конструирования», методом проб и ошибок, когда химики-органики в значительной степени произвольно заменяли одни химические группы другими. Однако постепенно на основании полученных результатов возникало понимание

того, *какой стратегии и тактики нужно придерживаться, чтобы сконструировать лекарственное соединение.*

Проникновение компьютерных методов в органическую химию привело к бурному развитию методов расчета структуры молекул (геометрии и конформаций, зарядов и карт электростатического потенциала, молекулярных орбиталей, топологических индексов и т.д.), в силу чего количественное описание структурных особенностей даже очень сложных молекул биологического уровня становилось обычным инструментом химика-органика. Таким образом, в 70-х гг. *была создана методологическая основа для возникновения и использования рациональных подходов к синтезу физиологически активных веществ (drug design), что и привело к формированию медицинской химии с ее современным аппаратом.*

2. МЕДИЦИНСКАЯ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

2.1. Медицинская химия

Что такое медицинская химия?

В качестве отправной точки для обсуждения вопроса о предмете медицинской химии и ее месте среди смежных областей наук рассмотрим раннее определение этой науки, данное комиссией ИУРАС:

«Предметом медицинской химии является открытие, разработка и идентификация биологически активных соединений, а также интерпретация механизма их действия на молекулярном уровне. Основной акцент делается на лекарства, но интересы медицинской химии не ограничиваются лекарствами, а включают биологически активные соединения вообще. Предметом медицинской химии является также изучение, идентификация и синтез продуктов метаболизма этих лекарств и родственных соединений» [26, с. 5].

Из этого (не очень четкого!) определения ясно, что **медицинская химия** – наука междисциплинарная и находится на границе (с пересечением) *органической химии* с такими уже сформировавшимися и признанными науками, как *биохимия*,

биоорганическая химия, фармакология и фармацевтическая химия.

Чем же отличается предмет медицинской химии от предмета исследований вышеперечисленных наук о жизни? Что касается сравнения с *биохимией* и *биоорганической химией*, то различия становятся понятными просто на основании определений последних, взятых из соответствующих учебников.

Биологическая химия – «наука о структуре химических веществ, входящих в состав живой материи, их превращении и физико-химических процессах, лежащих в основе жизнедеятельности»[30, с. 8].

«**Биоорганическая химия** изучает строение и биологические функции важнейших компонентов живой материи, в первую очередь биополимеров и низкомолекулярных биорегуляторов, уделяя главное внимание выяснению закономерностей взаимосвязи между структурой и биологическим действием» [44, с. 17].

Итак, ни биологическая, ни биоорганическая химия не претендуют на решение проблемы создания лекарств, хотя и важны, например, для понимания их действия.

Иначе обстоит дело, если рассматриваются определения таких научных областей, как *фармакология* и *фармацевтическая химия*.

«**Фармакология** [от греч. Pharmakon (лекарство) и Logos (учение)] – наука о взаимодействии лекарственных веществ с организмом и о путях изыскания новых лекарственных средств. Основными разделами фармакологии являются *фармакодинамика* и *фармакокинетика*». Есть и более краткое определение: «**Фармакология** – наука о лекарствах» [48, с. 6].

«**Фармацевтическая химия** – наука, которая, базируясь на общих законах химических наук, исследует способы получения, строение, физические и химические свойства лекарственных веществ, взаимосвязь между их химической структурой и действием на организм, методы контроля качества лекарств и изменения, происходящие при их хранении» [28, с.8].

Видно, что формальное определение, данное фармакологии, избыточно широкое, настолько, что охватывает задачи как фармацевтической, так и медицинской химии. Однако после

изучения реальных концепций и материалов, данных в учебниках по фармакологии и фармацевтической химии, становится понятным, что данные области науки не дают ответа на главный вопрос: **какую структуру надо синтезировать, чтобы создать лекарственное** (физиологически активное) **соединение**, – вопрос, занимающий в медицинской химии центральное место. Иными словами, эти науки не дают ответа на вопрос о том, какую структурную формулу надо спрогнозировать для конкретного кандидата в лекарство.

Существует еще одна область науки, о которой нельзя не упомянуть, говоря о медицинской химии. Это ... **медицинская химия!** Это не ошибка, это еще одна медицинская химия. В классификации, предложенной Российским фондом фундаментальных исследований, в секции «Биология и медицинская наука» в разделе «Физиология и фундаментальная медицинская наука» указан подраздел «*Медицинская химия; фармакология*».

В чем тут дело? Дело в том, что в данном случае речь идет **о другой области науки**, той, что на английском языке называется **medical chemistry**. Историческое значение этой области науки заключается в том, что медицинская химия, пришедшая на смену иатрохимии на рубеже XVIII–XIX вв., выполнила важную историческую функцию. В ее рамках в медицину были введены теоретические основы новой химии. В рамках *медицинской химии* началось использование данных *физиологической химии* для объяснения различных патологий. В результате произошло «растворение *патологической химии* в смежных направлениях – *клинической и медицинской химии*». Таким образом, существуют две научные дисциплины, носящие на русском языке название «**медицинская химия**». Медицинская химия, являющаяся аналогом **medical chemistry**, – это, в сущности, «биохимия патологических состояний». Одним из основных предметов ее исследований является разработка различных аналитических методов, используемых в диагностических целях, и поэтому ее действительно можно считать разделом медицины.

Медицинская химия (**medicinal chemistry**, от слова **medicine** – лекарство, по-французски **chimie thérapeutique**, по-немецки **Arzneimittelforschung**) – это другая наука, не раздел биологии, а в первую очередь специфический раздел органиче-

ской химии на стыке с биохимией, биоорганической химией и фармакологией.

Действительно, органическая химия имеет одну принципиальную особенность – *свой специфический язык, а именно язык структурных формул*. Медицинская (химиотерапевтическая) задача обычно формулируется на совершенно другом языке (например, на языке биохимии), и она непонятна или неприемлема для химика-органика, который знает *как* синтезировать вещества, но не получает от смежных дисциплин указание на то, вещество *какой структуры* нужно синтезировать для решения данной задачи. Именно этим было обусловлено возникновение специальной дисциплины – *медицинской химии*, ставшей посредником, позволяющим перевести формулировку задач с языка биохимии и фармакологии на структурный язык органической химии. При этом *медицинская химия имеет свою собственную систему понятий и определений, что и делает ее самостоятельной дисциплиной*.

Поясним данную мысль на конкретном примере.

Пусть сформулирована медицинская (химиотерапевтическая) задача о создании препарата для лечения заболеваний, сопровождающихся образованием язвы желудка. Для решения этой задачи химик может располагать следующей медицинской и биохимической информацией:

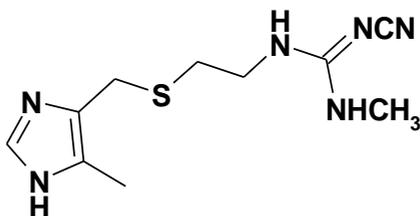
1) одним из факторов, способствующих возникновению и развитию данного заболевания, является повышенное выделение соляной кислоты. В случае тяжелых форм заболевания (частые повторные кровотечения, значительное кислотообразование и т.д.) обычная терапия (использование антацидных препаратов, например гидроксиалюминия и др.) часто оказывается неэффективной;

2) выделение желудочного сока регулирует эндогенный медиатор – *гистамин* – посредством связывания с H_2 -рецептором. Уменьшить выделение кислоты можно созданием специфического антагониста H_2 -рецептора, блокирующего его действие.

Это типичная медицинская, биологическая и биохимическая информация. Для химика-органика вопрос стоит так: *можно ли на основании этих данных предложить конкретную*

структуру такого антагониста? Очевидно, что ответ отрицателен. Более того, на основании этой информации химик-органик не может предположить даже класс соединений. Какие производные взять – пиридина, адамантана, гексоз или ароматических аминов? Возникают еще многие сотни тысяч «или». С каких структур следует хотя бы начинать? Этот пример показывает, что *медико-биохимическая информация такого типа, несмотря на ее безусловную важность и ценность, тем не менее явно недостаточна для того, чтобы химик-органик смог предложить структуру (химическую формулу) соответствующего физиологически активного соединения и приступил к синтезу.*

Проблему может разрешить *медицинская химия*. Именно *медицинская химия играет роль своеобразного переводчика биохимической информации на язык структурных формул*, в результате чего становится возможным создание необходимого химического соединения. В вышеприведенном конкретном примере таким соединением явился *циметидин*:



Циметидин

Перевод биохимической информации на язык органической химии не так прост, как это может показаться на первый взгляд. Органическая химия имеет дело с двумя фундаментальными проблемами:

- 1) структурные манипуляции (сюда входит и органический синтез, и изучение механизмов реакций, и поиск новых реакций и реагентов, и т.д.);
- 2) соотношение структуры и свойства.

Нетрудно видеть, что медицинская химия адресует ко второй проблеме: *как, зная целевое свойство, предсказать необходимую для этого структуру и уже далее реализовать ее в синтезе.* Для решения этой проблемы создан свой специальный

понятийный аппарат, и все это делает медицинскую химию фундаментальной химической дисциплиной.

Итак, общие цели медицинской химии формулируют смежные химико-биологические науки. ***Предметом же медицинской химии*** (medicinal chemistry) являются: поиск и создание физиологически активных веществ, выявление взаимосвязи между химической структурой и физиологической активностью и, наконец, решение обратной задачи: конструирование необходимых структур, обладающих заданным свойством.

2.2. Основные фазы рационального поиска и конструирования лекарственных препаратов. Соединение-лидер и стратегия поиска физиологически активных веществ

Эмпирический и направленный поиск лекарственных веществ

Сложность создания новых высокоэффективных ЛВ обусловлена многообразием факторов, влияющих на фармакологический эффект. Поиск БАВ состоит из двух основных этапов: химического синтеза и установления фармакологической активности полученного соединения. Для каждого из этих этапов требуется перебор множества вариаций химической структуры прототипа, положенного в основу поиска. Такая стратегия поиска связана с большой затратой времени, реактивов, растворителей и труда, но в конечном счете малоэффективна.

Возможны два направления в создании новых лекарственных веществ: направленный поиск и эмпирический поиск.

Направленный поиск заключается в теоретическом предсказании биологической активности вещества на основе исследования ее связи с химической структурой. Поиск ведется с широким использованием методов математического моделирования и заложенных в память вычислительных машин банков данных об известных биологически активных веществах. Слишком сложным является характер связи между химической структурой и биологической активностью. Наши знания физиологических и патологических процессов, молекулярных механизмов действия тех или иных функциональных групп еще недостаточ-

ны для теоретически обоснованного прогнозирования терапевтической ценности синтезируемых соединений. Иными словами, пока еще не создана общая теория направленного поиска новых лекарственных веществ.

Эмпирический поиск осуществляется классическим методом проб и ошибок. Исходя из эмпирически установленных закономерностей о влиянии тех или иных функциональных групп на биологическую активность, осуществляют синтез ряда соединений. Затем проводят предварительные испытания, отбирают наиболее активные вещества, которые подвергают всестороннему фармакологическому исследованию.

Эмпирический поиск новых лекарственных средств имеет многовековую историю. Еще в глубокой древности были открыты лечебные свойства ряда минералов и растений. Начиная со второй половины XIX в. в связи с развитием синтетической химии эмпирическим путем были установлены сосудорасширяющие свойства амилнитрита, снотворное действие хлоралгидрата, противовоспалительная активность кислоты салициловой, антисептические свойства серебра нитрата и раствора формальдегида и др. С каждым годом расширялось число синтетических лекарственных веществ. Этот процесс происходил не только за счет синтеза новых соединений, но и за счет создания на их основе химической модификации структуры молекул природных и синтетических веществ, фармакологическая активность которых была установлена ранее.

Принцип модификации молекул используется и в настоящее время как один из путей создания новых лекарственных веществ, в том числе полусинтетических аналогов антибиотиков, гормонов, противоопухолевых, сердечно-сосудистых и других средств. Конечно, техника проведения эмпирического поиска в наши дни стала значительно более совершенной. Оценка эффективности проводится не только субъективно, используются многочисленные современные тесты, метод скрининга и другие методы, позволяющие обследовать большое число синтезированных соединений. Однако применение и этих современных методов поиска новых лекарственных веществ не является достаточно результативным. Обычно оно приводит к созданию БАВ, являющихся аналогами в известных фармакологических

группах. Новые оригинальные лекарственные вещества обнаруживаются при этом очень редко.

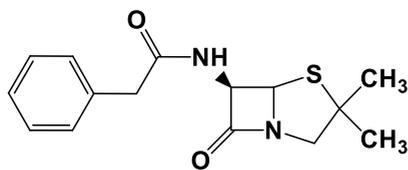
К числу эмпирических методов поиска новых лекарственных веществ относится метод скрининга (отсеивание) биологически активных соединений из огромного числа синтезируемых или получаемых из природного сырья химических веществ.

Одним из современных вариантов скрининга является многопараметрический функциональный метод, который позволяет одновременно регистрировать на животных показатели функционального состояния различных органов и систем (регистрация артериального давления, температуры, дыхания, сердечного ритма и т.д.). На этой основе осуществляются дифференциация и классификация испытуемых соединений, исключаются непригодные для использования в качестве будущих лекарственных веществ.

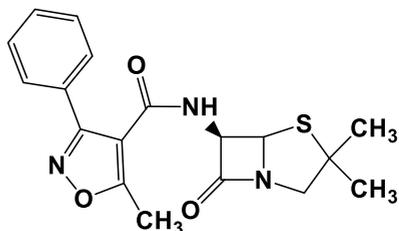
Итак, *основная задача медицинской химии* – создание соединений с заранее заданной физиологической активностью, так называемый рациональный драг-дизайн (*от англ. drug* – лекарство). Как же происходит этот процесс? Стратегию рационального дизайна лекарств можно условно разбить на три стадии:

- 1) поиск или «конструирование» соединений-лидеров (lead-compounds – базовое соединение);
- 2) оптимизация соединения-лидера;
- 3) разработка лекарственного препарата.

Первая стадия поиска и конструирования лекарственных препаратов состоит, как правило, в идентификации и синтезе новых физиологически активных веществ (ФАВ), обычно называемых соединениями-лидерами (lead-compound). *Соединение-лидер* – это своего рода структурный прототип будущего лекарства, т.е. соединение, обладающее определенной физиологической активностью, на базе которого и будет создаваться лекарство. Соединение-лидер может быть найдено случайно, и в истории создания лекарственных препаратов таких примеров очень много. Именно так были открыты, например, *нитроглицерин*, приведший к синтезу многих эфиров алифатических спиртов с азотной кислотой, и *пенициллин*, на основе которого были синтезированы его многочисленные аналоги и производные:



Пенициллин G



Оксациллин

Однако обычно начальный поиск связан с систематическим тестированием (скринингом) различных веществ на активность. *Скрининг* (англ. screening – просеивание, отсев, отбор) – научно обоснованная последовательность операций, в результате которых поэтапно определяются (отсеиваются) группы соединений или отдельные вещества, обладающие физиологической активностью (ФАВ). Выделено два вида систематического скрининга: а) исследование в одном биологическом тесте достаточно большого количества соединений; б) изучение нескольких соединений с оригинальной структурой на многих биологических тестах. Обычно это дорогие и трудоемкие методы, сильно ограничивающие полную проверку гигантского потенциального набора органических веществ. Тем не менее именно скрининговые методы поиска ФАВ дают в настоящее время наилучшие результаты. Когда систематический скрининг приводит к положительному результату – обнаружению активного вещества, говорят о своего рода «попадании в цель» (используют термин hit-compound). Таким образом определяют базовую структуру – класс ФАВ, обладающих данным видом активности. Далее проводится тестирование круга соединений с похожей структурой, из которого потом и выбирается соединение-лидер.

Скринингом называется оптимизированная конвейеризованная процедура, в результате которой большое количество химических соединений (>10 000) проверяется на активность по

отношению к специальной тестовой (имитирующей биологическую) системе.

По производительности различают разные виды скрининга:

- низкопроизводительный (10 000–50 000 образцов);
- среднепроизводительный (50 000–100 000);
- высокопроизводительный (100 000–5 000 000+).

Для скрининга как для «промышленной» процедуры очень критичны эффективность, стоимость и время, потраченное на операцию. Как правило, скрининг производится на роботизированных установках, способных работать в круглосуточном и круглогодичном режиме (рис. 1).

Метод представляет собой автоматизированный, с использованием минимального количества веществ анализ *in vitro*. Принцип скрининга достаточно прост: в плашки, содержащие тестовую систему (например, иммобилизованная мишень или специальным образом модифицированные целые клетки), робот раскапывает из пипетки исследуемые вещества (или смесь веществ), следуя заданной программе. Причем на одной плашке могут находиться тысячи «лунок» с тестовой системой, и объем такой лунки может быть очень мал, так же как и объем вносимой пробы (микро- или даже нанолитры).

Потом происходит считывание данных с плашки, говорящее о том, в какой лунке обнаружена биологическая активность, а в какой – нет. В зависимости от используемой технологии детектор может считывать радиоактивный сигнал, флуоресценцию (если система построена с использованием флуоресцентных белков), биолюминесценцию (если используется люциферин-люциферазная система или ее аналоги), поляризацию излучения и многие другие параметры.

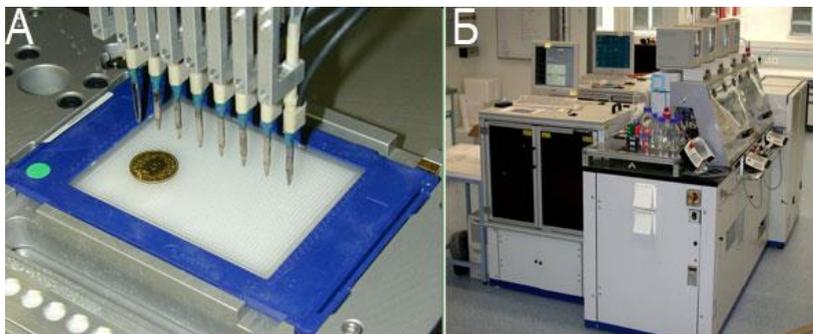


Рис. 1. Аппаратура для высокопроизводительного скрининга: *а* – роботизированная пипетка; *б* – автоматическая установка скрининга и считывания флуоресцентного сигнала Mark II Scarina, работает с плашками, содержащими 2048 углублений (NanoCarrier), в круглосуточном режиме. Производительность – более 100 000 лунок (образцов) в день

Обычно в результате скрининга количество тестируемых соединений сокращается на 3–4 порядка. Соединения, для которых в процессе скрининга выявлена активность выше заданного значения, называются *прототипами*. Однако следует понимать, что такие «удачи» еще очень и очень далеки от конечного лекарства. Лишь те из них, которые сохраняют свою активность в модельных системах и удовлетворяют целому ряду критериев, дают *предшественников* лекарств, которые используются для дальнейших исследований.

Как уже было сказано, даже библиотеки, содержащие более миллиона соединений, не в состоянии представить все возможное химическое пространство лигандов. Ввиду этого при проведении скрининга можно выбрать две различные стратегии: *диверсификационный* скрининг и *сфокусированный* скрининг. Различие между ними заключается в составе используемых библиотек соединений: в диверсификационном варианте используют как можно более непохожие друг на друга лиганды с целью охватить как можно большую область химического пространства; при сфокусированном же, наоборот, используют библиотеки родственных соединений, полученных методами комбинаторной химии, что позволяет, зная приблизительную структуру

лиганда, выбрать более оптимальный его вариант. Здравый смысл подсказывает, что в масштабном проекте по созданию нового лекарственного препарата следует использовать оба этих подхода последовательно: сначала диверсификационный с целью определения максимально различных классов удачных соединений, а потом – сфокусированный с целью оптимизации структуры этих соединений и получения рабочих прототипов.

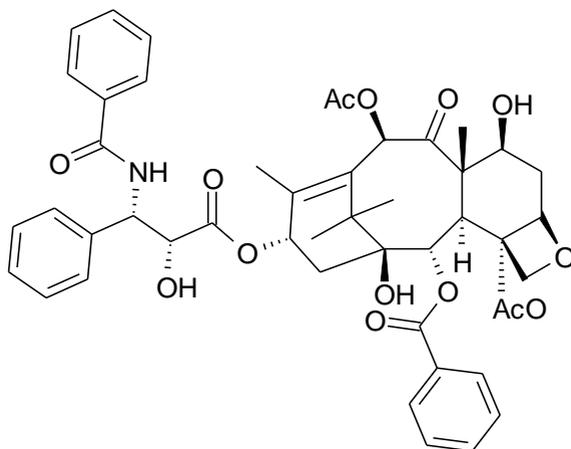
Таким образом, роль скрининга заключается в существенном сокращении (на несколько порядков) выборки прототипов (рис. 2).



Рис. 2. Роль высокопроизводительного скрининга в разработке нового лекарственного препарата

Соединение-лидер может быть не только получено органическим синтезом, но и выделено из природных источников. В поисках соединений-лидеров методом систематического скрининга нередки обращения к источникам так называемой народ-

ной медицины. Иными словами, источниками молекул для тестирования на биологические свойства могут быть как продукты химического синтеза, так и природные соединения, имеющие молекулы с очень необычной и сложной структурой. Примером соединения-лидера, найденного с помощью систематического скрининга природных соединений, является *таксол* – эффективное противораковое средство:

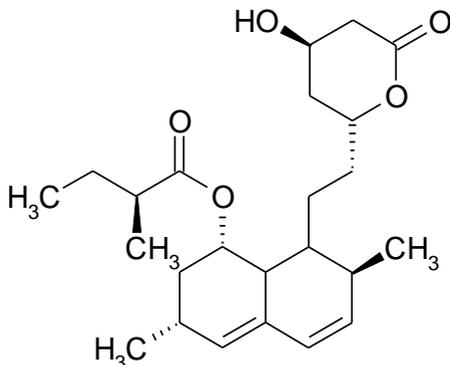


Таксол

В современной медицинской химии существует несколько стратегий направленного поиска соединения-лидера.

С развитием компьютерной техники и дальнейшим совершенствованием методов фармакологического анализа был разработан тотальный, или сплошной скрининг (through put screening).

Среди успехов метода сплошного скрининга можно отметить получение *ловастатина*, ставшего соединением-лидером для нового поколения препаратов, снижающих уровень холестерина в крови:

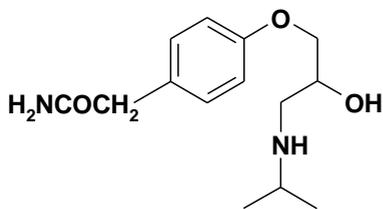


Ловастатин

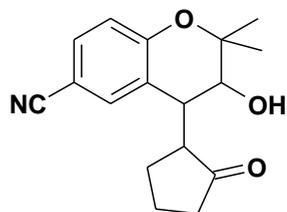
Использование в качестве соединения-лидера уже известного (часто выпущенного на рынок) лекарства

Очевидно, что в этом случае генерируемые структуры, как правило, достаточно похожи на свой прототип (так называемые *терапевтические копии*). Тем не менее этот подход имеет специфические аспекты, обуславливающие его применение. Например, если соединением-лидером служит известное лекарство, имеющее достаточно выраженный побочный эффект, разрабатываться будет именно это «неосновное» свойство.

В 80-х гг. было показано, что антиадренергические препараты (β -адреноблокаторы), например *атенолол*, обладают также гипотензивным (понижают давление) эффектом. Ввиду этого похожая структура была использована в качестве соединения-лидера для создания антигипертензивных препаратов, которые, однако, не обладали бы β -блокаторной активностью. Это привело к созданию *кромакалима* – первого соединения, действующего исключительно на активацию калиевых каналов (чем и обусловлена его активность как антигипертензивного средства):



Атенолол



Кромакалим

Рациональное конструирование соединения-лидера

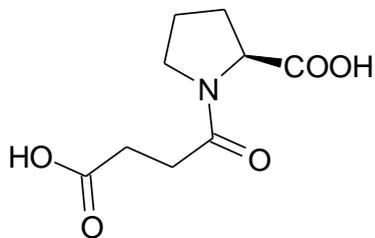
К началу 70-х гг. появилась реальная возможность сознательного конструирования соединений-лидеров, основываясь на информации, полученной благодаря достижениям биоорганической химии, молекулярной биологии (в особенности благодаря установлению структур некоторых рецепторов и ферментов методом рентгеноструктурного анализа).

Целенаправленное конструирование особенно эффективно в том случае, когда известны структуры как рецептора, так и лиганда.

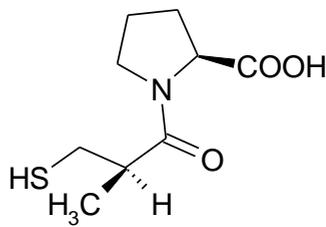
Во-первых, в этом случае применяется компьютерное совмещение полости рецептора или фермента и гипотетических молекул (*компьютерное моделирование, docking*) с целью достижения как максимального совмещения размеров молекулы с размером полости, так и максимального взаимного связывания за счет учета водородных связей, электростатического притяжения, липофильных взаимодействий и т.д. Важным моментом «докинга» может явиться поиск подходящего трехмерного молекулярного фрагмента в соответствующей структурной базе данных.

Во-вторых, если субстратом рецептора или фермента является пептидная молекула, то можно по аналогии сконструировать непептидную молекулу (*пептидомиметик*), которая выступала бы в качестве ингибитора данного фермента. Классическим примером является использование *N*-сукцинил-*L*-пролина в качестве соединения-лидера для создания антигипертензивного (понижающего давление) препарата на основании знания механиз-

ма ферментативной реакции (последний повышает кровяное давление путем сужения сосудов). *Каптоприл* – искусственный ингибитор конвертирующего фермента – был синтезирован на основе вышеуказанного соединения в 1975 г., считается одним из первых «спроектированных» лекарственных препаратов:



N-сукцинил-L-пролин



Каптоприл

Когда соединение-лидер найдено, начинается **вторая стадия** конструирования лекарств – оптимизация соединения-лидера.

Вторая стадия конструирования лекарственного соединения – **оптимизация** – состоит в создании синтетической модификации структуры соединения-лидера с целью повышения его активности, уменьшения токсичности и улучшения селективности действия. Нужно так изменить соединение-лидер, чтобы оно имело нужную активность, селективность, растворялось в том, в чем удобно, не было токсичным. Естественно, для этого надо менять его структуру. На практике химики синтезируют структурные аналоги соединения-лидера и тестируют их на определенную физиологическую активность. Основная проблема на этой стадии заключается в том, что теоретически количество возможных аналогов огромно. Это значит, что и здесь необходимо применять рациональный подход, позволяющий предсказывать, какие именно аналоги нужно синтезировать. Основными методами, используемыми медицинскими химиками на этой стадии разработки, являются вышеупомянутое компьютерное моделирование и QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship, или количественное соотношение структура–активность) – математический аппарат, позволяющий проводить

корреляции структур химических соединений с их биологической активностью. QSAR предполагает идентификацию и количественное выражение структурных параметров или каких-либо физико-химических свойств физиологически активных веществ в виде *дескрипторов* с целью выявления факта влияния каждого из них на биологическую активность. Если такая зависимость имеет место, то возможно составление уравнений, позволяющих просчитать заранее биологическую активность новых аналогов, что в свою очередь позволит сократить количество аналогов, которые должны быть синтезированы.

Дескриптор – это число (или математический параметр), которое характеризует структуру органического соединения, причем так, что подмечаются какие-то важные черты этой структуры. В принципе любое число, которое можно рассчитать из структурной формулы (молекулярный вес, число определенных атомов, связей или групп, молекулярный объем, частичные заряды на атомах), может выступать в качестве дескриптора. Например, годится ли в качестве дескриптора (т.е. характеризует ли соединение) число атомов углерода в нем? Да, и иногда это хороший дескриптор. А число нитрогрупп? Конечно, чем их больше, тем лучше взорвется, – это дескриптор для взрывчатых веществ.

В благоприятном случае, разрабатывая (на основании небольшого количества химических соединений с известной активностью) количественную модель структура–активность (QSAR), предсказывающую необходимые структурные формулы, и/или формулируя структурную (или даже трехмерную) фармакофорную гипотезу, позволяющую выявить относительное расположение химических групп, важных для проявления веществом биологической активности, можно добиться резкого ограничения круга синтезируемых соединений.

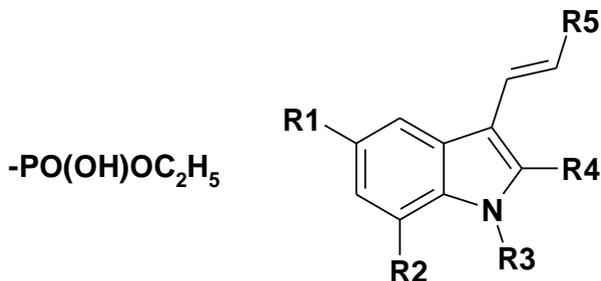
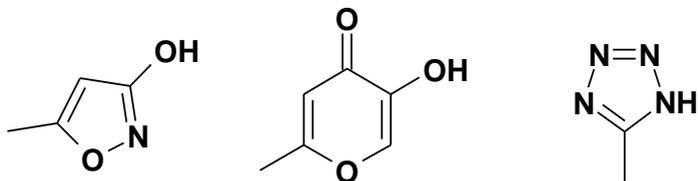
Завершающая стадия создания лекарственного соединения – его *разработка*.

Третья стадия – стадия разработки лекарственного соединения – включает в себя улучшение его фармацевтических и фармакокинетических свойств таким образом, чтобы сделать лекарство удобным для клинического использования (например, повысить его растворимость в воде или химическую стабиль-

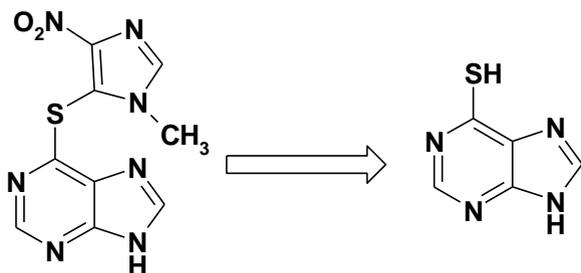
ность, пролонгировать его действие и др.). При этом иногда приходится прибегать к структурной модификации и даже специальному синтезу новых структур. В этом случае возможны следующие подходы:

Создание биоизостерических соединений (биоизостер – химическая группа, которая способна заменить другую химическую группу, несильно изменив при этом трехмерную молекулярную структуру и тем самым физиологическую активность).

Термин «изостеры» был введен Ирвингом Ленгмюром в начале XX в. Изостерами называются молекулы или ионы, которые содержат одинаковое число атомов и имеют одинаковое количество и расположение электронов. Соответственно, изостерическая замена в конструируемом лекарстве – это замена атома или группы на похожую по размеру или валентности. Если при этом сохраняется физиологическая активность, то замена называется «биоизостерической». Интересно, что термин «биоизостер» относится и к соединениям, получающимся путем замены на совершенно «непохожие» группировки, но с сохранением биологических свойств. С помощью биоизостерической замены исследователям удастся, например, уменьшить токсичность активного соединения, повысить его устойчивость к действию ферментативных систем организма и т.д. Ниже приведены примеры группировок, которые кажутся «непохожими» на карбоксильную группу ($-\text{COOH}$), но тем не менее часто используются при биоизостерической замене:



*Создание пролекарств (pro-drug) – соединений, не обладающих выраженной физиологической активностью, но способных превратиться в активные соединения либо посредством ферментативной реакции, либо химическим (без участия белкового катализатора) путем (например, соединение *азатиоприн* является пролекарством *6-меркаптопурина*, обладающего цитостатическими и иммунодепрессивными свойствами):*



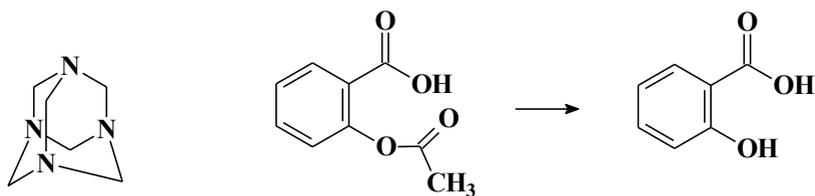
Азатиоприн

6-Меркаптопурин

В организме азатиоприн медленно превращается в 6-меркаптоурин, что приводит к пролонгированию действия последнего.

Первым целенаправленно созданным пролекарством был уротропин, выпущенный в 1899 г. фирмой «Шёринг». Уротропин (гексаметилентетрамин) – источник формальдегида, образующегося из него под действием кислоты в мочевых путях. Знаменитый препарат Эрлиха сальварсан (см. выше) фактически является пролекарством и приобретает активность только после окисления в оксофенарсин.

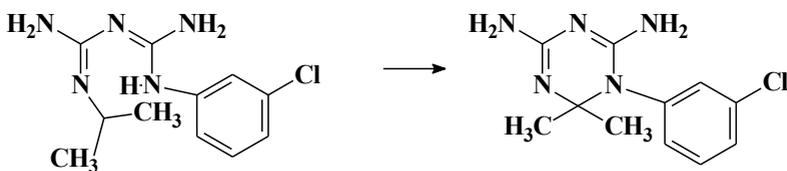
Аспирин (ацетилсалициловая кислота) является пролекарством истинного лекарственного вещества – салициловой кислоты. Противомаларийное средство бигумаль приобретает активность только после того, как в организме произойдет его циклизация в циклогуанил:



Уротропин

Аспирин

Салициловая кислота



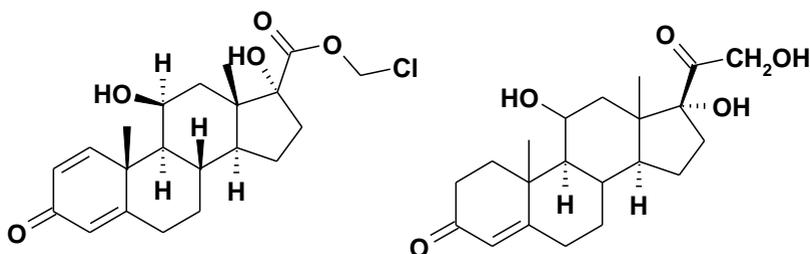
Бигумаль

Циклогуанил

Интересно создание «мягких лекарств» (soft drugs) – соединений, фармакологический эффект которых локализован в определенном месте (их распределение в других местах приводит к быстрой деструкции или инактивации). Мягкие лекарства являются активными аналогами известных лекарственных веществ, которые после реализации специфического эффекта дез-

активируются ферментативно контролируемым путем, исключая появление нежелательных метаболитов. Это особенно важно для лекарственных средств короткого действия, применяемых в хирургии (эсмолол), анестезиологии (ремифентанил) и кардиологии. Однако пока «мягкие» лекарства не получили широкого распространения и используются в основном в качестве средств, подходящих лишь для местного применения. Методология создания лекарственных веществ этого типа состоит в отборе базовых структур среди неактивных метаболитов высокоэффективных лекарственных средств и модификации их в направлении «восстановления» активности, но не путем возврата к исходной структуре. В большинстве случаев такие попытки имеют ограниченный успех.

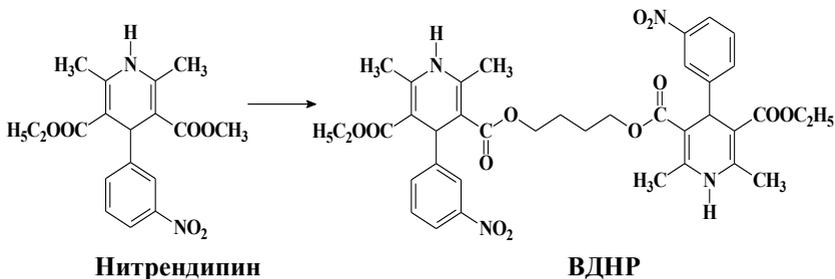
Одним из немногих удачных примеров является лотепрендол этабонат – мягкий аналог гидрокортизона, нашедший применение в офтальмологии:



Лотепрендол этабонат

Гидрокортизон

Создание «двойных лекарств» (twin drugs) – физиологически активных соединений, содержащих две фармакофорные группы, объединенные ковалентно в одну молекулу (такое определение исключает комбинацию двух лекарств в одну молекулу соли). В качестве примера *идентичного* двойного лекарства, представляющего собой комбинацию двух одинаковых составляющих, приведем симметричную молекулу **ВДНР**, активность которой приблизительно в десять раз выше, чем активность составляющих ее молекул *нитрендипина* (антагониста кальциевых каналов).



Двойные лекарства могут быть и *неидентичными* (имеющими в качестве составляющих различные структуры). В частности, возможно конструирование сложных «бинарных» структур, содержащих в своем составе несколько функционально значимых частей молекулы. Здесь возможны самые различные комбинации. Например, если известен фермент, разрушающий лекарственный препарат в организме, то возможно конструирование бинарной молекулы, содержащей в своей структуре как фрагмент этого лекарства, так и фрагмент молекулы ингибитора данного фермента. При расщеплении этой молекулы в организме ингибирование фермента приведет к пролонгированию действия данного лекарства.

2.3. Фармацевтическая химия

Изучает способы получения лекарственных средств, их биологическую активность, физические и химические свойства, а также методы качественного и количественного анализа. Основные проблемы фармацевтической химии: получение биологически активных веществ и их исследование; выявление закономерности между строением и биологической активностью химических соединений, совершенствование оценки качества лекарственных средств для обеспечения их максимальной терапевтической эффективности и безопасности; исследование и разработка методов анализа лекарственных веществ в биологических объектах для токсикологического и эколого-фармацевтического мониторинга.

Фармацевтическая химия тесно связана со специальными дисциплинами, такими как технология лекарственных форм, фармакогнозия (изучает лекарственное сырье растительного и животного происхождения), организация и экономика фармации, и входит в комплекс дисциплин, формирующих базовое фармацевтическое образование.

Сопоставление фармации и химии впервые встречается у Арнольда Вейкардта («Thesaurus pharmaceuticus Galeno-Chymicus», 1626). Особенно интенсивно развивается фармацевтическая химия после открытий конца XVII в. и начала XIX в. К этому времени фармацевтическая химия стала «химией для фармацевтов», охватывая все вещества и явления, известные тогда, с химической точки зрения. Это отвечало производственной работе фармацевта, обслуживающего химическими средствами не только медицину, но и все разносторонние бытовые и хозяйственные нужды населения. К этапным периодам развития фармацевтической химии следует отнести 90-е гг. XIX в. (получение аспирина, фенаcetина, барбитуратов), 1935–1937 гг. (применение сульфаниламидов), 1940–1942 гг. (открытие пенициллина), 1950 г. (психотропные препараты группы фенотиазина), 1955–1960 гг. (полусинтетические пенициллины и позже цефалоспорины), 1958 г. (β -адреноблокаторы) и 80-е гг. (антибактериальные препараты группы фторхинолонов).

Современный взгляд, отвечающий материалистическому миропониманию, находит общее выражение в утверждении, что «нет лекарственных (лечебных, целебных) веществ, а есть лишь лекарственные средства». Любое вещество – красящее, взрывчатое (например, нитроглицерин), душистое, ядовитое и т.д. – может быть применено человеком как средство для лечения или для предупреждения заболеваний, решающими являются его действие на организм и возможность использования этого действия.

В связи с этим выдвинуто как *основное задание фармацевтической химии* – *выяснение связи между физиологическим действием и химическим составом, строением различных применяемых в медицине веществ с целью подвести теоретиче-*

скую базу под изыскания новых, целесообразно создаваемых лекарственных средств.

Предпосылками для поиска лекарственного средства обычно служат данные о биологической активности вещества, схожести его структуры с биогенными физиологически активными веществами (например, различными метаболитами, гормонами). Иногда лекарственные средства удается получить модификацией биогенных соединений (например, стероидных гормонов животных) или благодаря исследованию веществ, чуждых человеческому организму (например, производных фенотиазина и бензодиазепина).

Синтетические вещества получают путем органического синтеза или применения методов микробиологического синтеза, использования достижений генетической инженерии.

Важное значение в фармацевтической химии имеют методы исследования содержания лекарственного вещества в препарате, его чистоты и других факторов, положенных в основу показателей качества. Анализ лекарственных средств, или фармацевтический анализ, имеет своей целью идентифицирование и количественное определение основного компонента (или компонентов) в лекарстве. Фармацевтический анализ в зависимости от фармакологического действия лекарства (назначение, дозировка, способ введения) предусматривает определение примесей, вспомогательных и сопутствующих веществ в лекарственных формах. Лекарственные средства оценивают комплексно, по всем показателям, поэтому выражение «фармакопейное качество» означает пригодность препарата для применения в медицине.

Фармакокинетические характеристики лекарственных средств (действие препарата и его распределение в организме во времени) представляют исключительно важную и обязательную информацию, обеспечивающую рациональное и эффективное применение лекарств, позволяют расширить знания о специфичности их действия. Это требует разработки объективных методик оценки содержания веществ в биологических жидкостях.

Расширение арсенала лекарственных средств в результате их синтеза или получения из природных источников, возрастающая доступность лекарственных средств вследствие международного сотрудничества делают необходимым усиление контроля за их биэквивалентностью и качеством. Экологические требования обуславливают введение дополнительных показателей качества как для исходного сырья, так и для изготовленных из него лекарственных средств (радиоактивность, наличие тяжелых металлов и др.).

Благодаря достижениям фармацевтической химии созданы лекарственные средства, которые обеспечивают здравоохранение безопасными и эффективными методами лечения многих заболеваний. В то же время проблемой фармацевтической химии остается создание средств для борьбы с онкологическими, сердечно-сосудистыми и вирусными заболеваниями.

3. СВЯЗЬ МЕЖДУ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРОЙ, СВОЙСТВАМИ ВЕЩЕСТВ И ИХ ДЕЙСТВИЕМ НА ОРГАНИЗМ

Установление зависимости между химическим строением и действием вещества на организм имеет огромное значение в широком биологическом плане. Решение этой проблемы позволило бы осуществлять целенаправленный синтез ЛВ, обладающих заданным фармакологическим действием. Идея о наличии связи между химической структурой органических соединений и их биологической активностью была впервые высказана еще в 1869 г. Однако, несмотря на более чем вековой труд ученых многих поколений, к настоящему времени удалось установить лишь некоторые закономерности.

На многочисленных примерах показано, что ненасыщенные соединения более фармакологически активны, чем насыщенные. Введение галогенов усиливает фармакологическую активность алифатических и ароматических соединений, причем как активность, так и токсичность зависит от числа атомов галогена. Хлор- и бромпроизводные оказывают наркотическое действие и снижают кровяное давление. Йодпроизводные менее

активны, но имеют более выраженное антисептическое действие.

Влияние кислорода находится в зависимости от функциональной группы, в состав которой он входит. Введение в молекулу вещества спиртового гидроксила, альдегидной и кетогрупп повышает фармакологический эффект. Карбоксильная группа снижает активность и токсичность («облагораживает» действие) и улучшает растворимость. Это относится как к алифатическим, так и к ароматическим соединениям. Большое влияние на активность и токсичность органических соединений оказывает процесс ацилирования. Он может привести к полному изменению фармакологической активности и токсичности исходных спиртов, аминов, фенолов.

Введение нитрогруппы в молекулу приводит к усилению влияния на продолговатый мозг. Алифатические сложные эфиры азотной кислоты и нитропроизводные оказывают сосудорасширяющее действие. Наличие в молекуле аминогруппы резко повышает токсичность. Соединения типа аммиака раздражают нервные центры и гладкую мускулатуру, вызывает спазмы и судороги. Присоединение метильных групп к атому азота дает различные эффекты. При введении их в молекулу аммиака или при алкилировании атомов водорода в аминогруппе, гидроксильной, карбоксильной группировках почти всегда происходит снижение физиологической активности или ее выраженное изменение. Существует значительное различие между влиянием этильной и метильной групп, введенных в молекулу.

Введение в молекулу алифатических радикалов, разветвление их цепей приводит к изменениям в действии веществ на организм. Длина цепи алифатического радикала, вводимого в молекулу, – один из важных факторов, влияющих на активность и токсичность веществ. Обычно нарастание эффекта происходит при удлинении алифатической цепи до шести атомов углерода.

Значительно меньше исследован вопрос о направленности и силе действия веществ, содержащих две (или более) функциональные группы. Некоторые данные по этому вопросу получены на примере ароматических соединений. Токсичность анилина заметно снижается при введении фенольного гидроксила.

Например, *n*-аминофенол и особенно его производные менее токсичны, чем анилин. В значительной мере уменьшается токсичность анилина при введении карбоксильной группы. Аминобензойные кислоты не имеют ядовитых свойств анилина. Здесь сказывается «облагораживающее» влияние карбоксильной группы. Значительно снижается токсичность анилина в результате ацетилирования.

Большое значение имеет установление связи между фармакологической активностью и стереохимией молекул органических соединений. На примере ряда гетероциклических соединений установлено, что фармакологический эффект зависит как от самой гетероциклической системы, так и от относительной ориентации в ней различных заместителей. Замена атома углерода в ароматической или гетероциклической системе на гетероатомы, увеличение числа звеньев цикла, удлинение или разветвление алифатической цепи, присоединенной к гетероциклической системе, вызывают стереохимические изменения в молекуле. Последние могут привести к появлению геометрических, оптических и других изомеров, которые в свою очередь вызывают изменение фармакологического действия.

Исследованиями последних лет установлено наличие взаимосвязи между пространственной структурой веществ, их растворимостью в воде и липидах, оптической активностью, с одной стороны, и биологическим действием – с другой. Например, такие простые вещества, как двухатомные фенолы, отличаются по своей токсичности. Наименее токсичен из них *мета*-изомер (резорцин). Биологическое действие зависит от цистрансизомеров, треоэритроизомерии, оптической изомерии.

Оптические изомеры, обладая одинаковым химическим строением и физическими свойствами, исключая лишь направление вращения плоскости поляризованного луча, имеют разную биологическую активность, причем иногда даже противоположную. Чаще всего один из энантиомеров, называемый эутомером, имеет выраженную фармакологическую активность одного вида, а другой энантиомер – дистомер – неактивен. В качестве примеров можно привести ЛВ, имеющие в молекуле асимметрический атом углерода. Более высокой биологической

активностью обладают левовращающие изомеры (гиосциамин – в 40 раз, адреналин – в 17 раз, тироксин в 4 раза активнее правовращающих антиподов). В других случаях (стероиды, антибиотики) активнее правовращающие изомеры, значительно реже (камфора) оптическая изомерия не влияет на фармакологическую активность.

Нередко наблюдается одновременное воздействие различных типов изомерии на фармакологический эффект. Так, из нескольких изомеров пилокарпина наибольшим фармакологическим эффектом обладает правовращающий цис-изомер, а у левомицетина активен только левовращающий изомер.

Химическая структура молекулы является далеко не единственным фактором, влияющим на фармакологическую активность БАВ. Даже если выбрана оптимальная химическая структура, важно, чтобы ЛВ могло быть перенесено к месту действия и поставлено в условия, необходимые для взаимодействия с биологическим субстратом. Для этой цели нужно, чтобы оно обладало комплексом физических и химических свойств, обеспечивающих распределение вещества в организме.

Биологическая активность данного соединения или, точнее, биологический ответ организма на это соединение зависит от суммы очень большого числа факторов: проницаемости вещества через липидный слой, транспорта, процессов адсорбции, ионизации, комплексообразования, метаболизма и др.

Физические или химические свойства вещества являются функцией его химического строения. Вместе с тем механизм первичной фармакологической реакции сводится к взаимодействию между клеткой и молекулой ЛВ.

Необходимо отметить, что каждый из рассмотренных факторов сам по себе не является определяющим в фармакологическом действии ЛВ. Они находятся во взаимосвязи между собой и в зависимости от химической структуры и других параметров. Установление такой связи в той или иной группе органических соединений требует колоссальной работы, связанной с синтезом и исследованием фармакологического действия многих сотен и тысяч соединений. В каждой из групп химических соединений существует определенная взаимосвязь между хими-

ческим строением, свойствами и фармакологическим действием. Многообразие факторов, влияющих на фармакологический эффект, усложняет процесс изыскания новых ЛВ. Тем не менее современные методы исследования позволили определить предпосылки решения этой важной проблемы.

4. РОЛЬ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОЙ ТЕХНИКИ В ДРАГ-ДИЗАЙНЕ

В настоящее время в драг-дизайне, как и в большинстве других наукоемких областей, продолжает возрастать роль вычислительной техники. Следует сразу оговорить, что современный уровень развития компьютерных методик *не позволяют* разработать новый лекарственный препарат, используя только компьютеры. Основные преимущества, которые дают вычислительные методы в данном случае, – это сокращение времени выпуска нового лекарства на рынок и снижение стоимости разработки.

Основные компьютерные методы, используемые в драг-дизайне:

- молекулярное моделирование (ММ);
- виртуальный скрининг;
- дизайн новых лекарственных препаратов *de novo*;
- оценка свойств «подобия лекарству»;
- моделирование связывания лиганд–мишень.

Очевидно, что драг-дизайн – это будущее фармакологической промышленности. Направленное конструирование новых лекарственных препаратов уже сейчас стало важнейшей частью современного общества, позволяя победить многие болезни, лечение которых ранее не представлялось возможным. В перспективе новые наукоемкие приложения смогут поднять драг-дизайн на еще более высокий уровень, когда будут, наконец, побеждены такие тяжелые заболевания, как рак, СПИД, болезнь Альцгеймера и другие недуги человечества

5. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ, ОСНОВЫВАЮЩИЕСЯ НА СТРУКТУРЕ ЛИГАНДА

В случае если ничего не известно про трехмерную структуру мишени (что случается достаточно часто), прибегают к методикам создания новых соединений исходя из информации о структуре уже известных лигандов и данных об их активности.

Подход основывается на общепринятой в химии и биологии парадигме, гласящей, что структура определяет свойства. Основываясь на анализе корреляций между структурой известных соединений и их свойствами, можно предсказать структуру нового соединения, обладающего желаемыми свойствами (или же, наоборот, для известной структуры предсказать свойства). Причем этот подход используется как при модификации известных структур с целью улучшения их свойств, так и при поиске новых соединений с помощью скрининга библиотек соединений.

Методы определения похожести молекул (или *методы отпечатков пальцев*) состоят в дискретном учете определенных свойств молекулы, называемых *дескрипторами* (например, число доноров водородной связи, число бензольных колец, наличие определенного заместителя в определенном положении и т.д.), и сравнении получившегося «отпечатка» с отпечатком молекулы с известными свойствами (используемой в качестве образца). Степень похожести выражается *коэффициентом Танимото*, изменяющимся в диапазоне 0–1. Высокая похоть предполагает близость свойств сравниваемых молекул, и наоборот.

Методы, основывающиеся на известных координатах атомов лиганда, называются методами количественной связи между структурой и активностью (QSAR, Quantitative Structure – Activity Relationship). Один из наиболее используемых методов этой группы – метод сравнительного анализа молекулярных полей (CoMFA, Comparative Molecular Field Analysis). Этот метод заключается в приближении трехмерной структуры лиганда набором молекулярных полей, отдельно характеризующих его стерические, электростатические, донорно-акцепторные и другие свойства. CoMFA-модель строится на основании множе-

ственного регрессионного анализа лигандов с известной активностью и описывает лиганд, который должен хорошо связываться с исследуемой мишенью, в терминах молекулярных полей. Полученный набор полей говорит, в каком месте у лиганда должен быть объемный заместитель, а в каком – маленький, в каком – полярный, а в каком – нет, в каком – донор водородной связи, а в каком – акцептор, и т.д.

Модель может использоваться в задачах виртуального скрининга библиотек соединений, выступая в данном случае аналогом фармакофора. Самым главным недостатком этого метода является то, что он обладает высокой предсказательной силой лишь на близких классах соединений. При попытке предсказать активность соединения другой химической природы, чем лиганды, использовавшиеся для построения модели, результат может оказаться недостаточно достоверным.

Очевидно, что достоверность моделирования, как и эффективность всего процесса конструирования нового лекарства, можно существенно повысить, если учитывать данные не только о структуре лигандов, но и о структуре белка-мишени. Методы, учитывающие эти данные, носят общее название «драг-дизайн, основывающийся на структурной информации» (SBDD, Structure-Based Drug Design).

6. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ, ОСНОВЫВАЮЩИЕСЯ НА СТРУКТУРЕ БЕЛКА

В связи с растущим потенциалом структурной биологии все чаще можно установить экспериментальную трехмерную структуру мишени или построить ее молекулярную модель, основываясь на гомологии с белком, чья трехмерная структура уже определена.

Наиболее часто используемые методы определения трехмерной структуры биомакромолекул с высоким разрешением ($<3 \text{ \AA}$) – это спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и метод рентгеновской кристаллографии (РСА, рентгеноструктурный анализ). РСА способен дать детальную трехмерную структуру мишени, если удастся получить кристалл исследуемого вещества.

двумя белками, ЯМР же может давать информацию о структуре молекулы и подвижности отдельных ее участков для растворимых белков.

Часто, когда экспериментальная структура мишени все же недоступна, прибегают к моделированию на основании гомологии – методу, для которого показано, что построенная с его использованием модель обладает достаточно высоким качеством, если гомология между структурным шаблоном и моделируемым белком не ниже 40 %.

Особенно часто к моделированию по гомологии прибегают при разработке лекарств, направленных на G-белок – сопряженные рецепторы, так как они, будучи мембранными белками, очень плохо поддаются кристаллизации, а методу ЯМР пока недоступны такие большие белки. Для этого семейства рецепторов известна структура только одного белка – бычьего родопсина, полученная в 2000 г. в Стэнфорде, которая и используется в качестве структурного шаблона в подавляющем числе исследований.

Обычно при исследовании, базирующемся на структурных данных, учитывают также данные по мутагенезу мишени, чтобы установить, какие аминокислотные остатки наиболее важны для функционирования белка и связывания лигандов. Эти сведения особенно ценны при оптимизации построенной модели, которая, будучи лишь производной от структуры белка-шаблона, не может учитывать всей биологической специфики моделируемого объекта.

Трехмерная структура мишени, кроме того, что может объяснить молекулярный механизм взаимодействия лиганда с белком, используется в задачах *молекулярного докинга*, или компьютерном моделировании взаимодействия лиганда с белком. Докинг использует в качестве стартовой информации трехмерную структуру белка (на данном этапе развития технологии, как правило, конформационно неподвижную) и структуру лиганда, конформационная подвижность и взаиморасположение с рецептором которого моделируются. Результатом докинга является конформация лиганда, наилучшим образом взаимодействующая с белковым сайтом связывания с точки зрения *оценочной функции докинга*, приближающей свободную энер-

гию связывания лиганда. Реально, в силу множества приближений, оценочная функция далеко не всегда коррелирует с соответствующей экспериментальной энергией связывания.

Докинг позволяет сократить затраты средств и времени за счет проведения процедуры, аналогичной высокопроизводительному скринингу, на компьютерных комплексах. Эта процедура называется *виртуальным скринингом*, и основным ее преимуществом является то, что для реальных фармакологических испытаний нужно приобретать не целую библиотеку, состоящую из миллиона соединений, а только «виртуальные прототипы». Обычно же с целью избежания ошибок скрининг и докинг используются одновременно, взаимно дополняя друг друга (рис. 3).

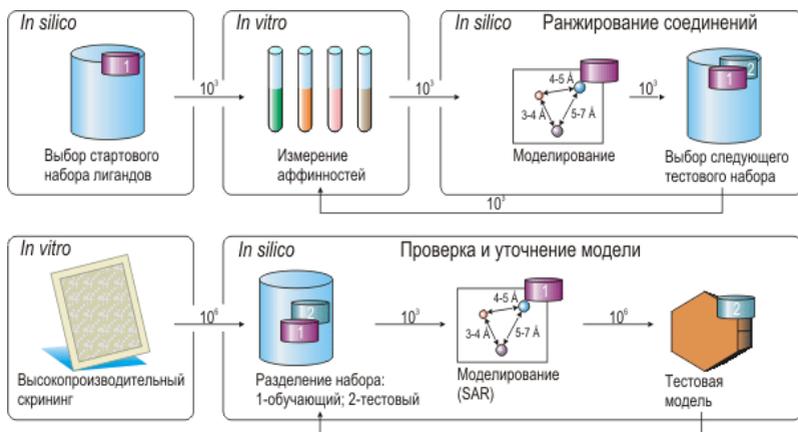


Рис. 3. Два варианта совместного использования высокопроизводительного скрининга и молекулярного моделирования. *Сверху:* последовательный итеративный скрининг. На каждом шаге процедуры используется сравнительно небольшой набор лигандов; по результатам скрининга строится модель, объясняющая связь между структурой и активностью. Модель применяется для выбора следующего набора лигандов для тестирования. *Снизу:* «разовый» скрининг. На каждом шаге модель строится по обучающей выборке и используется для предсказаний на тестовой выборке

С увеличением компьютерных мощностей и появлением более корректных и физичных алгоритмов докинг будет лучше оценивать энергию связывания белка с лигандом, начнет учитывать подвижность белковых цепей и влияние растворителя. Однако неизвестно, сможет ли виртуальный скрининг когда-нибудь *полностью* заменить реальный биохимический эксперимент. Если сможет, то для этого необходим, очевидно, качественно новый уровень алгоритмов, неспособных на сегодняшний день абсолютно корректно описать взаимодействие лиганда с белком.

Одно из явлений, иллюстрирующих несовершенство алгоритмов докинга, – *парадокс похожести*. Этот парадокс заключается в том, что соединения, структурно совсем немного различающиеся, могут иметь драматически различную активность и в то же время с точки зрения алгоритмов докинга быть практически неразличимыми.

Прототипы лекарства можно получать не только выбирая из уже подготовленной базы данных соединений. Если есть структура мишени (или хотя бы трехмерная модель фармакофора), возможно построение лигандов *de novo* с использованием общих принципов межмолекулярного взаимодействия. При этом подходе в сайт связывания лиганда помещается один или несколько базовых молекулярных фрагментов и лиганд последовательно «наращивается» в сайте связывания, подвергаясь оптимизации на каждом шаге алгоритма. Полученные структуры так же, как и при докинге, оцениваются с помощью эмпирических оценочных функций.

7. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЬЮТЕРНЫХ МЕТОДОВ

Несмотря на всю свою перспективность, компьютерные методы имеют ряд ограничений, которые необходимо иметь в виду, чтобы правильно понимать их возможности.

Прежде всего, хотя идеология *in silico* подразумевает проведение полноценных компьютерных экспериментов, т.е. экспериментов, результаты которых ценны и достоверны сами по себе, необходима обязательная экспериментальная проверка полученных результатов. Следовательно, подразумевается тесное сотрудничество научных групп, проводящих компьютерный эксперимент, с другими экспериментальными группами.

Кроме того, компьютерные методы пока не в силах учесть всего разнообразия влияния лекарственного препарата на организм человека, поэтому эти методы не в силах ни упразднить, ни даже существенно сократить клиническое тестирование, занимающее основную долю времени в разработке нового препарата.

Таким образом, на сегодняшний день роль компьютерных методов в драг-дизайне сводится к ускорению и удешевлению исследований, предшествующих клиническим испытаниям.

Раздел II

ПРОВЕДЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ

1. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ И ЭТАПЫ ВНЕДРЕНИЯ ПРЕПАРАТА В ПРАКТИКУ. ОСНОВНЫЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Структуры прототипов, полученные в результате скрининга, далее подвергаются разнообразным оптимизациям, проводимым в современных исследованиях, как правило, в тесном сотрудничестве между различными группами исследователей: молекулярными биологами, фармакологами, моделистами и медицинскими химиками (рис. 4).

С каждым оборотом такого «фармакологического цикла» прототип приближается к *предшественнику* и затем к *кандидату*, который уже тестируется непосредственно на животных (*доклинические испытания*) и на людях – *в процессе клинических испытаний*.

Прежде всего, еще до поступления в клинику препараты исследуются на *токсичность* (от греч. *Toxikon* – яд) – способность вещества вызывать нарушение физиологических функций организма, в результате чего возникают симптомы интоксикации (заболевания), а при тяжелых поражениях – его гибель, и *канцерогенность* (*канцерогенность* – свойства некоторых химических, физических и биологических факторов самостоятельно или в комплексе с другими факторами вызывать или содействовать развитию злокачественных новообразований), причем исследования должны проводиться, кроме систем *in vitro*, как минимум на двух видах лабораторных животных. Токсичные препараты, разумеется, в клинику не попадают, за исключением тех случаев, когда они предназначены для терапии особо тяжелых заболеваний и не имеют пока менее токсичных аналогов.



Рис. 4. Фармакологический цикл. Группа молекулярной биологии отвечает за получение мутантных мишеней, группа фармакологии – за измерение данных по активности и аффинности синтезированных лигандов на мишенях дикого типа и мутантных, группа моделирования – за построение моделей мишеней, предсказание их мутаций и структур лигандов, группа медицинской химии – за синтез лигандов

Кроме того, препараты подвергаются фармакокинетическим исследованиям, т.е. тестируются на такие физиологические и биохимические характеристики, как *поглощение*, *распределение*, *метаболизм* и *выведение* (по-английски обозначается аббревиатурой ADME – Absorption, Distribution, Metabolism and Extraction).

Биодоступность, например, является подхарактеристикой введения препарата в организм, характеризующей степень потери им при этом биологических свойств. Так, инсулин, принимаемый перорально (через рот), имеет низкую биодоступность, так как, будучи белком, расщепляется желудочными ферментами. Исходя из этого, инсулин вводят либо подкожно, либо внутримышечно. По этой же причине часто разрабатывают препараты, действующие аналогично своим природным прототипам, но имеющие небелковую природу.

Чем полнее будет проделан опыт на животных,
тем менее часто больным придется быть
в положении опытного объекта со всеми
печальными последствиями.

И. П. Павлов

1.1. Биологические испытания

Биологические испытания новых соединений проводят для того, чтобы определить у них наличие и выраженность какой-либо фармакологической активности, а для самого активного из испытанных веществ устанавливают, обладает ли оно биологическим эффектом *in vivo* в сочетании с желаемой длительностью действия при использовании рационального пути введения.

Идея исследования синтетических органических веществ на различных образцах биологических тканей была обоснована П. Эрлихом, который установил, что синтетические красители при избирательной абсорбции клетками могут убивать бактерии и паразитов без оказания существенного негативного воздействия на организм млекопитающих. В результате этих экспериментов в 1910 г. был предложен сальварсан – соединение мышьяка для лечения сифилиса.

В 1931 г. немецкий патолог и бактериолог Г. Домагк выявил антибактериальное действие сульфамидных производных, использовавшихся в качестве полупродуктов в синтезе красителей.

Развитие представлений о рецепторах биологически активных веществ способствовало проведению испытаний синтетических органических веществ на такие виды активности, как противосудорожная, анальгетическая, гипотензивная, противовоспалительная, противоязвенная и др. Однако существуют принципиальные различия между отбором соединений с антибактериальными, противогрибковыми, антигельминтными, противовирусными, антипротозойными свойствами и скринингом веществ, фармакологический эффект которых направлен на коррекцию метаболических нарушений. В первом случае вещества должны быть губительными для патогенов, но безопасны-

ми для хозяина, т.е. поиск сводится к различиям в межвидовой токсичности.

В противоположность этому причины метаболических нарушений, приводящие, например, к астме, раку и другим тяжелым заболеваниям, пока недостаточно изучены. Отбор веществ для коррекции перечисленных патологий заключается в поиске селективности внутри того же бытия. При испытании новых соединений на такие виды активности данные, полученные *in vitro* на изолированных мишенях, могут существенным образом отличаться от результатов исследований *in vivo*. В этом случае большую пользу приносят модели заболеваний, специальным образом созданные у животных. Однако, несмотря на то, что модели могут обеспечивать адекватные симптомы заболевания, причины его возникновения у человека и экспериментального животного различны. Ввиду этого эффективное на стадии доклинических испытаний вещество может оказаться неактивным при клинических исследованиях. Таким образом, для оценки фармакологической активности какой-либо группы новых соединений необходимо реализовать программу исследований, которая обычно состоит из нескольких этапов испытаний *in vitro* и *in vivo*.

На этапе предварительного скрининга *in vitro* оценивают активность испытуемых объектов и отсеивают те из них, которые не представляют дальнейшего интереса. Эталоном активности служит препарат сравнения – самое эффективное лекарственное средство в данной фармакотерапевтической группе. Если тестируемое соединение проявляет эффект, превышающий эталонный уровень, то оно пригодно для испытаний на следующей стадии.

Целью первичного скрининга является отбор веществ «хитов», пригодных для дальнейших исследований. Первоначальные тесты обычно носят качественный характер. Критерием отбора служит уровень концентрации испытуемых соединений, при котором они обнаруживают активность.

На втором этапе уровень активности оценивается уже количественно. Вещества с высокими показателями предоставляются для специфических исследований, которые также могут быть проведены *in vitro*.

Несмотря на то, что исследования *in vitro* дают достаточно много информации о биологических свойствах изучаемых соединений, все же удовлетворительное представление об их фармакологическом профиле можно получить при комплексной проверке их действия на все системы и органы живого организма. Чаще всего исследования биологически активных веществ *in vivo* начинают с анестезированных животных, изучают их влияние на органы с регистрацией количественных показателей. После этого переходят к интактным (здоровым) животным, рефлексы которых носят природный характер. Кроме того, обязательными являются эксперименты на животных с моделями заболевания, для лечения или профилактики которого планируют использовать в дальнейшем испытуемое вещество. Если соединение проявило удовлетворительный уровень эффекта *in vivo*, оно может быть передано на клинические испытания первоначально на здоровых добровольцах, а затем на пациентах с соответствующей патологией.

1.2. Исследования на лабораторных животных

Исследования на анестезированных животных биологически активных веществ позволяют изучать различные пути их введения, измерять большое количество параметров, создавать при необходимости большие экспериментальные группы. К недостаткам следует отнести необходимость проведения исследований в условиях анестезии, когда многие рефлекторные процессы подавлены и невозможно оценить поведенческие реакции. Кроме того, лекарственные средства, вызывающие продолжительную анестезию, могут повлиять на свойства испытуемых соединений.

В экспериментах на обездвиженных животных применимы те же принципы, что и в исследованиях *in vitro*. Кривые «доза – ответ» для агониста строят при нескольких режимах введения, и эти эксперименты повторяют до получения воспроизводимого результата. Таким путем определяют как абсолютную, так и относительную эффективность агониста. Если используют стандартный агонист, то после завершения испытаний может быть введен антагонист, и зависимость «доза – ответ» оценива-

ют уже в его присутствии. Это позволяет определить выраженность эффекта антагониста *in vivo*. Изучаемое вещество может быть введено как непосредственно в интересующий орган, так и в системное кровообращение.

Исследования на интактных животных или с моделями заболеваний

На завершающей стадии доклинических испытаний структуры-лидера или кандидата в лекарственное средство (ЛС) обычно проводят исследования с использованием интактных животных или животных с моделями соответствующих заболеваний. Эти исследования носят менее повреждающий характер, приближены к клиническим условиям введения вещества, могут продолжаться от нескольких минут до нескольких лет (в течение всего периода жизни животного) и позволяют оценить поведенческие реакции в динамике на одном и том же животном. На интактных животных проверяют специфическое действие кандидата в лекарственное средство и проводят токсикологические исследования. Модели служат главным образом для оценки специфических эффектов потенциального ЛС. Модели заболеваний или отдельных симптомов каких-либо патологических процессов разделяют на химически индуцированные и генетически детерминированные. В первом случае патология возникает при введении в организм животного определенного химического вещества. Например, анальгетические свойства ненаркотических веществ чаще всего изучают на модели «уксуснокислых корчей» у крыс или мышей, противовоспалительные свойства биологически активных веществ оценивают по способности вещества ингибировать отек, вызванный подкожным введением экспериментальным животным каррагинана, формалина или другого флогогена, антиоксидантную активность чаще всего исследуют на модели однодневного токсического гепатита, индуцированного пероральным введением 50%-ного масляного раствора CCl_4 и т.д. Следует подчеркнуть, что рассмотренные модели не воспроизводят ведущие звенья патологического процесса у человека, а лишь отражают отдельные симптомы заболеваний. Они пригодны в основном для первичного скринин-

га. На завершающих этапах доклинических исследований целесообразно использовать модели, максимально приближенные к особенностям патологии у человека. Особенно остро вопрос соответствия механизма развития заболевания у человека и животного стоит при моделировании таких гетерогенных метаболических расстройств, как СД, ИБС, бронхиальная астма, ревматоидный артрит и др. В этом случае наряду с химически индуцированными моделями широко используют линейных животных с генетически детерминированными метаболическими нарушениями.

Проблема исследования БАВ на лабораторных животных чрезвычайно многогранна, и отдельные ее стороны широко освещены в специальной литературе. В последнее время вокруг экспериментальных работ такого рода ведется большая полемика. Принимая во внимание этический аспект подобных исследований, предлагают использовать альтернативные методы. Однако на завершающих этапах доклинических испытаний новых ЛС замена экспериментов на животных альтернативными подходами невозможна. Как уже было отмечено выше, экстраполяция на человека результатов исследований, полученных на животных, представляет определенные трудности, но переносить на человека данные, полученные только альтернативными методами, – еще более сложная задача.

Безусловно, при работе с экспериментальными животными необходимо соблюдать определенные правила этического характера, сформулированные в соответствующих документах. Альтернативные методы исследований можно с успехом применять при установлении механизма специфического или токсического действия ЛС.

1.3. Доклинические исследования лекарственных средств

Успешное внедрение в клиническую практику новых методов лекарственного лечения предполагает наличие доказанной в соответствии с современными требованиями высокой степени эффективности и безопасности применения новых лекарств. Для этого должен выполняться определенный порядок проведения научных исследований на различных уровнях, важнейшим из

которых является оценка специфической фармакологической активности и безопасности на этапе доклинических экспериментальных исследований.

Целью доклинических исследований лекарственных средств является получение научными методами оценок и доказательств эффективности и безопасности лекарственных средств (№ 61-ФЗ от 12 апреля 2010 г., ст. 11).

Доклинические исследования лекарственных средств проводятся организациями – разработчиками лекарственных средств по правилам лабораторной практики, утвержденным федеральным органом исполнительной власти, в компетенцию которого входит осуществление функций по выработке государственной политики и нормативно-правовому регулированию в сфере обращения лекарственных средств (в ред. Федерального закона от 22.08.2004 № 122-ФЗ).

Доклинические исследования лекарственных средств проводятся по утвержденному плану с ведением протокола и составлением отчета, в которые заносятся результаты. Организация-разработчик выдает заключение о возможности проведения в дальнейшем клинических исследований лекарственных средств.

Доклинические исследования лекарственных средств на животных проводятся в соответствии с международными правилами. Контроль за соблюдением правовых и этических норм использования животных ведется, соответственно, федеральным органом исполнительной власти, в компетенцию которого входит осуществление функций по выработке государственной политики и нормативно-правовому регулированию в сфере обращения лекарственных средств, и его территориальными органами (в ред. Федерального закона от 22.08.2004 № 122-ФЗ). Статья 36 настоящего Закона устанавливает, что целью доклинических исследований лекарственных средств является получение научными методами оценок и доказательств эффективности и безопасности лекарственных средств.

Доклинические исследования лекарственных средств проводятся организациями – разработчиками лекарственных средств по правилам лабораторной практики, утвержденным федеральным органом контроля качества лекарственных

средств. С этой целью проводятся испытания. Испытания – это определение количественных и качественных характеристик объекта испытаний, осуществление оценки и контроля.

При проведении испытаний используются информативные, лабораторные методы, позволяющие получать данные, коррелирующие с результатами применения препаратов у людей.

Принципы оценки активности препаратов, предназначенных для активной иммунизации человека, должны быть основаны на определении степени иммунологического ответа у экспериментальных животных, иммунизированных данными препаратами.

При выборе вида лабораторных животных и методов их заражения необходимо стремиться к тому, чтобы степень восприимчивости животных к инфекционному агенту или токсину и патогенез инфекционного процесса были максимально близки к таковым у человека.

При проведении доклинических исследований лекарственных средств на животных необходимо соблюдать международные правила, согласно которым ведется охрана животных. Контроль за соблюдением осуществляется федеральным органом контроля качества лекарственных средств.

Специфическую активность препаратов, предназначенных для активной иммунизации, следует оценивать по устойчивости вакцинированных животных к специфическому инфекционному агенту или токсину и по уровню специфических антител в крови.

Испытание иммуногенности препаратов следует проводить при однократном введении. Исключение могут составлять препараты, однократное введение которых неэффективно.

При экспериментальном доклиническом изучении новых препаратов для оценки специфической активности необходимо использовать несколько методов с последующим их включением в нормативную документацию.

Доклиническое изучение токсичности и некоторых фармакологических свойств должно определить побочное действие нового препарата на органы и системы организма лабораторных животных.

Изучение нового препарата должно быть проведено в сравнительных опытах с одной или несколькими сериями одно-

направленного коммерческого препарата или коммерческого препарата, близкого по природе, структуре, назначению.

Метод определения токсичности в остром опыте применяют при однократном введении не менее чем на двух видах животных. Хроническая токсичность определяется при введении препаратов повторно и в больших дозах.

Определение местного действия лекарственного средства дополняет изучение токсичности в остром и хроническом опытах. Препарат вводят методом, предлагаемым для использования в практике, и в соответствующей этому дозе.

При доклиническом исследовании используются также патоморфологические исследования, которые представляют собой результаты макро- и микроскопического исследования органов животных, получивших новый препарат, препарат сравнения, а также контрольных животных, которые регистрируют в протоколах или заносят в регистрационную карту.

Определение влияния на гематологические показатели представляет собой исследование, которое осуществляют на двух видах животных после однократного введения препарата в дозе, предполагаемой для человека, или в максимальной дозе, которая при определении ЛД₅₀ не вызвала гибели животных, а также после многократного введения.

Доклиническое изучение предполагает изучение специфической безопасности живых вакцин, должно проводиться в основном на уровне вакцинного штамма при его аттестации.

Отчет о результатах доклинических испытаний специфической активности, токсичности, алергизирующего действия новых препаратов и их влияния на иммунную систему направляется учреждениями – разработчиками нового препарата в Минздрав России для решения вопроса об испытании реактогенности, безопасности и специфической активности лабораторных серий на ограниченной группе людей.

Результаты доклинических исследований лекарственных средств необходимо представить с целью регистрации или проведения клинических исследований лекарственного препарата в РФ (№ 61-ФЗ от 12 апреля 2010 г., ст. 18, ч. 3, п. 9 и ст. 20, ч. 1).

1.3.1. Необходимый объем доклинических исследований

1. Воспроизведенные ЛС

Общетоксические свойства: острая и подострая (субхроническая) токсичность, местно-раздражающее действие в сравнении с зарегистрированным аналогом.

2. Оригинальные ЛС

– Общетоксические свойства: острая и подострая (субхроническая) токсичность, хроническая токсичность, местно-раздражающее действие.

– Специфические виды токсичности: мутагенность; репродуктивная токсичность; канцерогенное действие; аллергизирующее действие; иммунотоксическое действие.

– Фармакологическая безопасность.

– Специфическая фармакологическая активность.

– Фармакокинетические исследования.

1.3.2. Скрининг

Одним из основных путей получения новых лекарственных средств является *скрининг* биологически активных веществ. Следует отметить, что такой путь поиска и создания новых препаратов очень трудоемок – в среднем один заслуживающий внимания препарат приходится на 5–10 000 исследованных соединений.

По данным американской Ассоциации разработчиков и производителей лекарственных препаратов (PhRMA), из 10 тыс. лекарств-кандидатов, взятых фармацевтическими компаниями в разработку, на стадию доклинических исследований выходит 250 (или 2,5 %), при этом на стадию клинических исследований попадают 5 (или 0,05 %) и только один из кандидатов становится лекарственным препаратом и поступает в широкую медицинскую практику. Весь этот процесс занимает в среднем 10–12 лет. Как видно из представленных данных, на стадии доклинических исследований происходит значительная селекция лекарств-кандидатов, обусловленная обширными исследованиями в тестах *in vitro* (лабораторные исследования в пробирках) и *in vivo* (исследования на лабораторных животных), в ходе которых по-

лучают предварительные данные о токсичности, эффективности, фармакологических свойствах, фармакокинетике и метаболизме изучаемого лекарственного препарата. Данный блок работы трудоемкий, финансово-затратный и очень важный.

Доклинические исследования начинаются с момента, когда синтезирована новая потенциально эффективная молекула лекарственного средства, предварительно прошедшая селекцию из множества потенциальных молекул. В тех случаях, когда у новой молекулы выявляется определенная биологическая активность, ее подвергают тщательным доклиническим исследованиям, которые проводят по стандартным унифицированным методикам.

Путем скрининга и случайных наблюдений в свое время были найдены ценные препараты, вошедшие в медицинскую практику.

Однако случайность не может быть основным принципом отбора новых лекарственных средств. По мере развития науки стало совершенно очевидным, что создание лекарственных препаратов должно базироваться на выявлении биологически активных веществ, участвующих в процессах жизнедеятельности, изучении патофизиологических и патохимических процессов, лежащих в основе развития различных заболеваний, а также углубленном исследовании механизмов фармакологического действия. Достижения медико-биологических наук позволяют все шире проводить направленный синтез веществ с улучшенными свойствами и определенной фармакологической активностью.

Доклиническое изучение биологической активности веществ принято разделять на фармакологическое и токсикологическое. Такое разделение условно, поскольку указанные исследования взаимосвязаны и строятся на одних и тех же принципах.

1.3.3. Токсикологические испытания

Доклинические токсикологические исследования направлены на выявление и оценку выраженности токсических эффектов, возникающих при взаимодействии фармакологического вещества с организмом лабораторных животных. Согласно Федеральному закону от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обраще-

нии лекарственных средств», они являются неотъемлемой частью доклинических исследований, направленных на получение доказательств безопасности лекарственных средств (ЛС). Конечной целью доклинических токсикологических исследований является получение данных, достаточных для определения возможности и риска проведения клинических исследований (КИ) ЛС.

Доклинические исследования проводятся в соответствии с существующими правилами лабораторной практики, утвержденными уполномоченным федеральным органом исполнительной власти РФ (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики»).

При исследовании общетоксического действия решаются следующие задачи:

1. Выявляются переносимые и токсические дозы фармакологического вещества.

2. Устанавливаются органы и системы организма, наиболее чувствительные к изучаемому фармакологическому веществу, определяется характер и степень патологических изменений.

3. Определяется зависимость токсических эффектов от дозы и длительности применения фармакологического вещества и обратимость патологических изменений.

Токсикологические исследования обязательны для субстанции оригинального фармакологического вещества и всех лекарственных форм на ее основе. Если лекарственная форма содержит вспомогательные вещества (стабилизаторы, растворители и т.п.), не разрешенные для применения в медицинской практике, то каждое из этих веществ подвергают отдельному токсикологическому исследованию. При комбинации нескольких фармакологических веществ в одной лекарственной форме (фиксированная комбинация) изучают токсичность комбинации в целом и каждого ингредиента в отдельности, если он не был ранее разрешен для применения в медицинской практике. При изменении способа получения фармакологического вещества или лекарственной формы проводится повторная токсикологическая оценка на одном наиболее чувствительном виде животных, который определяется исходя из данных первоначальных исследований.

Токсикологические исследования предполагают изучение *острой токсичности* (при однократном введении) на трех видах животных; *подострой* и *хронической токсичности* (повторные введения препарата на протяжении одного года, а иногда и более); установление *специфической токсичности* препарата (местно-раздражающего, ulcerогенного и кумулятивного действия; экспериментальное лечение отравлений при передозировке; оценку аллергенности, влияние на половое поведение и на репродуктивные функции самцов и самок иммунотоксичности, тератогенности, гонадотоксичности, мутагенности и канцерогенности), выявление возможного развития лекарственной зависимости.

Во время проведения токсикологического исследования определяют, можно ли использовать лекарственный препарат в клинической практике, тщательно вычисляют допустимые дозы потребления лекарственного препарата. Во время токсикологического анализа выявляются побочные эффекты и устанавливается запрет на применение лекарства. Вся работа над токсикологическим исследованием проводится в специально оборудованной лаборатории, на животных, прошедших необходимую карантинизацию.

По мнению специалистов ВОЗ, экстраполяция данных с животных на человека возможна лишь при использовании многих видов животных, а также при одинаковой реакции на исследуемый препарат у 3–4 видов животных, обеспечивающей совпадение с клиническими данными примерно в 70 % случаев.

1.3.4. Общие принципы выполнения исследований

Токсикологические исследования проводят на здоровых половозрелых животных и при необходимости на животных – моделях патологических состояний. Они имеют ряд особенностей.

1. Фармакологические вещества, предполагаемые для применения у детей, следует тестировать на новорожденных и неполовозрелых животных.

2. Фармакологические вещества, предназначенные для разработки гериатрических лекарств, следует тестировать на старых животных.

3. Фармакологические вещества, предназначенные для разработки лекарств, применяемых при беременности, исследуют на беременных животных.

Использование лабораторных животных

Для токсикологических исследований применяют здоровых половозрелых животных, полученных из сертифицированных питомников и прошедших карантин в течение 10–14 дней. Получение животных от несертифицированных производителей не допускается.

Исследования проводят на нескольких видах животных, причем наряду с грызунами обязательно использовать не грызунов. Для токсикологических исследований рекомендуются мыши, крысы, морские свинки, кролики, собаки, мини-свиньи и обезьяны.

Токсикологические исследования можно проводить как на нелинейных, так и на линейных животных. В последнем случае следует указать линию животных, поскольку чувствительность к токсическому действию может быть генотипически зависима. При прочих равных условиях в исследованиях по определению острой и хронической токсичности предпочтительнее использование аутбредных животных.

Исследования проводят на животных обоего пола одного возраста, разброс по исходной массе не должен превышать $\pm 10\%$.

Содержание животных определяется Приказом Минздрава России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики».

Рекомендуется содержание грызунов в индивидуальных клетках, неприемлема излишняя скученность животных. Следует учитывать, что чувствительность животных к фармакологическому веществу может изменяться под влиянием ряда внешних факторов (температура, влажность, освещенность и кратность воздухообмена помещения, состав подстилок, загрязненность помещения ксенобиотиками, состав корма, время кормления и др.). В связи с этим условия содержания животных, получающих фармакологическое вещество, и контрольных животных должны быть идентичными.

Животные содержатся на стандартных, сертифицированных комбикормах в соответствии с действующими нормами при свободном доступе к воде и пище.

1.3.5. Продолжительность наблюдения и регистрация картины интоксикации

Общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой токсичности должна составлять не менее 14 дней, причем в первый день после введения животные должны находиться под непрерывным наблюдением.

Регулярно фиксируют общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координацию движений, тонус скелетных мышц, реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, ритм сердечных сокращений, состояние шерстного и кожного покрова, окраску слизистых оболочек, размер зрачка, положение хвоста, количество и консистенцию фекальных масс, частоту мочеиспускания и окраску мочи, потребление корма и воды, изменение массы тела и другие показатели, характеризующие токсическое действие. Для соответствующих групп фармакологических веществ целесообразно исследовать некоторые гематологические показатели (морфологические, биохимические, свертываемость крови).

Обязательна регистрация сроков развития интоксикации и гибели животных. Целесообразно проведение макроскопического исследования внутренних органов погибших животных, а в случае их отсроченной гибели – и микроскопическое исследование (степень кровенаполнения органов, наличие кровоизлияний, изъязвлений слизистых оболочек и др.).

1.3.6. Изучение хронической токсичности

Целью хронических токсикологических исследований является характеристика повреждающего действия фармакологического вещества при его длительном введении, определение наиболее чувствительных органов и систем организма, а также

исследование возможности обратимости вызываемых повреждений.

Продолжительность введения фармакологического вещества при изучении хронической токсичности зависит от предполагаемой длительности его применения в клинике, планируемой фазы КИ и видовой принадлежности лабораторных животных.

1.3.7. Цель фармакологических исследований

Определение терапевтической эффективности препарата, а также его влияния на основные анатомические и физиологические системы организма – главная цель данных исследований. В процессе изучения фармакодинамики вещества устанавливают не только его специфическую активность, но и возможные побочные реакции, связанные с фармакологической активностью. Действие исследуемого препарата на здоровый и больной организм может различаться, поэтому фармакологические испытания должны проводиться на моделях соответствующих заболеваний или патологических состояний.

Изучение повреждающего действия исследуемого препарата на организм экспериментальных животных позволяет определить, какие органы и ткани наиболее чувствительны к данному веществу и на что следует обратить особое внимание при клинических испытаниях.

Однако нельзя забывать, что данные экспериментального исследования на животных не гарантируют полностью безопасность препарата для человека. Между животными имеются существенные видовые различия в интенсивности обмена веществ, активности ферментных систем, чувствительности рецепторов и т.д. Для установления общебиологических закономерностей действия исследуемого препарата на живой организм и исключения влияния видовых особенностей на чувствительность к изучаемому средству исследование фармакологической активности и токсичности проводят на нескольких видах животных (кошки, собаки, обезьяны), которые филогенетически стоят ближе к человеку.

Для изучения специфической фармакологической активности лекарственного средства проводят доклиническое исследование

дование на моделях заболеваний / синдромов у лабораторных животных.

Для выбора доз и схем применения лекарственного препарата проводят фармакокинетические доклинические исследования, включающие исследования всасываемости, распределения, метаболизма и выведения препарата из организма.

Данные доклинические исследования также являются незаменимым фрагментом оценки биоэквивалентности дженерикового лекарственного препарата. Фармакокинетическое доклиническое исследование важно во время испытания нового лекарственного препарата, которое содержит одно действующее вещество, или комплексного препарата. Выводы фармакокинетического исследования применяют при утверждении схемы дозировки разрабатываемого лекарственного препарата, способа его использования в клинической практике.

Результаты доклинических исследований лекарственных средств необходимо представить с целью регистрации или проведения клинических исследований лекарственного препарата в РФ (№ 61-ФЗ от 12 апреля 2010 г., ст. 18, ч. 3, п. 9 и ст. 20, ч. 1).

1.4. Клинические исследования

При успешном завершении испытаний на животных проводятся клинические испытания. Эти исследования планируют при участии разработчиков кандидата в ЛС (представителей фармацевтической компании), клиницистов, комиссии по этике, а в таких странах, как США, Канада, страны ЕС, Россия, вопрос рассматривают специальные государственные учреждения. В США это FDA, в России – Фармакологический комитет МЗ РФ. Новый препарат представляет спонсирующая компания (будущий производитель).

Клиническое исследование – научное исследование с участием людей, которое проводится с целью оценки эффективности и безопасности нового лекарственного препарата или расширения показаний к применению уже известного лекарственного препарата.

Клинические исследования во всем мире являются неотъемлемым этапом разработки препарата, который предшествует

его регистрации и широкому медицинскому применению. В ходе клинических исследований новый препарат изучается для получения данных о его эффективности и безопасности. На основании этих данных уполномоченный орган здравоохранения принимает решение о регистрации препарата или отказе в регистрации. Препарат, не прошедший клинических исследований, не может быть зарегистрирован и выведен на рынок.

При разработке нового препарата невозможно обойтись без клинических исследований, поскольку экстраполяция результатов исследований у животных и на биологических моделях на человека возможна только в общем виде, а иногда невозможна вовсе. Например, *фармакокинетика* (то, как лекарство попадает в кровь, распределяется в организме и выводится из него) у человека отличается даже от фармакокинетики у приматов. Однако анализ доклинических исследований очень важен для оценки вероятности развития и характера побочных эффектов, расчета стартовой дозы для изучения свойств действия препарата на человека.

Клинические исследования могут быть инициированы только после того, как получены обнадеживающие результаты в ходе доклинических исследований (исследований на биологических моделях и лабораторных животных), а также одобрение этического комитета и положительное решение уполномоченного органа здравоохранения той страны, где планируется проводить исследование.

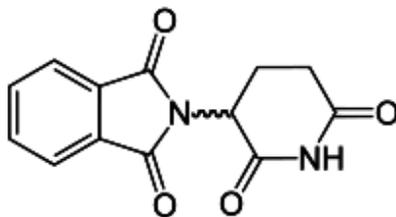
Вначале экспериментальный лекарственный препарат изучается с участием небольшого количества пациентов и/или здоровых добровольцев. По мере того как накапливаются данные о его безопасности и эффективности, численность пациентов, вовлеченных в исследование, возрастает, а сам препарат сравнивается с уже известными и широко используемыми в медицинской практике лекарствами.

Медицина – это область, в которой ни в коем случае не следует спешить. В особенности, если речь идет о разработке новых лекарственных препаратов.

Вероятно, именно ошибки в планировании исследований и анализе их результатов, а порой фальсификации последних стали причиной ряда гуманитарных катастроф, связанных с вы-

пуском токсических препаратов, например раствора сульфаниламида в этиленгликоле (1937), а также талидомида (1961), который назначали в качестве седативного средства на ранних сроках беременности. В 1962 г. талидомид был запрещен для медицинского применения. Спустя десятилетия, в 1998 г., талидомид получил одобрение американской FDA (Федеральная комиссия по пищевым продуктам и лекарственным препаратам – Food and Drug Administration) для использования при лечении лепры, в настоящее время проводят его клинические испытания для терапии множественной рефрактерной миеломы и глиомы.

Талидомид – седативное снотворное лекарственное средство, получившее широкую известность из-за своей тератогенности (**тератогенность** (от греч. *teras*, *под. n. teratos* – урод, уродство и *-genes* – рождающий, рожденный) – способность некоторых физических, химических и биологических факторов вызывать уродства у развивающихся эмбрионов) после того, как было установлено, что в период с 1956 по 1962 г. в ряде стран мира родилось (по разным подсчетам) от 8000 до 12 000 детей с врожденными уродствами. Этот побочный эффект не был вовремя выявлен во время клинических исследований в силу недостаточно тщательного и аккуратного тестирования:



Талидомид

В 1954 г. немецкая фармацевтическая компания Chemie Grünenthal проводила исследования с целью разработать недорогой способ производства антибиотиков из пептидов. В ходе исследований работниками компаний был получен препарат, названный ими талидомид (*thalidomide*), после чего началось изучение его свойств для определения сферы применения.

Изначально талидомид предполагалось использовать как противосудорожное средство, однако первые опыты на живот-

ных показали, что подобными свойствами новый препарат не обладает. Однако было обнаружено, что передозировка препарата не убивала подопытных животных, что дало основание считать препарат безвредным.

В 1955 г. Chemie Grünenthal неофициально выслала бесплатные образцы препарата разным докторам Германии и Швейцарии.

Люди, принимавшие препарат, отметили, что он, действительно, не проявляет противосудоржных свойств, но оказывает успокаивающий и снотворный эффект. Принимавшие препарат рассказывали, что они испытали глубокий «естественный» сон, длящийся всю ночь.

В 1957 г. препарат был официально выпущен в продажу в Германии под названием Contergan, в апреле 1958 г. в Великобритании его выпустила фирма Distillers Company под названием Distaval. Кроме того, талидомид поставлялся на рынок в составе лекарственных средств для самых разных случаев, например Astaval – против астмы, Tensiival – против повышенного кровяного давления, Valgraine – против мигрени. Всего талидомид поступил в продажу в 46 странах Европы, Скандинавии, Азии, Африки, Южной Америки, где он выпускался под 37 разными названиями. Никаких дополнительных независимых исследований препарата ни в одной стране не проводилось.

25 декабря 1956 г. в г. Штольберг в семье сотрудника Chemie Grünenthal родилась дочь без ушей. Этот сотрудник давал своей беременной жене еще не выпущенный официально талидомид, который он взял на работе. В то время связи между приемом препарата и пороком развития плода никто не предусматривал, появление детей с врожденными физическими дефектами неоднократно наблюдалось и ранее. Однако после поступления талидомида на рынок число детей, рождающихся с врожденными уродствами, резко возросло. В конце 1961 г. почти одновременно профессор Ленц (W. Lenz) в Германии и доктор Макбрайд (McBride) в Австралии выявили связь между возросшим числом врожденных пороков у новорожденных и тем фактом, что матери этих детей принимали талидомид на ранних сроках беременности.

16 ноября 1961 г. Ленц сообщил о своих подозрениях в компанию Chemie Grünenthal по телефону. 18 ноября в газете Welt am Sonntag было опубликовано его письмо, в котором он описал более 150 случаев врожденных пороков у новорожденных и связал их с приемом матерями талидомида на ранних сроках беременности (рис. 5). 26 ноября под давлением прессы и немецких властей Chemie Grünenthal начало отзыв талидомида с рынка Германии, уведомив Richardson Merrell, продукция которой успела распространиться на территории Южной Америки. При этом компания Chemie Grünenthal продолжала отрицать связь эпидемии с выпускаемым препаратом.

2 декабря Distillers объявила об отзыве препарата с рынков в открытом письме, опубликованном в английских журналах The Lancet и The British Medical Journal.



Рис. 5. Ребенок с дефектом ступни, вызванным талидомидом

В декабре 1961 г. в журнале The Lancet было опубликовано письмо Уильяма Макбрайда, в котором он также описал свои наблюдения относительно связи талидомида с врожденными пороками у младенцев. После этого препарат стал убираться с прилавков в остальных странах. Подтверждения словам Ленца и Макбрайда стали поступать из разных стран, ситуация получила широкую огласку в газетах, по радио и на телевидении, однако,

несмотря на это, препарат был доступен для покупки в некоторых аптеках и спустя полгода после первых сообщений. В Италии и Японии препарат продавался и спустя 9 месяцев после огласки.

В начале 1962 г. Ленц сделал предположение, что начиная с 1959 г. в Западной Германии родилось порядка 2000–3000 детей – жертв талидомида. Всего, по разным оценкам, в результате применения талидомида порядка 40 000 человек получили периферический неврит, от 8000 до 12 000 новорожденных родились с физическими уродствами, из них лишь около 5000 не погибли в раннем возрасте, оставшись инвалидами на всю жизнь.

В чем же тут дело?

Молекула талидомида существует в двух конформациях – право- и левовращающей (рис. 6). Одна из них обеспечивает терапевтический эффект препарата, в то время как вторая является причиной его тератогенного воздействия. Этот изомер вклинивается в клеточную ДНК и препятствует нормальному процессу транскрипции ДНК, необходимому для деления клеток и развития зародыша.

Поскольку в организме энантиомеры талидомида способны переходить друг в друга, препарат, состоящий из одного очищенного изомера, не решает проблему тератогенного воздействия.

В настоящее время результаты исследования веществ, перспективных в качестве лекарственных препаратов, передают в Фармакологический комитет МЗ РФ, в который входят эксперты разных специальностей (в основном фармакологи и клиницисты). Если Фармакологический комитет считает проведенные экспериментальные исследования исчерпывающими, предлагаемое соединение передают в клиники, имеющие необходимый опыт исследования лекарственных веществ.

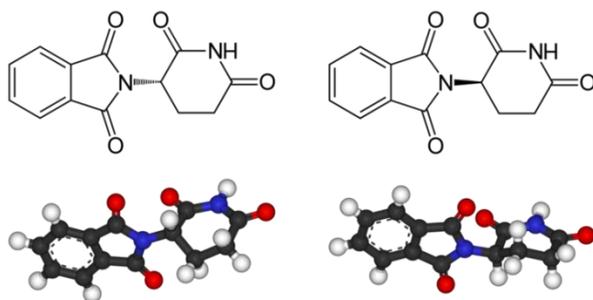


Рис. 6. Энантиомеры талидомида

Это очень важный этап, так как решающее слово в оценке новых лекарственных средств принадлежит клиницистам. Большая роль в этих исследованиях отводится клиническим фармакологам, основными задачами которых являются клиническое изучение фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных веществ, в том числе новых препаратов, и разработка на этой основе наиболее эффективных и безвредных методов их применения. При клиническом испытании новых лекарственных средств следует исходить из ряда принципов. Прежде всего, их необходимо исследовать на значительном контингенте больных. Во многих странах этому часто предшествует испытание на здоровых (добровольцах). Очень важно, чтобы каждое новое вещество сравнивалось с хорошо известными препаратами той же группы (например, опиоидные анальгетики – с морфином, сердечные гликозиды – со строфантином и гликозидами наперстянки). Новое лекарственное средство обязательно должно отличаться от имеющихся в лучшую сторону. При клиническом испытании веществ необходимо использовать объективные методы, позволяющие количественно оценить наблюдаемые эффекты. Комплексное исследование с использованием большого набора адекватных методик – еще одно из требований, предъявляемых к клиническим испытаниям фармакологических веществ.

Изучение повреждающего действия исследуемого препарата на организм экспериментальных животных позволяет определить, какие органы и ткани наиболее чувствительны к данному веществу и на что следует обратить особое внимание при клинических испытаниях. Однако нельзя забывать, что данные экспериментального исследования на животных не гарантируют полностью безопасность препарата для человека.

1.4.1. Фазы (этапы) клинических исследований лекарственных средств

Фаза I. Первый опыт применения нового активного вещества у человека. Чаще всего исследования начинаются у добровольцев (взрослые здоровые мужчины). Главная цель исследований – решить, стоит ли продолжать работу над новым препаратом и, если удастся, установить дозы, которые будут использоваться у пациентов во время II фазы клинических исследований. В ходе этой фазы исследователи получают предварительные данные о безопасности нового препарата и впервые описывают его фармакокинетику и фармакодинамику у человека. Иногда невозможно провести исследования I фазы у здоровых добровольцев из-за токсичности данного препарата (лечение онкологических заболеваний, СПИДа). В этом случае проводятся нетерапевтические исследования с участием пациентов с этой патологией в специализированных учреждениях.

Фаза II. Обычно это первый опыт применения у пациентов с заболеванием, для лечения которого предполагается использовать препарат. Вторая фаза делится на IIa и IIb. Фаза IIa – это терапевтические пилотные исследования (pilot studies), так как полученные в них результаты обеспечивают оптимальное планирование последующих исследований. Фаза IIb – это более обширные исследования у пациентов с заболеванием, которое является основным показанием к назначению нового лекарственного средства. Главная цель – доказать эффективность и безопасность препарата. Результаты этих исследований (pivotal trial) служат основой для планирования исследований III фазы.

Фаза III. Многоцентровые испытания с участием больных (и по возможности разнообразных) групп пациентов (в

среднем 1000–3000 человек). Основная цель – получение дополнительных данных о безопасности и эффективности различных форм препарата, о характере наиболее частых нежелательных реакций и т.п. Чаще всего клинические исследования этой фазы – двойные слепые контролируемые, рандомизированные, а условия исследований максимально приближены к обычной реальной рутинной медицинской практике. Данные, полученные в клинических исследованиях III фазы, являются основой для создания инструкций по применению препарата и для решения о его регистрации Фармакологическим комитетом. Рекомендация к клиническому применению в медицинской практике считается обоснованной, если новый препарат:

- более эффективен, чем известные препараты аналогичного действия;
- обладает лучшей переносимостью, чем известные препараты (при одинаковой эффективности);
- эффективен в тех случаях, когда лечение известными препаратами безуспешно;
- более выгоден экономически, имеет более простую методику лечения или более удобную лекарственную форму;
- при комбинированной терапии повышает эффективность уже существующих лекарственных средств, не увеличивая их токсичность.

Фаза IV. Исследования проводятся после начала продажи препарата с целью получить более подробную информацию о длительном применении в различных группах пациентов и при различных факторах риска и, таким образом, более полно оценить стратегию его применения. В исследовании принимает участие большое количество пациентов, это позволяет выявить ранее неизвестные и редко встречающиеся нежелательные явления. Если лекарственное средство собираются применять по новому показанию, еще не зарегистрированному, то для этого проводятся дополнительные исследования, начиная с фазы II. Наиболее часто на практике проводят **открытое исследование**, при котором врачу и больному известен способ лечения (исследуемый препарат или препарат сравнения). При испытании **простым слепым методом** больной не знает, какой препарат он принимает (это может быть плацебо), а при использова-

нии *двойного слепого метода* об этом не осведомлены ни больной, ни врач, а только руководитель испытания (в современном клиническом исследовании нового лекарственного средства участвуют четыре стороны: спонсор исследования (чаще всего это фармацевтическая компания-производитель), монитор – контрактная исследовательская организация, врач-исследователь, пациент). Кроме того, возможны тройные слепые исследования, когда ни врач, ни пациент, ни те, кто организует исследование и обрабатывает его данные, не знают назначенного лечения у конкретного пациента.

Если врачи будут знать, какой пациент лечится каким средством, они произвольно могут давать оценки лечению в зависимости от своих предпочтений или объяснений. Применение слепых методов повышает достоверность результатов клинического испытания, устраняя влияние субъективных факторов. Если больной знает, что он получает новое многообещающее лекарство, то эффект лечения может быть связан с его успокоением, удовлетворенностью тем, что достигнуто самое желанное лечение из возможных.

Плацебо (лат. *placere* – нравиться, цениться) обозначает препарат, заведомо не обладающий никакими целебными свойствами.

Считается, что серьезное изучение эффектов плацебо началось в США во время Второй мировой войны. Фронтovým госпиталям очень не хватало обезболивающих и наркотических средств. Убедившись в который раз, что инъекция физиологического раствора обладает эффектом практически такой же выраженности, что и морфина, анестезиолог Генри Бичер (Henry Beecher), вернувшись на родину, с группой коллег из Гарвардского университета приступил к изучению этого феномена. В 1955 г. он подытожил свои наблюдения в статье «Сильнодействующее плацебо», где утверждал, что плацебо может «вызывать значительные физиологические изменения», включая «объективные эффекты в органах-мишенях, которые могут быть более выраженными, чем вследствие сильного фармакологического воздействия».

Большой энциклопедический словарь определяет плацебо как «лекарственную форму, содержащую нейтральные веще-

ства. Применяют для изучения роли внушения в лечебном эффекте какого-либо лекарственного вещества, в качестве контроля при исследовании эффективности новых лекарственных препаратов». Подмечено, что плацебо-реагирующих больше среди экстравертов (т.е. лиц, чувства которых направлены вовне). Такие пациенты тревожны, зависимы, эмоционально лабильны, отличаются высоким уровнем согласия, готовы сотрудничать с врачами. В то же время плацебо-нереагирующие чаще встречаются среди интровертов (людей, направленных внутрь себя), недоверчивых и подозрительных. Негативные плацебо-эффекты носят название *ноцебо*. Если пациент знает, какие побочные действия имеются у препарата, то в 77 % случаев они возникают у него, когда он принимает плацебо. Вера в тот или иной эффект может обусловить появление побочного действия. Согласно комментарию Всемирной медицинской ассоциации к ст. 29 Хельсинкской декларации, «...применение плацебо оправданно, если это не приведет к повышению риска причинения серьезного либо необратимого ущерба здоровью...», т.е. если больной не останется без эффективного лечения.

Значение впечатления, которое производит на пациента врач и проводимые им манипуляции, хорошо известно из истории по опыту Г. А. Захарьина (1829–1897). Этот выдающийся врач использовал следующую обстановку во время консультаций состоятельных пациентов. После осмотра профессор в одиночестве в специальной затемненной комнате обдумывал диагноз и лечение. В это время в доме должны были соблюдать полную тишину. Впечатление от такой консультации, произведенное на больного и его близких, благоприятно отражалось на результатах лечения и позволяло врачу добиваться поразительных успехов.

Таблица 2

Корреляция между фазами и типами исследований

Классификация исследований в зависимости от целей				
Тип	Цель			
Фармакологическое	Оценить переносимость, установить / описать фармакокинетику и фармакодинамику, исследовать метаболизм и взаимодействие с другими препаратами, оценить активность			
Терапевтическое поисковое	Исследовать применение по определенным показаниям, установить дозировку для последующих исследований, собрать данные для определения дизайна, конечных точек и методологии терапевтического подтверждающего исследования			
Терапевтическое подтверждающее	Доказать / подтвердить эффективность, установить профиль безопасности, предоставить данные для оценки соотношения риска и пользы для регистрации препарата, установить зависимость эффекта от дозы			
Терапевтическое исследование применения	Уточнить отношение риска к пользе вообще и в отдельных популяциях и/или условиях, выявить редкие нежелательные реакции, уточнить рекомендации по дозировке			
Терапевтическое исследование применения				
Терапевтическое подтверждающее				
Терапевтическое поисковое				
Фармакологическое				
	Фаза I	Фаза II	Фаза III	Фаза IV

Примечание. Черные зоны – это типы исследований, которые проводятся на определенной фазе клинического изучения. серые – типы исследований, которые могут проводиться на определенной фазе клинического изучения.

Выдающийся русский терапевт XIX в. М. Я. Мудров лечил «специальными» порошками с названиями «золотой», «серебряный», «простой». Названиям соответствовал цвет бумаги, в которую было завернуто средство. Эти порошки оказывали чудодейственные эффекты, излечивали многие болезни. После смерти врача выяснилось, что в их состав входил хорошо перемолотый мел. Восхищение и радость, с которыми пациенты принимали эти «лекарства», были полезнее самих медикаментов.

Существует термин «полные слепые исследования», когда все стороны исследования не имеют информации о типе лечения у конкретного больного до завершения анализа полученных результатов.

Рандомизированные контролируемые испытания служат стандартом качества научных исследований эффективности лечения. Для исследования сначала отбираются пациенты из большого числа людей с изучаемым состоянием. Затем этих пациентов разделяют случайным образом на две группы, сопоставимые по основным прогностическим признакам. Группы формируются случайным образом (рандомизация) путем использования таблиц случайных чисел, в которых каждая цифра или каждая комбинация цифр имеет равную вероятность отбора. Это означает, что пациенты одной группы будут в среднем обладать теми же характеристиками, что и пациенты другой. Кроме того, до проведения рандомизации следует убедиться в том, что характеристики заболевания, о которых известно, что они сильно влияют на исход, встречаются в экспериментальных и контрольных группах с одинаковой частотой. Для этого надо сначала распределить пациентов по подгруппам с одинаковым прогнозом и только затем рандомизировать их отдельно в каждой подгруппе (стратифицированная рандомизация). Экспериментальная группа (группа лечения) подвергается вмешательству, которое, как ожидается, будет полезным. Контрольная группа (группа сравнения) находится в точно таких же условиях, как и первая, за исключением того, что ее пациенты не подвергаются изучаемому вмешательству.

Дизайн клинического исследования является планом его проведения. Дизайн конкретного клинического исследования зависит от целей, преследуемых исследованием. Существует три

наиболее распространенных варианта дизайна: клиническое исследование в одной группе (*single group design*), клиническое исследование в параллельных группах (*parallel group design*), клиническое исследование в «перекрестной» модели (*crossover group design*).

Клиническое исследование в одной группе (*single group design*). При проведении исследования в одной группе все испытуемые получают одно и то же экспериментальное лечение. Эта модель исследования направлена на то, чтобы сравнить результаты лечения с исходным состоянием. Таким образом, испытуемых не рандомизируют по группам лечения. Модель одной группы может быть использована в I фазе исследований. Модели исследований в одной группе обычно не используют в III фазе клинических исследований. Главным недостатком модели исследований в одной группе является отсутствие группы сравнения. Эффекты экспериментального лечения не могут быть дифференцированы от эффектов других переменных.

Клиническое исследование в параллельных группах (*parallel group design*). При проведении клинических исследований в параллельных группах испытуемые двух или более групп получают различную терапию. Для достижения статистической достоверности (для исключения систематической ошибки) испытуемые распределяются по группам методом случайного распределения (рандомизации). Клинические исследования в дизайне параллельных групп являются дорогостоящими, продолжительными и требуют большого количества испытуемых (при низкой частоте развития учитываемых событий). Однако клинические исследования в параллельных группах являются наиболее объективными в определении эффективности лечения и точными в формулировании выводов. Таким образом, большинство клинических испытаний проводятся в дизайне параллельных групп. Иногда исследования в параллельных группах могут использоваться в двух вариантах – это *факториальная* и *неоднородная* модели.

Факториальный дизайн – это дизайн на основании нескольких (более 2) параллельных групп. Такие исследования проводятся, когда необходимо изучить комбинацию различных препаратов (или различных доз одного препарата). Факториаль-

ная модель полезна при оценке комбинированных лекарственных средств. Недостатком факториальной модели является необходимость привлечения большого количества испытуемых и, как следствие, повышение затрат на проведение исследований.

Неоднородная (прерываемая) модель «прекращения терапии» (Withdrawal (Discontinuation) Design). Неоднородная модель – это вариант исследований в параллельных группах, где все испытуемые вначале получают экспериментальное лечение, затем для продолжения экспериментального лечения пациентов с соответствующими реакциями рандомизируют в группы с применением технологии слепого исследования с двойным контролем или использованием плацебо. Данную модель обычно применяют для оценки эффективности экспериментального лечения путем прекращения приема препарата сразу после появления реакции и регистрации рецидива или ремиссии. Неоднородная модель исследований особенно эффективна для оценки лекарственных препаратов, предназначенных для терапии трудноизлечимых заболеваний. При проведении таких исследований только небольшой процент испытуемых демонстрирует реакции на лечение. В период лечения идентифицируют ответные реакции, а фазу рандомизации по неоднородной модели используют для демонстрации того, что данная реакция является реальной, а не реакцией на плацебо. Кроме того, неоднородные модели используют для изучения рецидивов. Недостатками неоднородных моделей являются большое количество испытуемых, которые изначально получают лечение для выявления ответных реакций, и значительная продолжительность исследования. Подготовительный период должен длиться достаточно долго для того, чтобы состояние пациентов стабилизировалось и более четко выявлялся эффект лекарственного средства.

«Перекрестная» модель (Crossover Design). В отличие от планов исследований в параллельных группах, «перекрестные» модели позволяют оценить эффекты как изучаемых лекарственных препаратов, так и сравнительных курсов лечения на одних и тех же испытуемых. Испытуемых рандомизируют в группы, в которых проводят одинаковое курсовое лечение, но с различной последовательностью. Как правило, между курсами необходим

«отмывочный» период для того, чтобы показатели у пациентов вернулись к исходным, а также для того, чтобы исключить нежелательное влияние остаточных явлений предшествующего лечения на эффекты последующего. «Отмывочный» период необязателен, если анализы индивидуальных реакций испытуемого ограничиваются их сравнением в конце каждого курса, а период лечения длится достаточно долго. В некоторых «перекрестных» моделях используют предварительное «перекрещивание»: пациенты, которых исключают из исследований на стадии лечения, могут быть переведены в группы альтернативного лечения раньше запланированных сроков.

«Перекрестные» модели обычно используют для изучения фармакокинетики и фармакодинамики, когда поставлена задача контроля вариабельности внутри популяции испытуемых. Кроме того, справедливо допущение о том, что эффекты первого курса не оказывают влияния на второй в фармакокинетических и фармакодинамических исследованиях с достаточным «отмывочным» периодом. «Перекрестные» модели являются более экономичными по сравнению с моделями параллельных групп, поскольку в этом случае требуется меньшее количество испытуемых. Однако иногда возникают трудности в интерпретации результатов. Эффекты одной терапии могут смешиваться с эффектами последующей. Бывает сложно отличить эффекты последовательного лечения от эффектов индивидуальных курсов. При проведении клинических испытаний «перекрестная» модель обычно требует больше времени, чем исследования в параллельных группах, из-за того, что каждый пациент проходит не менее двух периодов лечения плюс «отмывочный» период. Эта модель также требует получения большего количества характеристик для каждого пациента. Если клинические условия относительно постоянны в течение всего срока исследований, то «перекрестная» модель является эффективной и надежной. Относительно низкие требования, предъявляемые к объему выборки, делают «перекрестные» модели полезными при ранней клинической разработке для того, чтобы облегчить принятие решений относительно более объемных моделей параллельных исследований.

Конечные точки в клинических исследованиях. Для оценки эффективности нового лекарственного средства по результатам клинических исследований могут быть использованы первичные, вторичные и третичные конечные точки. Эти основные показатели оценивают в контролируемых сравнительных исследованиях по результатам лечения, по крайней мере, в двух группах: основной (больные получают новый способ лечения или новый препарат) и группе сравнения (больные не получают изучаемый препарат или принимают известный препарат сравнения).

Нередко в качестве критериев оценки эффективности вмешательств используют так называемые суррогатные исходы. Под суррогатным исходом в клинических испытаниях понимают лабораторный или выявляемый при физикальном исследовании показатель, заменяющий клинически значимый результат лечения (например, у больных с артериальной гипертензией – снижение АД, при ИБС – снижение концентрации общего холестерина, ЛПНП, при сахарном диабете – нормализация содержания глюкозы в крови, уменьшение размеров опухоли в исследованиях, посвященных лечению рака, и т.д.). Полагают, что изменения этих показателей в ходе лечения должны отразиться и на клинически значимом исходе. При этом известно, что косвенные критерии оценки очень редко, а то и вовсе не отражают важные клинические исходы в клинических испытаниях.

В окончательных клинических испытаниях в качестве основного критерия оценки должен использоваться истинный клинический исход – клиническое проявление, имеющее существенное значение для больного. Например: смерть, потеря зрения, необходимость применения искусственной вентиляции легких и иные явления, существенно снижающие качество жизни. Исследования, в которых изучаются такого рода клинические исходы, требуют значительных материальных и временных затрат.

Смысл последовательного проведения испытаний от 1-й к 4-й фазе заключается в постепенном расширении объема исследований, что позволяет уменьшить риск возможного отрицательного воздействия препарата на больного и более тщательно определить показания и противопоказания к его применению.

В ряде случаев для получения более исчерпывающей информации о новом препарате прибегают к многоцентровым международным исследованиям.

1.4.2. Продолжительность клинических исследований

Клинические исследования – это не единственная часть процесса разработки нового препарата. Перспективные вещества сначала должны быть обнаружены, охарактеризованы, протестированы в лабораториях (*in vivo* и *in vitro*), прежде чем компания сможет инициировать клинические исследования. Например, препарат для лечения онкологических заболеваний доходит до стадии клинических исследований в среднем только через 6 лет после того, как новая молекула была идентифицирована и началось ее изучение. Но самый продолжительный этап в разработке препарата – это клинические исследования. В среднем от момента, когда начинаются клинические исследования онкологического препарата, до момента, когда препарат получает одобрение в уполномоченном органе здравоохранения, проходит почти 7 лет. Для препаратов других терапевтических групп сроки приблизительно такие же.

Можно назвать следующие причины того, что клинические исследования длятся годами:

- в случае с хроническими заболеваниями, например онкологическими, увидеть, насколько препарат эффективен, можно только через месяцы, а то и годы;

- набор пациентов в исследование может занять несколько лет, если речь идет о большом исследовании или исследовании препарата для лечения редкого заболевания;

- не все пациенты, страдающие определенным заболеванием, могут принять участие в исследовании. Исследователи должны их идентифицировать (проверить на соответствие критериям включения и исключения) и получить информированное согласие на участие.

Самый значительный барьер для набора пациентов в клиническое исследование – это их нехватка. Возможности участия в клиническом исследовании для популяции, страдающей опре-

деленным заболеванием, ограничены критериями включения и исключения. Это значит, что не каждый пациент, который хочет принять участие, сможет участвовать. Например, для исследования некоторых препаратов могут потребоваться необычные комбинации характеристик заболевания. Найти подходящих пациентов и получить их согласие, особенно когда пациенту участие в исследовании не сулит прямой выгоды, сложно (причинами этого может быть то, что участие в клинических исследованиях II–IV стадий не оплачивается, эффективность препарата не доказана, пациент может получить плацебо).

Менее 5 % общего числа онкологических больных могут принять участие в исследованиях. По данным американской Ассоциации разработчиков и производителей лекарственных средств, около 800 онкологических препаратов были исследованы в США в 2009 г., не все из этих препаратов зарекомендовали себя как эффективные и безопасные, но многие из них, скорее всего, были зарегистрированы с задержкой, потому что скорость набора пациентов очень низка.

Клинические исследования препаратов, предназначенных для лечения сезонных заболеваний и синдромов (*сезонной аллергии, гриппа, ОРВИ и пр.*), могут проводиться только в определенное время года (например, весной, если речь идет о сезонной аллергии).

Постепенно на основании уже существующих национальных требований к качеству лекарственных препаратов и принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) сформировались и были законодательно оформлены правила проведения клинических исследований в европейских странах. Через какое-то время была осознана необходимость сближения требований к проведению клинических исследований. В апреле 1990 г. в Брюсселе состоялось совещание представителей США, Японии и Европейского экономического сообщества. Целью этого совещания, которое потом получило название 1-й Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации фармацевтических продуктов, предназначенных для применения человеком (International Conference on Harmonization of Technical

Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH-1), была попытка выработать общие правила проведения клинических исследований. Затем подобные совещания прошли в Орландо, США, в 1993 г. (ICH-2) и Йокагаме, Япония, в 1995 г. (ICH-3). 1 мая 1996 г. международная экспертная группа закончила работу над единым документом. В письме, которое было распространено от имени экспертной группы, содержался текст документа «Международные гармонизированные трехсторонние правила Good Clinical Practice (ICH Harmonized Tripartite Guideline for Good Clinical Practice, сокращенно – ICH GCP)» и призыв к участникам процесса гармонизации придать ему силу закона. В 1997 г. ICH GCP начал действовать в США, ЕС и Японии.

В 1998 г. в России был принят ОСТ 42-51199 «Правила проведения качественных клинических испытаний в РФ», в основу которого был положен ICH GCP.

В 2005 г. текст, идентичный ICH GCP, был принят в России в качестве национального **ГОСТ Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика»**.

При следовании этому стандарту полученные результаты являются достоверными, а пациенты не подвергаются необоснованному риску, соблюдаются их права и конфиденциальность личной информации. «Соблюдение указанного стандарта служит для общества гарантией того, что права, безопасность и благополучие субъектов исследования защищены, согласуются с принципами, заложенными Хельсинкской декларацией ВМА, и что данные клинического исследования достоверны».

Таким образом, в настоящее время процедура тестирования лекарств достаточно сложна, дорога и требует значительно времени (2–5 лет тестирования в клинике и от 100 млн долл. на одно соединение-кандидат, рис. 7).

I этап	II этап	III этап	IV этап
<p>1.Согласование потребности здравоохранения и научных направлений ученых</p> <p>2. Пути поиска ФАВ: Эмпирический поиск Модификация химической структуры Целенаправленный синтез ФАВ Комбинирование лекарств 0,5 - 1 год</p>	<p>Фармакологические исследования ФАВ:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Фармакологический скрининг •Определение LD₅₀ (ориентировочно) •Выявление зависимости "структура-действие" <p>Фармацевтические исследования ФАВ:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Изучение физико-химических свойств ФАВ •Наработка ФАВ для доклинического изучения <p>1-3 года</p>	<p>Доклиническое изучение ФАВ и ФП.</p> <p>Фармакологические исследования:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Специфического действия (определение ED₅₀, сравнение со стандартным препаратом, изучение на адекватных моделях) •Острой, хронической и специфической токсичности (разные пути введения и виды животных) •Фармакокинетики <p>•Составление инструкции и программы клинических испытаний</p> <p>Фармацевтические исследования:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Создание лекарственной формы •Разработка проекта ВФС на ФП •Создание НТД на ФП •Наработка ФП на клинические испытания <p>2-5 лет</p>	<p>Клиническое изучение ФП:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Государственный Фармакологический центр •Государственный Фармакопейный центр •Клинические испытания ФП •Утверждение названия лекарства •Разрешение к медицинскому применению лекарства •Разрешение к промышленному выпуску лекарства •Освоение промышленного выпуска нового лекарства <p>•Аптеки 2-5 лет</p>

Рис. 7. Процесс разработки нового лекарства, занимающий от 5 до 14 лет. Суммарная стоимость разработки с учетом препаратов, не достигших рынка, часто превышает 1 млрд долл.

Юридически процесс клинических исследований новых препаратов имеет очень много нюансов, так как они требуют огромного количества сопроводительной документации (в сумме несколько тысяч страниц), разрешений, сертификатов и т.д. Кроме того, многие формальные процедуры сильно отличаются в разных странах в силу их законодательства.

Исходя из этого, для решения этих многочисленных вопросов существуют специальные компании, принимающие от крупных фармацевтических компаний заказ на проведение клинических испытаний и перенаправляющие их в конкретные клиники, которые сопровождают весь процесс полной документацией и следят, чтобы никакие формальности не были нарушены.

Раздел III

ФАРМАКОДИНАМИКА, ФАРМАКОКИНЕТИКА (ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И МОДЕЛИ)

Итак, при фармакологическом исследовании потенциальных препаратов подробно изучается *фармакодинамика* веществ – их специфическая активность, *фармакокинетика* веществ – всасывание, распределение и превращение в организме, а также пути выведения.

1. ФАРМАКОДИНАМИКА

Фармакодинамика (*греч.* pharmakon – лекарство + dynamikos – сильный) – наука, раздел фармакологии, изучающий биохимические эффекты и физиологическое действие лекарств на тело человека, на микроорганизмы или паразитов, находящихся внутри тела человека или снаружи. Она также изучает механизмы действия лекарств, связь между концентрацией лекарственных веществ и достигнутым ими действием.

Влияние лекарственных веществ на функции органов и систем обусловлено прямым или косвенным действием веществ на биохимические субстраты, которые опосредуют те или иные функции органов. Большинство лекарственных веществ взаимодействует с функционально значимыми макромолекулами или их фрагментами, которые обозначают как специфические рецепторы. Специфические рецепторы могут находиться в клеточной мембране (холинорецепторы, адренорецепторы, дофаминовые рецепторы, ГАМК-рецепторы, бензодиазепиновые рецепторы и др.), в цитоплазме клеток (рецепторы стероидных гормонов), клеточных ядрах (рецепторы ряда противоопухолевых средств). Кроме того, в качестве специфических рецепторов рассматриваются активные центры ряда ферментов (ацетилхолинэстеразы, моноаминоксидазы и др.). Некоторые специфические рецепторы (например, н-холинорецепторы скелетных мышц) выделены в изолированном виде, и установлено их химическое строение. Структура многих специфических рецепто-

ров неизвестна, и о их существовании судят по косвенным показателям.

Лекарственные вещества могут взаимодействовать со специфическими рецепторами за счет различных химических связей, имеющих неодинаковую прочность. Такого рода связи обеспечивают обычно временное, обратимое соединение лекарственных веществ с рецепторами. В отдельных случаях образуются ковалентные связи между веществом и рецептором, что обуславливает длительное, иногда необратимое действие лекарственных средств (например, алкилирующих противоопухолевых препаратов).

Прочность связывания вещества с рецепторами обозначают термином «*аффинитет*». Вещества, действующие на одни и те же рецепторы, могут обладать по отношению к ним разным аффинитетом. При этом вещества с более высоким аффинитетом могут вытеснять из соединения с рецепторами вещества с меньшим аффинитетом.

Способность лекарственных веществ, вследствие их взаимодействия со специфическими рецепторами, вызывать биохимические или физиологические реакции обозначают как их внутреннюю активность. Максимальный эффект может быть достигнут при «оккупации» веществом лишь части специфических рецепторов.

Вещества, обладающие аффинитетом и внутренней активностью, называют *агонистами*. При этом вещества с высокой внутренней активностью называют *полными агонистами*, а вещества с низкой внутренней активностью – *частичными (парциальными) агонистами*. Вещества, обладающие аффинитетом, но не имеющие внутренней активности и препятствующие действию агонистов, называют *антагонистами*. Фармакологическое действие антагонистов проявляется в ослаблении или устранении эффектов агонистов. Вещества могут действовать как агонисты в отношении одних подтипов рецепторов и как антагонисты в отношении других. Такие вещества обозначают как агонисты-антагонисты.

Специфические рецепторы могут иметь одни и те же или разные места связывания для агонистов и антагонистов. В случае, когда места связывания агониста и антагониста одни и те

же и блокирующее действие антагониста полностью устраняется при повышении количества агониста, антагонизм этих веществ называют конкурентным. При различии мест связывания агониста и антагониста их взаимодействие определяют как неконкурентный антагонизм.

Стимулируя специфические рецепторы, агонисты вызывают изменения функций органов и систем (например, изменяют силу и частоту сокращений сердца, АД, тонус гладких мышц внутренних органов, секрецию желез и т.д.) Такие изменения, вызываемые лекарственным веществом, обозначают как фармакологические эффекты данного вещества. Фармакологические эффекты антагонистов определяются тем, что они препятствуют действию эндогенных или вводимых в организм агонистов специфических рецепторов (например, антагонист м-холинорецепторов атропин препятствует действию их агониста ацетилхолина). В связи с этим выраженность фармакологических эффектов антагонистов зависит от величины эффектов агонистов, действие которых антагонисты устраняют.

В отдельных случаях фармакологические эффекты лекарственных веществ не связаны с их влиянием на какие-либо специфические рецепторы. Так, осмотические диуретики (маннит и др.) не влияют на специфические рецепторы почек. Их действие определяется повышением осмотического давления фильтрата в почечных канальцах, в связи с чем нарушается реабсорбция воды. По-видимому, нет специфических рецепторов для ингаляционных средств, применяемых для наркоза, этилового спирта, их фармакологические эффекты связаны с аккумуляцией этих веществ в клеточных мембранах и нарушением функции мембран.

Способы, которыми лекарственные вещества вызывают те или иные фармакологические эффекты, обозначают термином «механизмы действия». Это понятие используют для объяснения действия лекарственных веществ на молекулярном, органном и системном уровнях.

К фармакодинамике относят также виды действия лекарственных средств. Различают местное, резорбтивное и рефлекторное действие, главное и побочное, прямое и косвенное, обратимое и необратимое, избирательное и неизбирательное, тера-

певтическое и токсическое. Под местным подразумевают действие, развивающееся в месте введения лекарственного вещества. Местное действие характерно для местно-анестезирующих и вяжущих средств. Резорбтивным обозначают такое действие лекарственных веществ, которое развивается после их всасывания (резорбции) и попадания в общий кровоток. Рефлекторное действие развивается в результате влияния веществ на экстеро- и интерорецепторы, что приводит к изменению возбудимости соответствующих нервных центров и функций каких-либо внутренних органов. Рефлекторное действие может проявляться, например, при применении раздражающих средств.

Главным (основным) называют действие веществ, которое используется в лечебных или профилактических целях в каждом конкретном случае (в других случаях оно может быть побочным). Нежелательное действие лекарственных веществ при их применении в терапевтических дозах называют побочным. Примером прямого действия может быть эффект сердечных гликозидов на сердце, а возникающее при этом увеличение диуреза, связанное с улучшением кровоснабжения почек, расценивают как косвенное действие препаратов данной группы. Большинство лекарственных средств действуют обратимо, однако возможно и необратимое действие, например блокада ацетилхолинэстеразы фосфорорганическими соединениями.

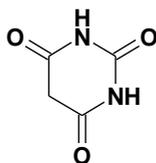
Избирательным считают действие лекарственных веществ в том случае, если они взаимодействуют с функционально одинаковыми рецепторами и не влияют на другие рецепторы. Примером избирательного действия является мышечно-расслабляющее действие ряда курареподобных средств (например, ардуана, векурония), которые взаимодействуют только с н-холинорецепторами скелетных мышц и в терапевтических дозах мало влияют на другие органы и системы. Однако полная избирательность действия практически не встречается, в связи с чем вместо термина «избирательное действие» часто употребляют термин «преимущественное действие». Большинство веществ оказывают влияние одновременно на многие органы и системы организма и, таким образом, действуют неизбирательно.

Каждое лекарственное средство принято использовать в определенном диапазоне доз или концентраций, которые назы-

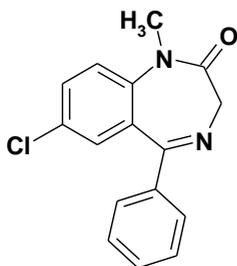
вают терапевтическими. Действие лекарств в этих дозах или концентрациях называют терапевтическим, а действие лекарственных веществ в дозах и концентрациях, которые превышают терапевтические, обозначают как токсическое.

Фармакодинамика лекарственных веществ зависит от их свойств, способов их применения и особенностей организма, на который эти вещества воздействуют. Важнейшим фактором, определяющим действие лекарственных веществ, является их химическое строение.

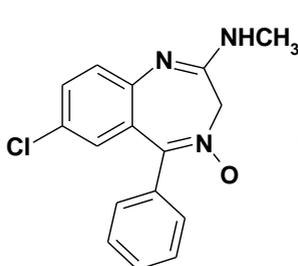
Обычно соединения со сходной химической структурой, например барбитураты (передозировка проявляется нарушением сознания, сонливостью, комой, снижением АД, отеком легких и может вести к смерти), действуют одинаково. Лечение заключается в связывании и удалении препарата из ЖКТ, в повторном назначении активированного угля, если применялись барбитураты длительного действия. Гемосорбция и гемодиализ могут быть применены при тяжелом отравлении барбитуратами (как короткого, так и длительного действия), бензодиазепинами (основные клинические проявления: слабость, атаксия, кома, угнетение дыхания):



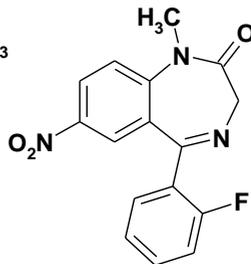
Барбитуровая кислота



Валиум



Либриум

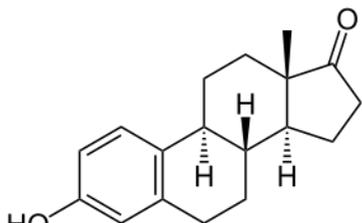


Рогипнол

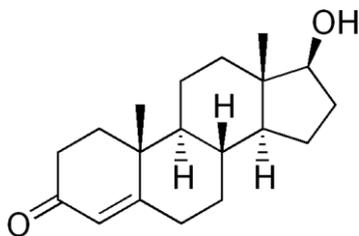
Иногда очень близкие по строению вещества проявляют неодинаковое и даже противоположное действие (например, эстрогены и андрогены).

Эстрогены – общее собирательное название подкласса стероидных гормонов, производимых в основном фолликулярным аппаратом яичников у женщин. В небольших количествах эстрогены производятся также яичками у мужчин и корой надпочечников у обоих полов.

Андрогены – общее собирательное название группы стероидных гормонов, производимых половыми железами (яичками у мужчин и яичниками у женщин) и корой надпочечников и обладающих свойством развития мужских вторичных и третичных половых признаков у обоих полов:



Эстрон



Тестостерон

Определенное значение для фармакодинамики лекарственных средств могут иметь и их физические и физико-химические свойства: растворимость в воде и липидах, летучесть, степень диссоциации и др.

На фармакодинамику лекарственных веществ могут оказывать влияние пол, возраст, функциональные и патологические состояния, а также генетические особенности организма. Так, мужчины более устойчивы к токсическому действию веществ, которые инактивируются микросомальными ферментами печени. Это связано с тем, что андрогены стимулируют активность указанных ферментов. Система микросомальных ферментов несовершенна у новорожденных и в значительной степени утрачивает свою активность в пожилом возрасте. Ввиду этого новорожденные и лица пожилого возраста более чувствительны к действию многих лекарственных средств по сравнению с людьми.

ми среднего возраста. Лекарственные средства, стимулирующие какие-либо функции, более эффективны на фоне их угнетения, например стимуляторы ЦНС более эффективны на фоне угнетения ЦНС, гормональные препараты более эффективны на фоне угнетения продукции соответствующих гормонов. Наоборот, вещества угнетающего действия более эффективны на фоне активации соответствующих функций. Некоторые лекарственные препараты (жаропонижающие средства, антидепрессанты и др.) оказывают терапевтическое действие только в условиях патологии. Генетически обусловленные энзимопатии могут быть причиной необычных реакций на лекарственные средства (*идиосинкразия*).

2. ФАРМАКОКИНЕТИКА

Фармакокинетика (*греч.* *pharmakon* – лекарство, *kinētikos* – относящийся к движению) – раздел фармакологии, изучающий закономерности всасывания, распределения, метаболизма и выделения лекарственных средств. Исследование этих закономерностей основано на математическом моделировании указанных процессов. Определение фармакокинетических характеристик лекарственных веществ является важной частью их доклинического и клинического испытания. Не следует забывать, что фармакокинетика – это наука о действии тела на лекарство, тогда как фармакодинамика – это наука о действии лекарства на тело человека.

Каждое лекарственное вещество подвергается в организме всасыванию, распределению и выделению (экскреции). Подавляющее большинство лекарственных веществ подвержены в организме также метаболическим превращениям.

Динамический фармакокинетический процесс можно представить в виде ряда взаимосвязанных этапов:

1. Освобождение лекарственного средства из лекарственной формы.

2. Абсорбция лекарственного средства – проникновение через биологические мембраны в сосудистое русло и далее в ткани к специфическому клеточному рецептору.

3. Распределение лекарственного средства в биологических жидкостях, органах и тканях организма.

4. Создание терапевтически значимой концентрации препарата в органах и тканях-мишенях и реализация конкретного фармакологического эффекта.

5. Биотрансформация и конъюгация лекарственного средства, включающая биохимические процессы превращения (метаболизма) лекарственных средств с изменением их фармакологических свойств и образованием метаболитов, которые могут выводиться из организма.

6. Экскреция, включающая физиологические и биохимические процессы, направленные на выведение лекарственных средств и(или) их метаболитов через различные анатомо-физиологические системы выделения.

ЛС проникают в клетку благодаря разным механизмам. Так, липофильные вещества всасываются главным образом путем пассивной диффузии через мембраны. Гидрофильные вещества с невысоким молекулярным весом (массой) проникают путем фильтрации через поры биологических мембран. Многие вещества всасываются за счет активного транспорта их молекул с помощью транспортных систем клеточных мембран.

2.1. Фармакокинетические модели

Для количественного описания процессов абсорбции, распределения, метаболизма и выведения ЛВ из организма используются специальные кинетические модели. Простейший вариант – линейные модели, когда все формализуемые процессы описывают кинетическими уравнениями первого порядка. Один из таких вариантов – однокамерная модель, в которой весь организм представлен как единое целое. На примере однокамерной модели удобно рассматривать основные фармакокинетические показатели, такие как объем распределения, клиренс, период полувыведения. Однако следует отметить, что лежащее в основе этой модели предположение о гомогенности распределения молекул ЛВ в организме является слишком упрощенным. Кинетическое поведение ЛВ более адекватно описывается с помощью двухкамерных или многокамерных моделей.

Абсорбция

Процесс перемещения ЛВ от места введения к месту обнаружения. Характеризуется скоростью и количеством поглощенного ЛВ и зависит от способа его введения. Наиболее быстрое поступление ЛВ в организм обеспечивает внутривенное введение.

Всасывание лекарственного вещества – это процесс поступления его из места введения в кровеносное русло, который зависит не только от путей введения, но и от растворимости лекарственного вещества в тканях, скорости кровотока в этих тканях и от места введения. Различают ряд последовательных этапов всасывания лекарственных средств через биологические барьеры:

1. *Пассивная диффузия*. Таким путем проникают хорошо растворимые в липоидах лекарственные вещества, и скорость их всасывания определяется разностью их концентрации с внешней и внутренней стороны мембраны.

2. *Активный транспорт*. В этом случае перемещение веществ через мембраны происходит с помощью транспортных систем, содержащихся в самих мембранах.

3. *Фильтрация*. Лекарства проникают через поры, имеющиеся в мембранах, причем интенсивность фильтрации зависит от гидростатического и осмотического давления.

4. *Пиноцитоз*. Процесс транспорта осуществляется посредством образования из структур клеточных мембран специальных пузырьков, в которых заключены частицы лекарственного вещества, перемещающиеся к противоположной стороне мембраны и высвобождающие свое содержимое. Прохождение лекарственных средств через пищеварительный тракт тесно связано с их растворимостью в липидах и ионизацией. Установлено, что при приеме лекарственных веществ внутрь скорость их абсорбции в различных отделах ЖКТ неодинакова. Пройдя через слизистую оболочку желудка и кишечника, вещество поступает в печень, где под действием ферментов печени подвергается значительным изменениям. На процесс всасывания лекарства в желудке и кишечнике оказывает влияние рН. Так, в желудке рН 1–3, что способствует более легкому всасыванию кислот, а повышение в тонкой и толстой кишках рН до 8 – оснований. В

то же время в кислой среде желудка некоторые препараты могут разрушаться, например бензилпенициллин. Ферменты ЖКТ инактивируют белки и полипептиды, а соли желчных кислот могут ускорить всасывание лекарств или замедлить, образуя нерастворимые соединения. На скорость всасывания в желудке влияют: состав пищи, моторика желудка, интервал времени между едой и приемом препаратов.

Не всегда замедление всасывания сопровождается уменьшением общего количества ЛС, попадающего в системное кровообращение, оно приводит лишь к снижению максимальной концентрации его в крови и увеличению времени ее достижения. Поскольку терапевтический эффект зависит от концентрации ЛС в крови, а не от поступившей в организм дозы, замедление всасывания может привести к утрате эффекта, особенно в случае назначения препаратов с небольшим периодом полувыведения (например, фуросемида). Следовательно, если нужно быстро создать высокую концентрацию, то лучше принимать препарат до еды (если нет индивидуальных противопоказаний). При отсутствии экстренных ситуаций, когда необходимо проводить поддерживающую терапию, то целесообразнее назначать препараты после еды. Пищеварительные ферменты и витамины целесообразнее назначать во время еды, солевые препараты и большинство растительных настоек – после еды (если нет специальных показаний). В то же время следует учесть, что снижение всасывания (и биодоступности) при приеме с пищей некоторых препаратов еще не является показанием к их назначению перед едой, так как при этом ЛС может оказывать раздражающее действие, вызывать обострение гастрита, язвенной болезни или способствовать развитию диспепсических явлений.

Распределение лекарственных средств в организме

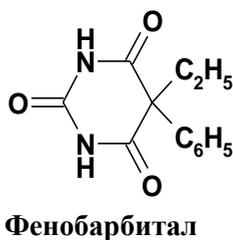
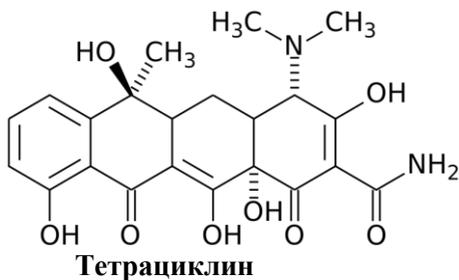
Обеспечивается системой кровообращения. Биологические мишени, с которыми связываются ЛВ, находятся в разных органах и тканях. Фармакологический эффект препарата зависит не только от того, как быстро и в каком количестве абсорбируется вещество, но и от того, как оно распределяется.

Равномерному распределению лекарств препятствуют мембраны органов, клеток и клеточных органелл. При переносе лекарственного средства через мембраны возможно его частич-

ное связывание с ингредиентами биологических жидкостей по обе стороны мембраны. Существуют разные типы связывания лекарственных средств, отличающиеся по степени специфичности. Наиболее универсально связывание лекарств на поверхности белковых молекул, главным образом альбуминов крови. Оно происходит за счет гидрофобного взаимодействия и характеризуется быстрой обратимостью. В картине общего распределения препаратов их связывание с белками крови имеет двоякое значение. С одной стороны, оно может сопровождаться понижением концентрации активного препарата и в соответствии с этим ослаблением эффекта; с другой стороны, связывание способствует депонированию препарата и тем самым продлевает его пребывание в организме. Так, медленное выведение и значительная продолжительность эффекта сульфаниламидов длительного действия и доксициклина во многом обусловлены высокой степенью связывания этих препаратов с белками крови.

Вещества с небольшой молекулярной массой и водорастворимые быстрее всего проникают в клетки через водные поры. Наибольшее количество пор содержат мембраны капилляров. Через стенки сосудов лекарства поступают в экстравазкулярную жидкость. Клетки ЦНС содержат очень малое количество водных пор и вещества должны обладать значительной липофильностью, чтобы проникнуть в мозговую ткань. Распределение препарата при наличии в его структуре кислотных или основных функциональных групп также зависит от соотношения ионизированной и неионизированной форм.

Известно также специфическое связывание лекарств некоторыми тканями. Так, хорошо растворимые в липидах вещества, например барбитураты, депонируются в жировой ткани. При выходе из наркоза или при диализе по поводу отравления барбитуратами проявляется феномен так называемого вторичного сна, развивающийся вследствие мобилизации этих веществ из жировых депо. Другим примером специфического депонирования лекарств у человека является накопление тетрациклинов в растущей костной ткани и дентине зубов:



Наиболее важным участком связывания лекарственных веществ являются специфические рецепторы. В области специфического рецептора концентрация лекарственного средства значительно превышает его концентрацию в окружающей биологической жидкости, но ввиду относительно малого размера рецептора это связывание обычно практически не отражается на общей картине распределения препарата в организме.

Выведение лекарственных веществ

Эффект ЛС снижается со временем за счет распределения ЛВ между тканями, кумуляции и образования депо, например для липофильных веществ в адипоцитах, а также выделения вещества в неизменном виде или экскреции его метаболитов.

Выведение состоит из метаболизма, почечной (ренальной) и желчной (билиарной) экскреции, выведения через легкие, пототделения и лактации.

Процесс выделения ЛВ изучают как с помощью радиоактивной метки, включенной в структуру исследуемого вещества, так и специфическими методами, так как метаболиты тоже содержат метку. Наиболее важными органами, через которые осуществляется экскреция, являются почки и печень. Все низкомолекулярные соединения, которые не связываются с протеинами с большой молекулярной массой, фильтруются через почки. Количество вещества, выводимого из организма с мочой, зависит от трех процессов в почках: клубочковой фильтрации, канальцевой реабсорбции, а также канальцевой секреции.

Метаболизму подвергаются все вещества, в том числе и лекарственные, независимо от путей их введения в организм.

Образовавшиеся продукты превращения называются *метаболитами*.

Метаболиты лекарственных веществ могут быть токсичными, фармакологически активными, а также совершенно неактивными в фармакологическом отношении. Изучение метаболизма позволяет установить механизм действия лекарственного вещества, фармакологическую активность или токсичность метаболитов, скорость их накопления или выведения из организма.

Выделение ЛВ через пот и с выдыхаемым воздухом для препаратов, предназначенных для перорального применения, не имеет особого значения. Выделение же ЛВ с грудным молоком может существенным образом сказаться на состоянии организма новорожденных, поэтому эти исследования составляют интегральную часть фармакологических испытаний новых ЛС.

Принято разделять лекарственные вещества на *свойственные организму* и *чужеродные ему*. Свойственные организму вещества – гормоны, витамины, аминокислоты, сахара, жирные кислоты, нуклеозиды, полинуклеотиды – метаболизируются специфическими ферментными системами, обеспечивающими функцию организма.

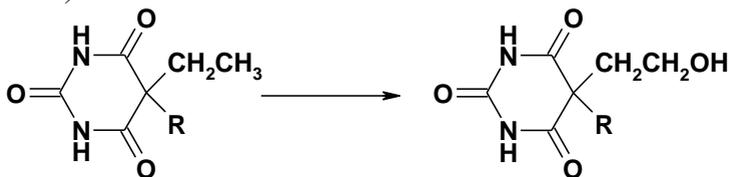
Большинство синтетических органических и неорганических соединений, а также природные вещества растительного происхождения являются чужеродными организму. Их называют также *ксенобиотиками*. Они метаболизируются главным образом в микросомах клеток с участием различных неспецифических ферментов (оксидаз, трансфераз и др.). Препараты, слабо растворимые в липидах, выделяются преимущественно почками в неизменном виде. Препараты, относительно хорошо растворимые в липидах, подвергаются в почках обратному всасыванию эпителием канальцев и поступают вновь в систему кровообращения. Такие вещества выделяются почками лишь после того, как они путем метаболических превращений образуют хорошо растворимые в воде (полярные) соединения, т.е. ксенобиотики, растворимые в липидах, медленно выводятся из организма и медленнее метаболизируются, а поэтому накапливаются в нем. Металлы (ртуть, мышьяк, свинец, серебро и др.) образуют с белком прочную ковалентную связь и также накапливаются.

В организме могут происходить как процессы синтеза, так и процессы разрушения молекул лекарственных веществ, т.е. химические превращения. Метаболические превращения лекарств в организме условно делят на два вида процессов – **биотрансформацию** и **конъюгацию**.

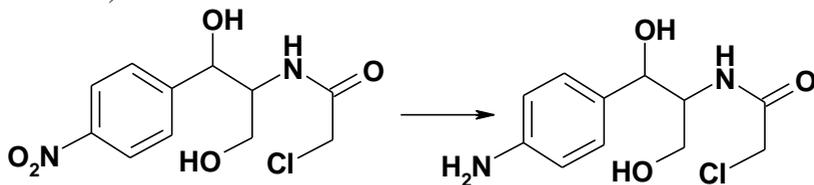
Под **биотрансформацией** подразумевают реакции (окисление, восстановление, гидролиз), при которых одна функциональная группа молекулы лекарственного средства превращается в другую или в неполярное соединение вводится полярная группа. Большинство лекарственных средств подвергаются в организме биотрансформации. В неизменном виде главным образом выделяются высокогидрофильные ионизированные соединения. Из липофильных средств исключения составляют средства для ингаляционного наркоза, основная часть которых в химические реакции в организме не вступает. Они выводятся легкими в том виде, в котором в организм поступили. В биотрансформации принимают участие многие ферменты различной локализации (преимущественно печени, кишечника, плазмы).

Примеры:

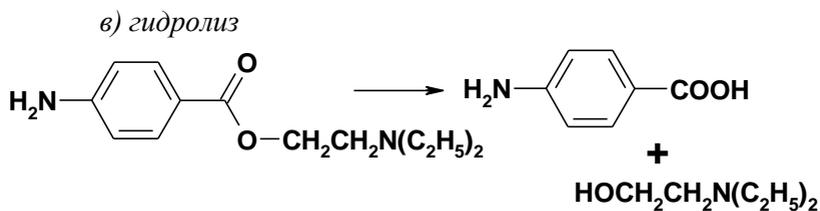
а) окисление



б) восстановление



Левомицитин

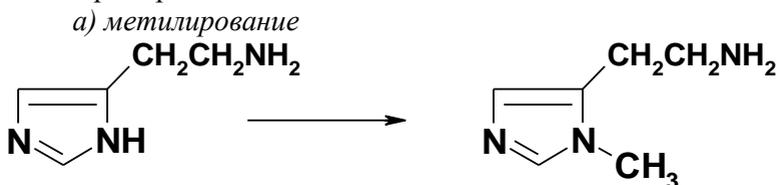


Новокаин

К реакциям **конъюгации** (вторая фаза метаболизма) относятся биосинтетические процессы соединения лекарственных средств с эндогенными веществами, например с глюкуроновой (органические кислоты в печени – конъюгаты), серной и уксусной кислотами, а также с α -аминокислотами или метильным радикалом. Этот процесс также приводит к увеличению полярности молекул и облегчает выведение их из организма с мочой.

Конъюгация способствует детоксикации, так как в результате этого процесса происходят большие изменения в свойствах лекарства или яда.

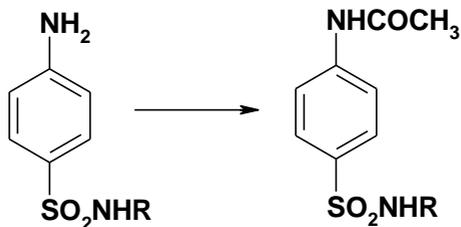
Примеры:



Гистамин

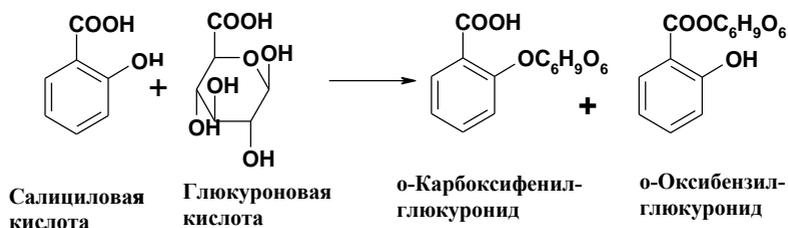
N-метилгистамин

б) ацетилирование (взаимодействие с остатками уксусной кислоты)

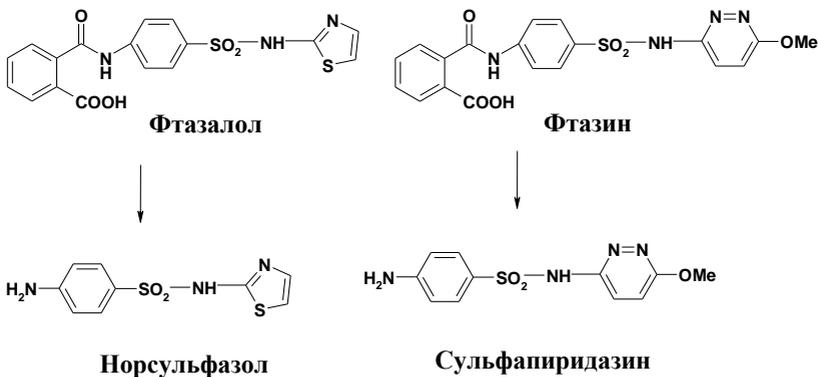


Сульфаниламид

в) взаимодействие с глюкуроновой кислотой



Благодаря биотрансформации и конъюгации повышается гидрофильность лекарственных средств, т.е. биологическое значение биотрансформации и конъюгации заключается в подготовке липидорастворимых лекарственных веществ к выведению из организма. При этом обычно происходит ослабление или наступает полная утрата фармакологической активности лекарственных веществ. Однако в процессе биотрансформации метаболиты некоторых препаратов могут становиться активнее исходных лекарств. Так, фталазол (дизентерия, энтероколит, колит) и фтазин (дизентерия, колит, гастроэнтерит; оперативные вмешательства на кишечнике для предупреждения гнойных осложнений) в процессе метаболизма в организме образуют более активные молекулы норсульфазола (инфекционные заболевания – ангина, пневмония, дизентерия и др.) и сульфапиридазина (пневмония, бронхопневмония, бронхит, тонзиллит, фарингит, гнойный отит, бациллярная дизентерия, энтероколит, холангит, холецистит, пиелит, цистит, трахома):



Значительно реже метаболизм приводит к образованию токсических для организма веществ. Так, например, токсичность метилового спирта обусловлена происходящим в организме окислением его молекулы до формальдегида и муравьиной кислоты.

Итак, химические процессы, происходящие в организме с введенным лекарственным веществом, характеризуют механизм его действия, распределения, локализацию, инактивацию или превращение в активный метаболит и, наконец, выведение из организма.

Лекарственные средства, их метаболиты и конъюгаты в основном выводятся с мочой и желчью. В почках низкомолекулярные соединения, растворенные в плазме (не связанные с белками), фильтруются через мембраны капилляров клубочков и капсул (рис. 8).

Нефрон (от греч. nephros – почка) – основная структурно-функциональная единица почек.

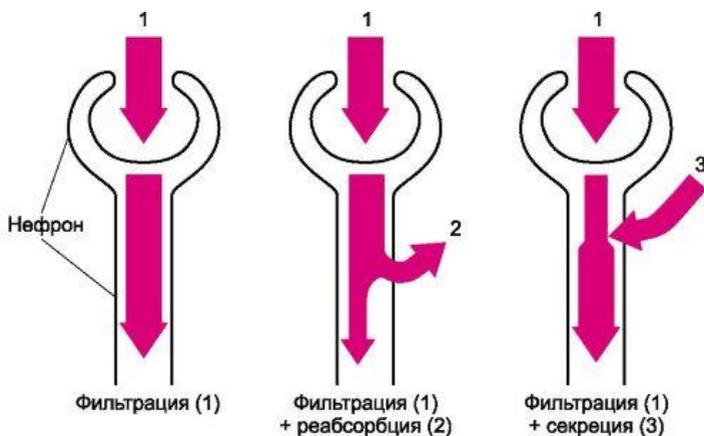


Рис. 8. Принципы выведения веществ почками

Кроме того, существенную роль играет активная секреция (выделение) веществ в проксимальных канальцах с участием транспортных систем. *Канальцевая секреция* – это транспорт веществ из крови в просвет канальцев (мочу). Канальцевая секреция позволяет быстро экскретировать некоторые ионы, например калия, органические кислоты (мочевая кислота) и основания (холин, гуанидин), включая ряд чужеродных организму веществ, таких как антибиотики (пенициллин), рентгеноконтрастные вещества (диодраст), красители (феноловый красный), парааминогиппуровую кислоту – ПАГ.

Ряд препаратов (тетрациклины, пенициллины, дифенин, колхицин и др.) и особенно продукты их превращения в значительном количестве выделяются с желчью в кишечник, откуда частично выводятся с экскрементами, а также могут повторно всасываться и в последующем вновь выделяться в кишечник и так далее – так называемая кишечно-печеночная циркуляция, или печеночная рециркуляция.

Выведение веществ в значительной степени зависит от процесса их реабсорбции (обратное всасывание) в почечных канальцах.

Канальцевая реабсорбция – это процесс обратного всасывания воды и веществ из содержащейся в просвете канальцев

мочи в лимфу и кровь. Основным смыслом реабсорбции состоит в том, чтобы сохранить организму все жизненно важные вещества в необходимых количествах. Обратное всасывание происходит во всех отделах нефрона. Основная масса молекул реабсорбируются в проксимальном отделе нефрона. Здесь практически полностью абсорбируются аминокислоты, глюкоза, витамины, белки, микроэлементы, значительное количество ионов Na^+ , Cl^- , HCO_3^- и многие другие вещества. Лекарственные средства реабсорбируются главным образом путем простой диффузии. Это касается в основном липофильных неполярных соединений, хорошо проникающих через биологические мембраны. Полярные соединения плохо реабсорбируются из почечных канальцев. В связи с этим для выведения слабых кислот и оснований важное значение имеет рН мочи. Так, при щелочной реакции мочи повышается выведение кислых соединений (например, кислоты салициловой, фенобарбитала), а при кислой – оснований (имирина и др.). Обусловлено это тем, что в указанных условиях соединения ионизированы и практически не реабсорбируются из почечных канальцев.

Газообразные и многие летучие вещества (например, средства для ингаляционного наркоза) выводятся в основном легкими.

Отдельные препараты выделяются слюнными железами (йодиды), потовыми железами (противолепрозное средство дитофал), железами желудка (хинин, никотин) и кишечника (слабые органические кислоты), слезными железами (рифампицин). Следует также учитывать, что в период лактации молочными железами выделяются многие вещества, которые получает кормящая мать (снотворные, болеутоляющие средства, спирт этиловый, никотин и др.). В связи с этим требуется особая осторожность в назначении матери лекарственных средств, так как с молоком они могут попасть в организм ребенка и оказать на него неблагоприятное влияние.

Исследование механизма процессов метаболизма – проблема, которая входит в круг задач химических, биологических, фармацевтических наук, в том числе и медицинской химии.

3. ФАРМАКОГЕНЕТИКА

Повседневная практика показывает, что эффективность и переносимость одних и тех же лекарственных средств у различных больных неодинаковы. Относительно недавно было установлено, что во многом эти отличия определяются генетическими факторами, детерминирующими процессы метаболизма, рецепции, иммунного ответа и т.д.

Изучение генетических основ чувствительности организма человека к лекарственным средствам составляет предмет фармакогенетики.

Задачей клинической фармакогенетики является также разработка методов диагностики, профилактики и коррекции необычного ответа организма на действие лекарственных средств.

Фармакогенетика изучает индивидуальные различия в ответах на лекарства, обусловленные аллельными вариациями в генах, определяющих метаболизм лекарства, эффективность и токсичность. Это направление как раздел экологической медицинской генетики и клинической фармакологии зародилось в результате практической потребности разобраться в осложнениях лекарственного лечения. Клиническая фармакология накапливала наблюдения патологических реакций на лекарства, а медицинская генетика расшифровывала механизмы их возникновения.

Врач сталкивается с повышенной чувствительностью индивида к лекарству, похожей на передозировку, хотя больному назначена доза, соответствующая его возрасту и полу; с частичной или полной толерантностью больного к лекарству, даже несмотря на увеличение дозы; с парадоксальными реакциями на лекарство, включающими совсем другие осложнения, чем те, которые могли бы быть обусловлены механизмами действия лекарства.

Основные положения фармакогенетики были сформулированы в 1950–1970 гг. Термин «фармакогенетика» был введен в 1958 г. немецким ученым Ф. Фогелем. Развитие фармакогенетики основывалось на регистрации нежелательных лекарственных реакций с их анализом сначала клинико-генеалогическим и близнецовым методами, а в последующем – молекулярно-генетическим. При этом изучался не только конечный патологи-

ческий фенотип, но и биохимические ступени метаболизма лекарства, что давало возможность понять сущность нежелательных лекарственных реакций и их ключевые точки.

Генетическое разнообразие человека – основа индивидуальных различий биотрансформации ксенобиотиков, к которым и относятся лекарства. Следовательно, теоретической базой фармакогенетики является функциональная геномика человека, а именно сведения о полиморфизме генов, вовлеченных в биотрансформацию лекарств и в генетический контроль их взаимодействия.

Наследственные факторы, определяющие необычные реакции на лекарственные средства, в основном являются биохимическими. Чаще всего это недостаточность ферментов, катализирующих биотрансформацию препаратов. Атипичные реакции на лекарственные вещества могут наблюдаться также при наследственных нарушениях обмена веществ.

Биотрансформация лекарственных средств в организме человека происходит под влиянием определенных ферментов, которые представляют собой специфические белки. Ферменты посредством активных центров связываются с лекарственными веществами и ускоряют процессы их химического превращения. Биотрансформация лекарственного вещества может осуществляться не одним ферментом, а целой группой, особенно в тех случаях, когда химическое превращение вещества в организме проходит в несколько этапов. Для каждого фермента характерна высокая специфичность. Он катализирует лишь строго определенное звено химического процесса. При метаболизме многих лекарственных веществ образуются продукты с одними и теми же функциональными группами (ОН, –СООН), поэтому дальнейшее их превращение обеспечивается одними и теми же ферментами. Таким образом, один фермент может принимать участие в метаболизме различных лекарственных средств.

Синтез ферментов находится под строгим генетическим контролем. При мутации соответствующих генов возникают наследственные нарушения структуры и свойств ферментов – ферментопатии. В зависимости от характера мутации гена изменяется скорость синтеза фермента или синтезируется атипичный фермент.

3.1. *Наследственные дефекты ферментных систем*

Содержащийся в сыворотке крови и различных тканях фермент псевдохолинэстераза представляет собой гликопротеид с молекулярной массой около 300 000. Этот фермент обеспечивает гидролиз эфиров холина и различных алифатических и ароматических кислот. Интерес к псевдохолинэстеразе повысился после внедрения в медицинскую практику деполяризующего миорелаксанта сукцинилхолина (дитилин, листенон, миорелаксин). У большинства людей после внутривенного введения раствора этого препарата наступает расслабление скелетных мышц, что приводит к остановке дыхания. Эта реакция продолжается в течение 2–3 мин. Небольшая продолжительность действия сукцинилхолина обусловлена тем, что под влиянием псевдохолинэстеразы он быстро гидролизуется и инактивируется. Однако у некоторых людей паралич мускулатуры и остановка дыхания длятся 2–3 ч и более в результате резкого снижения активности сывороточной псевдохолинэстеразы, которое вначале объясняли нарушением функции печени, где фермент синтезируется. Позднее было установлено, что снижение активности фермента обусловлено изменением его аминокислотного состава. При обследовании родственников больных с *атипичной псевдохолинэстеразой* было установлено, что у многих из них также снижена активность этого фермента и, соответственно, повышена чувствительность к сукцинилхолину. Таким образом, был доказан наследственный характер данной патологии. Считается, что синтез белковой части молекулы псевдохолинэстеразы обеспечивается рядом аллелей структурных генов. Мутация одного или нескольких из них приводит к образованию атипичных молекул фермента, отличающихся от нормального аминокислотным составом. Дефект наследуется по рецессивному типу. Отличить нормальный фермент от атипичного можно с помощью ингибиторов псевдохолинэстеразы – дибукаина (совкаина) и фторида натрия.

В большинстве популяций, в частности европейской, количество людей, гетерозиготных по мутантному аллелю, не превышает 2–4 %. Частота клинически значимого гомозиготного носительства мутантных генов в этих популяциях составляет

1:2000–1:3000. Однако существуют популяции, в которых частота гетерозиготного носительства мутантного аллеля значительно выше. Таковы, например, популяции чехов и словаков (7 %), евреев Ирана и Ирака (10 %). Частота гомозиготного носительства в них достигает 1:400. В Южной Индии число людей с полным или почти полным отсутствием активности псевдохолинэстеразы составляет 2,5 %.

При возникновении длительного апноэ при применении сукцинилхолина необходимо внутривенно ввести свежую донорскую кровь с нормальной активностью псевдохолинэстеразы. При этом сукцинилхолин быстро гидролизуеться и его действие прекращается. Такой же результат можно получить путем внутривенного введения растворов псевдохолинэстеразы, выделенной из донорской крови.

3.2. Недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы

К числу распространенных наследственных дефектов относится недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ). Носителями такого дефекта являются по крайней мере 200 млн человек.

Г-6-ФДГ играет важную роль в обмене углеводов, в том числе в эритроцитах, где она катализирует окисление глюкозо-6-фосфата в 6-фосфоглюконат. В этой реакции образуется восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ.Н₂), который в дальнейшем используется для восстановления глутатиона (при участии глутатионредуктазы), а также частично метгемоглобина в гемоглобин. Восстановленный глутатион защищает гемоглобин и тиоловые ферменты, поддерживающие нормальную проницаемость мембран эритроцитов, от окислительного действия различных веществ, в том числе и лекарственных препаратов.

При недостаточности Г-6-ФДГ прием некоторых лекарственных средств ведет к массивному разрушению эритроцитов (гемолитические кризы) вследствие падения содержания в них восстановленного глутатиона и дестабилизации мембран (активность глутатионредуктазы остается нормальной).

Острый гемолиз эритроцитов впервые наблюдали у американских негров при приеме ими противомаларийного препарата примахина. Гемолитический криз развивался у 10 % пациентов. Последующие биохимические и генетические исследования показали, что у таких больных активность Г-6-ФДГ не превышает 15 %, а контроль за синтезом Г-6-ФДГ на рибосомах клеток осуществляется генным аппаратом X-хромосомы. Известно несколько нормальных вариантов этого фермента и около 150 атипичных.

Гемолитические кризы у таких людей вызывают не только лекарственные средства, но и конские бобы. По их латинскому названию *Vicia faba* заболевание было названо «фавизмом». Токсическими веществами конских бобов являются продукты гидролиза В-гликозидов (вицин и конвицин), которые обладают сильным окислительным действием, в 10–20 раз превосходящим таковое аскорбиновой кислоты. Как правило, болезнь начинается внезапно: появляется озноб и резкая слабость, снижается количество эритроцитов, а затем развивается коллапс. Реже первыми симптомами оказываются головная боль, сонливость, рвота, желтуха, которые связаны с гемолизом. Иногда фавизмом страдают даже грудные дети, матери которых употребляли в пищу конские бобы. Желтуху при недостаточности Г-6-ФДГ объясняют нарушением глюконизирующей активности печени.

Некоторые препараты оказывают гемолитическое действие на людей с недостаточностью Г-6-ФДГ только при определенных условиях. Предрасполагающими факторами являются инфекции, недостаточность функций печени и почек, диабетический ацидоз и т.д.

Количество людей, у которых соответствующие препараты вызывают гемолиз, варьирует в популяции от 0 до 15 %, а в некоторых местностях достигает 30 %.

Недостаточность Г-6-ФДГ и фавизм распространены в Азербайджане. В 60-х гг. в республике было запрещено выращивание конских бобов, что привело к значительному снижению частоты заболевания.

Людей с недостаточностью Г-6-ФДГ следует предупреждать об опасности применения соответствующих препаратов, а также необходимости исключения из пищевого рациона кон-

ских бобов, крыжовника, красной смородины. Больные с дефицитом Г-6-ФДГ должны помнить о том, что их дети также могут страдать аналогичным заболеванием.

3.3. Недостаточность ацетилтрансферазы

Вскоре после внедрения в медицинскую практику гидрозида изоникотиновой кислоты (изониазид, тубазид) было обнаружено, что переносимость этого препарата больными неодинакова. Одни больные переносят препарат хорошо, в то время как у других возникают тяжелые побочные реакции: головная боль, головокружение, тошнота, рвота, боли за грудиной, раздражительность, бессонница, тахикардия, полиневрит и т.д. В основе индивидуальной чувствительности организма к изониазиду лежит неодинаковая интенсивность его метаболизма. Основным путем биотрансформации этого препарата является ацетилирование. Незначительная часть его гидролизуется, а также выводится с мочой в неизменном виде. Ацетилирование изониазида осуществляется при участии N-ацетилтрансферазы – фермента, содержащегося в печени человека. Активность этого фермента генетически обусловлена и у разных людей неодинакова. Было обнаружено, что после однократного приема изониазида у одних больных выделяется с мочой 6–7 % введенного препарата в метаболизированной форме, у других – вдвое больше. У «медленных» инактиваторов концентрация изониазида в крови всегда значительно выше, чем у «быстрых». Для определения скорости инактивации изониазида измеряют концентрацию его в плазме крови спустя 6 ч после однократного приема препарата внутрь в дозе 10 мг/кг. Если содержание изониазида составляет в среднем около 1 мг/мл, больного относят к «быстрым» инактиваторам, если около 5 мг/мл – к «медленным».

Процентное соотношение между медленными и быстрыми инактиваторами изониазида среди населения колеблется в больших пределах. Так, медленными инактиваторами являются только 5 % эскимосов и 45 % американцев. Число быстрых инактиваторов в Западной Европе и Индии достигает 50 %, а в Японии – 90–95 %.

Различия в скорости метаболизма изониазида мало влияют на результаты лечения туберкулеза, но они в значительной мере сказываются на частоте побочных реакций препарата. У медленных инактиваторов побочные эффекты возникают гораздо чаще.

При назначении изониазида больным туберкулезом необходимо учитывать скорость его метаболизма. При прочих равных условиях у быстрых инактиваторов изониазид применяют в больших дозах, чем у медленных инактиваторов. У последних препарат целесообразно сочетать с пиридоксином (витамином В6), который предупреждает развитие полиневрита и некоторых других побочных реакций.

Скорость ацетилирования может быть различной не только для изониазида, но и для сульфадимезина, гидралазина, празозина.

3.4. Недостаточность каталазы

Каталаза разрушает перекиси, образующиеся в организме, а также участвует в метаболизме этилового и метилового спирта. В результате реакции образуется огромное количество мелких пузырьков молекулярного кислорода. На этом основано применение растворов перекиси водорода в медицинской практике для обработки ран, язв и т.п. При нормальной активности каталазы образующиеся в организме, или экзогенные перекиси не успевают окислять эндогенные вещества, в том числе гемоглобин.

Полное отсутствие каталазы в крови и тканях человека впервые обнаружили японские исследователи. После операции по поводу гангренозной гранулемы синуса носа у 11-летней девочки обработка раны раствором перекиси водорода не сопровождалась образованием пузырьков кислорода, а цвет крови становился коричнево-черным. При биохимическом анализе было установлено отсутствие каталазы не только в крови, но и в тканях этой больной. Заболевание было названо акаталазией.

Акаталазия передается по аутосомно-рецессивному типу. К 1978 г. в мире было описано более 100 случаев такого заболевания. У половины из них наблюдалась гангрена ротовой полости и носоглотки, у остальных заболевание протекало бессимптомно. Акаталазия обычно проявляется в подростковом возрасте

рецидивирующими изъязвлениями десен. В более тяжелых случаях возникает альвеолярная гангрена, атрофия десен, выпадение зубов. Злокачественная форма характеризуется распространением гангрены на мягкие ткани и кости челюстей. Выраженных изменений в эритроцитах не происходит, так как дефицит каталазы компенсируется другими ферментами.

Диагностика акаталазии основывается на данных анамнеза и результатах соответствующих лабораторных исследований. Необходимо учитывать наличие в прошлом частых воспалительных процессов в полости рта, заболеваний зубов, десен, а также наличие язв, эрозий, альвеолярной гангрены.

Люди с гипокаталазией и особенно с акаталазией обладают высокой чувствительностью к спиртным напиткам из-за уменьшения скорости окисления этилового спирта. При акаталазии последствия отравления метанолом (древесным спиртом) менее выражены, так как у них метанол окисляется менее интенсивно, а содержание формальдегида – промежуточного продукта окисления этого спирта – не достигает высокого уровня.

Специфического лечения акаталазии не существует. При наличии воспалительных очагов используют антибиотики, сульфаниламиды, антисептические средства и т.д.

Таким образом, основная задача фармакогенетики – изучение аллельных вариантов генов, определяющих индивидуальные особенности фармакокинетических и фармакодинамических характеристик организма.

Расшифровка генома человека и прогресс фармакологии выдвинули фармакогенетику на одно из первых мест в персонализированной медицине (индивидуализированное лечение).

Индивидуальные вариации в ответе на лекарства осуществляются двумя путями. Во-первых, за счет фармакокинетических процессов (всасывания, транспортировки, метаболизма и выведения лекарства или метаболитов). Во-вторых, за счет фармакодинамики лекарства. Вследствие аллельных вариаций наблюдаются различия в мишенях (рецепторах, ферментах) или метаболических путях. Таким образом, говоря обобщенно, можно сказать, что фармакогенетика изучает любые генетически детерминированные вариации в ответе на лекарства в отношении эффективности и токсичности.

Раздел IV

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Ученые пытаются создать фармацевтический препарат, который принесет пользу человечеству. Можем ли мы провести линию между такими «хорошими» лекарствами, как пенициллин, и такими «плохими» лекарствами, как героин? Если можем, то как определить, прежде всего пользу или вред приносит препарат? Куда мы поместили бы так называемое социальное лекарство гашиш в этом делении? А что можем сказать о никотине или алкоголе?

Прежде всего, давайте рассматривать так называемые хорошие лекарства – что они собой представляют? Если лекарство действительно «хорошее», то оно, по всей видимости, не должно иметь никаких побочных эффектов и должно быть доступным. Сколько современных лекарственных средств соответствует этим критериям? Короткий ответ – ни одно. На рынке сегодня нет никакого фармацевтического состава, который может полностью удовлетворять этим условиям. По общему признанию, некоторые весьма близки к идеалу. Пенициллин, например, был одним из самых эффективных когда-либо обнаруженных антибактериальных агентов и одним из самых безопасных. Но и он имеет свои недостатки. Он никогда не был в состоянии уничтожить все известные бактерии, а теперь, поскольку прошло много лет, многие бактериальные штаммы стали стойкими к нему. При этом пенициллин не полностью безопасен. Есть много пациентов, у которых наблюдается аллергическая реакция на пенициллин, и они должны пользоваться альтернативными антибактериальными препаратами.

Пенициллин, конечно, относительно безопасный препарат, но есть лекарства, которые опасны. Морфин – один из них. Это превосходный анальгетик, но имеет серьезный побочный эффект – вызывает склонность к дыхательной депрессии. Барбитураты, как известно, также опасны. В Пёрл-Харборе, к примеру, американцы стали жертвами барбитуратов как общей ане-

стезиологии. Из-за плохого понимания того, как барбитураты сохраняются и превращаются в теле, многие пациенты получили внезапные и фатальные передозировки. Считается, что в Пёрл-Харборе жертвы умерли от рук анестезиологов, а не от своих ран.

Может ли быть сказано что-нибудь хорошее о «плохих» лекарствах? Что мы можем сказать в защиту наркотика героина? Давайте проанализируем. Героин – одно из лучших болеутоляющих, известных человеку. Его назвали героином в конце XIX в., потому что он был «героическим» препаратом, который, как думали, уберет боль навсегда. Препарат появился на рынке в 1898 г., но спустя пять лет стала очевидной истинная природа героина и препарат был быстро убран из общего пользования.

Однако героин сегодня под строгим контролем все еще используется в медицине. Препарат называют диаморфин (diamorphine), и это препарат выбора: при лечении пациентов от рака им уменьшают боль, он оказывает эйфористическое влияние, которое помогает противостоять депрессии смертельно больным. Можем ли мы осуждать такой препарат? Видимо, подразделение на «хорошие» и «плохие» лекарства весьма условно. У всех лекарств есть свои «хорошие» и «плохие» свойства. У некоторых больше «хороших» свойств, чем «плохих», и наоборот, они как люди, у всех есть особенности.

Так, как мы должны определить лекарство вообще? Одно определение могло бы классифицировать лекарство как состав, который взаимодействует с биологическими системами, чтобы произвести биологический ответ.

Это определение касается физиологически активных веществ, которые мы обсудили. Но есть вещества, которые мы употребляем каждый день и которые тоже действуют на нас. Каковы эти каждодневные физиологически активные вещества? Они, к примеру, содержатся в чашках чая, кофе, какао, которые мы потребляем. Все эти напитки содержат стимулирующий кофеин. Всякий раз, когда вы берете чашку кофе, можно сказать, что вы наркоман. Нравится вам это или нет, кофеин – препарат. Когда вы его употребляете, то испытываете перемену настроения, как и в том случае, если вы поклонник сигарет. Вы жаждете успокоения, и никотин в папиросном дыме вызывает этот эффект.

Может быть, есть сомнения, что алкоголь – препарат? Он как таковой не вызывает в обществе вопросов больше, чем все другие физиологически активные вещества. Но изучите статистику по ДТП, чтобы оценить этот факт. Если рассматривать алкоголь с научной точки зрения, то это самый опасный препарат. Общеизвестно, что трудно получить «правильную» дозу алкоголя, требуемую для получения благоприятного воздействия, «не дрейфуя» в более высокие дозы, которые производят нежелательные побочные эффекты. Алкоголь также непредсказуем в своем биологическом действии – никто не может сказать, что вас ждет – счастье или депрессия.

Даже пища может быть препаратом. Нездоровая пища и шипучие напитки были обвинены в том, что вызывали гиперактивность у детей. Считается, что в нездоровой пище содержатся высокие концентрации определенных аминокислот, которые могут быть преобразованы в теле в активные вещества. Зарегистрированы также множественные случаи аллергии из-за различных добавок в пищу (консервантов и т.д.).

К физиологически активным веществам можно отнести и яды. Идея ядов, действующих как лекарство, возможно, не покажется странной, если мы рассмотрим пенициллин. У нас не возникает никаких вопросов при рассмотрении пенициллина как лекарства, но если посмотреть, как он «работает», то можно убедиться, что он, действительно, яд, так как взаимодействует с бактериями (биологическая система) и убивает их (биологический ответ). К счастью, пенициллин не оказывает никакого эффекта на клетки человека. Даже у тех лекарственных веществ, которые не действуют как яды, есть потенциал стать ими, если они взяты в избытке. Яркий пример – это морфин. В низких дозах это болеутоляющее. В больших дозах это яд, который убивает. Таким образом, важно рассматривать лекарства и как потенциальные яды.

Термин *терапевтический индекс*, используемый в фармацевтической химии, – мера благоприятного воздействия препарата в низкой дозе против его вредных эффектов в большей дозе; высокий терапевтический индекс означает, что есть большой «запас прочности» между лечебными и ядовитыми дозами.

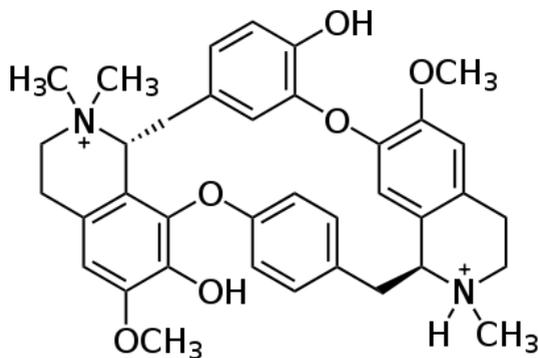
Показатели, к примеру, для гашиша и алкоголя 1000 и 10 соответственно.

Среди обширного количества лекарственных средств, применяемых в современной медицине, имеется группа препаратов, физиологическое действие которых на организм проявляется уже при малых и весьма малых разовых дозах. Такие лекарственные средства называются **ядовитыми** и **сильнодействующими**. Различие между ядовитыми и сильнодействующими средствами большей частью только количественное: первые применяются обычно в дозах порядка тысячных и десятитысячных долей грамма, а сильнодействующие – в сотых и десятых долях грамма. Какие лекарственные средства являются ядовитыми, а какие должны рассматриваться как сильнодействующие, указывается в фармакопее (сборник официальных документов, свод стандартов и положений, устанавливающих нормы качества лекарственного сырья: медицинских субстанций, вспомогательных веществ, диагностических и лекарственных средств и изготовленных из них препаратов).

Кураре – смертельный яд, который использовался инками таким образом, что незначительная рана от стрелы была фатальной. Но все же есть лекарственные препараты, основанные на активном компоненте кураре – тубокурарине (tubocurarine), который используется в хирургических операциях для расслабления мускулатуры. Белый кристаллический порошок, легко растворимый в воде, D-тубокурарина хлорид является производным бисбензилтетрагидроизохинолина. В течение длительного времени он рассматривался как бисчетвертичное аммониевое основание с оптическим расстоянием между ониевыми группами (четвертичными атомами азота) 1,5 нм.

В 1970 г. были опубликованы результаты химических и спектроскопических исследований, показавшие, что один из атомов азота молекулы D-тубокурарина является не четвертичным, а третичным. Таким образом, D-тубокурарин следует рассматривать не как бисчетвертичное, а как моночетвертичное соединение. D-тубокурарин блокирует преимущественно никотиновые холинорецепторы скелетной мускулатуры, в меньшей степени влияет на холинорецепторы вегетативных нервных узлов. В больших дозах этот препарат блокирует также холиноре-

цепторы вегетативных нервных узлов, хромоафинной ткани надпочечников и каротидных клубочков. Малыми дозами D-тубокурарина удается вызвать временное расслабление скелетной мускулатуры (релаксацию). Под надлежащим контролем и в правильной дозировке смертельный яд может играть важную медицинскую роль. Действие лекарственных средств в значительной степени зависит от их дозы или концентрации.



D-тубокурарина хлорид

1. ДОЗИРОВАНИЕ ЛЕКАРСТВ

Древнеиндусское изречение гласит: «В руках невежды лекарство – яд и по своему действию может быть сравнимо с ножом, огнем или светом, в руках же людей сведущих оно уподобляется напитку бессмертия».

Многовековая врачебная практика неопровержимо доказала, что неправильное и безответственное применение лекарственных средств вместо пользы приносит только вред. В состав многих лекарств входят так называемые сильнодействующие (группа Б) и даже ядовитые (группа А) вещества, которые в зависимости от различных условий могут оказывать на большой организм благотворное или вредное влияние. Исходя из этого, обращаясь к помощи лекарственных препаратов, нужно строго придерживаться определенных правил их использования.

Доза – это количество лекарственного вещества (действующего вещества), введенного в организм.

Доза выражается в массовых или объемных единицах десятичной системы и обозначается арабскими цифрами. Число целых граммов отделяется запятой. За единицу веса в рецепте принят 1 г – 1,0; за единицу объема – 1 мл. При приеме лекарств важно учесть, что в 1 ст. л. содержится 15 г воды, в 1 ч. л. – 5 г; в 1 г воды – 20 капель; в 1 г спирта – 47–65 капель.

Различают дозы, назначаемые на один прием – разовые (назначают препараты для экстренного вмешательства в жизнедеятельность организма, действие таких ЛС обычно развивается достаточно быстро), в течение суток – суточные (препараты, которые обладают кумулятивным свойством), на курс лечения – курсовые (препараты с отсроченным терапевтическим эффектом). За основу берется доза взрослого.

Различают пороговые, терапевтические и токсические дозы. Для каждого вещества имеется минимально действующая, или *пороговая* доза, ниже которой действие не проявляется. Дозы выше пороговой могут быть использованы для лечебных целей, если они не вызывают отравления. Такие дозы называются *терапевтическими*.

Терапевтические, или лечебные дозы разделяют на три вида (*dosis curativa*):

- 1) пороговые (вызывают первоначальное действие вещества);
- 2) максимальные – высшие (вызывают наибольшее или предельное действие);
- 3) средние (обуславливают фармакологическое действие средней степени). Средняя доза составляет примерно 1/3 или 1/2 максимальной (высшей) дозы. Она обычно содержится в единице дозированной лекарственной формы (таблетка, ампула, капсула).

Для веществ, включенных в списки А и Б, государственными органами (Фармакологический, Фармакопейный комитеты) устанавливаются высшие (максимальные) и терапевтические дозы:

- разового приема (*pro dosi*) для детей, взрослых и животных;
- суточного приема (*pro die*) для детей и взрослых.

Дозы, вызывающие отравление, называются **токсическими**; приводящие к смертельному исходу – **летальными** (от лат. letum – смерть).

Различают также:

Фиксированные дозы. Многие препараты оказывают желаемый клинический эффект в дозах ниже токсической (мочегонные, анальгетики, пероральные контрацептивы, противобактериальные средства и др.), и индивидуальная вариабельность не имеет существенного значения.

Варьирующие дозы, трудно корригируемые. Адекватный подбор дозы затруднен, так как конечный терапевтический результат с трудом поддается количественной оценке, например состояние депрессии или тревоги, или эффект развивается медленно (при тиреотоксикозе или эпилепсии) либо варьирует в зависимости от патологического процесса (при лечении кортикостероидами).

Варьирующие дозы, легко корригируемые. Жизненно важные функции под влиянием лекарственных средств могут существенно и быстро изменяться, например АД и уровень сахара в крови. Коррекцию дозы можно провести довольно точно, так как эффект препарата можно оценить количественно. При заместительной терапии кортикостероидами также подбирают индивидуальные дозы.

Максимальная переносимая доза. Лекарственные средства, не позволяющие получить идеального терапевтического эффекта из-за нежелательных реакций (противораковые, противобактериальные), используют в максимальных переносимых дозах, т.е. их увеличивают до появления побочных реакций, а затем несколько снижают.

Минимальная переносимая доза. Такой принцип дозирования применяется реже, обычно при длительном введении кортикостероидов при воспалительных и иммунологических заболеваниях, например при бронхиальной астме, ревматоидном артрите. Доза, вызывающая симптоматическое улучшение состояния, может быть настолько высокой, что неизбежно появление тяжелых побочных реакций. Больной получает дозу, облегчающую его состояние и безопасную. Это трудная задача.

Начальная доза обеспечивает желаемый эффект и не вызывает токсических реакций. Часто одинакова с поддерживающей дозой, обеспечивающей стабильность сохранения терапевтического эффекта.

Широтой терапевтического действия называют диапазон между пороговой и минимальной токсической дозами. Чем больше широта терапевтического действия препарата, тем меньше опасность возникновения токсических явлений в процессе лечения.

Средние терапевтические дозы – это дозы, применяемые в медицинской практике и дающие хороший терапевтический эффект. Они для ядовитых и сильнодействующих средств устанавливаются специальными постановлениями. При дозировании лекарства необходимо учитывать возраст и вес больного, более точную дозу рассчитывают на 1 кг веса тела.

Известно, что чувствительность людей к лекарственным веществам весьма различна.

Идиосинкразия – чрезвычайно высокая чувствительность к лекарственным препаратам. Она может быть врожденной или результатом сенсбилизации, т.е. развития резкого повышения чувствительности к препарату в результате его применения. Имеются большие различия в действии лекарственных препаратов в зависимости от возраста (взрослых и детей), пола (женщины более чувствительны к лекарствам, нежели мужчины, особенно во время менструального периода и беременности). Большое значение имеет конституция человека. Упитанные и спокойные люди переносят большие дозы препарата лучше, чем худощавые и возбудимые. Существенное значение имеет диета. Натощак инсулин действует сильнее, чем после еды. При недостатке в пище витамина С сердечные гликозиды действуют значительно сильнее; белковое голодание резко изменяет реактивность организма на лекарственные вещества. Внешние условия также оказывают существенное влияние на действие лекарственных веществ. Так, дезинфицирующие вещества при температуре тела человека действуют на микробы значительно сильнее, чем при комнатной. Облучение организма изменяет его чувствительность к лекарственным препаратам. Значительные

изменения барометрического давления тоже влияют, поэтому наблюдаются сезонные колебания в действии лекарственных веществ.

Как правило, при увеличении дозы увеличивается и величина фармакологических эффектов. Наиболее характерна s-образная зависимость между дозой вещества и величиной его эффекта: при повышении дозы увеличение эффекта вначале происходит постепенно, затем более быстро и вновь постепенно; дальнейшее повышение дозы мало изменяет величину эффекта.

Для определения доз ЛВ обычно используют экспериментальный метод, определяя на подопытных животных эффекты, вызванные введением широкого диапазона доз. Определяют эффективную, токсическую и летальную дозы.

Под *эффективной* дозой понимают дозу, вызывающую желаемый эффект. Под *токсической* – дозу, приводящую к развитию токсических осложнений. Под *летальной* понимают дозу, приводящую к гибели подопытных животных. Эти дозы принято обозначать как ED (effective dose), TD (toxic dose), LD (lethal dose). Чаще всего определяют ED₁, ED₅₀, ED₉₉, TD₁, TD₅₀, TD₉₉, LD₁, LD₅₀, LD₉₉, т.е. вызвавшие эффект (например, гибель) у 1, 50 и 99 % исследуемых животных. Так, ED₁ характеризует минимальную дозу, способную оказывать терапевтический эффект, ED₅₀ – дозу, вызывающую эффект у половины исследуемых животных, ED₉₉ характеризует дозу, вызывающую эффект практически у всех животных.

Отметим, что LD определяется только на животных. Для человека определяется значение ED, а для ряда препаратов – значение TD. Чем больше интервал между ED₅₀ и TD₅₀, тем более безопасным будет применение этого препарата. Если ED₉₉ < TD₁, то в терапевтических дозах препарат токсических эффектов не вызывает (диуретики). Если ED₁ < TD₁, то даже в минимальной дозе применение данного препарата связано с развитием токсических осложнений (противоопухолевые препараты).

LD₅₀ (англ. lethal dose, 50 %) – средняя смертельная (летальная) доза токсического вещества, необходимая для того, чтобы погибла половина членов испытываемой популяции.

Обычно указывается в единицах веса вещества на единицу веса испытуемого субъекта. Предполагается, что исследуемый объект находится в типичном состоянии, в нормальных условиях, без приема каких-либо антидотов и других специальных мер предосторожности:

- этиловый спирт, орально – 10,6 г/кг для молодых крыс, 7,06 г/кг для взрослых крыс;
- метанол, орально – 5,628 г/кг для крыс;
- поваренная соль, орально – 3 г/кг для крыс;
- тетрагидроканнабинол – 2,27 г/кг для крыс;
- никотин, орально – 0,05 г/кг для крыс.

Минимальная терапевтическая и минимальная токсическая дозы во многом определяются путем введения лекарственного вещества в организм.

2. ПУТИ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Путь введения лекарственного вещества во многом определяет его биотрансформацию и биодоступность (табл. 3).

Таблица 3

Пути введения лекарственных веществ

Энтеральный	Парентеральный	
Сублингвальный и трансбуккальный	Инъекционный	Ингаляционный
Пероральный (внутрь)	Накожный	Интраназальный
Дуоденальный	Внутриполостной	Электрофорез
Ректальный	Введение в конъюнктивальный мешок	Введение в слуховой проход

Энтеральные пути введения лекарственных веществ

При *сублингвальном* (лат. sub – под и lingua – язык) и *транsbукальном* («за щеку», от лат. buccalis – щёчный) путях введения всасывание начинается довольно быстро, препараты оказывают общее действие, минуя печеночный барьер и не контактируя с ферментами и соляной кислотой пищеварительного тракта. Сублингвально назначают быстродействующие вещества с высокой активностью (нитроглицерин), доза которых невелика, а также те ЛВ, которые плохо всасываются или разрушаются в желудочно-кишечном тракте.

Пероральный путь введения представляет собой проглатывание ЛВ и дальнейшее его продвижение по пищевому каналу. Этот путь прост и удобен, однако лишь незначительная часть ЛВ начинает всасываться уже в желудке. Для большинства лекарств самой благоприятной для всасывания является слабощелочная среда тонкого кишечника, поэтому при пероральном введении фармакологический эффект проявляется через 35–40 мин. Вещества, всосавшиеся из желудка и кишечника, попадают через систему воротной вены в печень, где начинают инактивироваться ферментами. При пероральном введении ЛВ скорость их всасывания обычно небольшая, биодоступность ЛВ, как правило, невелика, так как всасывается только часть введенного препарата, кроме того, многие препараты разрушаются в желудочно-кишечном тракте, а всосавшиеся вещества проходят через печень, где многие из них подвергаются биологической трансформации. Исходя из этого, перорально обычно назначают вещества в суточных и курсовых дозах.

Иногда лекарственные вещества вводят *дуоденально*, т.е. через зонд в двенадцатиперстную кишку, что дает возможность быстро создать высокую концентрацию вещества в кишечнике.

Ректально, т.е. в прямую кишку, лекарственные вещества вводят в виде суппозитория (свечи) или лекарственных клизм. Ректальное введение препарата позволяет избежать раздражающего действия веществ на слизистую желудка, а также дает возможность применения лекарственных веществ в тех случаях, когда затруднено или неосуществимо их применение перораль-

но (тошнота, рвота, спазм). Лекарственные вещества попадают в кровь не через воротную вену, а по системе нижней полой вены, минуя таким образом печень. Ввиду этого сила фармакологического действия и точность дозировки лекарственных веществ при ректальном способе применения выше, чем при введении через рот, что позволяет вводить не только средства, рассчитанные преимущественно на местное действие (противовоспалительные, местно-анестезирующие), но и вещества общего действия (снотворные, анальгетики, антибиотики).

Парентеральные (минуя желудочно-кишечный тракт) пути введения ЛВ

Парентеральные пути преследуют одну и ту же цель – скорее и без потерь доставить ЛВ во внутренние среды организма или непосредственно в патологический очаг.

При *инъекционном* внутривенном введении ЛВ быстро поступают в кровоток, их биодоступность велика.

Ингаляционный путь – наиболее физиологический из естественных путей введения. Препараты в виде аэрозолей используют преимущественно для получения местного эффекта (бронхиальная астма), однако многие вещества, введенные таким образом, всасываются и проявляют резорбтивное (общее) действие (адреналин, изадрин, амидопирин, антибиотики). Вещества, введенные таким образом, быстро попадают в кровь, как и при внутривенном введении, но не сопровождаются травмой от иглы.

Накожный способ применения лекарственных веществ широко используется в дерматологии для непосредственного воздействия на патологический процесс. Из мазевых основ используется ланолин. Спермацет и свиной жир обеспечивают наиболее глубокое проникновение лекарственных веществ в кожу, поскольку они ближе по составу к липидам человека, чем вазелин.

Лекарственные вещества, введенные *в конъюнктивальный мешок, наружный слуховой проход, интраназально и нанесенные на слизистую ротовой полости*, чаще всего воздействуют

на течение воспалительных процессов в соответствующих органах (конъюнктивиты, риеиты, отиты, стоматиты). В некоторых случаях вводимое местно вещество способно оказать резорбтивный эффект.

Внутриполостное введение препаратов применяют сравнительно редко. Внутрибрюшинно вводят, как правило, во время брюшнополостных операций (антибиотики).

Электрофорез образно называют бескровной инъекцией. Анионы и катионы ионизированных лекарственных веществ способны под воздействием электрического поля проникать в организм через неповрежденную кожу (по протокам потовых и сальных желез) и слизистые обложки.

3. КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ, ЗАЩИТНЫЕ БАРЬЕРЫ ОРГАНИЗМА И СПОСОБЫ ИХ ПРЕОДОЛЕНИЯ

Любой живой организм состоит из клеток, имеющих размеры от 0,1 мкм (некоторые бактерии) до 0,1 м (нервные клетки с отростками). Клетка является мельчайшей системой живого, обладающей всей совокупностью свойств живого. Клетки осуществляют все главные жизненные функции – дыхание, питание, размножение и выделение. Клетки всех организмов сходны по строению и составу веществ. Всеми процессами в клетке управляют цепи нуклеиновых кислот, расположенных в ядре. Число клеток человека достигает нескольких миллиардов.

Структура клетки (рис. 9) включает внешнюю оболочку и внутренние перегородки, называемые мембранами. Клеточная мембрана покрывает клетку, выполняя прежде всего защитную функцию. Через клеточную мембрану осуществляется питание клетки и выделение отходов, т.е. обмен с внешней средой. Все жидкое содержание клетки называется цитоплазмой.

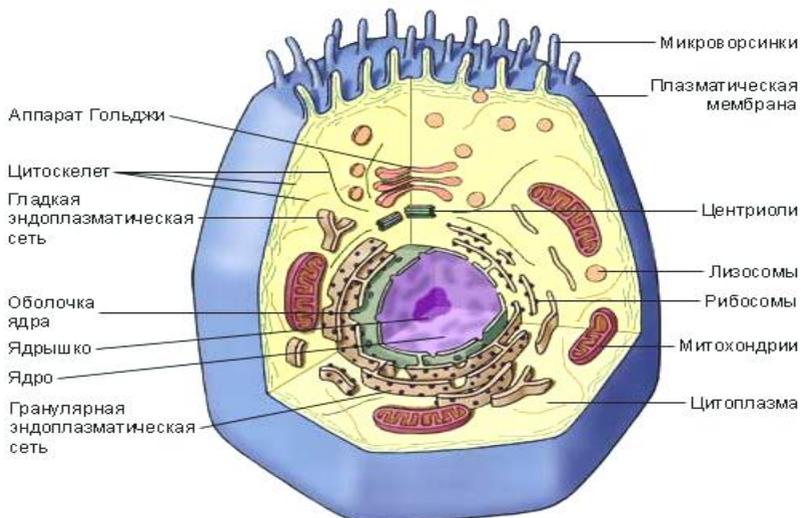


Рис. 9. Структура клетки животных

Биологические мембраны представляют собой специальные полупроницаемые барьеры, отделяющие внутриклеточное содержимое и содержимое внутриклеточных органелл от окружающей среды. Все биологические мембраны построены по единым принципам, а особенности структурной организации и функционирования обусловлены различиями в химическом составе мембран и специфичности межмолекулярных взаимодействий мембранных компонентов.

Необходимость присутствия биологических мембран в клетке

В клетках прокариот (бактерии, риккетсии, микоплазмы) внутриклеточная дифференциация, а следовательно, и внутриклеточные мембраны отсутствуют. Внутриклеточные органеллы характерны для клеток эукариот (растения, животные). Полагают, что одна из причин такого рода различий состоит в том, что линейные размеры клеток эукариот, как правило, на порядок больше размеров клеток прокариот. Развитая сеть внутрикле-

точных мембран позволяет увеличить удельную поверхность мембран в клетках эукариот и, таким образом, обеспечить оптимальные условия для протекания биохимических процессов на поверхности мембран и внутри отдельных компартментов. С химической точки зрения разделение клетки на отдельные отсеки исключительно выгодно для координированного и эффективного осуществления биохимических реакций.

Во-первых, скорость ферментативных реакций увеличивается за счет локализации во внутриклеточных органеллах, внутренний объем которых значительно меньше общего объема клетки. Это приводит к увеличению концентрации ферментов и субстратов и, как следствие, скорости химических реакций.

Во-вторых, мембраны внутриклеточных органелл могут физически разделять в пространстве прямые и обратные реакции метаболического цикла.

В-третьих, большинство клеточных ферментов работают на поверхности мембран, что в значительной степени повышает эффективность катализа, так как трехмерная диффузия реагирующих веществ заменяется на двумерную.

В-четвертых, в обычных условиях мембраны непроницаемы для многих веществ, в том числе для низкомолекулярных ионов, что позволило в процессе эволюции создать специальные механизмы преобразования энергии и передачи информации с использованием потенциальной энергии трансмембранного градиента концентраций некоторых веществ и ионов.

Типы клеточных мембран

Эукариотические клетки содержат различные мембранные органеллы, причем каждая мембрана уникальна по своему составу, особенностям структурной организации и по характеру выполняемых функций. Рассмотрим кратко основные типы клеточных мембранных структур.

Плазматическая мембрана образует границу, на которой осуществляется контакт клетки с ее окружением. Она содержит компоненты, участвующие в межклеточных контактах и взаимодействиях, в системах гормонального ответа и транспорта как малых, так и больших молекул из клетки и внутрь нее. Плазматическая мембрана чрезвычайно эластична, благодаря чему жи-

вотные клетки могут довольно сильно изменять свою форму без разрыва мембраны. Большинство растительных и бактериальных клеток, в отличие от животных, не способны менять свою форму, так как они окружены толстой, прочной и малоупругой оболочкой – клеточной стенкой. Плазматическая мембрана неоднородна по своему составу, она состоит из специализированных участков (апикальный, базолатеральный и синусоидный), которые имеют различное окружение. Плазматическая мембрана может иметь и специализированные структуры, например микроворсинки, которые значительно увеличивают площадь ее поверхности, в результате чего повышается эффективность мембранного транспорта.

Ядерная мембрана состоит из двух мембран, расстояние между которыми составляет от 40 до 70 нм. В некоторых местах наружная и внутренняя мембраны ядра смыкаются; здесь имеются поры, диаметр которых достигает 80 нм. Интересно, что расположение пор меняется на протяжении жизни клетки: в фазе роста они распределены беспорядочно по всей поверхности ядра, в остальных фазах клеточного цикла собираются в определенных местах, а во время деления вовсе исчезают. Полагают, что поры позволяют комплексам мРНК-белок переходить из ядра в цитоплазму, а регуляторным белкам в обратном направлении. Ядерная мембрана выполняет не только защитную роль, но и служит передатчиком информации между ядром и остальной частью клетки.

Функции биомембран

Основные функции, присущие биомембранам в клетке, состоят в следующем:

1. Представляя собой полупроницаемые барьеры, защищают клетки и внутриклеточные органеллы.
2. Избирательно транспортируют различные вещества внутрь клетки и из нее.
3. Передают информацию посредством гормонов, медиаторов, нервного импульса.
4. Преобразуют энергию (синтез АТФ на внутренних мембранах митохондрий за счет энергии трансмембранного градиента концентраций протонов).

5. Осуществляют процессы молекулярного узнавания (в мембранах клеток, где располагаются рецепторы гормонов, молекулы иммунной системы).

6. Координируют все биохимические реакции, протекающие в клетке, благодаря ферментативной деятельности.

Главные структурные элементы мембран – это белки и липиды. Липидам принадлежит главная роль в образовании мембран как клеточных структур. Совершенно очевидно, что липидный состав различных мембран не является случайным, однако точного объяснения этому феномену пока не найдено. Наиболее поражает огромное разнообразие мембранных липидов – любая конкретная мембрана может содержать более ста разных типов липидных молекул. Становится все более очевидным, что липиды активно участвуют в процессах, протекающих в мембранах, однако причины их разнообразия все-таки не ясны. Основная функция мембранных липидов состоит в формировании бислойного матрикса, с которым взаимодействуют белки. Основная часть липидов в мембране (до 90 %) представлена фосфолипидами, гликолипидами и холестерином. Характерной особенностью фосфолипидов и гликолипидов является их **амфифильность**: один конец молекулы гидрофильный, другой гидрофобный. Наличие в молекуле липидов двух частей – гидрофильной полярной головки и длинных гидрофобных углеводородных заместителей – определяет способность этих соединений к структурообразованию в воде. Липиды – амфифильные вещества, они плохо растворимы как в полярных, так и в неполярных растворителях. Самым энергетически выгодным состоянием является мономолекулярный слой на границе раздела между полярной и неполярной средой.

Раздел V

ЦЕНТРАЛЬНАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА И ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ

Значительная часть медицинской химии посвящена лекарственным средствам, влияющим на нервную систему и, как следствие, на нервную регуляцию функций организма. **Нервная система** управляет деятельностью различных органов, систем и аппаратов, составляющих организм. Она регулирует функции движения, пищеварения, дыхания, кровоснабжения, метаболические процессы и др. Нервная система устанавливает взаимосвязь организма с внешней средой, объединяет все части организма в единое целое.

Нервную систему подразделяют на *центральную* и *периферическую* (рис. 10). **Центральная нервная система** (ЦНС) включает в себя головной и спинной мозг.

Головной мозг содержит около 10 млрд нейронов. Около 4 млрд в лобной части головного мозга (область идей и решений). Около 1,5 млрд отвечают за наши ощущения и приблизительно 0,5 млрд координируют движения тела.

Спинной мозг представляет собой нервный ствол и выполняет две функции: передает импульсы в головной мозг и из него и служит рефлекторным центром.



Рис. 10. Топология нервной системы

К *периферической части нервной системы* относят спинно-мозговые и черепные нервы с их корешками и ветвями, нервные сплетения, нервные узлы, нервные окончания, которые отходят от головного и спинного мозга и связывают мозг со всеми рецепторами.

Помимо этого, в составе нервной системы выделяют две особые части: соматическую (анимальную) и вегетативную (автономную).

Соматическая нервная система отвечает преимущественно за органы сомы (тела): поперечно-полосатые (скелетные) мышцы (лица, туловища, конечностей), кожу и некоторые внутренние органы (язык, гортань, глотку). Соматическая нервная система осуществляет преимущественно функции связи организма с внешней средой, обеспечивая чувствительность и движение, вызывая сокращение скелетной мускулатуры.

Вегетативная нервная система иннервирует внутренности, железы, гладкие мышцы органов и кожи, сосуды и сердце, регулирует обменные процессы в тканях. Вегетативная нервная система оказывает влияние на процессы так называемой растительной жизни, общие для животных и растений (обмен веществ, дыхание, выделение и др.), отчего и происходит ее название (*вегетативная* – растительная).

1. ПОНЯТИЕ «НЕЙРОН». СТРУКТУРА НЕЙРОНА. ХИМИЧЕСКИЕ И ФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ НЕРВНЫХ ИМПУЛЬСОВ

Любая из этих нервных систем построена из отдельных нервных клеток, которые являются и структурной, и функциональной единицей нервной системы. Нервная клетка называется нейроном.

Нейрон – это отдельная нервная клетка, строительный блок мозга, она содержит все составляющие, которые характерны для обычных клеток.

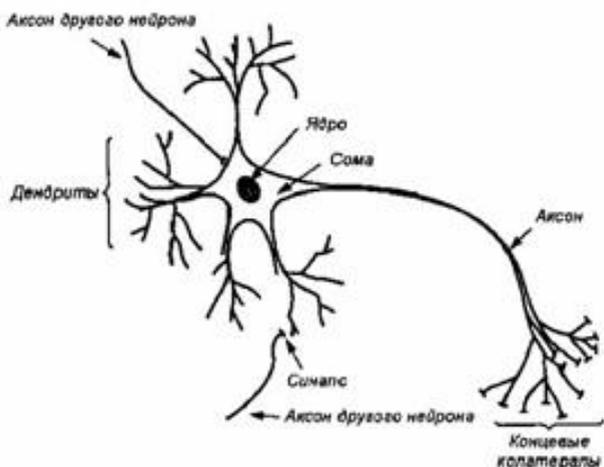


Рис. 11. Строение нейрона

Не найдется и двух нейронов, одинаковых по виду. Несмотря на это, их формы обычно укладываются в небольшое число широких категорий и большинству нейронов присущи определенные структурные особенности, позволяющие выделить три области клетки: клеточное тело, дендриты и аксон (рис. 11).

Тело содержит ядро и биохимический аппарат синтеза ферментов и других молекул, необходимых для жизнедеятельности клетки, оно способно генерировать нервные импульсы. Обычно тело нейрона имеет приблизительно сферическую или пирамидальную форму.

Аксон – это длинный отросток, несущий импульсы от тела нервной клетки. **Дендриты** – это короткие, сильноветвящиеся отростки, ведущие импульсы к телу нейрона и обеспечивающие взаимодействие между нейронами центральной нервной системы.

Размеры нейронов: диаметр от 4–6 до 130 мкм. Мембранный потенциал 50–90 мВ; амплитуда потенциала действия 80–

120 мВ. Мембрана нейрона в покое обладает высокой проницаемостью для K^+ , при возбуждении – для Na^+ и Ca^{2+} .

Аксон отличается от дендритов как по строению, так и по свойствам своей наружной мембраны. Большинство аксонов длиннее и тоньше дендритов и имеют отличный от них характер ветвления: если отростки дендритов в основном группируются вокруг клеточного тела, то отростки аксонов располагаются на конце волокна, в том месте, где аксон взаимодействует с другими нейронами.

Клеточные тела нейронов группируются в так называемые *ганглии* – нервные узлы (головной мозг – конгломерат слившихся между собой ганглий).

В функциональном отношении нейроны можно разделить (весьма приблизительно) на чувствительные (афферентные), двигательные (эфферентные) и ассоциативные (вставочные).

Афферентные нервные волокна (*от лат. afferens* – приносящий) – чувствительные волокна, проводящие импульсы от периферии к центральной нервной системе. К нейронам данного типа относятся первичные клетки органов чувств.

Эфферентные нейроны передают импульсы из центральной нервной системы к другим органам.

Вставочные (интернейроны) обеспечивают передачу импульсов с афферентных на эфферентные нейроны. Они составляют основную массу серого вещества головного мозга, широко представлены в головном мозге и его коре.

Функционирование мозга связано с движением потоков информации по сложным цепям, состоящим из нейронных сетей. Информация передается от одной клетки к другой в специализированных местах контакта – **синапсах**. Типичный нейрон может иметь от 1000 до 10 000 синапсов и получать информацию от 1000 других нейронов.

1.1. Синапс

Синапс (*греч. synapsis* – соприкосновение, соединение) – специализированная зона контакта между отростками нервных клеток и другими возбудимыми и невозбудимыми клетками, обеспечивающая передачу информационного сигнала. Морфо-

логически синапс образован контактирующими мембранами двух клеток. Мембрана, принадлежащая отросткам нервных клеток, называется пресинаптической, мембрана клетки, к которой передается сигнал, – постсинаптической.

В состоянии функционального покоя в пресинаптическом окончании происходит случайный контакт синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной и выделение в синаптическую щель порции (кванта) медиатора из отдельной везикулы. Выделившийся в синаптическую щель медиатор взаимодействует с хеморецепторами постсинаптической мембраны (рис. 12) и приводит к возникновению миниатюрного постсинаптического потенциала.

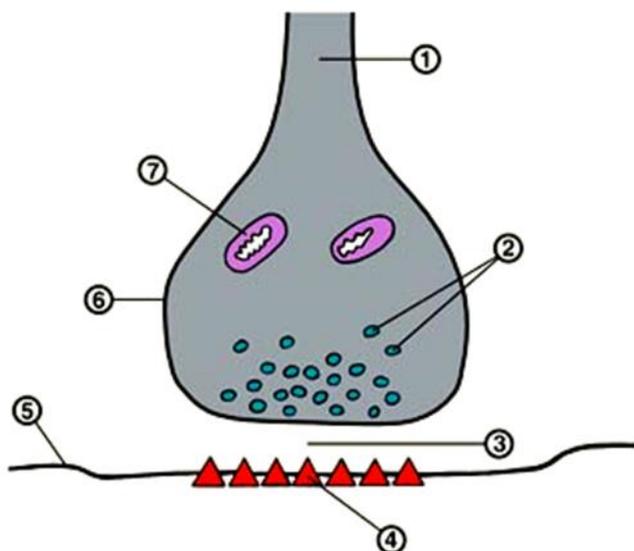


Рис. 12. Межнейрональный синапс: 1 – нервное волокно (аксон); 2 – синаптические пузырьки (везикулы); 3 – синаптическая щель; 4 – хеморецепторы постсинаптической мембраны; 5 – постсинаптическая мембрана; 6 – синаптическая везикула; 7 – митохондрия

Приходящий к пресинаптическому окончанию потенциал действия в несколько раз увеличивает количество выделяемого в синаптическую щель медиатора. Взаимосвязь между потенциалом действия пресинаптической мембраны и процессом выделения медиатора из везикул в синаптическую щель обеспечивается ионами Ca^{2+} . Выделяющийся в синаптическую щель медиатор взаимодействует с различными хеморецептивными участками на постсинаптической мембране. Роль мембранных, или клеточных, рецепторов играют белковые молекулы, обладающие способностью «узнавать» специфические для них вещества и вступать с ними в реакцию.

Основные физиологические свойства синапса обусловлены механизмом передачи возбуждения. Наличие пресинаптической мембраны с медиатором и хеморецепторов на постсинаптической мембране обеспечивает одностороннюю передачу возбуждения. Время освобождения медиатора из везикул, диффузия медиатора через синаптическую щель, взаимодействие медиатора с клеточными рецепторами постсинаптической мембраны и формирование потенциала действия создают так называемую синаптическую задержку в передаче возбуждения через синапс. Ее продолжительность для теплокровных животных составляет 0,2–0,5 мс. Величина синаптической задержки указывает на низкую лабильность синапса по сравнению с нервными волокнами и мышцами. В связи с этим синапс легко утомляется. Наличие специфических хеморецептивных участков на постсинаптической мембране делает синапс высокочувствительным к *биологически активным веществам*. Хеморецептивные зоны часто являются точкой приложения как лекарственных средств, так и различных токсических веществ.

В соответствии с принадлежностью постсинаптической мембраны синапсы подразделяют на нейросекреторные, нейромышечные и межнейрональные. По способу передачи возбуждения с пресинаптической на постсинаптическую мембрану выделяют химические и электрические синапсы. Механизм передачи возбуждения принципиально одинаков во всех химических синапсах. В нем можно выделить следующие основные этапы:

- 1) синтез и депонирование медиатора в пресинаптическом нейроне и его окончаниях;

2) высвобождение медиатора из депонирующих везикул и его выход в синаптическую щель;

3) взаимодействие медиатора со специфическими хеморецепторами постсинаптической мембраны с последующей генерацией биоэлектрического потенциала;

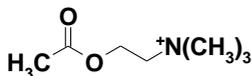
4) инактивация выделенного медиатора с помощью ферментов или системы обратного поглощения.

В синапсах с химической передачей возбуждения между пре- и постсинаптической мембранами имеется синаптическая щель, куда выделяется химическое вещество-передатчик – нейромедиатор (нейротрансмиттер).

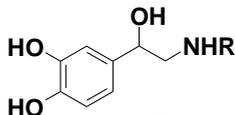
1.2. Нейромедиаторы

Биологически активное вещество, выделяемое нервными окончаниями, способное реагировать со специфическими рецепторами клеточной мембраны и изменять ее проницаемость для определенных ионов, вызывая возникновение потенциала действия (активного электрического сигнала), называется ***нейромедиатором***.

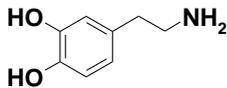
Биологически активные вещества, выполняющие функцию медиаторов, делят на несколько групп. К классическим нейромедиаторам относят ацетилхолин, адреналин и норадреналин, дофамин, серотонин, а также аминокислоты глицин и глутаминовую, аспарагиновую и гамма-аминомасляную (ГАМК) кислоты. Медиаторную роль могут выполнять также АТФ, гистамин, пуриновые нуклеотиды. Синтез нейромедиаторов осуществляется как в соме нейрона с последующим аксонным транспортом, так и непосредственно в пресинаптических окончаниях аксона, где медиатор концентрируется в везикулах, или синаптических пузырьках.



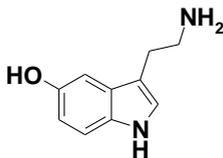
Ацетилхолин



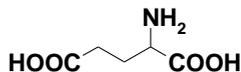
R=H - норадреналин
R=CH₃ - адреналин



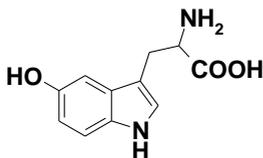
Дофамин



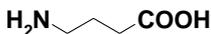
Серотонин



Глутаминовая кислота



5-Гидроксириптамин



Гамма-аминобутановая кислота



Глицин

Для большинства медиаторов описаны системы синтеза, хранения, высвобождения, взаимодействия с постсинаптическими рецепторами (из которых наиболее хорошо изучен ацетилхолиновый рецептор), инактивации, возврата продуктов их расщепления в пресинаптические окончания.

Например, широко распространенная аминокислота глицин также, видимо, служит медиатором в некоторых случаях постсинаптического торможения в спинном мозге.

Глутаминовая кислота при электрофоретическом нанесении обладает возбуждающим действием. Поскольку глутаминовая кислота обнаружена в ЦНС повсюду, весьма вероятно, что она не только является предшественником гамма-аминомасляной кислоты, но, кроме того, сама действует как медиатор.

Механизм действия ФАВ обычно заключается в соединении их со специфическими рецепторами.

Рецепторы, как правило, белковые образования чувствительных нервных волокон, воспринимающие раздражение и преобразующие энергию раздражения в возбуждение, передающееся в ЦНС.

Рецепторы характеризуются большим многообразием.

В классификации рецепторов центральное место занимает их деление в зависимости от вида воспринимаемого раздражителя. Существует пять типов таких рецепторов.

1. *Механорецепторы* возбуждаются сильнее всего вследствие деформации их клеточной мембраны при давлении или растяжении, к ним относятся тактильные рецепторы кожи, проприоцепторы мышц и сухожилий, слуховые и вестибулярные рецепторы во внутреннем ухе.

2. *Хеморецепторы* возбуждаются вследствие присоединения к ним определенных химических молекул, они представлены обонятельными и вкусовыми рецепторами, а также рецепторами, реагирующими на изменение состава крови, лимфы, межклеточной жидкости. Такие рецепторы есть в слизистой оболочке носа и языка, продолговатом мозге.

3. *Терморецепторы* воспринимают изменения температуры. Они подразделяются на тепловые и холодные рецепторы и находятся в коже, слизистых оболочках, среднем, продолговатом и спинном мозге.

4. *Фоторецепторы* расположены в сетчатке глаза, воспринимают световую (электромагнитную) энергию.

5. *Ноцицепторы* (болевы рецепторы) передают возбуждение, которое сопровождается болевыми ощущениями. Раздражителями этих рецепторов являются механические, термические и химические (гистамин, K^+ , H^+ и др.) факторы. Болевые стимулы воспринимаются свободными нервными окончаниями, которые имеются в коже, мышцах, внутренних органах, сосудах.

По месту расположения рецепторов в организме различают экстероцептивные, интероцептивные и проприоцептивные ощущения.

Экстерорецепторы расположены на поверхности тела (зрительные, слуховые, тактильные и другие ощущения).

Интерорецепторы находятся внутри организма. Эти ощущения отражают внутреннее состояние организма, они воспринимают внутренний раздражитель, в первую очередь химический.

Следующую группу составляют *проприоцептивные*, или двигательные, ощущения. Они отражают движение и состояние самого тела, положение конечностей, их движение и степень прилагаемых при этом усилий. Без них невозможно нормально выполнять и координировать движения. Ощущение положения (равновесия), наряду с двигательными ощущениями, играет важную роль в процессе восприятия, например устойчивости.

Рецепторы в фармакологическом плане представляют собой функциональные биохимические макромолекулярные мембранные структуры, избирательно чувствительные к действию определенных химических соединений, а в нашем случае – к действию лекарственных средств. Исследования последних лет показали, что фармакологические рецепторы представляют собой белки или ферменты. Самое многочисленное семейство рецепторов – рецепторы, связанные с G-белками (представители большого семейства гуанин-связывающих белков), или GPCR (G-protein-coupled receptors). Они умеют распознавать широкий спектр химических соединений, в том числе многие лекарства, наркотики и яды (именно благодаря такому узнаванию эти вещества оказывают свой эффект на организм).

В процессе эволюции образовались рецепторы, чувствительные к разнообразным эндогенным регуляторам. Согласно рецепторной теории, механизм действия лекарственных средств заключается в изменении скорости функционирования специфических систем организма при воздействии естественных медиаторов или экзогенных веществ на рецепторы.

Лекарственные средства, действие которых связано с прямым возбуждением или повышением функциональных возможностей (способностей) рецепторов, называются *агонистами*, а вещества, препятствующие действию специфических агонистов, – *антагонистами*. Другими словами, если лекарственное вещество имеет и сходство, и внутреннюю активность (аффинитет и эффективность), то оно является агонистом. Таким образом, *агонист* – это вещество с высоким аффинитетом к рецептору и высокой внутренней активностью.

Если же вещество имеет способность только связываться с рецептором (т.е. обладает сродством), но при этом не способно вызывать фармакологические эффекты, то оно вызывает блокаду рецептора и называется **антагонистом**.

Агонист – чужеродное организму вещество, активизирующее рецепторы и вызывающее в биообъекте те же изменения, что и естественные (эндогенные) вещества, т.е. обладающее биоактивностью.

Антагонист – вещество, блокирующее рецепторы и тем самым ослабляющее или полностью предотвращающее действие другого вещества.

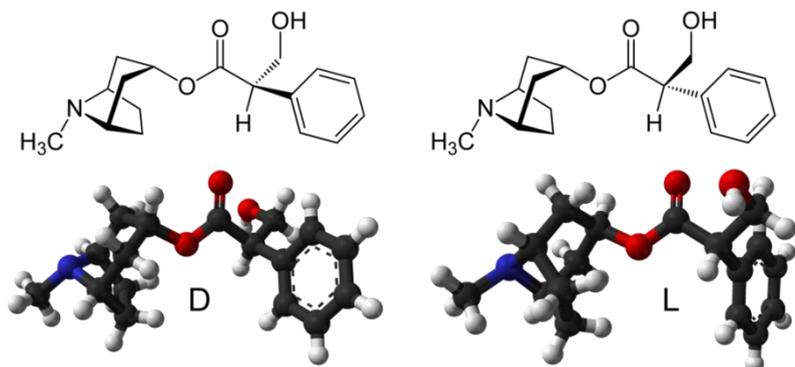
Препараты, имеющие то же сродство к рецептору, что и агонист, или более слабое, но обладающие менее выраженной внутренней активностью, называются **частичными агонистами** или **агонистами-антагонистами**. Эти препараты, используемые одновременно с агонистами, снижают действие последних вследствие их способности занимать рецептор.

Пример: атропин имеет большую активность, чем ацетилхолин (эндогенный медиатор).

Атропин взаимодействует с рецепторами, но, так как не имеет внутренней активности, физиологического эффекта не вызовет. Ввиду большего сродства к рецептору по сравнению с ацетилхолином, он будет препятствовать действию агониста, а именно ацетилхолина, а значит, являться его антагонистом.

Лекарственные вещества могут действовать подобно или противоположно эндогенным медиаторам. Если лекарственное вещество действует подобно медиатору (ацетилхолину, норадреналину и др.), то такое вещество называется **миметиком** (mim – корень «мим», пантомима, мимикрия). Отсюда холиномиметик, адреномиметик.

Лекарственное вещество, препятствующее взаимодействию медиатора с рецептором, называется **блокатором** (холиноблокатор, адреноблокатор, гистаминоблокатор и т.д.).



Атропин

В литературе можно встретить термин «*литик*» (лизис – растворение, физический процесс). Термин довольно старый, однако иногда используется (холинолитик, адренолитик). Таким образом, термины «литик» и «блокатор» используют как синонимы.

Живые клетки умеют удивительно точно распознавать внешние регуляторные сигналы и адекватно реагировать на них. Сигналы могут приходить, например, в виде химических соединений (гормонов, факторов роста, токсинов). В этом случае клетка распознает даже их малые количества при помощи специальных белков-рецепторов, расположенных во внешней (плазматической) мембране. Распознав сигнал, рецепторы передают информацию внутрь клетки, где она многократно усиливается и приводит к тому или иному клеточному ответу.

Если рассматривать рецептор как мишень для физиологически активных веществ, то это макромолекулярная биологическая структура, предположительно связанная с определенной функцией, нарушение которой приводит к заболеванию и на которую необходимо совершить определенное воздействие. Наиболее часто встречающиеся мишени – это рецепторы и ферменты (рис. 13). Лекарство – это химическое соединение (как правило, низкомолекулярное), специфически взаимодействующее

щее с мишенью и тем или иным образом модифицирующее клеточный ответ, создаваемый мишенью.



Рис. 13. Биохимическая классификация молекулярных мишеней в современной фармацевтической индустрии

1.3. Природа нервного импульса

Рассматриваемый в этой главе сложный процесс возбуждения и передачи нервного импульса основан на простых физических явлениях. Движение ионов объясняется с помощью процесса диффузии, а система «внешняя среда – клеточная мембрана – цитоплазма» представляет собой плоский конденсатор, где внешняя среда и цитоплазма играют роль пластин, а мембрана – диэлектрика.

Нервный импульс возникает в теле клетки и по аксону передается либо к следующей клетке, либо к мышце, либо к органу. Нервный импульс имеет электрическую природу, и начало

ему дает какой-то стартовый раздражитель, т.е. *запал*. Секрет нервного импульса и его передачи заключается в движении ионов через клеточные мембраны, и для нервной клетки имеются существенные различия между тем, что происходит в теле клетки, и тем, что происходит в аксоне. Первоначально рассмотрим, что происходит в теле клетки.

Все клетки содержат натрий, калий, кальций и хлорид-ионы, но концентрация их различна внутри клетки и снаружи. Концентрация калия внутри клетки больше, чем снаружи, тогда как концентрация натрия и ионов хлорида внутри меньше. Таким образом, между внутренней и внешней сторонами мембраны существует градиент концентрации. Калий способен понизить градиент концентрации, поскольку он может мигрировать из клетки, проходя через липидный биослой только по специальным (ионным, в данном случае калиевым) каналам (рис. 14).

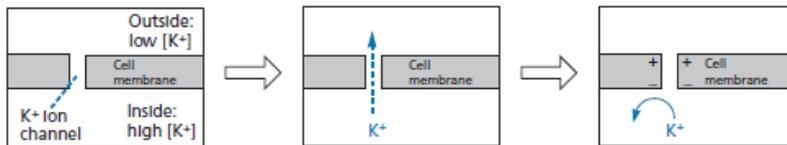


Рис. 14. Миграция калия из клетки

Однако почему выравнивания зарядов по обе стороны мембраны не происходит? Более того, по ряду причин не происходит и выравнивания концентраций ионов калия по обе стороны мембраны. Мембрана остается поляризованной.

Некоторое количество катионов калия мигрирует из тела клетки по калиевым ионным каналам на внешнюю сторону клеточной мембраны к уже находящимся там катионам натрия, кальция и калия. По мере миграции катионов калия на внешней стороне мембраны формируется положительный заряд. В результате с внутренней стороны мембраны формируется отрицательный заряд. Сформировавшийся подобным образом электрический потенциал (порядка 50–80 мВ) и останавливает в конечном счете поток катионов калия из клетки.

Единственной альтернативой убывающему количеству ионов калия в клетке могли бы стать ионы натрия в том случае, если бы они проникли внутрь клетки и компенсировали бы в ней убывающий положительный заряд. Однако ионы натрия имеют очень прочную и объемную гидратную оболочку, в которой они превышают по размерам ионы калия как без оболочки, так и в гидратной оболочке. В результате ионы натрия не способны мигрировать в тело клетки по калиевым каналам. Существуют натриевые ионные каналы, и они способны пропускать через себя ионы натрия в гидратной оболочке, но большая их часть закрыта, когда нерв находится в состоянии покоя. Через то незначительное количество ионных натриевых каналов, которые открыты, протекает настолько «вялый» поток ионов натрия, что он не способен компенсировать убыль положительного заряда с внутренней стороны мембраны.

Таким образом, мембрана тела клетки поляризована и имеет определенный потенциал, который называется *«потенциал покоя»*.

Следует отметить, что количество ионов калия, требуемых для создания данного потенциала, составляет несколько миллионов ионов и этим количеством можно пренебречь по сравнению с несколькими сотнями миллиардов, находящихся в клетке.

Ионные каналы не открываются и не закрываются сами по себе. Это происходит под действием раздражителей, поступающих к клетке. В нашем случае на дендриты, окружающие тело клетки, поступает химический раздражитель, один или несколько разных. В зависимости от ситуации (например, местоположения нашей нервной клетки) раздражитель может поступать от другой нервной клетки или тканевого субстрата. В любом случае химический раздражитель связывается с подходящим ему рецептором, что приводит к открытию или закрытию каналов. Нервная клетка реагирует на различные химические раздражители, но по сумме получаемых сигналов она может оставаться в состоянии покоя либо «выйти из равновесия». Однако раздра-

жители тревожат нервную клетку постоянно, и в ней происходят различные процессы.

В качестве примера рассмотрим ситуацию, когда раздражитель, подействовав на подходящий рецептор, раскрыл большую часть калиевых ионных каналов.

При этом ситуация может варьироваться в нескольких направлениях (рис. 15).

Вариант 1. Ионы калия начинают покидать клетку, и параллельно этому потоку возрастает потенциал клеточной мембраны, т.е. поляризация. Это явление называется гиперполяризацией, которая дезактивирует клетку и делает ее менее способной к ответу на раздражитель.

Вариант 2. Открыты не только калиевые, но и натриевые каналы. Ионы калия начинают покидать клетку, но параллельно этому потоку существует поток ионов натрия, который проникает в клетку и не только компенсирует потерю калия, но и нейтрализует избыточный отрицательный заряд с внутренней стороны мембраны. Это явление называется деполяризацией, которая активирует клетку к ответу.

Вариант 3. Открыты не только калиевые каналы, но и каналы ионов хлора. Ионы калия начинают покидать клетку, но параллельно этому потоку существует поток ионов хлора, который проникает в клетку и увеличивает поляризацию мембраны, приводя ее к гиперполяризации.

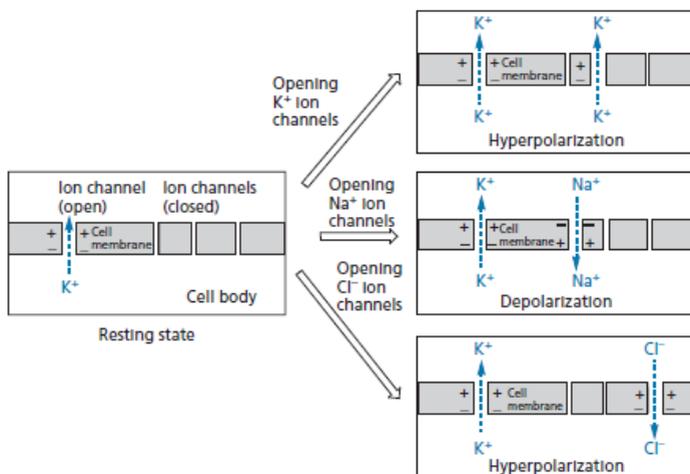


Рис. 15. Эффекты гиперполяризации и деполяризации

В результате поток ионов устремляется к локализованному участку рецептора, принявшего медиатор, и деполяризует или гиперполяризует его. Таких участков на теле клетки множество, и клетка суммирует этот результат. Именно итоговый результат в варианте гиперполяризации или деполяризации подается к месту соединения тела клетки с аксоном.

Что же происходит в аксоне нерва? Клеточная мембрана аксона нерва также содержит калиевые и натриевые ионные каналы, но по своим характеристикам они существенно отличаются от каналов тела клетки. Ионные каналы аксона контролируются не медиаторами, а электрическим потенциалом клетки.

В месте соединения аксона («шея» – основание аксона) с телом клетки в клеточной мембране расположены преимущественно натриевые ионные каналы (рис. 16). Именно они являются первыми каналами, которые испытывают воздействие от тела клетки, когда она гиперполяризована или деполяризована. При гиперполяризации мембраны натриевые каналы в основании аксона закрыты и сигнала в аксоне не возникает. При слабой деполяризации, когда она не достигает определенной пороговой величины, открывается только часть ионных натриевых кана-

лов, внутрь мембраны проникает незначительное количество ионов натрия, деполяризация в основании аксона не достигает пороговой величины и сигнал в аксоне не «зажигается».

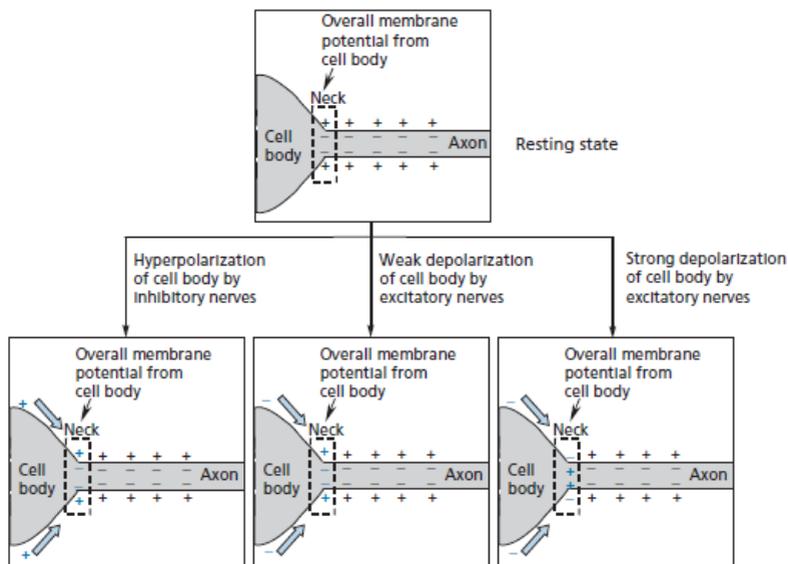


Рис. 16. Эффект гиперполяризации и деполяризации в шее аксона

При сильной деполяризации в основании аксона открывается большое количество натриевых каналов, и поток ионов натрия устремляется внутрь, постепенно превышая поток уходящих ионов калия. Деполяризация становится еще более сильной. При этом поток ионов натрия возрастает катастрофически до такой степени, что заряд с внутренней стороны мембраны становится положительным, а снаружи отрицательным. Возникает электрический «потенциал действия» (рис. 17).

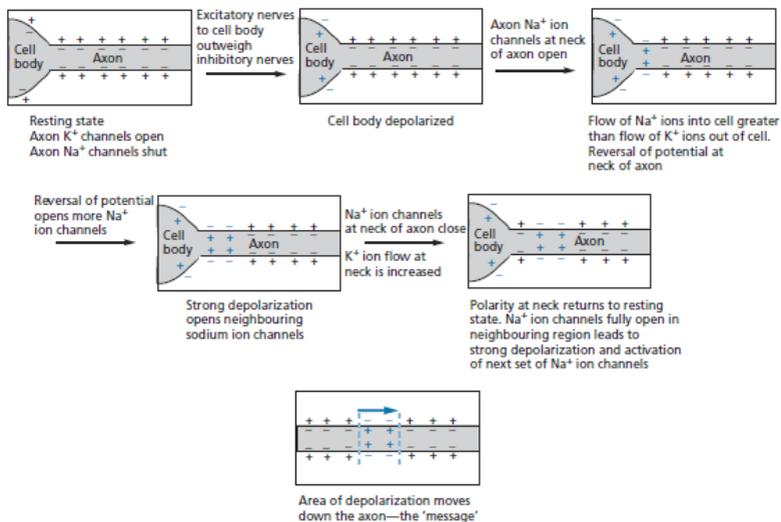


Рис. 17. Возникновение потенциала действия

Процесс продолжается менее миллисекунды, после чего натриевые каналы закрываются, проницаемость натрия возвращается к норме, увеличивается миграция ионов калия обратно в клетку вплоть до возвращения к состоянию покоя. Но сигнал зажжен.

Важно то, что потенциал действия, возникнув в основании аксона, изменяет полярность мембраны в соседней точке выше порогового уровня, что порождает потенциал действия, и сигнал продвигается далее вдоль всей длины аксона, пока не достигнет синапса, или нейромышечной концевой пластинки. Нервный импульс уходит по нервному волокну со скоростью от 0,1 до 100 м/с в зависимости от диаметра волокна.

Следует отметить, что электрический сигнал реализуется именно в аксоне нерва, так как клеточная мембрана аксона возбудима, в отличие от мембраны тела клетки.

Способность вырабатывать нервные импульсы – одно из основополагающих свойств нейронов. Нервные импульсы обеспечивают быстрое проведение однотипных сигналов (потенциалов действия) по аксонам на большие расстояния и поэтому яв-

ляются важнейшим средством обмена информацией как между нервными клетками, так и между нервными и другими типами клеток. Информация о силе раздражения нервной клетки кодируется и передается другим клеткам путем изменения частоты следования нервных импульсов. Частота следования может варьировать от единиц до сотни нервных импульсов в секунду. Частотный код предполагает сложную периодичность следования нервных импульсов, в том числе группирование их в «пачки» с разным числом и характером следования сигналов. Сложная пространственная и временная суммация нервных импульсов составляет основу ритмической электрической активности мозга, регистрируемой с помощью электроэнцефалограммы

1.4. Строение клеточной мембраны

Липидные бислои образуются амфифильными молекулами фосфолипидов и сфингомиелина в водной фазе. Амфифильными эти молекулы называют потому, что они состоят из двух частей, различных по своей растворимости в воде: полярной головки, обладающей высоким сродством к воде, т.е. гидрофильной, и хвоста, образуемого неполярными углеводородными цепями жирных кислот (эта часть молекулы обладает низким сродством к воде, т.е. гидрофобна).

В состав липидов мембран входят в основном фосфолипиды, сфингомиелины и холестерин. Например, в мембранах эритроцитов человека их содержание составляет соответственно 36, 30 и 22 % по весу; еще 12 % приходится на гликолипиды. С химической точки зрения фосфолипид состоит из четырех частей: глицерина, двух жирных кислот с длинной углеводородной цепью, фосфорной кислоты и особой для каждого фосфолипида группы, которую мы будем называть характеристической группой.

Как и другие фосфолипиды, фосфатидилэтаноламин в химическом отношении представляет собой сложные эфиры трехатомного спирта глицерина с двумя жирными кислотами, к третьей гидроксильной группе присоединен ортофосфат, а к нему – небольшая органическая молекула, характерная для каждого вида фосфолипидов. В рассматриваемом случае это этаноламин,

но могут быть также холин, инозитол, серин и некоторые другие молекулы.

Каждая молекула фосфоглицерида содержит маленькую полярную головную группу и две длинные гидрофобные цепи (рис. 18).

При образовании мембраны гидрофобные части вытесняются из водной среды и взаимодействуют друг с другом (как бы растворяются друг в друге), а гидрофильные части контактируют с водой, как бы растворяясь в ней. Именно эта особенность строения и физико-химические свойства определяют роль фосфолипидов и гликолипидов в построении биологических мембран.

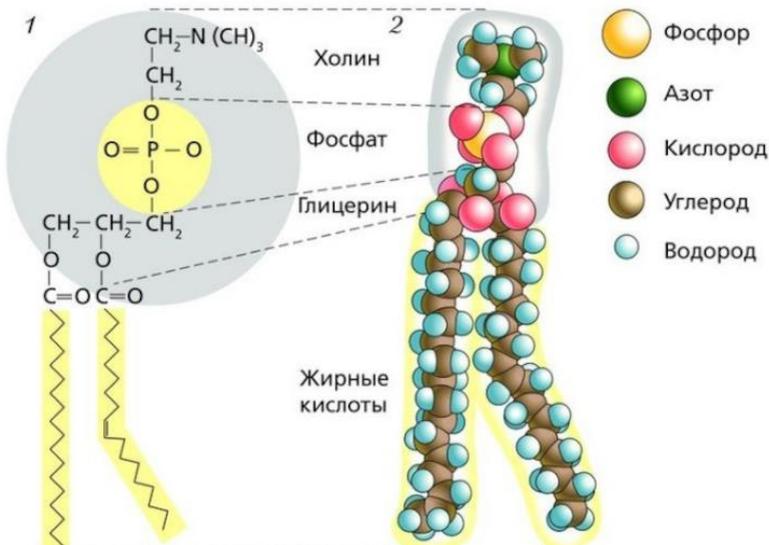


Рис. 18. Строение фосфатидилхолина

Схема строения биологической мембраны представлена на рис. 19. Основу мембраны составляет **липидный бислой** – двойной слой молекул липидов, которые обладают свойством *амфифильности* (содержат как гидрофильные, так и гидрофобные функциональные группы). В липидном бислое гидрофобные

участки молекул взаимодействуют между собой, а гидрофильные участки обращены в окружающую водную среду.

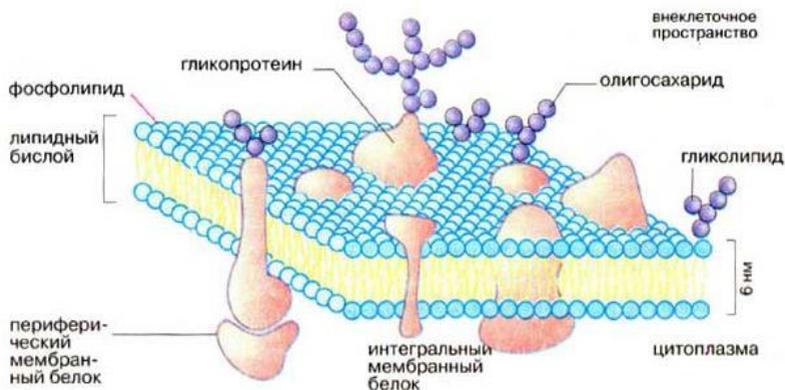


Рис. 19. Схема строения биологической мембраны

Это устойчивая структура, так как полярные, гидрофильные группы могут взаимодействовать с водными растворами внутри и снаружи ячейки, в то время как гидрофобные хвосты сближаются друг с другом и держатся подальше от водной окружающей среды. Главная задача этой структуры состоит в том, чтобы построить толстый барьер между клеткой и внешней средой.

На мембране могут располагаться разнообразные белки (см. рис. 19). Некоторые белки лежат на поверхности мембраны (периферические белки). Другие включены с частью их структуры в мембрану (интегральные белки). Степень, до которой эти белки включены в пределах структуры мембраны ячейки, зависит от типа аминокислоты. Части белка, которые включены в мембрану клетки, имеют большое количество гидрофобных аминокислот, тогда как те части, которые торчат на поверхности, будут иметь большое количество гидрофильных остатков. Это важные сегменты клетки.

Мембранные белки всех клеток распадаются на пять классов: *насосы, каналы, рецепторы, ферменты и структурные*

белки. Насосы расходуют метаболическую энергию для перемещения ионов и молекул против концентрационных градиентов и поддерживают необходимые концентрации этих молекул в клетке. Поскольку заряженные молекулы не могут пройти через сам двойной липидный слой, клетки приобрели в процессе эволюции белковые каналы, обеспечивающие избирательные пути для диффузии специфических ионов. Клеточные мембраны должны узнавать и прикреплять многие типы молекул. Эти функции выполняют **рецепторные** белки, которые представляют собой центры связывания, обладающие высокой специфичностью и сродством. Ферменты размещаются внутри мембраны или на ней, чем облегчается протекание химических реакций у мембранной поверхности. Наконец, структурные белки обеспечивают соединение клеток в органы и поддержание субклеточной структуры. Эти пять классов мембранных белков необязательно взаимно исключают друг друга. Так, например, тот или иной белок может быть одновременно и рецептором, и ферментом, и насосом.

Одна из главных функций мембран – участие в переносе веществ. Этот процесс обеспечивается при помощи трех основных механизмов: простой диффузии, облегченной диффузии и активного транспорта (рис. 20).

Простая диффузия – перенос веществ через мембрану без участия специальных механизмов. Транспорт происходит по градиенту концентрации без затраты энергии. Путем простой диффузии транспортируются малые биомолекулы: H_2O , CO_2 , O_2 , мочевины, гидрофобные низкомолекулярные вещества. Скорость простой диффузии пропорциональна градиенту концентрации.



Рис. 20. Механизмы транспорта молекул через мембрану

Облегченная диффузия – перенос веществ через мембрану при помощи белковых каналов или специальных белков-переносчиков. Осуществляется по градиенту концентрации без затраты энергии. Транспортируются моносахариды, аминокислоты, нуклеотиды, глицерол, некоторые ионы. Характерна кинетика насыщения – при определенной (насыщающей) концентрации переносимого вещества в переносе принимают участие все молекулы переносчика и скорость транспорта достигает предельной величины.

Активный транспорт также требует участия специальных белков-переносчиков, но перенос происходит против градиента концентрации и поэтому требует затраты энергии. При помощи этого механизма через клеточную мембрану транспортируются ионы Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , через митохондриальную – протоны. Для активного транспорта веществ характерна кинетика насыщения.

Все лекарства после абсорбции попадают в кровь, а затем в различные органы и ткани, т.е. вещество распределяется в организме. Большинство лекарственных веществ распределяется равномерно, и лишь незначительная часть – относительно равномерно (например, некоторые ингаляционные лекарства). Влияние на характер распределения веществ оказывают биологические барьеры на пути их распространения. К ним относятся

стенки капилляров, клеточные (плазматические мембраны), гематоэнцефалический и плацентарный барьеры.

1.5. Перенос частиц и высокомолекулярных соединений через мембраны

Наряду с транспортом органических веществ и ионов, осуществляемым переносчиками, в клетке существует совершенно особый механизм, предназначенный для поглощения клеткой и выведения из нее высокомолекулярных соединений при помощи изменения формы биомембраны. Такой механизм называют **везикулярным транспортом**.

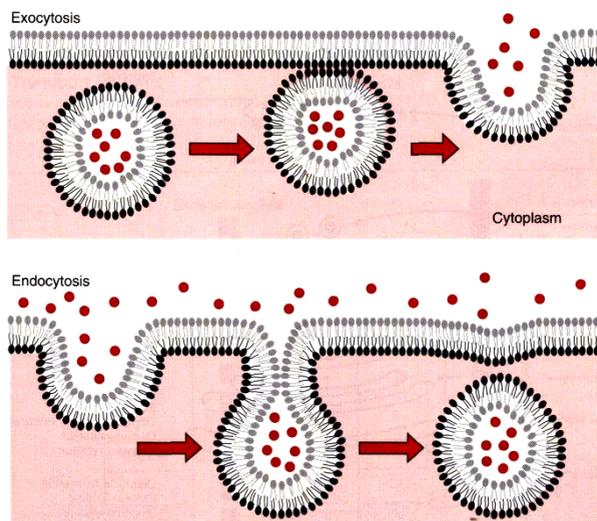


Рис. 21. Типы везикулярного транспорта: 1 – эндоцитоз; 2 – экзоцитоз

При переносе макромолекул происходит последовательное образование и слияние окруженных мембраной пузырьков (везикул). По направлению транспорта и характеру переносимых веществ различают следующие типы везикулярного транспорта:

Эндоцитоз (рис. 21) – перенос веществ в клетку. В зависимости от размера образующихся везикул различают:

а) *пиноцитоз* – поглощение жидкости и растворенных макромолекул (белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот) с помощью небольших пузырьков (150 нм в диаметре);

б) *фагоцитоз* – поглощение крупных частиц, таких как микроорганизмы или обломки клеток. В этом случае образуются крупные пузырьки, называемые фагосомами диаметром более 250 нм.

Пиноцитоз характерен для большинства эукариотических клеток, в то время как крупные частицы поглощаются специализированными клетками – лейкоцитами и макрофагами. На первой стадии эндоцитоза вещества или частицы адсорбируются на поверхности мембраны, этот процесс происходит без затраты энергии. На следующей стадии мембрана с адсорбированным веществом углубляется в цитоплазму; образовавшиеся локальные выпячивания плазматической мембраны отшнуровываются от поверхности клетки, образуя пузырьки, которые затем мигрируют внутрь клетки. Этот процесс связан системой микрофиламентов и является энергозависимым. Поступившие в клетку пузырьки и фагосомы могут сливаться с лизосомами. Содержащиеся в лизосомах ферменты расщепляют вещества, содержащиеся в пузырьках и фагосомах, до низкомолекулярных продуктов (аминокислот, моносахаридов, нуклеотидов), которые транспортируются в цитозоль, где они могут быть использованы клеткой.

Экзоцитоз (см. рис. 21) – перенос частиц и крупных соединений из клетки. Этот процесс, как и эндоцитоз, протекает с поглощением энергии. Основными разновидностями экзоцитоза являются:

а) *секреция* – выведение из клетки водорастворимых соединений, которые используются или воздействуют на другие клетки организма. Может осуществляться как неспециализированными клетками, так и клетками эндокринных желез, слизистой желудочно-кишечного тракта, приспособленными для секреции производимых ими веществ (гормонов, нейромедиаторов, проферментов) в зависимости от определенных потребностей организма.

Секретируемые белки синтезируются на рибосомах, связанных с мембранами шероховатого эндоплазматического ретикула. Затем эти белки транспортируются к аппарату Гольджи, где они модифицируются, концентрируются, сортируются и затем упаковываются в пузырьки, которые отщепляются в цитозоль и в дальнейшем сливаются с плазматической мембраной, так что содержимое пузырьков оказывается вне клетки.

В отличие от макромолекул, секретлируемые частицы малых размеров, например протоны, транспортируются из клетки при помощи механизмов облегченной диффузии и активного транспорта;

б) *экскреция* – удаление из клетки веществ, которые не могут быть использованы (например, удаление в ходе эритропоэза из ретикулоцитов сетчатой субстанции, представляющей собой агрегированные остатки органелл). Механизм экскреции, по-видимому, состоит в том, что вначале выделяемые частицы оказываются в цитоплазматическом пузырьке, который затем сливается с плазматической мембраной.

1.6. Барьерные функции организма

Это функции защиты, обеспечивающие здоровье организма. Они осуществляются особыми физиологическими механизмами (барьерами), защищающими организм от изменений окружающей среды, препятствующими проникновению в него бактерий, вирусов и вредных веществ, способствующими сохранению постоянного состава и свойств крови, лимфы, тканевой жидкости. Как и другие приспособительные и защитные функции организма (например, иммунитет), барьерные функции организма выработались в процессе эволюции по мере совершенствования многоклеточных организмов.

Условно различают барьеры *внешние* и *внутренние*.

К *внешним барьерам* относят кожу, дыхательную систему, пищеварительную систему, в том числе печень, а также почки. Кожа предохраняет животный организм от физических и химических изменений окружающей среды, принимает участие в регуляции тепла в организме. Кожный барьер препятствует проникновению внутрь организма бактерий, токсинов, ядов и

способствует выведению из него некоторых продуктов обмена веществ, главным образом путем выделения их через потовые железы с потом. В дыхательной системе, помимо обмена газов, происходит очищение вдыхаемого воздуха от пыли и различных вредных веществ, находящихся в атмосфере, главным образом при участии эпителия, выстилающего слизистую оболочку полости носа и бронхов и имеющего специфическое строение. Поступающие в пищеварительную систему пищевые вещества преобразуются в желудке и кишечнике, становятся пригодными для усвоения организмом; непригодные вещества, а также газы, образующиеся в кишечнике, выводятся из организма в результате перистальтики кишечника. В пищеварительной системе очень важную барьерную роль играет печень, в которой обезвреживаются чужеродные для организма ядовитые соединения, поступившие с пищей или образовавшиеся в полости кишечника. Почки регулируют постоянство состава крови, освобождают ее от конечных продуктов обмена веществ. К внешним барьерам относятся также слизистые оболочки полости рта, глаз, половых органов.

Внутренние барьеры, находящиеся между кровью и тканями, называются гистогематическими барьерами. Основная барьерная функция осуществляется кровеносными капиллярами. Через стенку капилляров, имеющую характер пористой мембраны (величина пор у человека в среднем составляет 2 нм), лекарственные средства проходят довольно легко. Исключение составляют белки плазмы и их комплексы с препаратами. Гидрофильные соединения, хорошо растворимые в воде, проходят через стенки капилляров. Через белковые фосфолипидные мембраны клеток они не диффундируют (внутри клеток могут попадать с транспортными системами). Липофильные соединения, напротив, хорошо проникают через эпителий капилляров и клеточные мембраны.

По современным представлениям, в систему внутренних барьеров входят также барьеры, находящиеся внутри клеток. Внутриклеточные барьеры состоят из особых образований – трехслойных мембран, входящих в состав различных внутриклеточных образований и клеточной оболочки.

Внутренние, гистогематические, барьеры органа определяют его функциональное состояние, деятельность, способность противостоять вредному влиянию. Значение таких барьеров заключается в задержке перехода того или иного чужеродного вещества из крови в ткани (защитная функция) и в регуляции состава и свойств непосредственно питательной среды органа, т.е. в создании наилучших условий для жизнедеятельности органа (регуляторная функция), что очень важно для всего организма и его отдельных частей. Так, при значительном повышении концентрации того или иного вещества в крови содержание его в тканях органа может не измениться или повыситься незначительно. В других случаях количество необходимого вещества в тканях органа увеличивается, несмотря на постоянную или даже низкую его концентрацию в крови. Барьеры активно отбирают из крови необходимые для жизнедеятельности органов и тканей вещества и выводят из них продукты обмена веществ.

Физиологические процессы, протекающие как в здоровом, так и в больном организме, регуляция функций и питание органа, соотношение между отдельными органами в целостном организме тесно связаны с состоянием гистогематических барьеров. Снижение сопротивляемости барьеров делает орган более восприимчивым, а повышение ее – менее чувствительным к химическим соединениям, образовавшимся в процессе обмена веществ в организме или введенным в организм с лечебной целью.

Итак, к внутренним защитным барьерам относятся соединительная ткань, различные образования лимфатической ткани, лимфа и кровь. Особенно велика их роль в освобождении организма от живых возбудителей различных заболеваний.

Решающее значение в возникновении болезней имеет нарушение сопротивляемости как внешних, так и внутренних барьеров по отношению к различным микробам, чужеродным веществам и вредным веществам, образующимся при нормальном и особенно при нарушенном обмене веществ. Циркулируя в крови, они могут явиться во многих случаях причиной возникновения патологического процесса в отдельных органах и в целом организме. Большая приспособляемость барьеров к постоянно меняющимся условиям окружающей среды и к изменяющейся в процессе жизнедеятельности внутренней среде (состав

крови, тканевой жидкости) играет важную роль в жизнедеятельности организма.

Прохождение многих лекарств затруднено через *гематоэнцефалический барьер*. Это специфическая мембрана, которой защищен головной мозг. Гематоэнцефалический барьер непроницаем для множества соединений, как чужеродных, так и вырабатываемых самим организмом. Гематоэнцефалический барьер препятствует проникновению в центральную нервную систему переносимых кровью токсичных веществ, нейромедиаторов, гормонов, антибиотиков (что затрудняет лечение инфекционных поражений мозга и его оболочек), поддерживает электролитный баланс мозга, обеспечивает избирательный транспорт ряда веществ (глюкозы, аминокислот) из крови в мозг. Через него плохо проходят полярные соединения, но липофильные соединения проникают в мозг сравнительно легко.

Для преодоления гематоэнцефалического барьера молекулы должны быть либо малы (как молекулы кислорода), либо обладать способностью растворяться в липидных компонентах мембран клетки (как этанол). Кроме того, некоторые вещества могут переноситься через гематоэнцефалический барьер путем активного транспорта.

Особое место занимает *плацентарный барьер* между организмами матери и плода – плацента, осуществляющая чрезвычайно важную функцию – защиту развивающегося плода. Через плацентарный барьер проходят липофильные соединения (путем диффузии). Ионизированные полярные соединения (четвертичные аммониевые соли) через плаценту практически не проникают. Скорость веществ, проникающих через плаценту, зависит от размеров молекул (вещества с молекулярным весом более 1000 не проникают). Легко проходят этанол, морфин, героин.

Барьерные функции организма меняются в зависимости от возраста, нервных и гормональных изменений, тонуса нервной системы, влияния многочисленных внешних и внутренних причин. Состояние барьерных функций организма изменяется, например, при нарушении смены сна и бодрствования, при голодании, утомлении, травмах, воздействии ионизирующей радиации и т.д.

2. РЕЦЕПТОРЫ

Понимание роли рецепторов как внутренней системы «органов чувств», позволяющей организмам адаптироваться к окружающей среде, стало складываться только в середине XIX в. Впервые наличие специфических мест связывания биологически активных веществ установил Бернард в опытах с кураре. Несколько позже (в начале XX в.) существование в клетках так называемых рецепторных субстанций выявил Дж. Н. Лэнгли. Изучая действие атропина и пилокарпина на секрецию слюны, а также никотина на сокращение скелетных мышц, исследователь обнаружил, что фармакологический эффект имеет место только при аппликации этих алкалоидов на участки клеточной поверхности с небольшой площадью. Лэнгли также установил, что кураре блокирует эффект никотина, т.е. в современном понимании – выступает антагонистом рецепторов никотина (одного из подтипов холинорецепторов). Х. Х. Дале в 1906 г. применил эту концепцию для объяснения фармакологической активности алкалоидов спорыньи. Однако основоположником рецепторной теории действия лекарств следует признать П. Эрлиха (1907 г.). Он же впервые ввел термин «рецептор». В результате изучения избирательности действия синтетических красителей и мышьяксодержащих соединений на живые клетки П. Эрлих сформулировал основной постулат: *congrua non agunt nisi fixata* – «вещества не действуют, если не фиксируются». Это обобщение стало теоретической базой химиотерапии. П. Эрлих предполагал, что клетки содержат так называемые боковые ветви, или рецепторы, в результате селективного взаимодействия с которыми лекарственное вещество индуцирует свой эффект. Согласно этой теории, лекарство имеет два структурных фрагмента, один из которых – гаптофорная область, соединяясь с рецептором, позволяет тем самым другому фрагменту – эргофорной или токсифорной области – осуществлять биологический ответ. Несмотря на то, что детали этой концепции были пересмотрены и уточнены (в настоящее время эргофорный фрагмент рассматривается не как лиганд, а как часть рецептора), многочисленные исследования подтвердили правильность теории П. Эрлиха о рецепторах как участках тканей, селективно связывающих лекарственные веще-

ства и опосредующих реализацию их фармакологических эффектов.

В обобщенном виде понятие «рецептор» можно сформулировать следующим образом: рецептором может быть любая высокомолекулярная конформационно подвижная биоструктура, специфически связывающая химическое соединение (лиганд, лекарство) на поверхности или внутри клетки и трансформирующая полученную информацию в биологический ответ. К таким макромолекулам относятся белки и нуклеиновые кислоты. Специфическое взаимодействие лиганда с рецептором следует отличать от неспецифического связывания эндогенных или экзогенных биологически активных веществ с белками плазмы крови или мукополисахаридами соединительной ткани. Белковые структуры такого типа получили название «молчащих» рецепторов. В результате связывания с ними не реализуются никакие эффекты.

Поверхность белка-рецептора (рис. 22) имеет сложную «географическую» форму, содержащую «полости», «овраги» и «горные хребты», и где-то среди этой сложной «географии» есть область с правильной формой, чтобы принять поступающего к ней посредника. Эта область известна как *связывающая зона*.

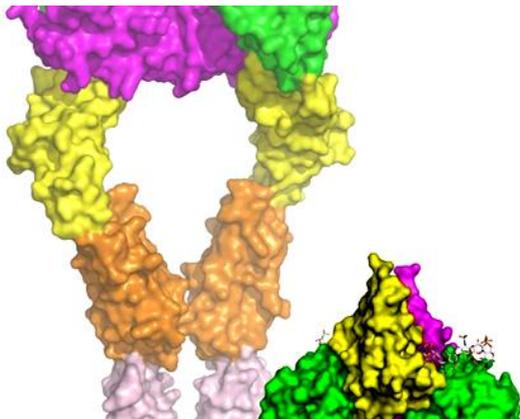


Рис. 22. Поверхность белка-рецептора

Когда химический посредник соответствует этой зоне, он «включает» молекулу рецептора, и сообщение получено (рис. 23).

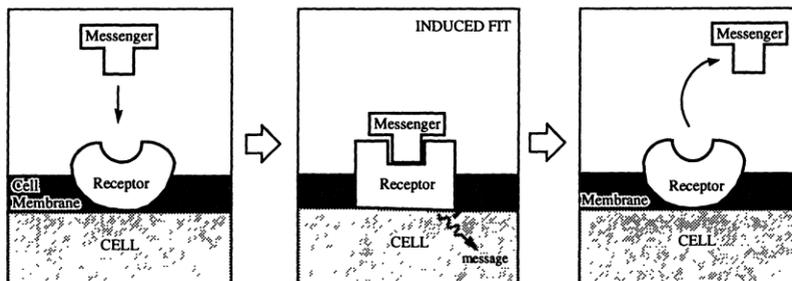


Рис. 23. Связывание химического посредника в рецепторе

Химический посредник не подвергается химической реакции. Он соответствует связывающей зоне белка-рецептора, передает свое сообщение и затем уходит неизменным. Если нет химической реакции, то что тогда происходит? Как химический посредник передает рецептору свое сообщение и как это сообщение передается в клетку?

Как сообщение становится полученным?

Все это имеет отношение к изменению формы связывающей зоны рецептора. Проще говоря, посредник связывается с рецептором и заставляет его изменить форму. Это изменение впоследствии воздействует на другие компоненты клеточной мембраны и приводит к биологическому эффекту.

Существует два главных направления возникновения ответной реакции на воздействие нейромедиатора или лекарства:

1) на ионные каналы в клеточной мембране и на их проницаемость;

2) на ферменты, связанные с мембраной нервной клетки.

Здесь мы вынуждены вновь обратиться к вопросу о строении мембраны и ее проницаемости.

Мембрана состоит из двойного слоя жирных молекул, и середина мембраны ячейки является «жирной» и гидрофобной.

Такой барьер мешает полярным молекулам или ионам при движении в клетку или из клетки.

Есть следующие пути преодоления клеточной мембраны:

1. Простая диффузия через мембрану клетки. Определяется градиентом концентрации вещества. Таким образом, всасываются липофильные (главным образом неполярные) вещества. Чем выше липофильность вещества, тем легче и быстрее оно проникает через клеточную мембрану.

2. Фильтрация через поры мембраны и ионные каналы. Зависит от гидростатического и осмотического давления. Диаметр пор, например, в мембране эпителия кишечника очень маленький и составляет около 0,4 нм, или 4Å. Ввиду чего через них проникает вода, некоторые ионы и некоторые мелкие гидрофильные молекулы типа мочевины.

3. Активный транспорт. В клеточной мембране есть белки, которые могут перетаскивать полярные молекулы, например такие, как аминокислоты, через «недружелюбное» пространство клеточной мембраны. Это так называемые транспортные белки, которые связывают полярные молекулы на внешней стороне клетки и переправляют через мембрану, чтобы выделить с другой стороны (рис. 24).

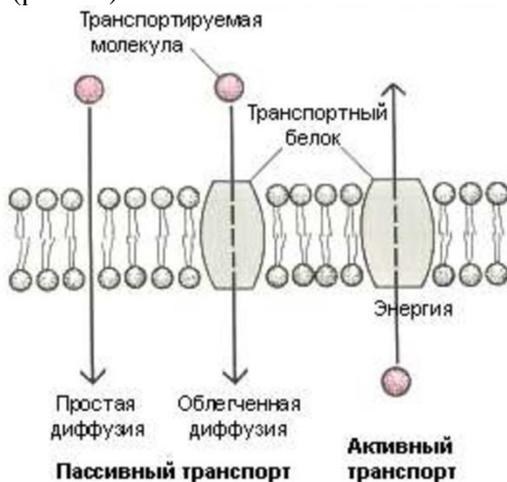


Рис. 24. Транспортные белки

Активный транспорт характеризуется избирательностью к определенным соединениям, возможностью конкуренции двух и более веществ за один транспортный механизм, насыщаемостью (при высоких концентрациях), возможностью транспорта против градиента концентрации и затратой энергии. Активный транспорт обеспечивает всасывание гидрофильных полярных молекул, ряда неорганических ионов, сахаров, аминокислот, пиримидинов и т.д.

4. Пиноцитоз (*от греч. pino – пью и kýtos –местилище*), здесь – клетка, захват клеточной поверхностью жидкости с содержащимися в ней веществами (рис. 25).

При пиноцитозе происходит инвагинация. Пузырек мигрирует по цитоплазме к противоположной стенке клетки, где путем экзоцитоза содержимое пузырька выводится наружу.

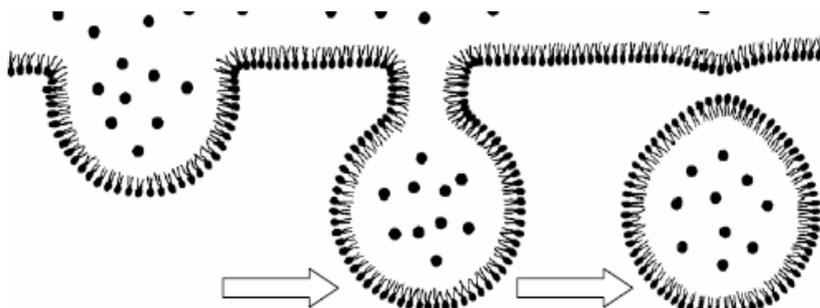


Рис. 25. Пиноцитоз

Названные механизмы прохождения веществ через мембрану имеют универсальный характер и значение не только для всасывания веществ, но и для распределения в организме и выделения. Вместе с тем для клеточной мембраны нервной клетки характерны два основных механизма преодоления: **ионные каналы** и **активный транспорт**.

2.1. Лекарственное действие на рецепторы

Рассмотрим интерецепторы, т.е. рецепторы, воспринимающие внутренний раздражитель, в первую очередь химический

раздражитель. В качестве химического раздражителя возьмем эндогенные амины, нейромедиаторы, которые осуществляют связь между нервными клетками.

Освободившись из нервной клетки, вещество может диффундировать через синаптический пробел к клетке-мишени. Здесь оно может связываться и взаимодействовать со специфическим белком (рецептором), включенным в клеточную мембрану. В результате образуется пара лиганд–рецептор.

Этот процесс связывания ведет к серии или каскаду вторичных эффектов, после которых ионы протекают через клеточную мембрану или включаются (отключаются) ферменты внутри клетки-мишени (рис. 26). Далее следует такая биологическая реакция, как, например, сжатие мышечной клетки или активация метаболизма жирной кислоты в жировой клетке и т.д.

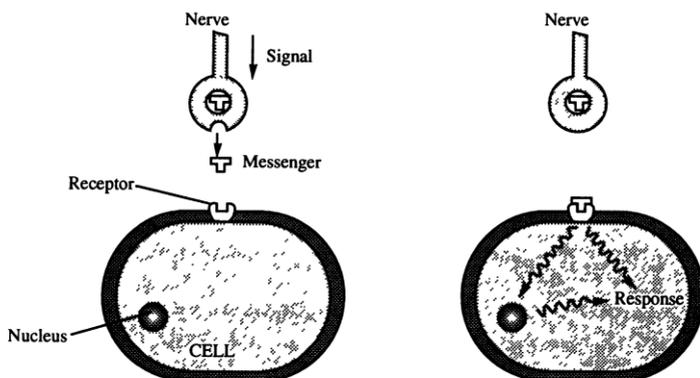


Рис. 26. Действие нейромедиатора

Мы будем рассматривать и вторичные эффекты, и то, как они приводят к биологическому действию на последней стадии, но в настоящий момент нам важно то, что система связи кардинально зависит от химического посредника. Вообще, нерв выпускает только один тип нейромедиатора, и рецептор, который ждет его на клетке-мишени, будет специфичным для этого посредника. Однако это не означает, что у клетки-мишени есть только один тип рецептора. Каждая клетка имеет большое число

нервных связей с ним (рецептором), и не все они используются тем же самым нейромедиатором (рис. 27). Исходя из этого, клетка-мишень будет иметь другие типы рецепторов, специфичных для других нейромедиаторов. Она также может иметь рецепторы, ждущие сообщения от химических посредников, источники которых расположены очень далеко и способны путешествовать по организму.

Речь идет о гормонах, выделяемых в кровеносную систему разнообразными железами организма. Самый известный пример гормона – адреналин. Когда возникает опасность или силовая нагрузка, железа надпочечника выделяет адреналин в кровь, где он разносится по телу, подготавливая его для силового упражнения.

Гормоны и нейромедиаторы (а в общем случае и лекарства) можно отличить по маршруту, который они проходят, и по способу их выделения, но их действие, когда они достигают клетки-мишени, аналогичное. Они оба взаимодействуют с рецептором – и сообщение получено. Клетка реагирует на это сообщение, регулирует свою внутреннюю химию и дает биологический ответ.

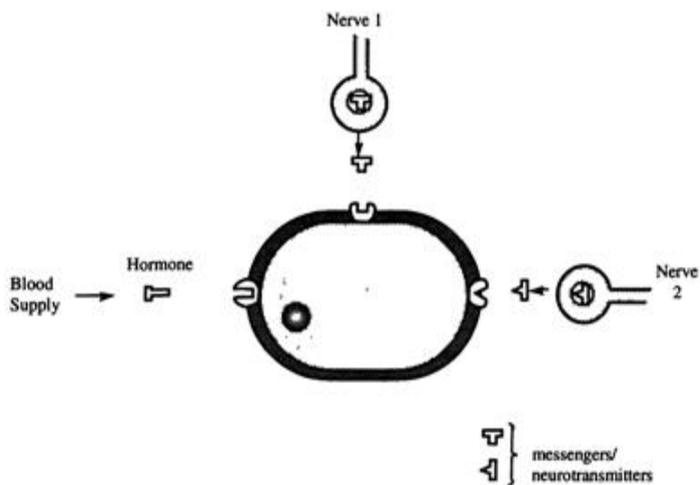


Рис. 27. Клетка-мишень, содержащая рецепторы, специфичные для каждого типа посредника

Ясно, что такая связь является существенной для нормальной работы человеческого организма, и если она становится дефектной, то это приводит к различным проблемам. Когда же возникают проблемы?

Проблема появляется в том случае, когда выделяется слишком много посредников. Клетка-мишень может начать «перегреться». Напротив, если бы было слишком мало посредников, то клетка могла стать «инертной». Именно в этом случае лекарства могут играть важную роль посредством замены эндогенного вещества (если отсутствуют собственные посредники действия) или блокировки рецепторов для эндогенных веществ (если есть слишком много естественных посредников).

Как определить, является ли лекарство агонистом или антагонистом и будет ли оно действовать вообще?

Чтобы ответить на этот вопрос, мы должны понять, что происходит, когда маленькая молекула лекарства или нейромедиатор взаимодействуют с рецептором.

Сначала рассмотрим, что происходит, когда собственный посредник тела (нейромедиатор или гормон) взаимодействует со своим рецептором.

3. ИОННЫЕ КАНАЛЫ И ИХ УПРАВЛЕНИЕ

Некоторые нейромедиаторы действуют посредством контроля ионных каналов.

Переместиться внутрь клетки ионам помогает структура белка, названная ионным каналом (рис. 28). Эта структура пересекает клеточную мембрану и состоит из белкового комплекса (нескольких субъединиц). Центр комплекса является полым и выложен полярными аминокислотами, чтобы пора была гидрофильной.

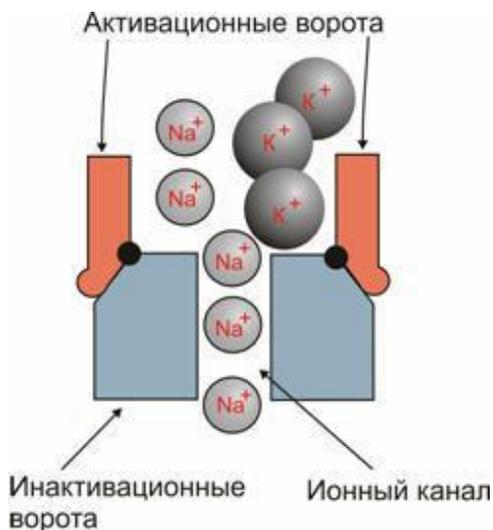


Рис. 28. Схема хемовозбудимого Na^+ канала

Канальный белок (гликопротеид) имеет внутренний просвет, который открывается или закрывается с помощью воротного механизма. Воротный механизм устроен достаточно сложно, поскольку имеет двое ворот – активационные и инактивационные. Положение воротного механизма (открыт или закрыт) зависит от помощи сенсора напряжения в электровозбудимых мембранах или помощи рецептора сигнальных молекул в хемовозбудимых мембранах. Во внутренней области канала расположен селективный фильтр, благодаря которому через пору могут проходить ионы только одного типа.

Контроль этих ворот, по-видимому, должен быть связан с сообщением, полученным от нейромедиатора или лекарства. Возможный механизм: сам белок-рецептор является «запирающими воротами», которые запечатывает ионный канал. Когда химический посредник связывается с рецептором, конечное изменение формы может заставить «запирающие ворота» открыться и позволить ионам пройти (рис. 29).

Действия ионного канала помогают объяснить, почему относительно небольшое количество молекул нейромедиатора, выделяемых нервом, способно оказывать такой существенный биологический эффект на клетку-мишень.

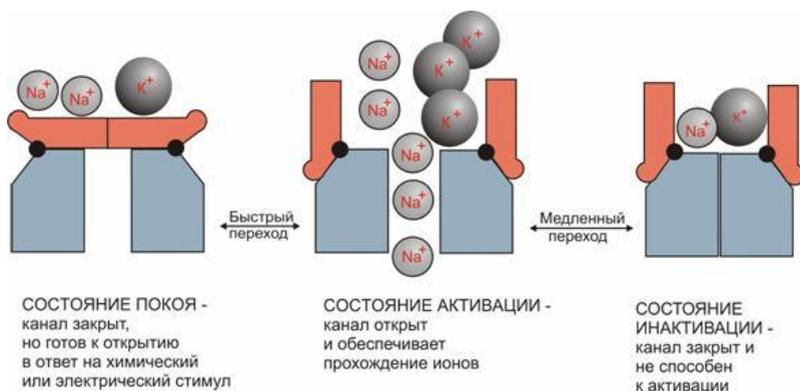


Рис. 29. Три разных функциональных состояния потенциал-зависимого натриевого канала

Известно более 50 видов каналов, причем каждая нервная клетка имеет более пяти видов каналов.

Каналы заполнены жидкостью, их диаметр 0,3–0,8 нм. Селективность ионных каналов определяется их диаметром и наличием в них заряженных частиц. Эти частицы имеют заряд, противоположный заряду иона, который они притягивают, что обеспечивает проход иона через канал (разноименные заряды, как известно, притягиваются). Через ионные каналы могут проходить и незаряженные частицы.

Ионы, проходя через канал, должны избавиться от гидратной оболочки, иначе их размеры будут превышать диаметр канала. Диаметр иона Na⁺, например, с гидратной оболочкой составляет 0,3 нм, а без нее – 0,19 нм. Слишком мелкий ион, проходя через селективный фильтр, не может отдать гидратную оболочку, и поэтому он может не пройти через канал. Однако, по-видимому, имеются и другие механизмы селективности ион-

ных каналов. Число ионных каналов на клеточной мембране огромно. Так, на 1 мкм² насчитывается примерно 50 Na⁺-каналов, они располагаются на расстоянии в среднем 140 нм друг от друга. Механизм функционирования ионных каналов определяется их строением, особо важную роль играет наличие или отсутствие в них управляемых ворот.

3.1. Ферменты, граничащие с мембраной, – активация / дезактивация

Это второй возможный механизм, посредством которого нейромедиатор может посылать свои сообщения в клетку. Как прежде, белок-рецептор расположен на внешней поверхности клеточной мембраны. На этот раз, однако, он ассоциирован именно с белком или ферментом, расположенным на внутренней стороне мембраны. Когда белок-рецептор связывается со своим нейромедиатором, он изменяет форму, это заставляет и фермент изменить форму. Такое изменение может, например, оголить и обнаружить активную зону фермента, которая ранее была скрыта, и таким образом начать новую реакцию внутри клетки.

Альтернативно фермент, связанный с мембраной, может нормально работать, и изменение в форме скрывает активную зону, отключая фермент от конкретной реакции.

Нейромедиаторы «включают» и «выключают» ферменты, связанные с мембраной, но не очевидно, что белок рецептора напрямую связан с ферментом, как описано выше. *Возможно, механизм взаимодействия более сложен.*

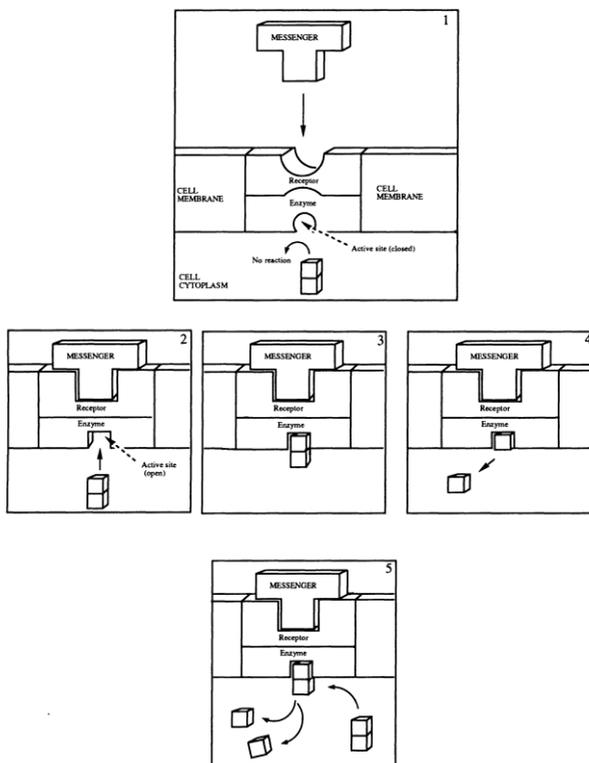


Рис. 30. Активация фермента, связанного с мембраной

Тем не менее независимо от включенного механизма конечный результат единый. Изменение в форме рецептора (или иначе – в третичной структуре белка) приводит в конечном счете к активации (или дезактивации) ферментов (рис. 30, 31). Поскольку ферменты могут катализировать реакцию большого числа молекул, вновь происходит усиление первоначального сообщения. Таким образом, относительно небольшое число молекул нейромедиатора может приводить к значительному биологическому результату.

В заключение отметим, что механизмы, посредством которых нейромедиаторы передают свои сообщения, включают, скорее, изменения молекулярной формы, чем механизмы хими-

ческой реакции. Эти изменения формы в конечном счете лежат в начале (в основе) химических реакций, протекающих с участием ферментов.

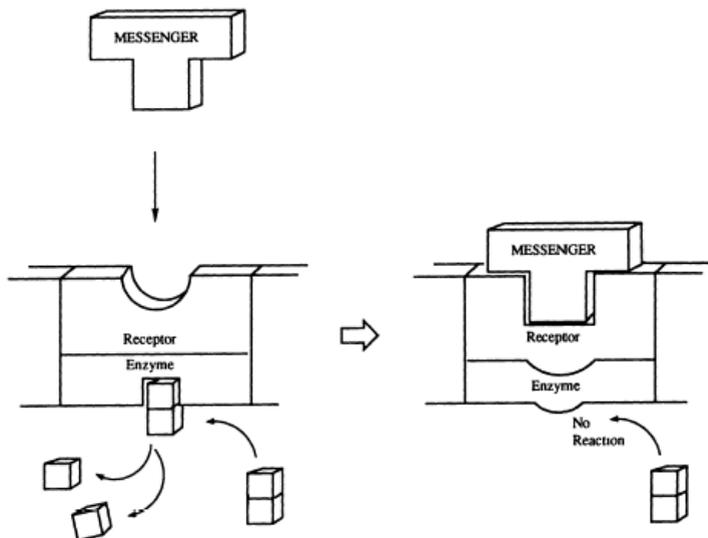


Рис. 31. Дезактивация фермента, связанного с мембраной

Как рецептор изменяет форму? Мы уже увидели, что именно молекула посредника заставляет рецептор изменять форму, но как он это делает? Это не так просто, как кажется на первый взгляд. Ответ, скорее всего, лежит в области специфических связывающих взаимодействий между посредником и рецептором. Это те же самые взаимодействия, что описаны для фермент-субстратных связываний, т.е. ионная связь, водородная связь и ван-дер-ваальсовы взаимодействия.

Ниже приведены значения прочности связи для некоторых типов взаимодействий. Ковалентная связь – около 250 кДж/моль; ионная связь – около 20 кДж/моль; водородная связь – около 6 кДж/моль; ван-дер-ваальсово взаимодействие – около 1,9 кДж/моль.

Посредник и белок-рецептор принимают конформации, или формы, чтобы максимизировать эти связывающие силы. Как в случае с фермент-субстратным связыванием, в связь рецептор–посредник включено точное регулирование. Силы связи должны быть достаточно большими, чтобы, во-первых, изменить форму рецептора, но не настолько сильными, чтобы посредник не был способен снова покинуть рецептор.

В качестве примера, включающего различные виды связывания, рассмотрим гипотетические нейромедиатор и рецептор. Нейромедиатор имеет ароматическое кольцо, которое может взаимодействовать с гидрофобной связывающей зоной посредством сил Ван-дер-Ваальса, спиртовую группу, которая может взаимодействовать посредством водородных связей, и заряженный азотный центр, который может взаимодействовать посредством ионных сил (рис. 32).

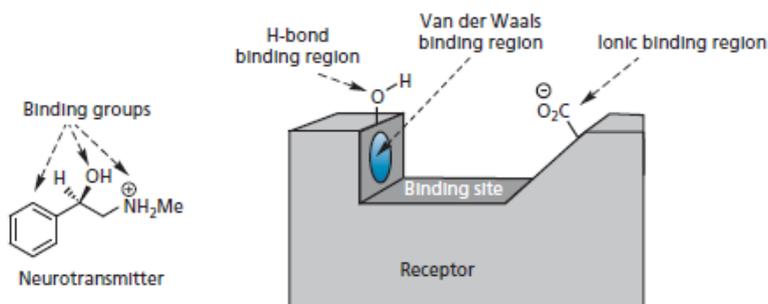


Рис. 32. Гипотетические нейромедиатор и рецептор

Гипотетический белок-рецептор расположен в клеточной мембране так, что он изолирует ионный канал и содержит три связывающие области (рис. 33).

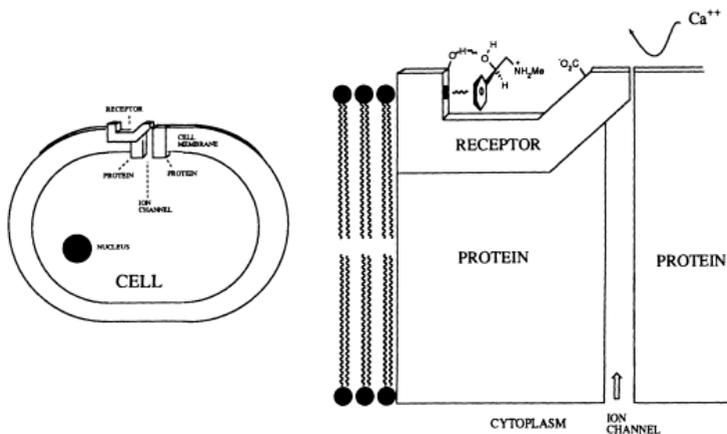


Рис. 33. Белок-рецептор, расположенный в клеточной мембране

Если связывающая зона имеет комплиментарные (взаимно соответствующие фрагменты) связывающие группы для групп, приведенных выше, то медиатор-лекарство может подойти в связывающую зону и прочно связаться. Все это очень хорошо, но когда он связался с белком, что же заставляет рецептор изменить форму? Как и прежде, мы должны предположить, что соответствие не совсем точное, иначе бы для рецептора не было бы никакой причины изменять форму. Мы можем предположить, что наш посредник в связывающей зоне имеет хорошее связывание в двух из трех связывающих позиций. Третья связывающая зона (ионная) не совсем в правильном положении. Она расположена близко, чтобы возникло слабое взаимодействие, но недостаточно близко для оптимально сильного взаимодействия. Ввиду этого белок-рецептор вынужден изменять форму, чтобы получить лучшее связывающее взаимодействие. Карбоксильная группа лучше притягивается к положительно заряженному атому азота молекулы посредника, и, как результат, «закрытые» ворота открываются и остаются открытыми до тех пор, пока молекула посредника не покинет связывающую зону и не позволит рецептору вернуться в свою исходную форму (рис. 34).

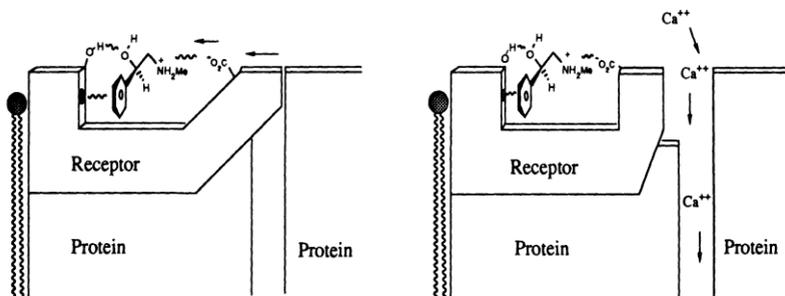


Рис. 34. Открытие «закрытых» ворот

4. РАЗРАБОТКА АГОНИСТОВ

Теперь мы близки к пониманию того, как можно было бы сконструировать лекарство, подобное натуральным нейромедиаторам. Допустим, что нам известно, какие связывающие группы находятся в зоне рецептора и где они расположены. Тогда мы сможем сконструировать лекарство, способное взаимодействовать с рецептором. При этом необходимо соблюдать следующие требования:

- 1) лекарство должно иметь правильные связывающие группы;
- 2) эти связывающие группы должны быть правильно расположены в лекарстве;
- 3) лекарство для связывающей зоны должно быть правильного размера.

4.1. Связывающие группы

Если мы рассматриваем наш гипотетический рецептор и его натуральный нейромедиатор, то можем довольно точно предсказать, какие (из серии) молекулы будут взаимодействовать с рецептором, а какие не будут (рис. 35).

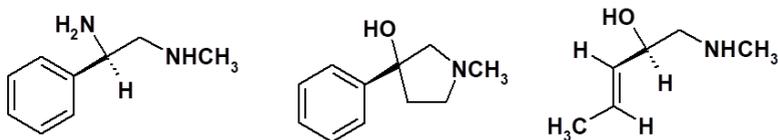


Рис. 35. Возможные агонисты гипотетического нейромедиатора

Все они выглядят по-разному, но все содержат связывающие группы, чтобы взаимодействовать с рецептором. Таким образом, они легко могут быть потенциальными агонистами или альтернативами для натурального нейромедиатора.

Однако у ряда структур на рис. 35 отсутствует одна или больше требуемых связывающих групп, поэтому от них можно было бы ожидать слабую активность. При попадании в связывающую зону рецептора они могут вызвать только слабое связывание, если вообще вызовут таковое.

Конечно, здесь мы делаем допущение, что существенны все три связывающие группы. Разумеется, спорно, что такое соединение, как структура II на рис. 36, могло бы быть эффективным даже при отсутствии удобной ионной связи.

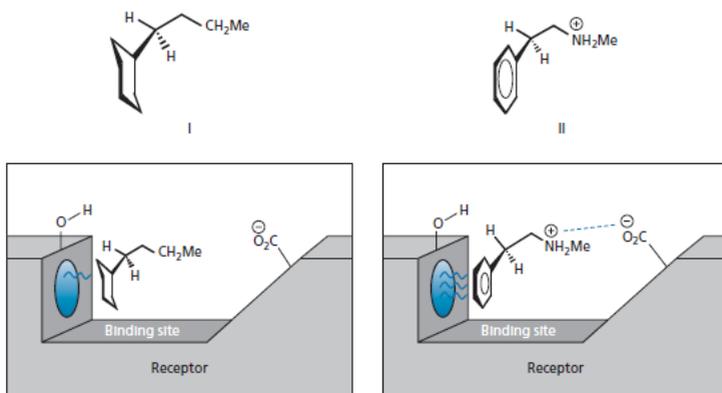


Рис. 36. Структуры, обладающие меньшим числом связывающих зон, чем требуется

Это можно оспаривать, но фактически нейромедиаторы появляются, чтобы связаться, передать свое сообщение и затем очень быстро покинуть связывающую зону. Чтобы сделать это, необходим точный баланс связывающих сил между рецепторами и нейромедиаторами. Силы эти должны быть достаточно прочными, чтобы эффективно связать нейромедиатор, побуждая рецептор изменить форму. Однако связи не могут быть слишком прочными, иначе нейромедиатор не будет способен уйти, а рецептор не будет способен принять свою первоначальную форму. Исходя из этого, приемлемо допустить: чтобы нейромедиатору быть эффективным, ему необходимы все его связывающие взаимодействия. Отсутствие даже одного из этих взаимодействий может привести к значительной потере активности.

4.2. Расположение связывающих групп

Молекула может иметь правильные связывающие группы, но если они в неправильных положениях, то все будут способны образовывать связи в одинаковой мере. Как результат этого, связывание слабое и молекула очень быстро покидает зону связывания. Результат – никакого эффекта.

Например, молекула, показанная на рис. 37, очевидно, имеет свои связывающие группы в неправильном положении.

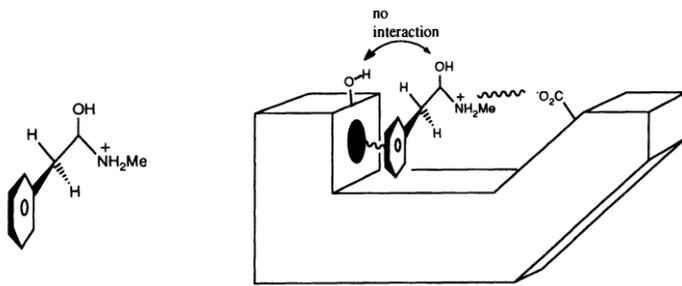


Рис. 37. Молекула со связывающими группами в неправильных положениях

Есть и более тонкие, но не менее существенные отличия. Например, зеркальное отображение нашего гипотетического нейромедиатора (рис. 38).

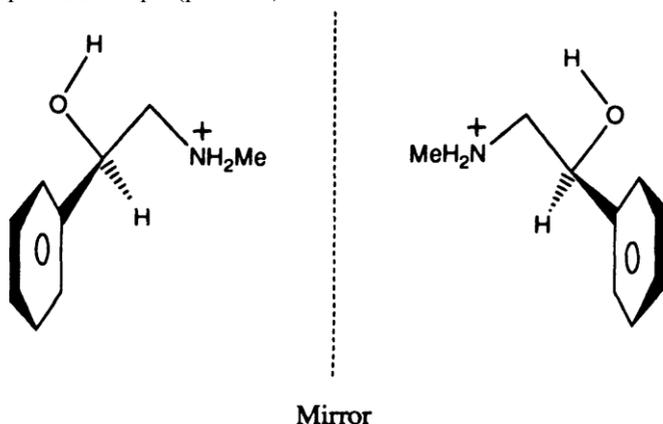


Рис. 38. Зеркальное отображение гипотетического нейромедиатора

Структура имеет ту же самую формулу и ту же самую основную структуру, как и наша исходная. Она будет иметь те же физические свойства, подвергаться тем же химическим реакциям, но у нее не та же самая форма. Зеркальное отображение не способно полностью совпадать и соответствовать зоне рецептора (рис. 39).

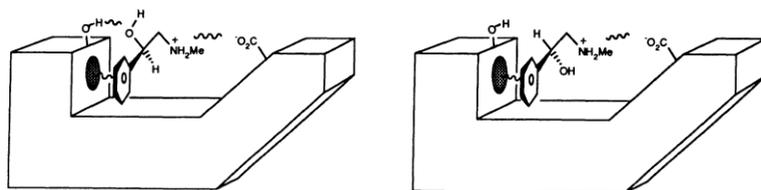


Рис. 39. Взаимодействие между гипотетическим нейромедиатором и его зеркальным отображением в зоне рецептора

Таким образом, мы имеем дело с хиральными соединениями с одним асимметрическим атомом. Есть два существенных

различия между двумя зеркальными отображениями (энантиомерами) хирального соединения. Они вращают плоско поляризованный свет в разных направлениях и по-разному взаимодействуют с такими хиральными системами, как ферменты. Это имеет очень важное значение для фармацевтической промышленности.

Фармацевтические препараты обычно синтезируются из простых исходных материалов, при использовании простых ахиральных (симметричных) химических реагентов. Эти реагенты не способны к различению двух зеркальных отображений хирального соединения. В результате большинство хиральных лекарств синтезируются как смесь обоих зеркальных отображений (рацемат). Однако из нашего собственного простого примера мы видим, что только один из этих энантиомеров способен взаимодействовать с рецептором. Что же происходит с другим энантиомером?

В лучшем случае он находится в теле человека, не делая ничего. В худшем случае он взаимодействует с абсолютно другим рецептором и дает нежелательный побочный эффект. В этом возможное объяснение трагедии с лекарственным препаратом талидомидом. Один из энантиомеров был превосходным седативным средством. Другой реагировал в теле как яд и был тератогенным (вызывал аномалии в человеческом эмбрионе).

Даже если «неправильный» энантиомер не делает ничего опасного, затрачивается много денег и усилий, чтобы синтезировать лекарства, которые эффективны только на 50 %. Вот почему одним из крупнейших направлений химических исследований в области асимметрического синтеза в настоящее время является синтез в лаборатории простых энантиомеров хиральных соединений.

Конечно, природа занималась таким синтезом миллионы лет. По-видимому, имеется какой-то смысл в том, что она взяла в работу только «левовращающие» энантиомеры аминокислот, ферменты также существуют как единственные энантиомеры, поэтому катализируют энантиоспецифические реакции – реакции, которые дают только один энантиомер.

Важность наличия связывающих групп в правильном положении привела химика-фармацевта к понятию «фармакофор».

5. ФАРМАКОФОРЫ

Описание молекулярных систем с использованием общих физико-химических, квантово-химических и других индексов является довольно формальным, поскольку апеллирует к неким величинам, которые довольно неоднозначно связаны с химической структурой. Альтернативой такому описанию служит сугубо химический подход, использующий элементы химической структуры в качестве своеобразного алфавита для описания взаимоотношений структура–свойство. Этот подход базируется на некоторых тезисах (аксиомах), выработанных на протяжении истории развития исследований медицинской химии. Важнейшими среди таких аксиом являются следующие:

1. Фармакологическое действие биологически активных соединений определяется способностью взаимодействовать с биологической мишенью – рецептором.

2. Во взаимодействии химических соединений с рецептором принимает участие не вся молекула, а лишь ее часть (фармакофор). Обычно такое взаимодействие ограничивается образованием относительно слабых связей: ван-дер-ваальсовых, электростатических, водородных.

3. Соединения, обладающие сходными фармакофорами, оказывают сходное фармакологическое действие. Действие фармакофоров может усиливаться или ослабляться другими функциональными группами молекулы. В связи с этим возникает возможность сугубо химического описания молекулярной структуры с целью выявления фармакофоров.

Термин «фармакофор» был введен П. Эрлихом в 1909 г.

Фармакофор – это молекулярный остов, который несет (фор) существенные признаки, ответственные за биологическую активность лекарства (фармако).

В 1977 г. это определение было модифицировано Питером Гундом:

Фармакофор – это набор структурных признаков в молекуле, которые распознаются биологическими рецепторами и являются ответственными за биологическую активность молекулы.

Определение ИЮПАК следующее:

Фармакофор (от др.-греч. *Φάρμακον* – лекарство и *φορός* – несущий) – это набор пространственных и электронных признаков, необходимых для обеспечения оптимальных супрамолекулярных взаимодействий с определенной биологической мишенью, которые могут вызывать (или блокировать) ее биологический ответ. Модель фармакофора позволяет объяснить, за счет чего структурно разнородные лиганды взаимодействуют с одними и теми же сайтами рецепторов.

Под фармакофорными признаками обычно понимаются фармакофорные центры и интервалы расстояний между ними, необходимые для проявления данного типа биологической активности. Типичными фармакофорными центрами при этом являются гидрофобные области, ароматические кольца, доноры и акцепторы водородной связи, анионные и катионные центры. При фармакофорном поиске ищется соответствие между описанием фармакофора и характеристиками молекул из базы данных, находящихся в допустимых конформациях.

Фармакофор не представляет собой реальную молекулу или реальную совокупность функциональных групп, но является верной абстрактной концепцией, рассматривающей общие молекулярные способности групп соединений по отношению к структуре мишени.

В этом подходе принято именно правильное расположение связывающих групп, что определяет, будет ли лекарство действовать как посредник или нет, и что остальная часть молекулы служит для того, чтобы держать группы в этих положениях. Ввиду этого активное воздействие совершенно различных структур на рецептор может быть объяснено тем, что все они содержат правильные связывающие силы в правильных положениях. В этом случае может быть предложен дизайн абсолютно новых структур или молекулярных конструкций, чтобы держать эти связывающие группы в правильных положениях, ведущий к новым сериям лекарств. Есть, однако, ограничивающий фактор.

5.1. Размер и форма

Соединения могут иметь правильные связывающие группы в правильном положении, но не могут эффективно взаимодействовать, если имеют неправильный размер или форму.

Например, есть структура в качестве возможного кандидата для нашей гипотетической системы нейромедиатор–рецептор (рис. 40).

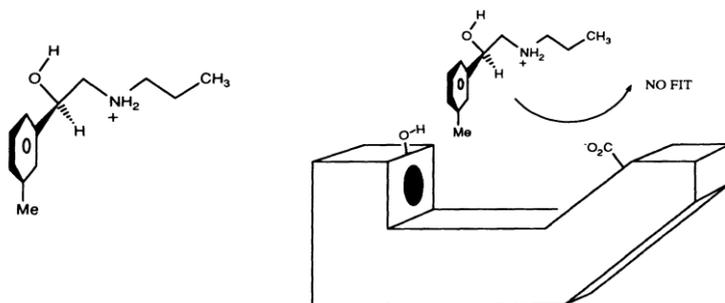


Рис. 40. Структура с метаметильной группой

Структура имеет метаметильную группу в ароматическом кольце и длинную алкильную цепь при атоме азота. Рассматривая только факторы размера, мы могли бы заключить, что эти особенности мешают молекуле эффективно закрепиться на рецепторе.

Метаметильная группа действует как буфер и предотвращает достаточно глубокое «погружение» в связывающую зону для эффективного связывания. Более того, длинная алкильная цепь при атоме азота делает эту часть молекулы слишком объемной для пространства, доступного ей.

Таким образом, необходимо иметь полное представление об объеме пространства и связывающей зоне при проектировании аналогов, которые будут ему соответствовать.

5.2. Дизайн антагонистов

Мы рассмотрели возможность разрабатывать лекарства, чтобы имитировать натуральный интермедиатор (агонист).

В противоположном случае, когда в организме очень много нейромедиаторов, действующих в теле, мы должны противодействовать им, т.е. создать антагонисты.

Существует несколько стратегий создания антагонистов, но теоретически желательно разрабатывать лекарство (антагонист), которое должно быть правильной формы, чтобы связываться с зоной рецептора, но которое или не изменяет форму белка-рецептора, или деформирует ее слишком сильно. Рассмотрим варианты.

5.3. Соединения, действующие как антагонисты в связывающей зоне

Соединение, как показано на рис. 41, точно соответствует связывающей зоне и в результате не вызывает никакого изменения формы. Ввиду этого связывающая зона заблокирована от натурального нейромедиатора и нет никакого биологического эффекта.

В этой ситуации антагонист должен конкурировать с нейромедиатором или агонистом за рецептор, но обычно антагонист берет верх в этом соревновании, поскольку он часто связывается более сильно.

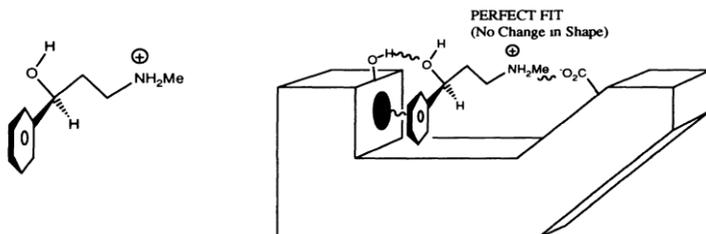


Рис. 41. Соединение, действующее как антагонист в связывающей зоне

Подведем итог: если мы знаем форму и состав связывающих зон рецептора, то должны сравнительно легко разрабатывать лекарства, действующие как агонисты или антагонисты. К сожалению, это не так просто. Обнаружение рецептора и определение расположения его связывающих групп – задача очень непростая. На самом деле форма связывающей зоны рецептора определяется опытным путем в результате синтеза большого числа соединений и рассмотрения тех молекул, которые соответствуют этой зоне, и тех, которые не соответствуют.

Однако появление молекулярной компьютерной графики и наличие рентгеновских кристаллографических данных теперь позволяет иметь более точное представление о связывающих зонах белков, что дает толчок новому этапу синтеза лекарств.

Антагонисты, действующие вне связывающей зоны

Иногда информация о местоположении и форме связывающей зоны является необязательной при разработке антагонистов. Есть много примеров антагонистов, которые не имеют никакого структурного подобия нативным (находящимся в природном состоянии, немодифицированным, сохранившим структуру, присущую ему в живой клетке) нейромедиаторам и не удовлетворяют геометрическим требованиям связывающей зоны. Такие антагонисты часто содержат одно (или более) ароматическое кольцо, поэтому можно предполагать, что ван-дерваальсовы взаимодействия являются важными для их связывания.

Аллостерические антагонисты

Антагонист может связываться в абсолютно другой части рецептора. Процесс связывания может изменить форму белка рецептора таким образом, что нейромедиаторная связывающая зона окажется искаженной и не способной к узнаванию нейромедиатора (рис. 42). Таким образом, связывание между нейромедиатором и рецептором становится невозможным и сообщение не передается. Это форма антагонизма неконкурентная, поскольку антагонист не конкурирует с нейромедиатором за одну и ту же связывающую зону.

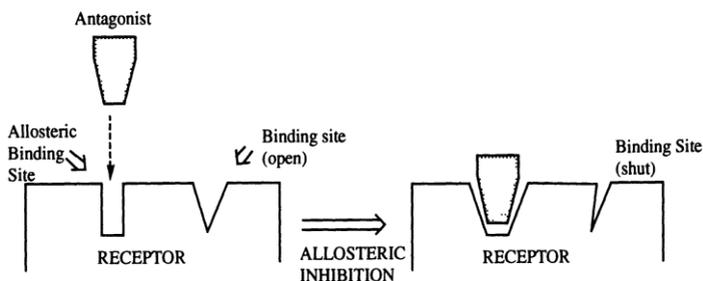


Рис. 42. Аллостерические антагонисты

Антагонизм за счет зонтикового эффекта

Нужно помнить, что белок-рецептор «ощетинивается» остатками аминокислот, которые способны взаимодействовать с приходящими молекулами. Ввиду этого нереально думать о связывающей зоне нейромедиатора как об изолированном «острове», окруженном мягкой, невыразительной, неактивной зоной. Вблизи связывающей зоны будут существовать области, которые способны к связыванию через ван-дер-ваальсовы, ионные или водородные связи.

Эти области не могут быть использованы нейромедиаторами, но они могут быть использованы другими молекулами. Если эти молекулы связываются в таких областях и оказывается, что они лежат над или частично над связывающей зоной нейромедиатора, то они будут действовать как антагонисты и предотвращать достижение нейромедиатором своей связывающей зоны (рис. 43).

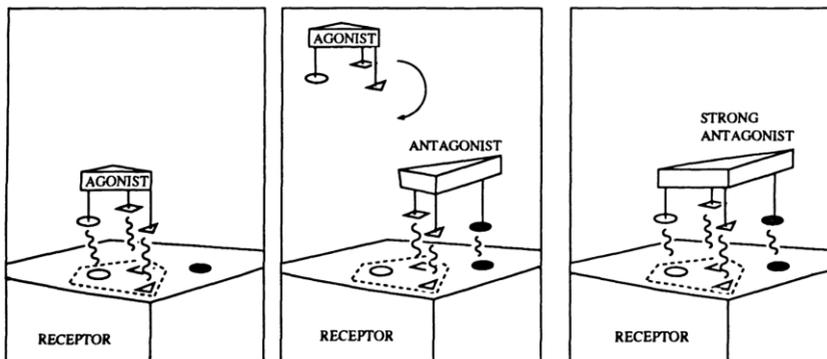


Рис. 43. Антагонизм посредством «зонтичного эффекта»

Эта форма антагонизма – эффект «зонтика» и является формой конкурентного антагонизма, поскольку прямо воздействует на нормальную связывающую зону.

5.4. Частичные агонисты

Часто открытые лекарства не могут быть определены как чистые антагонисты или чистые агонисты.

Такие соединения связываются с зоной рецептора и блокируют доступ нейромедиатору, таким образом, в этом смысле они – антагонисты. Однако очень слабо активируют рецептор, так что получен тонкий сигнал. В нашей гипотетической ситуации (рис. 44) мы могли бы представить частичного агониста в качестве молекулы, которая почти точно соответствует связывающей зоне, так что в результате связывания происходит только очень незначительное искажение рецептора. Это только частично открывает ионный канал.

Альтернативным объяснением частичного агонизма является то, что рассмотренная молекула могла бы быть способна к связыванию рецептора двумя разными способами, используя разные связывающие группы. Один способ связывания активировал бы рецептор, в то время как другой – нет. Баланс между

агонизмом и антагонизмом зависел бы тогда от относительных размеров молекул, связывающихся тем или иным способом.

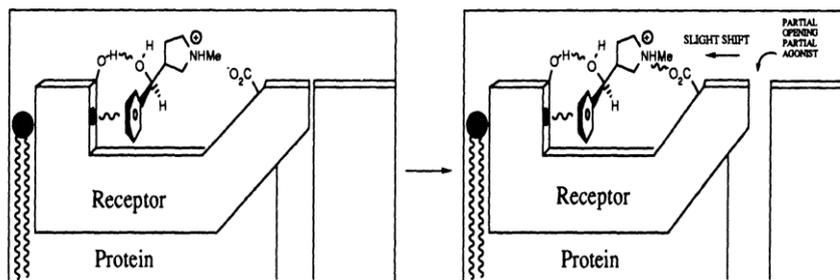


Рис. 44. Частичный агонизм

6. ДЕСЕНСИБИЛИЗАЦИЯ

Некоторые физиологически активные вещества связываются с рецептором относительно прочно, «включают» его, но впоследствии блокируют. Таким образом, они действуют как агонисты, затем как антагонисты. Механизм того, как это происходит, не ясен. Есть теория, что рецепторы могут оставаться активированными в течение только определенного периода времени. Как только период проходит, происходит другое изменение в третичной структуре, которое выключает рецептор, несмотря на то, что связывающая зона занята (рис. 45). Это изменение третичной структуры поддерживается до тех пор, пока занята связывающая зона. Когда в конечном счете вещество выйдет оттуда, рецептор вернется в свою исходную форму. Этот эффект получил название *десенсибилизация*.

В заключение отметим, что лучшие агонисты стремительно связываются с рецептором, передают свое сообщение и затем быстро его покидают. Антагонисты, напротив, имеют тенденцию медленно соединяться и медленно отделяться от рецептора.

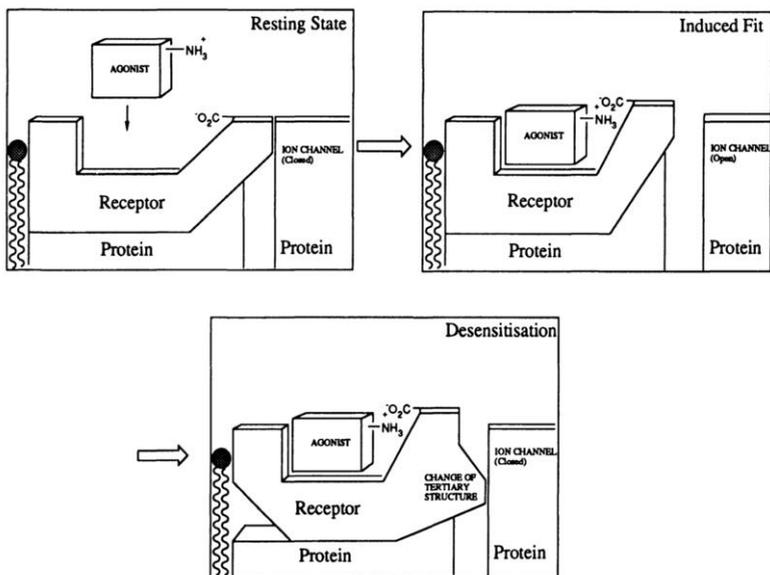


Рис. 45. Десенсибилизация

7. ПЕРЕНОСИМОСТЬ И ЗАВИСИМОСТЬ

Было обнаружено, что «задерживание» клеткой-мишенью определенного нейромедиатора стимулирует клетку синтезировать большее количество рецепторов. Делая так, клетка получает большую чувствительность, чтобы располагать меньшим количеством нейромедиаторов. Этот процесс может объяснять явления переносимости и зависимости.

Переносимость – это ситуация, при которой требуются большие количества лекарства, чтобы получить ту же самую биологическую реакцию. Если лекарство действует, чтобы подавить связывание нейромедиатора, то клетка может реагировать, увеличивая число рецепторов. Чтобы восстановить тот же самый уровень антагонизма, потребуется увеличение дозы лекарства.

Если бы лекарственное средство внезапно исчезло, то все рецепторы стали бы доступными. Тогда имелся бы излишек ре-

цепторов, которые делали бы клетку сверхчувствительной к нормальному количеству нейромедиаторов. Это было бы эквивалентно получению передозировки лекарства. Идущие за этим биологические действия – беспокоящие симптомы. Эта абстиненция продолжалась бы до тех пор, пока число рецепторов не возвратилось бы к их первоначальному уровню. В течение этого периода пациент хочет принимать лекарство снова, чтобы возвратиться к нормальному состоянию, т.е. возникает зависимость от лекарственного средства (рис. 46).

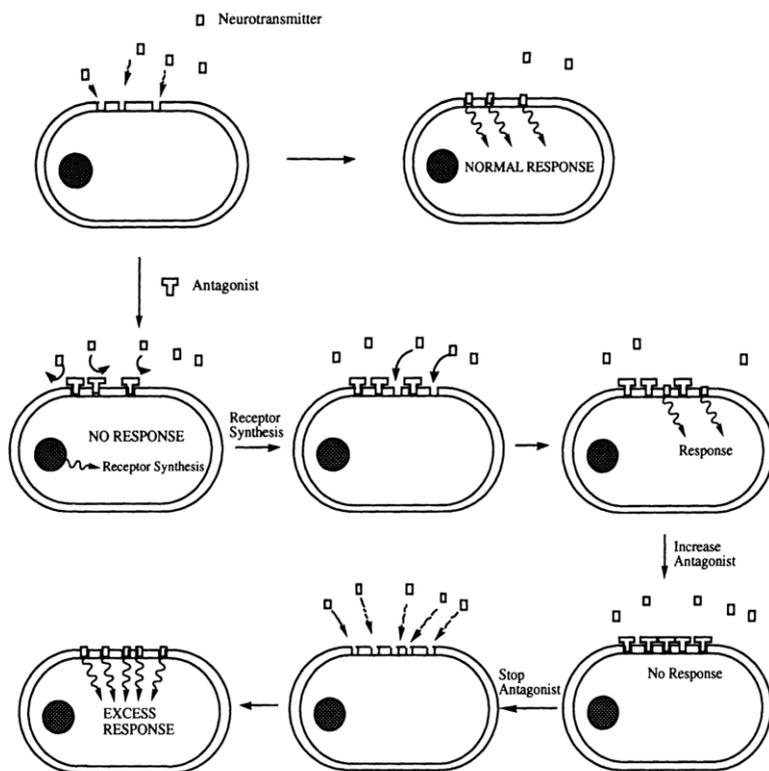


Рис. 46. Процесс возрастания клеточной чувствительности

Следует отметить, только в последние годы химики-фармацевты начали понимать, что такое рецепторы и решать проблему взаимодействия рецептора и физиологически активного вещества.

8. ДЕЙСТВИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА АЦЕТИЛХОЛИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Многие современные лекарственные средства оказывают лечебное действие, влияя специфическим образом на передачу нервного возбуждения в окончаниях периферических нервов. Усиливая, ослабляя или блокируя передачу нервного возбуждения, они меняют функциональное состояние соответствующих органов или систем.

Действие нейротропных лекарственных средств может быть связано с влиянием на биосинтез и метаболизм эндогенных нейромедиаторов. Так, действие антихолинэстеразных препаратов обусловлено блокадой фермента холинэстеразы, расщепляющего и инактивирующего ацетилхолин. В то же время действие реактиваторов холинэстеразы сводится к восстановлению активности этого фермента.

Крупным достижением науки в последнее время явилось открытие существования подгрупп (субпопуляций) адренергических (α_1 , α_2 , β_1 , β_2), холинергических (M_1 , M_2 , M_3), дофаминергических (D_1 , D_2 и др.), гистаминовых (H_1 , H_2 , H_3), серотониновых (C_1 , C_2 , C_3 – 5-НТ₁, 5-НТ₂, 5-НТ₃) и других рецепторов (5-НТ – от химического названия серотонина 5-Hydroxytryptamin). Это открытие способствовало созданию новых лекарственных средств, действующих преимущественно на различные подгруппы рецепторов и оказывающих избирательное фармакологическое и лечебное действие.

Помимо веществ, участвующих в передаче возбуждения в области синапсов (нейромедиаторов), существует ряд биогенных веществ (гистамин, брадикинин, простагландины, аденозин и др.), которые рассматриваются как медиаторные вещества, участвующие в гуморальной регуляции (гуморальная регуляция, координация физиологических и биохимических процессов, осуществляемая через жидкие среды организма (кровь, лимфу,

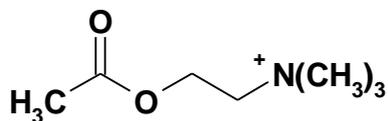
тканевую жидкость) с помощью биологически активных веществ (метаболиты, гормоны, гормоноиды, ионы), выделяемых клетками, органами и тканями в процессе их жизнедеятельности) физиологических и патологических процессов (воспаления, аллергии и др.). Действие некоторых групп лекарственных средств (противогистаминных, нестероидных противовоспалительных препаратов и др.) связано с влиянием на образование и метаболизм этих «медиаторных» веществ. В последние годы значительно увеличилось количество обнаруженных в организме эндогенных физиологически активных соединений, участвующих в регуляции нервных и гуморальных (метаболических) процессов. Изучению этих веществ (регуляторных пептидов и др.) уделяется большое внимание ввиду возможности создания на их основе новых лекарственных веществ, а также с учетом роли этих веществ в механизмах фармакологических эффектов.

8.1. Ацетилхолин и холиномиметические вещества

Ацетилхолин – самый «древний» нейромедиатор человеческого организма. Пресноводные губки, например, вообще не имеют других медиаторов, кроме ацетилхолина. Поскольку ацетилхолин является самым «древним» в эволюционном плане нейромедиатором, в организме он представлен исключительно широко.

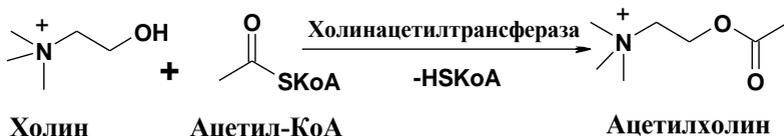
Открытие фармакологической активности АХ связано с работами, проводимыми с надпочечниками. В 1900 г. было обнаружено, что после удаления из экстрактов надпочечников адреналина экстракты не только теряли способность повышать артериальное давление у экспериментальных животных, но даже, наоборот, снижали его. Исследователи вначале приписывали этот эффект холину. При исследовании производных холина было выявлено, что его ацетилирование приводит к увеличению способности соединения снижать артериальное давление более чем в 100 000 раз.

Ацетилхолин представляет собой сложный эфир уксусной кислоты и холина:



Ацетилхолин

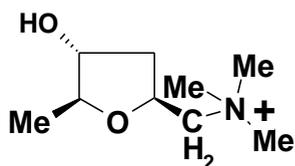
Он синтезируется в окончаниях нервной клетки из холина и активной формы ацетата – ацетилкоэнзима А – при помощи специального фермента холинацетилтрансферазы (холинацетилазы):



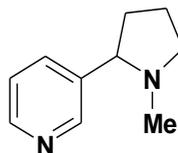
Образующийся в организме (эндогенный) ацетилхолин играет важную роль в процессах жизнедеятельности: он принимает участие в передаче нервного возбуждения в ЦНС, вегетативных узлах, окончаниях парасимпатических и двигательных нервов. Ацетилхолин относится к числу самых важных нейромедиаторов головного мозга.

Ацетилхолин является химическим передатчиком (медиатором) нервного возбуждения. Окончания нервных волокон, для которых он служит медиатором, называются *холинергическими*, а рецепторы, взаимодействующие с ним, – *холинорецепторами*. Холинорецептор (по современной зарубежной терминологии – холиноцептор) является сложной белковой макромолекулой (нуклеопротеидом), локализованной на внешней стороне постсинаптической мембраны. Следует отметить, что существует два вида холинорецепторов. В зависимости от чувствительности к той или иной группе химических соединений один из них возбуждается мускарином, другой – никотином, поэтому их обозначают как *m*-холинорецепторы (мускариночувствительные) и как *n*-холинорецепторы (никотиночувствительные). Мускариновые рецепторы ацетилхолина, имеющиеся во многих нейронах автономной нервной системы, специфически блоки-

руются атропином. Никотиновые синапсы присутствуют в ганглиях и скелетных мышцах. Их ингибиторами являются кураре и активный компонент этого яда D-тубокурарин.



(+)-Мускарин



Никотин

Периферическое мускариноподобное действие ацетилхолина проявляется в замедлении сердечных сокращений, расширении периферических кровеносных сосудов и понижении артериального давления, усилении перистальтики желудка и кишечника, сокращении мускулатуры бронхов, матки, желчного и мочевого пузыря, усилении секреции пищеварительных, бронхиальных, потовых и слезных желез, сужении зрачков (миоз).

Периферическое никотиноподобное действие ацетилхолина связано с его участием в передаче нервных импульсов с преганглионарных волокон на постганглионарные в вегетативных узлах, а также с двигательных нервов на поперечнополосатую мускулатуру. В малых дозах он является физиологическим передатчиком нервного возбуждения, в больших дозах может вызвать стойкую деполяризацию в области синапсов и блокировать передачу возбуждения.

Способ передачи сигнала включает в себя следующие основные этапы:

- 1) захват предшественников медиатора нервными окончаниями;
- 2) синтез медиатора в нервных окончаниях;
- 3) депонирование медиатора и хранение его в везикулах;
- 4) деградация избытка медиатора в нервных окончаниях;
- 5) деполяризация пресинаптического окончания распространяющимся потенциалом действия;
- 6) вход Ca^{2+} в ответ на деполяризацию пресинаптической мембраны;

- 7) высвобождение квантовых количеств медиатора в синаптическую щель;
- 8) диффузия медиатора к постсинаптическим рецепторам;
- 9) взаимодействие медиатора с постсинаптическими рецепторами и формирование ответа на эффекторных клетках;
- 10) инактивация медиатора в синаптической щели;
- 11) обратный захват медиатора или продуктов его деградации пресинаптическими окончаниями.

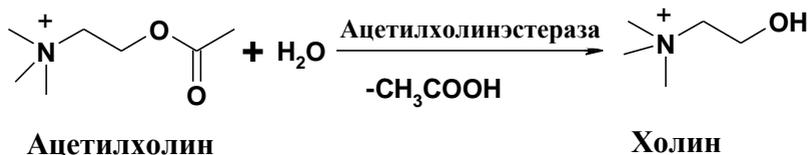
В общих чертах картину участия ацетилхолина в передаче нервного импульса можно представить следующим образом. В синаптических нервных окончаниях имеются пузырьки (везикулы) диаметром 30–80 нм, которые содержат нейромедиаторы. В холинергических синапсах каждый пузырек диаметром 80 нм содержит ~40 000 молекул ацетилхолина. При возбуждении высвобождение медиатора происходит «квантами», т.е. путем полного опорожнения каждого отдельного пузырька. В нормальных условиях под влиянием сильного импульса выделяется примерно 100–200 квантов медиатора – количество, достаточное для инициирования потенциала действия в постсинаптическом нейроне. Происходит это, по-видимому, следующим образом. Деполяризация мембраны синаптических окончаний вызывает быстрый ток ионов Ca^{2+} в клетку. Временное увеличение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} стимулирует слияние мембраны синаптических пузырьков с плазматической мембраной и таким образом запускает процесс высвобождения их содержимого. Для выброса содержимого одного пузырька требуется примерно четыре иона Ca^{2+} . Выделенный в синаптическую щель ацетилхолин вступает во взаимодействие с белком-хеморецептором, входящим в состав постсинаптической мембраны. В результате изменяется проницаемость мембраны – резко увеличивается ее пропускная способность для ионов Na^+ . Взаимодействие между рецептором и медиатором запускает ряд реакций, заставляющих постсинаптическую нервную клетку выполнять свою специфическую функцию (рис. 47).

Известно, что ацетилхолин может оказывать как возбуждающее, так и ингибирующее действие. Это зависит от природы ионного канала, который он регулирует при взаимодействии с соответствующим рецептором.



Рис. 47. Синапс

После выделения медиатора должна наступить фаза его быстрой инактивации, или удаления, чтобы подготовить синапс к восприятию нового импульса. В холинергических синапсах это происходит двумя путями. Первый путь заключается в том, что ацетилхолин подвергается ферментативному гидролизу. Второй путь – это энергозависимый активный транспорт ацетилхолина в нейрон, где он накапливается для последующего повторного использования. Гидролитический распад ацетилхолина на уксусную кислоту и холин катализируется ферментом, который получил название «ацетилхолинэстераза»:



В большинстве отделов головного мозга гидролиз ацетилхолина осуществляется ацетилхолинэстеразой (истинная холинэстераза, которая гидролизует ацетилхолин быстрее, чем иные эфиры холина). В нервной ткани существуют и другие эстеразы, которые способны гидролизовать ацетилхолин, но зна-

чительно медленнее, чем, например, бутирилхолин. Эти эстеразы называются холинэстеразой (или псевдохолинэстеразой). К числу холинергических систем относятся моторные нейроны, образующие нервно-мышечные соединения, все преганглионарные нейроны автономной нервной системы и постганглионарные нейроны парасимпатической нервной системы. Большое количество холинергических симпатических областей обнаружено также в головном мозге.

Ацетилхолину принадлежит также важная роль как медиатору ЦНС. Он участвует в передаче импульсов в разных отделах мозга, при этом малые концентрации облегчают, а большие тормозят синаптическую передачу. Изменения в обмене ацетилхолина могут привести к нарушению функций мозга. Некоторые центрально-действующие антагонисты ацетилхолина являются психотропными препаратами. Передозировка антагонистов ацетилхолина может вызвать нарушения высшей нервной деятельности (оказывать галлюциногенный эффект и др.).

Ацетилхолиновые рецепторы (никотиновый и мускариновый) – это лиганд-активируемые ионные каналы, которые открываются для прохождения ионов Na^+ и K^+ . Никотиновые рецепторы (быстрые) локализованы главным образом в месте контакта аксонов со скелетными мышцами. Мускариновые рецепторы (медленные) локализованы в головном мозге, секреторных клетках, гладких и сердечных мышцах.

Физиологически важным различием между *m*- и *n*-холинорецепторами является скорость их ответа. Считается, что никотиновые рецепторы предназначены опосредовать быстрые и непродолжительные эффекты и не способны суммировать во времени ответы на последовательные нервные импульсы, а мускариновые рецепторы, наоборот, реагируют длительно и медленно.

Наиболее хорошо изученным рецептором – ионным каналом – является ацетилхолиновый никотиновый рецептор.

Эти рецепторы широко распространены в человеческом организме. В целом их дислокацию можно определить следующим образом: ЦНС, скелетные мышцы, вегетативные ганглии, клетки мозгового слоя надпочечников.

Объектом для выделения *n*-холинорецептора в чистом виде послужил электрический орган некоторых тропических рыб (аналог скелетной мышцы).

Эта молекула массой 250 000 дальтон представляет собой пентамерный гликопротеин (соединение, в молекулах которого остатки олиго- или полисахаридов ковалентно связаны (О- или N-гликозидными связями) с полипептидными цепями белка), состоящий из трансмембранных полипептидов четырех разных типов (α , β , γ , δ), каждый из которых кодируется отдельным геном, хотя они все во многом сходны по последовательности аминокислот.

Два из пяти полипептидов пентамера идентичны и образуют места связывания ацетилхолина. Две молекулы ацетилхолина присоединяются к пентамерному комплексу и вызывают конформационное изменение, приводящее к открытию канала. Связав ацетилхолин и перейдя в открытое состояние, канал остается некоторое время открытым, это время варьирует случайным образом и составляет в среднем 1 мс. При длительном воздействии ацетилхолина (что в нормальных условиях случается редко) канал переходит в состояние десенсibilизации, аналогичное инактивированному состоянию натриевых каналов. В открытой конформации канал имеет просвет, сужающийся от наружного конца диаметром 2,5 нм к внутреннему концу диаметром 0,65 нм. Заряды распределены по стенке канала таким образом, что отрицательные ионы не проходят через него, а положительные могут проникать в клетку. Ток создают в основном ионы натрия и калия, а также некоторое количество ионов кальция (рис. 48).

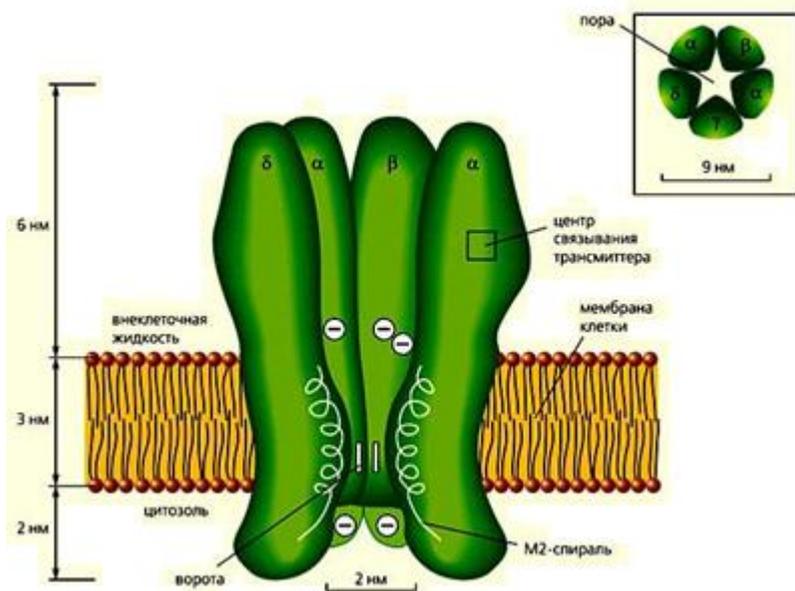


Рис. 48. Никотиновый ацетилхолиновый рецептор

Схема расположения субъединиц никотинового ацетилхолинового рецептора (вверху) включает аминокислотные последовательности M2 α -спирали в β - и δ -субъединицах. Из пяти субъединиц, образующих пору, изображены четыре, чтобы были видны участки M2, облицовывающие ионный канал, и ворота. Большая часть молекулы белка выходит за внешнюю поверхность плазматической мембраны; каждая α -субъединица содержит связывающий центр для ацетилхолина. Ворота, находящиеся в пределах поры, открываются при связывании ацетилхолина с белком-рецептором.

Каждая цепь субъединицы пересекает мембрану четыре раза. Полипептидные участки, находящиеся в мембране, в виде α -спиралей (M1, M2, M3, M4) всех пяти субъединиц формируют трансмембранный домен, т.е. ионный канал, как минимум 20 прошивающих мембрану α -спиральных фрагментов, которые окружают центральную пору. Одна из трансмембранных спиралей (M2) каждой из пяти субъединиц непосредственно участву-

ет в формировании внутренней стенки ионного канала (рис. 49). Эти участки выходят внутрь канала, закрывая его в неактивном состоянии, и изменяют положение при активации рецептора, что приводит к открытию канала.

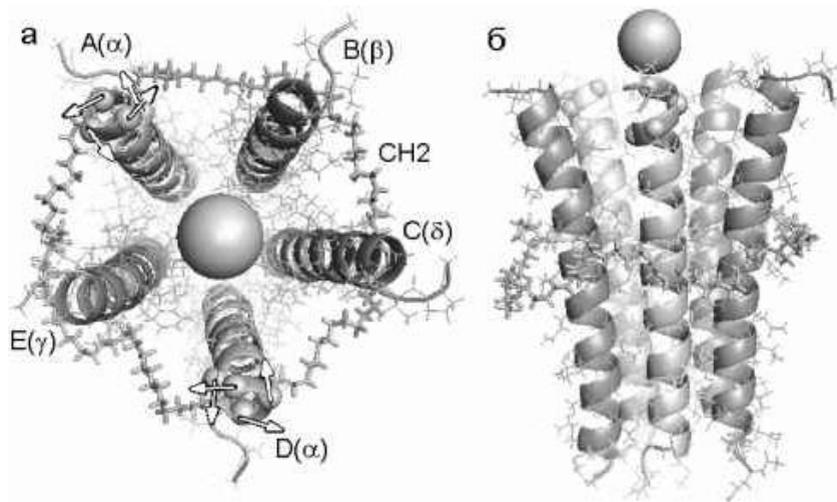


Рис. 49. Модель молекулы канала ацетилхолинового рецептора (мышечного), включающей пять трансмембранных сегментов М2. Показаны также пробная частица и стабилизирующее углеводородное кольцо (105 остатков CH_2): *а* – вид сверху с внеклеточной стороны; *б* – вид сбоку

На рис. 50 представлены аминокислотные последовательности М2 α -спирали в β - и δ -субъединицах. Отрицательно заряженные остатки глутаминовой и аспарагиновой аминокислот присутствуют в обоих концах М2-спиралей, т.е. с двух сторон поры, благодаря чему предотвращается вход анионов, а катионы Na^+ и K^+ могут быть связаны в канале.

Пентамер объединяет две альфа-субъединицы (по 461 аминокислоте), одну бета-субъединицу (493 аминокислоты), одну гамма-субъединицу (506 аминокислот) и одну дельта-субъединицу (522 аминокислоты).

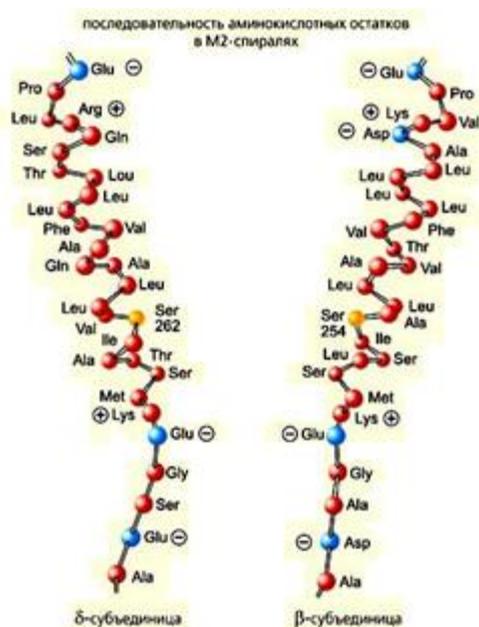


Рис. 50. Последовательности аминокислотных остатков в α -спирали в β - и δ -субъединицах

Никотиновые рецепторы являются членами суперсемейства мембранных белков, включающих рецепторы серотонина (5-гидрокситриптамин, 5-НТ), рецепторы для глицина и рецепторы ГАМК (γ -аминомасляной кислоты).

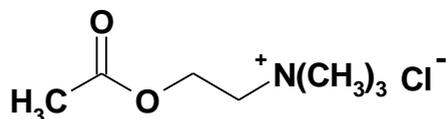
Никотиновые холинергические рецепторы подразделяют на два типа – мышечный и нейрональный. Оба типа рецептора стимулируют токи Na, K и Ca.

8.2. Средства, действующие на периферические холинергические процессы

Агонисты, действующие подобно ацетилхолину, называются *холиномиметиками*, а антагонисты – *холиноблокаторами* или *холинолитиками*.

Именно на основе этого принципа мы рассмотрим отдельные препараты. Конечно, к холиномиметикам, не оказывающим избирательного действия, относится и сам ацетилхолин.

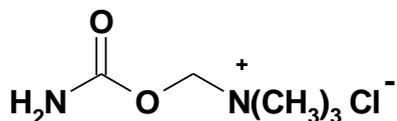
Для применения в медицинской практике и для экспериментальных исследований выпускается ацетилхолин-хлорид (Acetylcholini chloridum):



Ацетилхолин-хлорид

Как и другие четвертичные соединения, ацетилхолин плохо проникает через гематоэнцефалический барьер и не оказывает существенного влияния на ЦНС. Как лекарственное средство ацетилхолин-хлорид широкого применения не имеет. Он обладает двумя недостатками. При приеме внутрь ацетилхолин неэффективен, так как быстро гидролизуется. При парентеральном введении (инъекции) оказывает быстрый, резкий, но непродолжительный эффект (до 15 мин). Средство АХ к *m*- и *n*-холинорецепторам не избирательно, поэтому все попытки создания лекарственных веществ путем химической модификации были направлены на снижение его чувствительности к действию холинэстеразы и получению соединений, обладающих селективностью по отношению к холинорецепторам.

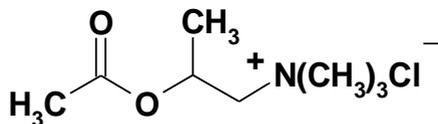
Замена ацетильной группы на карбоамильную привела к получению препарата карбохолина, стимулирующего и *m*- и *n*-холинорецепторы (*неизбирательные стимуляторы*), но значительно более устойчивого к действию гидролизующих ферментов:



N-(β)-карбамоил (оксизтил)-триметиламмония хлорид

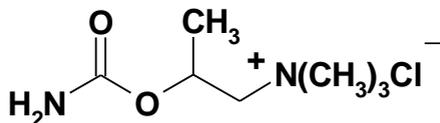
Таким образом, по химическому строению и фармакологическим свойствам он близок к ацетилхолину, более активен и оказывает более продолжительное действие, так как не гидролизуется холинэстеразой. Стойкость препарата позволяет пользоваться им не только для парентерального (инъекция) введения, но и для приема внутрь. Карбахолин эффективно (сильнее, чем ацетилхолин) повышает тонус мускулатуры мочевого пузыря и кишечника и снижает внутриглазное давление.

Присоединение метильной группы к β-углероду алифатической цепи приводит к образованию метахолина, избирательно активирующего *m*-холинорецепторы, но быстро гидролизующегося холинэстеразой:



Метахолин

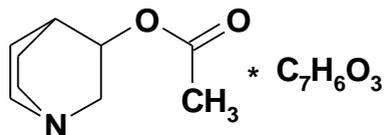
Комбинация двух модификаций позволила получить соединение бетанехол, которое избирательно стимулирует *m*-холинорецепторы и устойчиво к ферментативной деградации:



Бетанехол

К числу *m*-холиномиметиков (*избирательных*) относятся ацеклидин и пилокарпин. Эти препараты избирательно возбуж-

дают мускариновые холинорецепторы нейронов и клеток сердца, глаза, гладкой мускулатуры бронхов и кишечника, экскреторных желез, включая потовые:

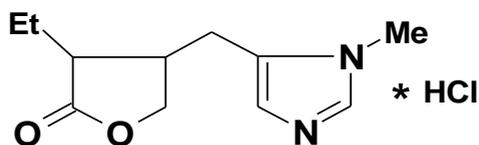


Ацеклидин (в виде салицилата)

В отличие от ацетилхолина *ацеклидин* является не четвертичным, а третичным основанием, что обеспечивает возможность проникновения ацеклидина через гистогематические барьеры, в том числе через гематоэнцефалический барьер.

Особенно выражена способность препарата повышать тонус и усиливать сокращение кишечника, мочевого пузыря, матки. В офтальмологической практике применяют растворы ацеклидина для сужения зрачка и снижения внутриглазного давления при глаукоме.

Для этих же целей в офтальмологической практике широко применяется *пилокарпин*, который показан при атрофии глазного нерва, кровоизлияниях в стекловидное тело и некоторых других глазных заболеваниях:



Пилокарпин

8.3. *Антихолинергические средства, блокирующие преимущественно периферические холинореактивные системы*

Антихолинергическими или *холинолитическими* средствами называют вещества, ослабляющие, предотвращающие или прекращающие взаимодействие ацетилхолина с холинорецепторами. Блокируя холинорецепторы, они действуют противоположно ацетилхолину.

В соответствии с делением на *m*- и *n*-холинорецепторы холинолитические вещества также подразделяют на вещества с преимущественным *m*- или *n*-холинолитическим действием. Такое деление отвечает довольно высокой избирательности действия веществ каждой из этих групп.

Обнаружено пять типов *m*-холинорецепторов (M1, M2, M3, M4, M5), наиболее хорошо изучены M1, M2 и M4.

M1-рецепторы обнаруживаются в ЦНС и на периферии, например в клетках желудка, где посредством их стимулируется желудочная секреция.

M2-рецепторы располагаются в предсердиях, они ответственны за развитие брадикардии (очень низкий сердечный ритм). Кроме того, они могут располагаться в центральных и периферических синапсах на пресинаптической мембране, их активация приводит к снижению выделения АХ из нервного окончания.

M3-рецепторы располагаются в эндотелии сосудов, при их стимуляции в клетках эндотелия образуется оксид азота, который диффундирует в гладкомышечные стенки сосудов, вызывая их релаксацию.

M4-рецепторы ЦНС уменьшают проводимость ионов кальция, увеличивают проводимость ионов натрия.

M5-рецепторы располагаются в слюнных железах, глазах (круговая и цилиарная мышцы), вызывают уменьшение проводимости ионов кальция, увеличение – ионов натрия.

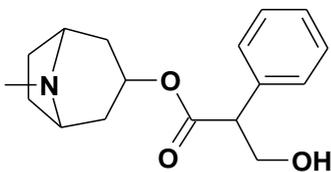
К веществам, обладающим выраженной *m*-холинолитической активностью, относятся атропин (красавка,

белена, дурман) и родственные ему алкалоиды (скополамин, платифиллин и др.), а также ряд полусинтетических и синтетических соединений. В зависимости от химической структуры и физико-химических особенностей эти соединения различаются не только по преимущественному влиянию на *M*- и *N*-холинорецепторы, но и по способности проникать через гематоэнцефалический барьер и другие биологические мембраны, по длительности действия и другим свойствам. Это в совокупности определяет показания к их дифференцированному применению в качестве лекарственных средств.

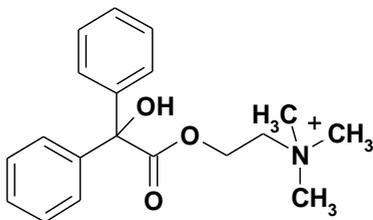
Атропин ингибирует секрецию слюнных, слезных, бронхиальных и потовых желез, вызывая неприятное ощущение сухости во рту и сухость кожных покровов. Угнетается и перистальтика ЖКТ. Атропин снижает тонус гладких мышц бронхов, желче- и мочевыводящих путей. Вызывает расширение зрачка и отсутствие зрачкового рефлекса на свет.

Следует учитывать, что четвертичные аммониевые соединения (метацин, атровент, тровентол и др.) плохо проникают через гематоэнцефалический барьер и используются как вещества периферического холинолитического действия.

Вместе с тем целый ряд холинолитиков легко проникают через гематоэнцефалический барьер и активно связываются с центральными холинорецепторами (амизил, спазмолитин и др.), что послужило основанием для объединения их в группу «центральных холинолитиков», хотя в той или иной степени они оказывают также периферическое холинолитическое действие (токсические дозы атропина, случайное употребление плодов красавки или белены, и в этих случаях наблюдается картина острого психоза: психомоторное возбуждение, спутанность сознания, бред, галлюцинации).



Атропин

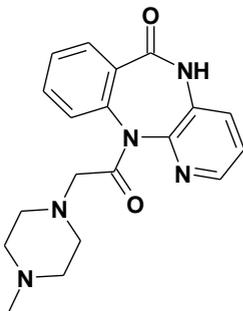


Метацин

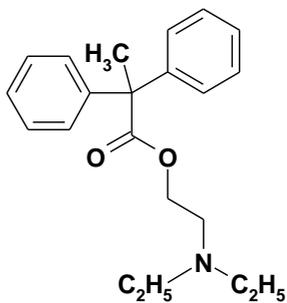


Тровентол

Скополамин



Пиренцепин

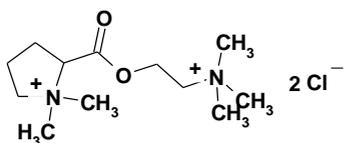


Апрофен

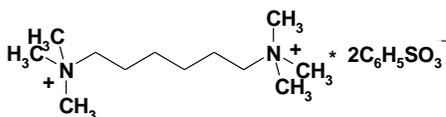
В медицине *m*-холиноблокаторы применяются при спазме гладкой мускулатуры кишечника, печеночных и почечных коликах (атропин, метацин), при бронхиальной астме (тровентол), при язвенной болезни желудка (атропин, метацин).

Вещества, блокирующие *n*-холинорецепторы, делятся на две группы: ганглиоблокаторы, т.е. средства, блокирующие *n*-холинорецепторы симпатических и парасимпатических ганглиев, и курареподобные средства, миорелаксанты периферического действия, блокирующие *n*-рецепторы нервно-мышечных синапсов.

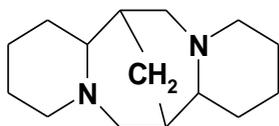
При блокаде ганглий (нервные узлы, где интегрируются и перерабатываются нервные сигналы) снижается или прерывается вовсе проведение импульсов к органам, снижается количество адреналина в крови, расширяются сосуды, падает артериальное давление.



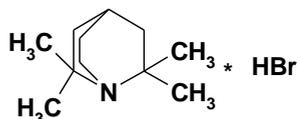
Гигроний



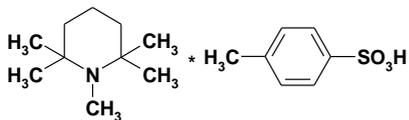
Бензогексоний



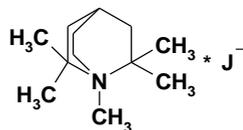
Пахикарпин



Темехин



Пирилен



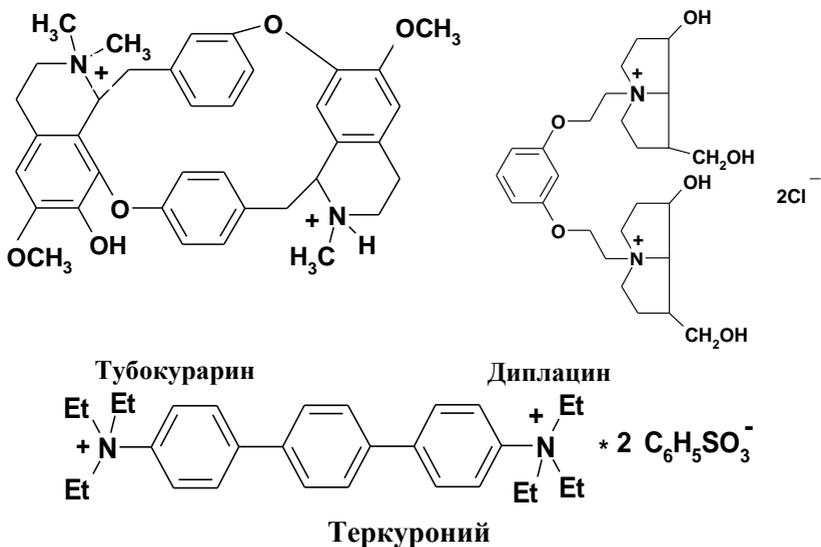
Имехин

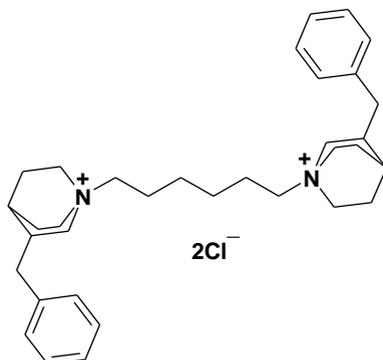
По химическому строению ганглиоблокаторы делятся на четвертичные аммониевые соли и третичные амины.

Применяют ганглиоблокаторы при гипертонических кризах (пентамин), отеке мозга и легких, при высоком АД (пентамин, имехин), лечении спазмов периферических сосудов (пирилен, темехин), язвенной болезни желудка (пирилен, бензогексоний, темехин).

Другой тип *n*-холиноблокаторов – курареподобные препараты, лекарственные средства, которые вследствие угнетения нервно-мышечной передачи, подобно яду кураре, вызывают паралич скелетных мышц. Яд кураре представляет собой смесь алкалоидов. Основной представитель – D-тубокурин.

Препараты на его основе используются для расслабления мускулатур, что часто необходимо при хирургическом вмешательстве. Различный механизм действия миорелаксантов позволяет разделить их на две основные группы – недеполяризующие (тубокурарин, диплацин) и деполяризующие препараты.



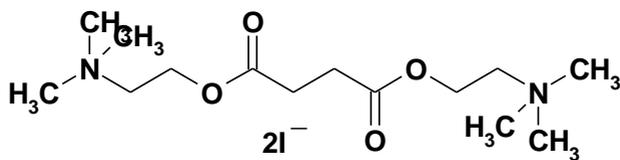


Квалидил

Четвертичные соли конкурируют с ацетилхолином за активные центры рецептора, но не препятствуют синтезу медиатора, его высвобождению и распаду. Взаимодействие ацетилхолина с рецептором исключается, в результате нервный импульс не вызывает деполяризацию мембраны мышечной ткани. Конкуренция обратимая, и при увеличении ацетилхолина медиатор может вытеснить миорелаксант.

У человека при внутреннем введении 10–15 мг тубокурарина ощущается головокружение, в теле появляется ощущение тепла, развивается вялость челюстных мышц, затруднение фокусировки глаза, закрываются веки, расслабляются мышцы гортани, среднего уха. Затем расслабляются мышцы конечностей и туловища при сохранении сознания и чувствительности, становятся невозможными произвольные движения туловищем, конечностями.

Другой класс антагонистов – деполяризующие мышечные релаксанты. Главный представитель – дитилин:



Дитилин

Как видно из структуры, это «удвоенный» ацетилхолин, и, по сравнению с ним, он дает достаточно стойкую деполяризацию – значительно медленнее подвергается ферментативному разрушению. Ввиду этого, связываясь с *n*-холинорецептором скелетной мускулатуры, он возбуждает его, вызывая деполяризацию постсинаптической мембраны, после кратковременного сокращения мышечное волокно расслабляется, *n*-холинорецепторы становятся нечувствительными к медиатору.

Стойкая деполяризация мембраны мышечной клетки приводит к выходу ионов К из нее и, как следствие, повышению его концентрации в плазме. Гиперкалиемия, в свою очередь, может вызвать желудочковые аритмии и даже остановку сердца.

Действие дитилина заканчивается через 5–10 мин, за это время он вымывается и гидролизуется псевдохолинэстеразой. Применяется при кратковременных операциях, различных видах наркоза (в комбинации с закисью азота, эфиром, барбитуратами).

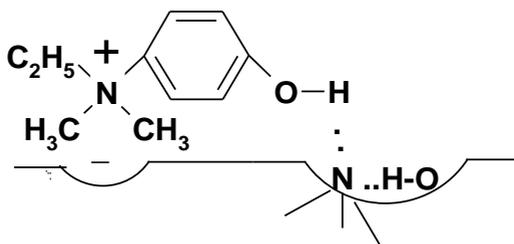
8.4. *Ингибиторы холинэстеразы*

Усиление действия ацетилхолина, накопление его в органах и тканях, соответственно, усиление холиномиметической активности может быть достигнуто путем блокирования основного фермента, разрушающего ацетилхолин в организме, – ацетилхолинэстеразы. Здесь стоит подчеркнуть, что блокирование ферментов может быть обратимым, если образующиеся связи между ингибитором и ферментом являются слабыми (ван-дер-ваальсовы силы, водородные связи), и необратимым, если оно связано с образованием ковалентных связей. Антихолинэстеразные средства по механизму их взаимодействия с ферментом можно разделить на три группы: ингибиторы анионного центра, ингибиторы эстеразного центра и ингибиторы обоих центров.

АХЭ – это белок-фермент, который имеет на своей поверхности два активных центра: анионный и эстеразный. Анионный центр представлен отрицательно заряженным остатком глутаминовой кислоты, по этому центру происходит электростатическое взаимодействие катионной головки АХ. Эстеразный центр состоит из двух участков: имидазольного кольца ги-

стидина и потенциально кислой группировки – гидроксила серина.

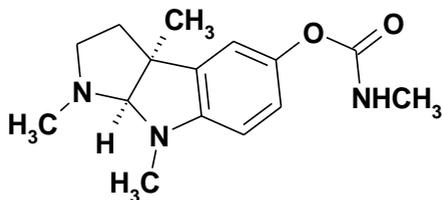
К веществам, ингибирующим анионный центр, относят простые аммониевые четвертичные соли, вступающие в электростатическое взаимодействие с анионным центром фермента и конкурентно блокирующие доступ к нему катионной головки АХ. Самые эффективные ингибиторы, в частности эдрофоний, могут взаимодействовать с азотом имидазольной группы гистидина в эстеразном центре, образуя с ним водородные связи.



Ингибирование фермента по одному катионному центру быстро обратимо, поэтому время действия таких препаратов короткое.

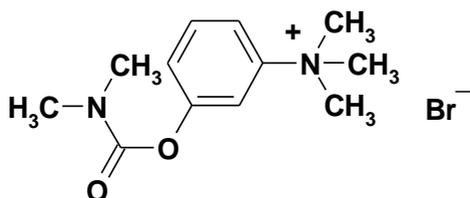
В отличие от них вещества, ингибирующие оба центра фермента, анионный и эстеразный, являются довольно сильными ингибиторами АХЭ.

К числу таких ингибиторов относится в первую очередь **физостигмин**, применяющийся главным образом в глазной практике для сужения зрачка и понижения внутриглазного давления.



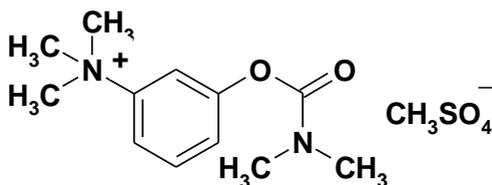
Физостигмин

По фармакологическим свойствам близок к физостигмину другой обратимый ингибитор холинэстеразы – *неостигмин*.

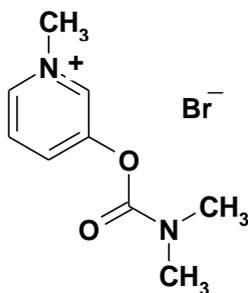


Неостигмин

Синтетическими антихолинэстеразными препаратами, также обладающими сильной обратимой антихолинэстеразной активностью, являются *прозерин* и *пиридостигмина бромид*:



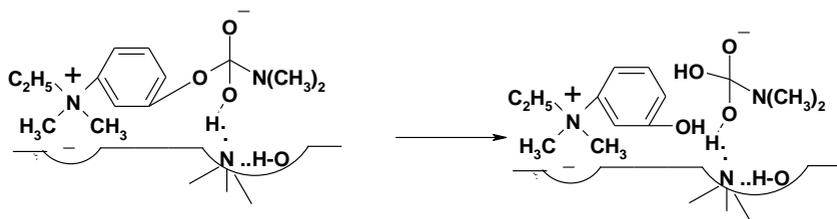
Прозерин



Пиридостигмина бромид

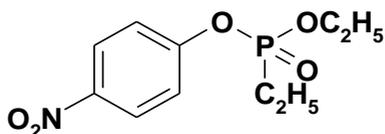
Они являются четвертичными солями, что придает им определенное сходство в свойствах с ацетилхолином. Эти средства используют при ослаблении нервно-мышечной проводимости.

Эти соединения обратимо ингибируют фермент и аналогично АХ гидролизуются в две стадии:



В результате первой стадии образуется карбамоилированный фермент, гидролиз которого длится 30 мин, он в несколько миллионов раз медленнее, чем гидролиз ацетилированной АХЭ, поэтому соединения этой группы являются эффективными ингибиторами фермента.

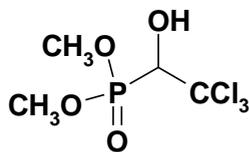
К веществам, ингибирующим эстеразный центр, относятся фосфорорганические соединения (ФОС), например армин. Он является необратимым ингибитором холинэстеразы:



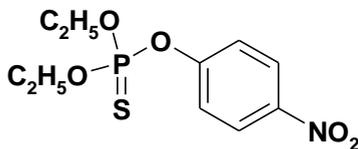
Армин

Действие его аналогично стигмину и прозерину, но значительно сильнее и продолжительнее. Армин применяется в качестве антиглаукоматозного лекарственного средства. Как видно из структуры, армин является фосфорорганическим соединением, способным блокировать холинэстеразу необратимо за счет образования ковалентных связей – фосфорилирования фермента.

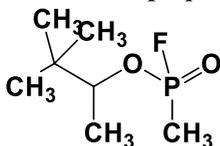
Многие инсектициды и многие виды химического оружия (хлорофос, тиофос табун, зарин и др.) являются сильными необратимыми ингибиторами холинэстеразы:



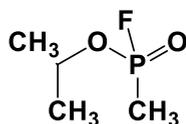
Хлорофос



Тиофос



Зоман



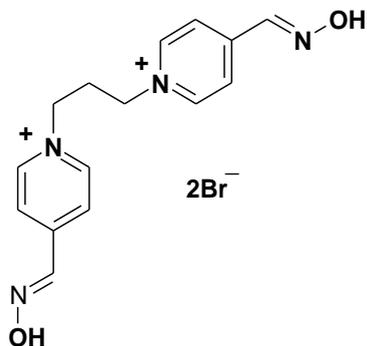
Зарин

ФОС являются сильноядовитыми веществами. Картина отравления ФОС зависит от степени интоксикации, нарушаются функции центральной и вегетативной нервных систем, сердечно-сосудистой системы и других систем организма; ряд симптомов обусловлен при этом возбуждением холинорецепторов (сужение зрачков, обильная саливация, бронхорея, сильная потливость, затруднение дыхания, боли в животе, понос, понижение артериального давления, фибриллярные подергивания мышц и др.). При тяжелых отравлениях наблюдаются судороги, сопорозное или коматозное состояние, возможен летальный исход. Наиболее часто при отравлении ФОС применяют **холинолитики** (атропин, тропацин, апрофен и др.). Блокируя холинорецепторы, они защищают организм от избыточного количества ацетилхолина, накопившегося в связи с инактивацией холинэстеразы. Однако в ряде случаев (особенно при тяжелых отравлениях) они могут оказаться недостаточно эффективными.

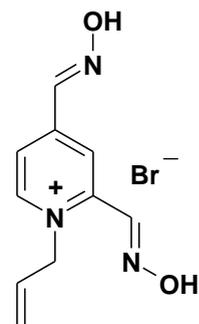
В комплексной терапии отравлений ФОС (в сочетании с холинолитиками и другими веществами) широкое применение нашли специфические антагонисты ФОС – **реактиваторы холинэстеразы**, сущность действия которых заключается в дефосфорилировании ингибированной холинэстеразы и восстановлении ее активности. Реактиваторы холинэстеразы являются сильными нуклеофильными реагентами. Их физические и химические свойства способствуют ориентации их молекулы на мо-

лекулы фермента и вытеснению ФОС из его связи с холинэстеразой.

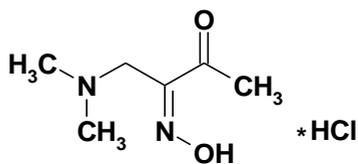
К числу известных реактиваторов относятся следующие:



Аллоксим



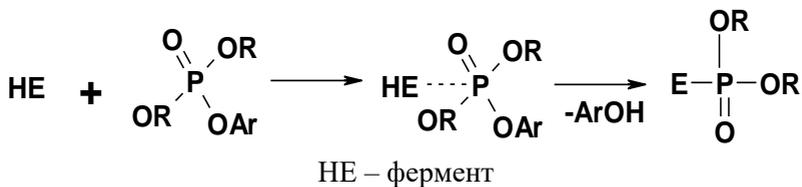
Дипироксим



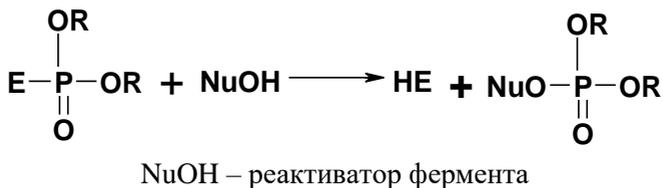
Изонитрозин

Наиболее характерно действие дипироксима, который применяется в комбинации с холинолитиками (атропин) при отравлении ФОС.

Торможение фосфатами может быть представлено следующей схемой: они блокируют активный центр фермента путем ковалентного связывания с реакционноспособным остатком серина, в результате чего образуется фосфорилированный фермент:



Реактивация в этом случае выглядит следующим образом:



9. ДЕЙСТВИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА АДРЕНЕРГИЧЕСКИЕ РЕЦЕПТОРЫ

Все высшие формы поведения человека связаны с нормальной жизнедеятельностью катехоламинергических клеток – нервных клеток, синтезирующих катехоламины и использующих их в качестве медиатора.

От активности синтеза и выделения катехоламинов зависят такие сложные процессы, как запоминание и воспроизведение информации, сексуальное поведение, агрессивность и поисковая реакция, уровень настроения и активность в жизненной борьбе, скорость мышления, эмоциональность, уровень общего энергетического потенциала и т.д.

Чем активнее идет синтез и выделение катехоламинов в количественном отношении, тем выше настроение, общий уровень активности, сексуальность, скорость мышления, да и просто работоспособность.

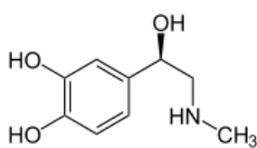
Самый высокий уровень катехоламинов (на единицу массы тела) у детей. Дети отличаются от взрослых прежде всего очень высокой эмоциональностью и подвижностью, способностью к быстрому переключению мышления с одного объекта на

другой. У детей исключительно хорошая память, всегда хорошее настроение, высокая обучаемость и колоссальная работоспособность.

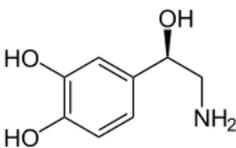
С возрастом синтез катехоламинов как в центральной нервной системе, так и на периферии замедляется. Тому есть разные причины: это и старение клеточных мембран, и истощение генетических резервов, и общее снижение синтеза белка в организме. В результате снижается скорость мыслительных процессов, уменьшается эмоциональность, снижается настроение. С возрастом все эти явления усугубляются: снижается эмоциональность, настроение, нередко случаи депрессии. Причина этого в одном – в возрастном снижении синтеза катехоламинов в организме.

Основные виды катехоламинов в организме представлены тремя соединениями:

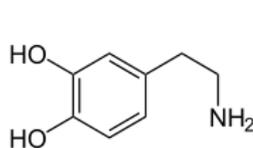
- 1) адреналин;
- 2) норадреналин;
- 3) дофамин.



Адреналин



Норадреналин



Дофамин

Адреналин был впервые обнаружен в экстрактах надпочечников в 1895 г. Его часто называют «гормоном страха» из-за того, что при испуге сердце начинает часто биться из-за сильного выброса в кровь адреналина. Это, однако, не совсем так. Выброс адреналина происходит при любом сильном волнении или большой физической нагрузке. Адреналин повышает проницаемость клеточных мембран для глюкозы, усиливает распад гликогена и жиров. Если человек испуган или взволнован, то его выносливость резко повышается. Адреналин – активный допинг человеческого организма. Чем больше резервы адреналина в надпочечниках, тем выше физическая и умственная работоспособность.

В отличие от адреналина, *норадреналин* называют «гормоном ярости», так как в результате его выброса в кровь всегда возникает реакция агрессии. От адреналина лицо человека бледнеет, от норадреналина краснеет. Гай Юлий Цезарь отбирал в свое войско только тех воинов, лицо которых краснело в бою. Это говорило о повышенной агрессивности таких солдат. Если адреналин повышает в основном выносливость, то норадреналин значительно увеличивает мышечную силу.

Высокое содержание в нервной системе *дофамина* усиливает все сексуальные рефлексы и повышает чувствительность клеток к половым гормонам, что способствует высокому анаболизму. Самым высоким содержанием дофамина в ЦНС отличаются подростки. Их настроение имеет «налет» эйфории, а поведение отличается выраженной гиперсексуальностью. Возрастное падение содержания дофамина вызывает возрастную депрессию (снижение настроения), падение сексуальной активности (у мужчин) и замедление скорости анаболических реакций.

К адренергетической системе относятся структуры, чувствительные к катехоламинам (КА) – адреналину (А) или норадреналину (НА), а также те нервные окончания, которые участвуют в обмене КА. Адренергическими лекарственными средствами называют вещества природного и синтетического происхождения, воспроизводящие или угнетающие полностью или частично в организме животных и человека эффекты эндогенных КА за счет влияния на адренореактивные структуры – структурные элементы клетки, участвующие в обмене и транспорте эндогенных КА, а также адренорецепторы.

Если экзогенные адренергические вещества активируют адренергическую регуляцию внутренних органов, их называют адреномиметическими средствами (адреномиметиками), если же они ее угнетают, их называют адреноблокаторами или антиадренергическими веществами.

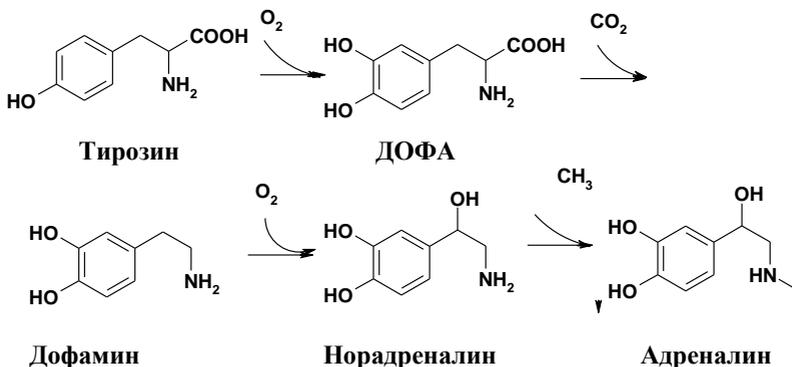
Адреномиметики (агонисты) воспроизводят, а антиадренергические (антагонисты) блокируют в организме полностью или частично эффекты основных эндогенных катехоламинов организма – адреналина и норадреналина.

Международное непатентованное название адреналина – эпинефрин (*от греч. еpi – на, над; nephros – почка*), а норадреналина – норэпинефрин.

По химическому строению катехоламины являются аминами, у которых аминогруппа связана через этильный радикал с пирокатехином.

Основной мишенью действия адренергических веществ являются адренергические синапсы. Синапсы, в которых медиатором является НА, получили названия адренергических (более точно норадренергических), а рецепторные структуры, реагирующие на НА и А, – адренорецепторы.

НА – основной медиатор адренергических синапсов (в 1946 г. было установлено, что основным медиатором адренергической (симпатической) передачи является не сам адреналин, а норадреналин. Образующийся в организме эндогенный адреналин частично участвует в процессах проведения нервного возбуждения, но главным образом играет роль гормонального вещества, влияющего на метаболические процессы), синтезируется в области пресинаптической мембраны синапса в ходе многоступенчатого процесса из аминокислоты тирозина, получаемой либо из пищи, либо из незаменимой аминокислоты фенилаланина, которая в печени окисляется путем гидроксирования в тирозин. Тирозин из печени с током крови приносится к нервным окончаниям, захватывается ими, и начинается синтез норадреналина, а затем и адреналина. На стадии образования НА заканчивается процесс биосинтеза КА в симпатических нервных окончаниях. Фермент дофамин-β-оксидаза отвечает за превращение дофамина в норадреналин. В клетках мозгового слоя надпочечников он продолжается до образования адреналина. Процесс превращения НА в А катализируется цитозольным ферментом – фенилэтаноламин-N-метилтрансферазой.



9.1. Синтез, высвобождение и распад катехоламинов

На рис. 51 схематично изображено симпатическое окончание, овальные участки соответствуют варикозным расширениям, в которых гистохимическими методами обнаруживают высокую концентрацию медиатора.

Синтез, выделение, пресинаптическая модуляция и обратный захват изображены как последовательные этапы только для удобства восприятия, на самом деле они протекают одновременно.

Слева внизу изображена клетка мозгового вещества надпочечника.

А – адреналин; АХ – ацетилхолин; ВМК – ванилилминдальная кислота; ДА – дофамин; ДБГ – дофамин-бета-гидроксилаза; ДОМК – 3,4-диоксиминдальная кислота; КОМТ – катехол-О-метилтрансфераза; МН – метанефрин; НА – норадреналин; НМН – нормеганефрин; ТГ – тирозингидроксилаза; ФНМТ – фенилэтанол-М-метилтрансфераза, МОА – моноаминоксидаза.

Норадреналин находится в симпатических нервных окончаниях в двух основных формах – свободной и связанной. Свободный НА, не связанный с какими-либо структурами, состоит из вновь синтезированного в цитоплазме нервных клеток и обратно захваченного из синаптической щели. Его количество составляет 10–20 % всего НА, находящегося в нервных окончаниях.

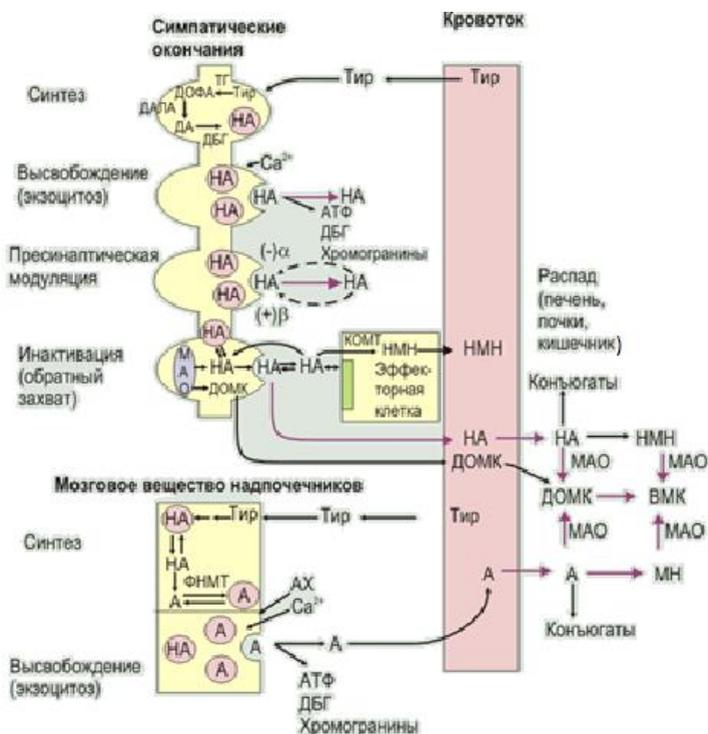


Рис. 51. Синтез, высвобождение и распад катехоламинов

Связанный НА включает прочно связанный НА, локализованный в крупных синаптических пузырьках (везикулах), и лабильно связанный, локализованный в малых синаптических пузырьках.

В крупных синаптических пузырьках происходит заключительный этап биосинтеза НА. Малые синаптические пузырьки в основном накапливают НА и участвуют в его секреции в синаптическую щель.

Значительная разница в концентрации НА в синаптических пузырьках и окружающей аксоплазме (цитоплазма аксона) говорит о том, что в синаптических пузырьках существуют специальные механизмы захвата НА. Предполагают два механизма: пассивный по градиенту концентрации и активный, направлен-

ный против градиента концентрации (в присутствии АТФ с участием фермента H^+ АТФазы неспецифичным белковым переносчиком).

Процесс высвобождения НА в синаптическую щель осуществляется не путем диффузии, а путем экзоцитоза (рис. 52), т.е. без предварительного выхода в цитоплазму нервной клетки. Клеточный процесс, при котором внутриклеточные везикулы (мембранные пузырьки) сливаются с внешней клеточной мембраной. При экзоцитозе содержимое секреторных везикул (экзоцитозных пузырьков) выделяется наружу, а их мембрана сливается с клеточной мембраной.

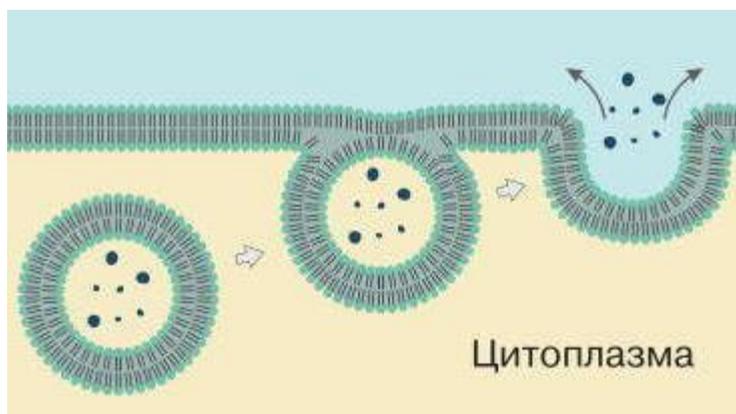


Рис. 52. Экзоцитоз

Полагают, что поступившие в ходе деполяризации в нервное окончание ионы кальция вызывают высвобождение НА из синаптических пузырьков в синаптическую щель путем экзоцитоза.

Выделившийся под влиянием нервного импульса из нервного окончания норадреналин:

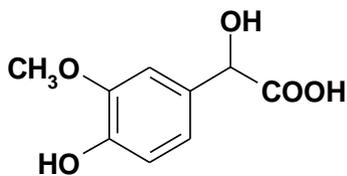
1) взаимодействует с пре- и постсинаптическими адренорецепторами в синаптической щели и внесинаптическими адренорецепторами;

2) метаболизируется в постсинаптической клетке, в синаптической щели, а также после диффузии в кровотока в печени;

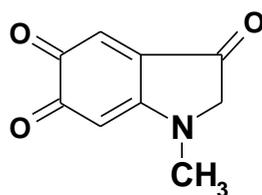
3) обратно захватывается нервными окончаниями с последующим повторным использованием и частичной ферментативной инактивацией.

Ферментативная инактивация КА осуществляется в основном за счет двух ферментов – моноаминоксидазы (МОА) и катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ), локализованных в различных органах, особенно в почках и печени.

Известно, что и адреналин, и норадреналин быстро разрушаются в организме; с мочой выделяются неактивные продукты их обмена, главным образом в виде 3-метокси-4-оксиминдальной кислоты, оксоадренохрома, метоксинорадреналина и метоксиадреналина. Эти метаболиты содержатся в моче преимущественно в связанной с глюкуроновой кислотой форме:



3-Метокси-4-оксиминдальная кислота



Оксоадренохром

Адренергические рецепторы, для которых природными, т.е. эндогенными, лигандами являются норадреналин и адреналин, первоначально обозначали в общем виде как адренорецепторы. Однако изучение особенностей действия этих эндогенных соединений и их синтетических аналогов и производных привело к заключению о неоднородности адренорецепторов, наличии их подгрупп, разных по локализации и функциональной значимости. Существующие в организме адренорецепторы обладают неодинаковой чувствительностью к химическим соединениям. С одними веществами образование комплекса лекарство–рецептор вызывает повышение (возбуждение), с другими – снижение (ингибирование) активности иннервируемой ткани или органа. Сначала их разделили на α - и β -адренорецепторы, а затем на α_1 и α_2 (в последующем каждый из них еще на три подтипа: α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} , α_{2A} , α_{2B} , α_{2C}), β_1 - и β_2 -адренорецепторы (было доказано су-

ществование и β_3 -адренорецепторов). Идентификация этих подгрупп имеет важное фармакологическое и клиническое значение. Влияние на разные адренорецепторы определяет не только особенности фармакологического действия различных адренергических и антиадренергических веществ, но также показания и противопоказания к их практическому использованию.

Обычно стимуляция альфа-рецепторов вызывает эффекты возбуждения, а стимуляция бета-рецепторов сопровождается, как правило, эффектами ингибирования, торможения. Хотя в целом альфа-рецепторы относятся к рецепторам возбуждающим, а бета-рецепторы – рецепторам тормозного плана, из этого правила имеются определенные исключения. Так, в сердце, в миокарде превалирующие бета-адренорецепторы являются по характеру стимулирующими. Возбуждение бета-рецепторов сердца повышает скорость и силу сокращений миокарда, сопровождается повышением автоматизма. В желудочно-кишечном тракте и альфа-, и бета-рецепторы являются ингибирующими. Их возбуждение вызывает релаксацию гладкой мускулатуры кишечника.

Адренергические рецепторы локализованы на клеточной поверхности. Если α_1 -адренорецепторы локализованы постсинаптически, то α_2 -адренорецепторы локализованы на пресинаптических мембранах. Основная роль пресинаптических α_2 -адренорецепторов заключается в их участии в системе *обратной отрицательной связи*, регулирующей освобождение медиатора норадреналина. Возбуждение этих рецепторов тормозит освобождение норадреналина из симпатического волокна.

Среди постсинаптических β -адренорецепторов выделяют β_1 -адренорецепторы (локализованы в сердце) и β_2 -адренорецепторы (в бронхах, сосудах скелетных мышц, легочных, мозговых и коронарных сосудах, в матке). Если возбуждение β_1 -рецепторов сердца сопровождается повышением силы и частоты сердечных сокращений, то при стимуляции β_2 -адренорецепторов наблюдается снижение функции органа – расслабление гладкой мускулатуры бронхов.

Последнее означает, что β_2 -адренорецепторы есть классические тормозные адренорецепторы. Количественное соотношение в разных тканях альфа- и бета-рецепторов различно.

Преимущественно α -рецепторы сосредоточены в кровеносных сосудах кожи и слизистых оболочек, мозга и сосудах брюшной области (почек и кишечника, сфинктерах ЖКТ, трабекулах селезенки). В сердце локализованы преимущественно β_1 -стимулирующие адренорецепторы; в мышцах бронхов, мозговых, коронарных, легочных сосудах в основном находятся β_2 -тормозные адренорецепторы. Такое расположение эволюционно выработано, при возникновении опасности необходимо расширить бронхи, увеличить просвет сосудов головного мозга, повысить работу сердца.

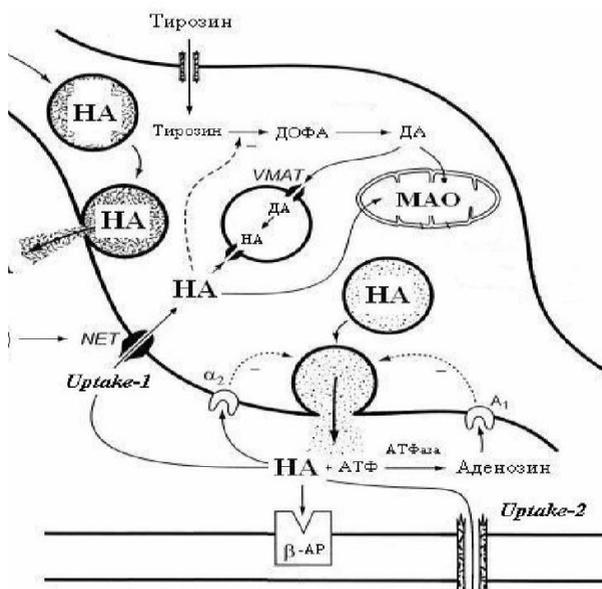


Рис. 53. Схема симпатического синапса (НА – норадреналин, ДА – дофамин, VMAT – везикулярный переносчик моноаминов, NET – переносчик норадреналина)

Действие норадреналина на адренорецепторы кратковременно, так как до 80 % выделившегося медиатора быстро захватывается, поглощается посредством активного транспорта окончаниями адренергических волокон.

Возможности фармакологического воздействия на адренергическую передачу нервных импульсов довольно разнообразны. Направленность действия веществ может быть следующей:

- 1) влияние на синтез норадреналина;
- 2) нарушение депонирования норадреналина в везикулах;
- 3) угнетение ферментативной инактивации норадреналина;
- 4) влияние на выделение норадреналина из окончаний;
- 5) нарушение процесса обратного захвата норадреналина пресинаптическими окончаниями;
- 6) угнетение захвата медиатора;
- 7) непосредственное воздействие на адренорецепторы клеток.

9.2. Классификация адренергических средств

С учетом преимущественной локализации действия все основные средства, влияющие на передачу возбуждения в адренергических синапсах, делятся на три основные группы:

I. Адреномиметики, т.е. средства, стимулирующие адренорецепторы, действующие подобно медиатору НА, раздражающие ему (симпатолитики, т.е. средства, оказывающие блокирующий эффект на адренергическую передачу с помощью непрямого механизма).

II. Адреноблокаторы – средства, угнетающие адренорецепторы.

Первая группа средств, **адреномиметики**, – это вещества природного и синтетического происхождения, воспроизводящие полностью или частично в организме животных и человека эффекты эндогенных КА – А и НА – за счет влияния на адренорецепторы. В зависимости от типа действия и тропности (сродства) в отношении отдельных видов адренорецепторов их можно классифицировать следующим образом:

IIa. Адренергические вещества прямого типа действия:

1) средства, стимулирующие одновременно альфа- и бета-адренорецепторы, т.е. альфа-, бета-адреномиметики: а) адреналин как классический, прямой альфа-, бета-адреномиметик; б) эфедрин – не прямой альфа-, бета-адреномиметик; в) норадрена-

лин, действующий как медиатор на альфа-, бета-адренорецепторы, как лекарство – на альфа-адренорецепторы;

2) средства, стимулирующие преимущественно альфа-адренорецепторы, т.е. альфа-адреномиметики: мезатон (альфа-1), нафтизин (альфа-2), галазолин (альфа-2);

3) средства, стимулирующие преимущественно бета-адренорецепторы, бета-адреномиметики: а) неселективные, т.е. действующие и на бета-1, и на бета-2-адренорецепторы – изадрин.

1б. Адренергические вещества непрямого типа действия (адреномиметики):

1) симпатомиметики;

2) адренергические вещества, преимущественно угнетающие нейрональный захват катехоламинов;

3) адренергические вещества, преимущественно угнетающие ферментативный распад катехоламинов.

4) селективные – салбутамол (преимущественно бета-2-рецепторы), фенотерол и др.

II. Адреноблокирующие средства (адреноблокаторы).

Группа также представлена двумя подгруппами препаратов:

1) альфа-адреноблокаторы: а) неселективные – тропafen, фентоламин, а также дегидрированные алкалоиды спорыньи – дигидроэрготоксин, дигидроэргокристин и др.; б) селективные – празозин;

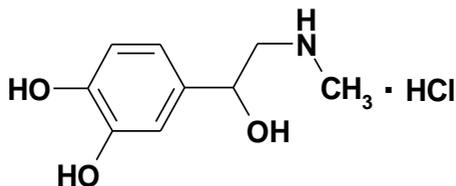
2) бета-адреноблокаторы: а) неселективные (бета-1 и бета-2) – анаприлин или пропранолол, окспренолол (тразикор) и др.; б) селективные (бета-1 или кардиоселективные) – метопролол (беталок).

III. Симпатолитики: октадин, резерпин, орнид.

9.3. Средства, стимулирующие альфа и бета-адренорецепторы

Начнем со средств, действующих на альфа- и бета-адренорецепторы, т.е. со средств группы **альфа, бета-адреномиметиков**.

Классический представитель альфа-, бета-адреномиметиков – адреналин (*Adrenalini hydrochloridum*, в ампулах 1 мл, 0,1%-ный раствор). Получают адреналин синтетическим путем либо путем выделения из надпочечников убойного скота. Механизм действия: оказывает прямой, непосредственный, возбуждающий эффект на альфа- и бета-адренорецепторы, поэтому он прямой адреномиметик:



Адреналина гидрохлорид

Эффекты адреналина при действии на альфа-адренорецепторы. Адреналин суживает большинство кровеносных сосудов, особенно сосудов кожи, слизистой, органов брюшной полости и пр., в связи с этим повышает АД. Препарат действует на вены и артерии. Действие адреналина при введении в/в развивается практически на кончике иглы, но развивающийся эффект кратковременный – до 5 мин. С действием адреналина на альфа-адренорецепторы связаны его эффекты на орган зрения. Стимулируя симпатическую иннервацию радиальной мышцы радужки глаза (*m. dilatator pupillae*), адреналин расширяет зрачок (мидриаз). Данный эффект кратковременен, имеет не практическое, а только физиологическое значение (чувство страха, «у страха глаза велики»).

Эффекты, связанные с действием адреналина на бета-адренорецепторы. Бета-1-адренорецепторы – это стимулирующего плана рецепторы, их локализация в сердце, миокарде. Возбуждая их, адреналин увеличивает все четыре функции сердца: повышает силу сокращений, т.е. увеличивает сократимость миокарда (положительный инотропный эффект); повышает частоту сокращений (положительный хронотропный эффект); улучшает проводимость (положительный дромотропный эффект); повышает автоматизм (положительный батмотропный эффект). В результате увеличиваются ударный и минутный объемы. Это сопровождается повышением метаболизма в миокарде и увеличением потребления им кислорода, снижается эффективность работы сердца. Сердце работает неэкономно, КПД становится низким.

Действие адреналина на ЦНС. Препарат оказывает слабое возбуждающее действие на ЦНС, являющееся больше физиологическим эффектом, чем фармакологическим.

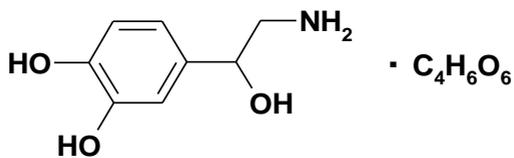
Показания к применению адреналина, связанные с альфа-адренорецепцией, заключаются в следующем: во-первых, как противошоковое средство (при острой гипотонии, коллапсе, шоке). Причем данное показание связано с двумя эффектами: повышением тонуса сосудов и стимулирующим влиянием на сердце. Введение в/в. Во-вторых, как противоаллергическое средство (анафилактический шок, бронхоспазм аллергического генеза). Данное показание перекликается с первым. Кроме того, адреналин показан как важное средство при ангионевротическом отеке гортани. Введение также в/в. И наконец, в качестве добавки к растворам местных анестетиков для удлинения их эффекта и снижения всасывания (токсичности). Перечисленные эффекты связаны с возбуждением альфа-адренорецепторов.

Показания к применению адреналина, связанные с бета-рецепцией: 1) при остановке деятельности сердца (утопление, электротравма). Вводится внутрисердечно. Эффективность процедуры достигает 25 %. Но иногда это единственная возможность спасти больного. Однако лучше в этом случае использовать дефибриллятор; 2) при самых тяжелых аритмиях сердца; 3) для купирования бронхоспазма у больного с бронхиальной астмой. В этом случае используется подкожное введение адренали-

на, так как бета-адренорецепторы, в частности бета-2-адренорецепторы, хорошо возбуждаются при небольших концентрациях адреналина в течение 30 мин (продолгование эффекта); 4) в разовой дозе 0,5 мг можно использовать при п/к введении как срочное средство для устранения гипогликемической комы. Конечно, лучше вводить растворы глюкозы, но при некоторых формах пользуются адреналином (расчитывают на эффект гликогенолиза).

Побочные эффекты адреналина: 1) при внутривенном введении может вызвать аритмии сердца в виде желудочковой фибрилляции. Аритмии особенно опасны при введении адреналина на фоне действия средств, сенсibiliзирующих к нему миокард (средства для наркоза, например современные фторсодержащие общие анестетики фторотан, циклопропан). Это существенный нежелательный эффект; 2) легкое беспокойство, тремор, возбуждение; 3) может возникнуть отек легких, поэтому лучше при шоках воспользоваться препаратом «Добутрекс».

Представителем группы средств, возбуждающих альфа- и бета-рецепторы, является также норадреналин. На альфа-, бета-рецепторы действует как медиатор; как лекарство влияет только на альфа-рецепторы. Норадреналин оказывает прямое мощное стимулирующее влияние на α_1 -адренорецепторы. Латинское название *Noradrenalinum hydrochloricum* (ампулы по 1 мл – 0,2%-ный раствор):



Норадреналина гидротартрат

Основным эффектом НА является выраженное, но непродолжительное (в течение нескольких минут) повышение артериального давления (АД). Это обусловлено прямым стимулирующим влиянием норадреналина на альфа-адренорецепторы сосудов и повышением их периферического сопротивления. Вены под влиянием НА суживаются. Подъем АД очень существенен.

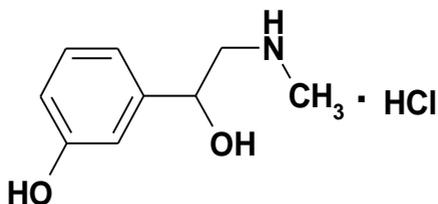
На гладкие мышцы внутренних органов, обмен веществ и ЦНС препарат оказывает однонаправленное с адреналином действие, но существенно уступает последнему. Основной путь введения норадреналина – внутривенно (в ЖКТ – разлагается; п/к – некроз на месте инъекции). Вводят в/в, капельно, так как действует кратковременно.

Показания к применению норадреналина. Используют при состояниях, сопровождающихся острым падением артериального давления. Чаще всего это травматический шок, обширные хирургические вмешательства. При кардиогенном (инфаркт миокарда) и геморрагическом шоке (кровопотеря) с выраженной гипотензией норадреналин применять нельзя, так как в еще большей степени ухудшится кровоснабжение тканей из-за спазма артериол, т.е. наступит ухудшение микроциркуляции (централизация кровообращения, микрососуды спазмированы – на этом фоне норадреналин еще в большей степени ухудшит положение больного). Побочные реакции при использовании норадреналина наблюдаются редко. Они могут быть связаны: 1) с возможным нарушением дыхания; 2) головной болью; 3) проявлением аритмий сердца при сочетании со средствами, повышающими возбудимость миокарда; 4) на месте инъекции возможно появление некроза тканей (спазм артериол), поэтому вводят в/в, капельно.

В отличие от адреналина и норадреналина, действующего непосредственно на альфа-, бета-адренорецепторы, имеются средства, оказывающие аналогичные фармакологические эффекты опосредованно. Это так называемые адреномиметики непрямого действия, или симпатомиметики.

9.4. Средства, стимулирующие преимущественно альфа-адренорецепторы (альфа-адреномиметики)

Агонист α_1 -адренорецепторов. Таким средством в первую очередь является мезатон (фенилэфрин) (*Mesatonum* – ампулы, содержащие 1 мл 1%-ного раствора, вводится п/к, в/в, в/м; порошок по 0, 01–0, 025 г – внутрь):



Мезатон

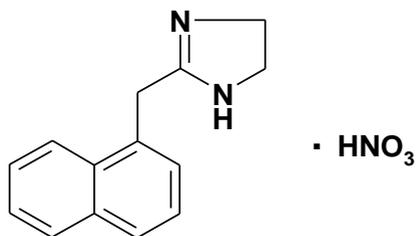
В отличие от адреналина и норадреналина, не катехоламин и мало подвержен действию фермента катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ). В связи с этим мезатон более стоек, оказывает более длительный эффект.

Препарат обладает мощным стимулирующим эффектом на альфа-адренорецепторы. Вместе с тем у него имеется и некоторое опосредованное действие, так как он в небольшой степени способствует выделению из пресинаптических окончаний норадреналина. Его прессорное действие ведет к повышению артериального давления. При подкожном введении эффект длится до 40–50 мин, а при внутривенном – в течение 20 мин. Препарат вызывает расширение зрачков и может понизить внутриглазное давление. На сердце непосредственно не действует, на ЦНС оказывает только незначительное стимулирующее влияние. Эффективен при приеме внутрь (порошки).

Показания для применения такие же, что и у норадреналина. Используют исключительно как прессорное (повышающее) средство при повышении АД, для удлинения действия местно-анестезирующих препаратов, для расширения зрачка. Кроме того, его можно назначать местно при ринитах (как деконгестант) – 1–2%-ные растворы (капли). Можно сочетать с местными анестетиками, а также использовать при лечении открытоугольной формы глаукомы (глазные капли 1–2 %). Препарат бывает эффективен при пароксизмальной предсердной тахикардии.

Агонист α_2 -адренорецепторов. α_2 -Адреномиметики не являются абсолютно селективными средствами. Препараты этой группы влияют как на α_1 -, так и на α_2 -рецепторы.

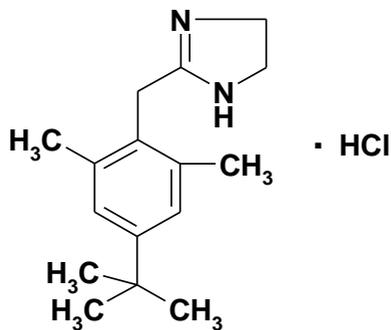
Альфа-адреномиметик нафтизин (*Naphtyzinum*, чешский препарат «Санорин», флаконы по 10 мл 0,05–0,1 %) отличается по химическому строению от норадреналина и мезатона. Это производное имидазолина:



Нафтизин

По сравнению с норадреналином и мезатоном вызывает более длительный сосудосуживающий эффект. Вызывая спазм сосудов слизистой носа, препарат существенно улучшает проходимость воздухоносных (верхних дыхательных) путей. На ЦНС нафтизин оказывает угнетающее действие. Применяют местно при острых ринитах, аллергических ринитах, синуситах, при воспалении среднего уха с обтурацией слуховой трубы, ларингитах, воспалении гайморовой пазухи (гайморит).

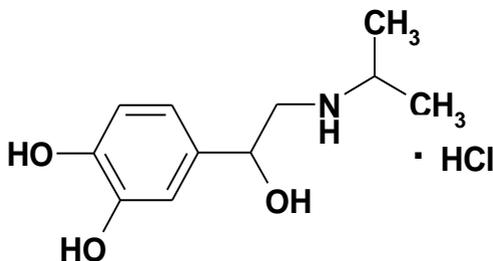
Аналогичный препарат, часто используемый по тем же показаниям, – ксилометазолин галазолин, также производное имидазолина (*Halazolinum*, флаконы по 10 мл, 0,1 %). Показания к применению те же, что и у нафтизина. Следует лишь учесть, что он оказывает незначительное раздражающее влияние на слизистую оболочку носа:



Галазолин

9.5. Средства, стимулирующие преимущественно бета-адренорецепторы

Бета-адреномиметики. Изадрин – классический бета-адреномиметик (*Isadrinum*, флаконы по 25 и 100 мл соответственно 0, 5%- и 1%-ных растворов; таблетки по 0,005 мг):



Изадрин

Препарат является самым мощным синтетическим стимулятором бета-адренорецепторов. Напомним, что бета-2-адренорецепторы расположены в бронхах (тормозные), а бета-1-адренорецепторы в сердце (возбуждающие). Изадрин возбуждает бета-1- и бета-2-адренорецепторы, поэтому считается неселективным бета-адреномиметиком. Влияние его на альфа-адренорецепторы не имеет клинического значения.

Основные фармакологические эффекты изадрина. Основные эффекты связаны с влиянием на гладкую мускулатуру

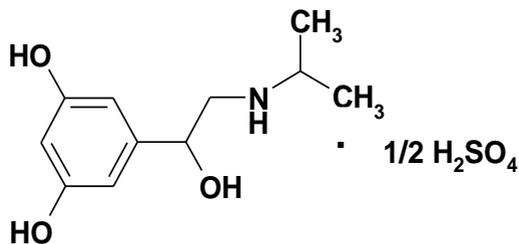
бронхов, сосуды скелетных мышц, на сердце. Возбуждая бета-2-адренорецепторы бронхов, изадрин приводит к сильному расслаблению мышц последних, к снижению тонуса бронхов. Изадрин – один из мощных бронхолитиков. Отсюда следует одно из главных показаний к применению препарата, а именно использование растворов изадрина в форме ингаляций для купирования приступов бронхиальной астмы. При ингаляции изадрина бронхолитический эффект развивается очень быстро и сохраняется примерно 1 ч. Действуя на гладкую мускулатуру ЖКТ (и альфа-, и бета-адренорецепторы тормозные), изадрин уменьшает тонус мышц кишечника, расслабляет матку, а стимулируя бета-1-адренорецепторы сердца, вызывает мощный кардиотонический эффект, реализующийся увеличением силы и частоты сердечных сокращений. Под влиянием изадрина усиливаются все четыре функции сердца: возбудимость, проводимость, сократимость и автоматизм. Систолическое давление (давление в артериях в момент, когда сердце сжимается и выталкивает кровь в артерии, верхнее показание артериального давления) при этом повышается. Однако, возбуждая бета-2-адренорецепторы сосудов, особенно скелетных мышц, изадрин снижает диастолическое давление (это минимальное давление в артериях, нижнее показание артериального давления). Изадрин стимулирует ЦНС, на обмен веществ действует аналогично адреналину, но гипергликемия выражена существенно в меньшей степени.

Побочные эффекты: вызывает тахикардию (*тахикардия* – быстрый темп сердечных сокращений: выше 80 уд. в 1 мин в покое при нормальной температуре тела), сердцебиение, аритмии, что может привести к истощению мышцы сердца, изъязвление слизистой рта при приеме под язык. Иногда вызывает головную боль, тремор конечностей, расслабление мышц матки (токолитический эффект).

С учетом ряда побочных эффектов, связанных с возбуждением бета-1-адренорецепторов сердца, особенно неприятным из которых является тахикардия, возникающая при купировании изадринном приступов бронхиальной астмы, были синтезированы препараты с преимущественным влиянием на бета-2-адренорецепторы. В настоящее время таких препаратов довольно много, они объединены в группу селективных бета-2-

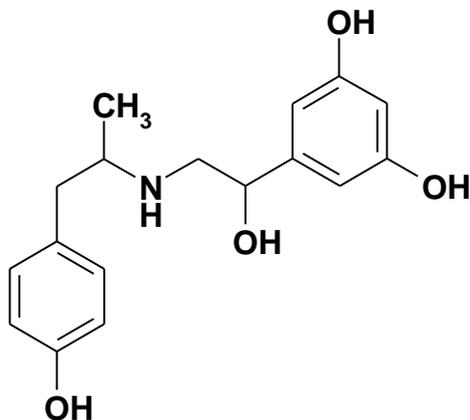
адреномиметиков. Зачастую эти препараты представлены в виде аэрозолей.

Орципреналин (синонимы – алуpent, астмоpent) действует 3–4 ч, но чаще 2–3 ч, при использовании в ингаляциях – так же быстро, как и изадрин. Действует более избирательно на β_2 -адренорецепторы бронхов, чем сердца, в меньшей степени вызывает тахикардию и снижение АД:



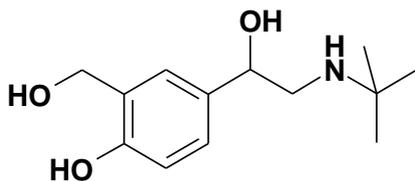
Орципреналин

Фенотерол (беротек, партусистен, *Fenoterolum*). По структуре и действию близок к орципреналину, но является более избирательным адреноагонистом β_2 -адренорецепторов и оказывает в связи с этим более избирательное, сильное, относительно длительное действие при бронхоспастических состояниях с меньшими побочными явлениями (тахикардия и другие нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы). В связи с расслабляющим воздействием на мускулатуру матки, обусловленным стимуляцией β_2 -адренорецепторов, фенотерол нашел специальное применение в качестве токолитического средства и выпускается для применения в акушерской практике под названием «Партусистен»:



Фенотерол

Сальбутамол (*Salbutamololum* – табл. 0,002; флаконы с 0,5%-ными растворами для респираторов по 10 мл; есть растворы для в/в введения). Такой же препарат, как и два предыдущих, используется по тем же показаниям. Все указанные препараты отличаются значительно менее выраженным стимулирующим влиянием на бета-1-адренорецепторы сердца. Кроме того, эти препараты эффективны при энтеральном применении и, по сравнению с изадринном, действие их сохраняется более продолжительное время. Селективность указанных препаратов не абсолютна, поэтому слово «селективные» пишут в кавычках. Среди этих различных доступных средств ни один клинически не превосходит сальбутамол:



Сальбутамол

Селективные бета-2-адреномиметики используются как для купирования, так и для профилактики (хронического лечения) приступов бронхиальной астмы (ингаляционно, внутрь,

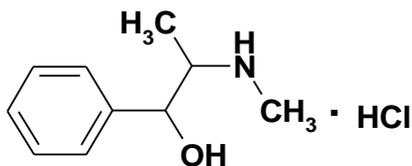
парентерально); 2) для снижения сократительной активности (токолитики) с целью профилактики преждевременных родов.

9.6. Симпатолитические средства (симпатолитики), или средства, угнетающие передачу возбуждения с адренергических нейронов (сердечно-сосудистые)

Лекарственные вещества оказывают стимулирующее действие на адренорецепторы. Принципиальным отличием от прямых адреномиметиков, непосредственно связывающихся с адренорецепторами, является их влияние на различные звенья обмена катехоламинов, что увеличивает концентрацию медиатора в синаптической щели, повышая тем самым активность адренорецепторов.

Так, эфедрин – адреномиметик непрямого действия, опосредованно стимулирующий альфа- и бета-адренорецепторы, имеет двоякую направленность действия: во-первых, влияя пресинаптически на варикозные утолщения симпатических нервов, способствует освобождению медиатора норадреналина и с этих позиций называется симпатомиметиком. Во-вторых, оказывает более слабое стимулирующее влияние непосредственно на адренорецепторы.

Эфедрин – алкалоид из листьев растения *Efedra*. На Руси оно называлось кузьмичева травка, латинское название *Efedrini hydrochloridum* (в таблетках – 0,025 мг; ампулы по 1 мл – 5%-ный раствор – наружно, капли в нос):



Эфедрин

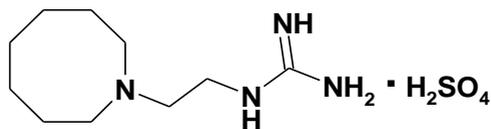
В отличие от адреналина и норадреналина, не катехоламин и мало подвержен действию фермента катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ). По фармакологическим эффектам аналогичен адреналину. Стимулирует деятельность сердца, повышает артериальное давление, вызывает бронхолитический

эффект, подавляет перистальтику кишечника, расширяет зрачок, повышает тонус скелетных мышц, вызывает гипергликемию. Эффекты развиваются медленнее, но продолжаются более длительно. Скажем, по влиянию на артериальное давление эфедрин действует более длительно примерно в 7–10 раз. По активности уступает адреналину. Активен при приеме внутрь. Хорошо проникает в ЦНС, возбуждает ее. Практически важно то, что эфедрин выражено стимулирует ЦНС. Это находит применение в психиатрической и анестезиологической клиниках.

Показания к применению: как бронхолитик при бронхиальной астме, при сенной лихорадке, сывороточной болезни; иногда для повышения АД при хронической гипотонии, гипотонической болезни; эффективен при насморке, т.е. ринитах, когда закапывают раствор эфедрина в носовые ходы (местное суживание сосудов, снижается секреция слизистой носа); используется в офтальмологии для расширения зрачка (капли); в психиатрии при лечении больных с нарколепсией (особое психическое состояние с повышенной сонливостью и апатией, отравление наркотиками, снотворным), когда введение эфедрина направлено на стимуляцию ЦНС. Используют эфедрин при миастении в сочетании с АХЭ-средствами; кроме того, при отравлениях снотворными и наркотическими средствами, т.е. средствами, угнетающими ЦНС; иногда при энурезе; в анестезиологии при проведении спинно-мозговой анестезии (профилактика снижения артериального давления).

9.7. Адренергические вещества, преимущественно угнетающие нейрональный захват катехоламинов

Октадин (*Octadinum*, синонимы – изобарин, исмелин, гуанетидин, порошок и таблетки по 0,025 мг):



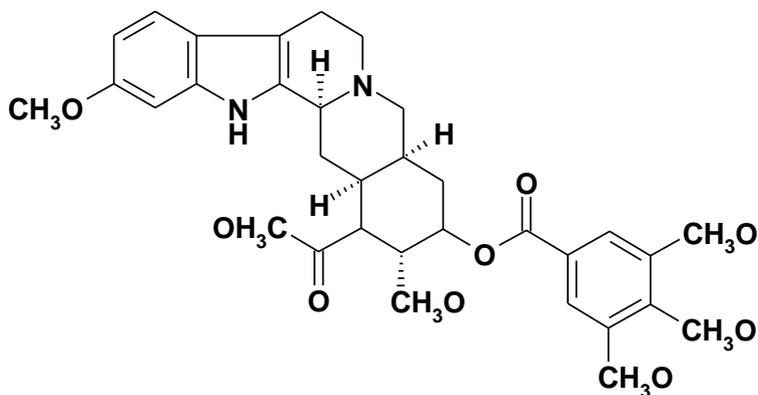
Октадин

Механизм действия октадина (фармакодинамика). Основное фармакодинамическое действие симпатолитиков связано с тем, что они, в частности октадин, истощают запасы медиатора норадреналина в окончаниях симпатических волокон. Способность октадина угнетать передачу возбуждения с адренергических нервов на эффектор объясняется следующим образом. Первоначально, когда содержание норадреналина в варикозных утолщениях не уменьшено, это можно объяснить блокирующим воздействием препарата на пресинаптическую мембрану медиатора. Постепенно под влиянием октадина содержание норадреналина в варикозных утолщениях снижается. Это обусловлено тем, что октадин препятствует обратному захвату норадреналина варикозными утолщениями, так как сам подвергается нейрональному захвату теми же транспортными системами, что и норадреналин. Блокирование выделения НА в ответ на нервный импульс и его обратного транспорта в окончание симпатического волокна происходит благодаря своеобразному мембраностабилизирующему (местно-анестезирующему) действию октадина, в результате которого тормозятся развитие деполяризации мембраны окончания и активность ее транспортных ферментных механизмов. Ввиду этого в ответ на нервные импульсы количество выделяющегося в синаптическую щель медиатора падает. В результате отмечается уменьшение содержания норадреналина в сердце, сосудах и других органах. Если основным результатом действия октадина является уменьшение действия симпатических нервов, то основным фармакологическим эффектом октадина является постепенно развивающееся (в течение нескольких дней) стойкое снижение АД. Этому способствует, особенно в первый период, и уменьшение сердечного выброса, угнетение прессорных рефлексов. Октадин долго остается в окончаниях симпатических нервов, в связи с этим период его полувыведения из организма составляет 120–240 ч (5–10 сут). Максимальный антигипертензивный эффект развивается через 4 ч после перорального приема препарата, но стойкое терапевтическое действие возникает лишь через 5–8 дней приема октадина. Постепенность действия связана с тем, что необходимо

определенное время для истощения запасов НА в симпатических окончаниях. Несмотря на медленное действие октадина, его антигипертензивное действие мощнейшее, длительное, подерживающее. В ЦНС октадин не проникает, его антигипертензивное действие имеет периферическое происхождение.

Нежелательные (побочные) эффекты. Октадин является очень активным препаратом. Главный недостаток октадина – включение симпатической иннервации. Вызывая расширение емкостных сосудов, октадин снижает артериальное давление у больных, находящихся в вертикальном положении в большей степени, чем у них же в положении лежа, поэтому способствует развитию ортостатической гипотонии. Возможность коллаптоидных реакций и коллапса провоцируется жарой, физической нагрузкой и т.п. Октадин вызывает общую слабость, адинамию, рефлекторную задержку жидкости в организме. Механическое превалирование парасимпатического тонуса ведет к возникновению брадикардии, усилению перистальтики кишечника вплоть до поноса, возникновению тошноты и рвоты. Может возникать сильное набухание слизистой оболочки носа. Со снижением симпатического тонуса связаны нарушения эякуляции, страдает половая функция. Исходя из этого, октадин используют лишь при тяжелых формах гипертонической болезни.

Резерпин (*Reserpinum*, синонимы – рауседил, серпазил, порошок и таблетки по 0,000 25, 0,0001 мг). Резерпин является алкалоидом из индийского растения раувольфии – *Rauwolfia serpentina* (Южная, Юго-Восточная Азия – Индия, Шри-Ланка, Ява, Малайский полуостров):



Резерпин

Это один из первых эффективных препаратов, используемых для лечения больных с гипертонической болезнью и различными гипертензиями. Резерпин нарушает захват и депонирование норадреналина в везикулах пресинаптических окончаний симпатических нервов, взаимодействуя с ферментами механизмов захвата катехоламинов, локализующимися в мембранах везикул и зависящими от наличия ионов магния и АТФ. Благодаря данному механизму действия в окончаниях симпатических нервов снижается количество норадреналина. Помимо указанного периферического симпатолитического действия (подобно октадину) у резерпина есть еще и нейролептический эффект. Резерпин оказывает мощное успокаивающее (седативное) и слабое антипсихотическое действие, в связи с чем его относят к группе нейролептиков. Способствует развитию сна. В связи с этим резерпин снижает артериальное давление двояко – путем симпатолитического эффекта на периферии и воздействием на центральную нервную систему. Под его влиянием уменьшается содержание в тканях мозга нейромедиаторов – норадреналина, дофамина, серотонина, что обусловлено его способностью нарушать транспорт этих веществ из клеточной плазмы в их депо. За счет двоякого действия резерпин действует мягче. Усиливает действие снотворных и средств для наркоза. Угнетает дыхание, снижает температуру тела. Артериальное давление при введении резерпина снижается постепенно, максимальный эф-

фekt наблюдается через несколько дней. Привыкания к резерпину практически не развивается, может использоваться длительно.

Нейролептический эффект резерпина используется не часто, а поэтому наибольшее значение имеет его гипотензивный эффект. Ввиду этого резерпин в настоящее время используется для лечения больных с легкими и средней тяжести формами гипертонической болезни, а также симптоматическими гипертониями. Особенно эффективен препарат для детей и подростков.

Побочные эффекты. Выключение симпатического тонуса ведет к доминированию парасимпатического тонуса. Могут возникать нарушения функции ЖКТ, реализуемые усилением перистальтики кишечника (вплоть до поноса), спазмы кишечника (усиление освобождения ацетилхолина из окончаний блуждающего нерва), гиперацидные состояния, обострение гастрита и язвенной болезни (ульцерогенный эффект), связанной с выбросом гистамина. Благодаря усилению эффектов гистамина у больных возникает набухание слизистой оболочки носа и затруднение носового дыхания. Прием резерпина может сопровождаться угнетением ЦНС, слабостью, даже развитием депрессивных состояний.

Таким образом, необходимо строго выяснить анамнез перед назначением препарата. Уменьшение количества катехоламинов в бронхах способствует развитию бронхоспазма у больных бронхиальной астмой. К симпатолитикам относят и орнид (бретилий). Механизм действия другой. Препарат блокирует пресинаптическую мембрану, нарушает выход медиатора, угнетает обратный захват норадреналина. Действует 5–8 ч, снижает АД, оказывает противоаритмический эффект. Используется как противоаритмическое и как противогипертензивное средство (редко).

9.8. Средства, блокирующие адренорецепторы (адреноблокаторы)

Адреноблокаторы блокируют адренорецепторы, препятствуя действию на них медиатора норадреналина, а также адре-

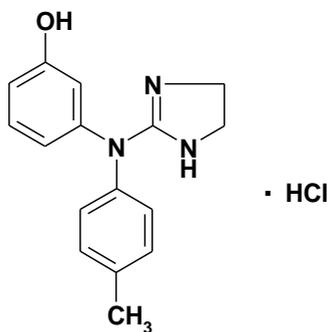
номиметических средств. На синтез норадреналина адреноблокаторы не влияют.

Адреноблокаторы делятся на две группы: 1) α -адреноблокаторы; 2) β -адреноблокаторы. Наличие у веществ альфа-адреноблокирующего эффекта легко обнаруживается по их способности уменьшать действие адреналина или «извращать» его. Это означает, что на фоне действия альфа-адреноблокаторов адреналин не повышает артериальное давление, а снижает его. Последнее связано с тем, что на фоне блока альфа-адренорецепторов проявляется стимулирующее влияние адреналина на бета-адренорецепторы сосудов, что сопровождается их расширением.

В настоящее время альфа-адреноблокаторы имеют не очень большое значение в медицине, хотя в последние годы их значимость возросла (создание селективных блокаторов). В связи с тем, что альфа-адренорецепторы сосредоточены преимущественно в сосудах, основные фармакологические эффекты данной группы средств связаны с их влиянием на сосудистый тонус.

К синтетическим препаратам, блокирующим α -адренорецепторы, относятся фентоламин и тропafen (*неизбирательные блокаторы, действующие на α_1 - и α_2 -рецепторы*).

Фентоламин (регитин) – *Phentolamini hydrochloridi* – (порошок, табл. 0,025 мг). Производное имидазолина:



Фентоламин

Характеризуется выраженным, но кратковременным альфа-адреноблокирующим действием. При внутривенном введе-

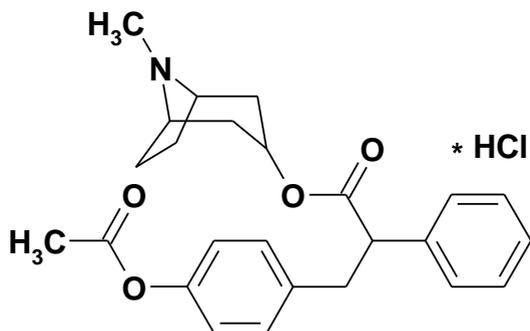
нии адrenoблоkirующий эффект фентоламина длится в среднем 10–15 мин (до 40 мин). При в/м, per os введении эффект длится до 3–4 ч. Артериальное давление фентоламин снижает умеренно. Препарат приводит к купированию спазмов и расширению периферических сосудов, особенно артерий и прекапилляров, улучшению кровоснабжения мышц, кожи, слизистых.

Механизм снижения АД при воздействии фентоламина обусловлен альфа-адrenoблоkirующим эффектом. При блокаде альфа-адренорецепторов циркулирующий адреналин возбуждает бета-адренорецепторы сосудов, расширяя их, что ведет к резкому падению АД. В связи с тем, что заблокированы неселективные и альфа-1-, и альфа-2-адренорецепторы, в целом фентоламин действует кратковременно. Это связано с нарушением физиологической авторегуляции выделения норадреналина в синапс. Блокада альфа-2-пресинаптических рецепторов нарушает механизм обратной отрицательной связи, и медиатор норадреналин постоянно поступает в синаптическую щель. Отсюда понятны побочные эффекты фентоламина: сильная тахикардия и повышение сократимости миокарда, двигательной активности кишечника (вплоть до поноса, так как альфа- и бета-адренорецепторы ЖКТ являются тормозными) и секреции соляной кислоты. Фентоламин вызывает также усиление секреторной активности слюнных и слезных желез, желез дыхательного тракта, поджелудочной железы.

Фентоламин в настоящее время используют относительно редко. Чаще всего его назначают: 1) при диагностике феохромоцитомы; 2) при болезни Рейно, облитерирующем эндартериите, акроцианозе, трофических язвах нижних конечностей, т.е. при различных заболеваниях, связанных с нарушением периферического кровообращения; 3) при геморрагическом, кардиогенном шоке, когда наблюдается спазм артериол; 4) при тяжелых гипертонических кризах (редко в инъекционной форме); 5) при пролежнях, обморожениях.

Побочные эффекты: тахикардия; повышение тонуса ЖКТ (поносы); головокружение; зуд кожи, ее покраснение; набухание слизистой оболочки носа; при передозировке – ортостатический коллапс.

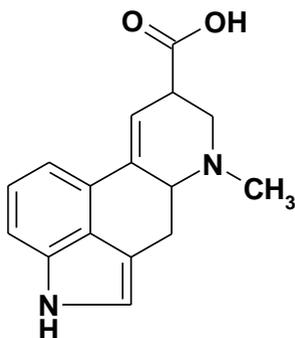
Аналогичным, но более сильным препаратом является тропофен:



Тропофен

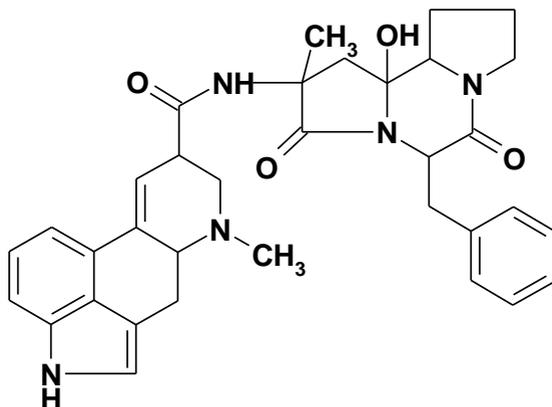
Следующей группой препаратов, блокирующих адренорецепторы, являются полусинтетические средства, а именно дегидрированные алкалоиды спорыньи. Спорынья – это гриб, паразитирующий на колосьях ржи (по-французски спорынья – Ergot). Отсюда естественные препараты, выделенные из спорыньи, получили названия *эргокарнин*, *эргокрестин*, *эргокриптин*, *эрготоксин*, *эрготамин*, они стимулируют сокращение гладкой мускулатуры сосудов, матки.

В основе химического строения всех этих эрголиновых алкалоидов лежит тетрациклическое соединение – D-лизегиновая кислота (6-метилэрголин):



D-лизегиновая кислота

Препараты токсичны, оказывают сложное влияние на организм. Если добавить два атома водорода, то получатся дигидроэрготоксин и дигидроэрготамин. Указанные препараты и являются альфа-адреноблокаторами:

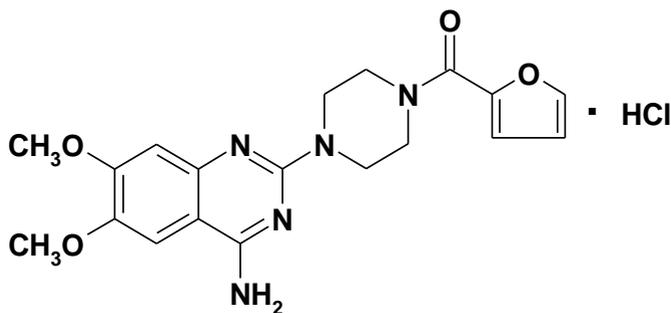


Дигидроэрготамин

Они входят в состав комбинированных антигипертензивных средств (адельфан, кристипин и др.). Самостоятельно препараты практически не применяют, а используют лишь в комбинации с другими веществами как антигипертензивные средства. Ввиду неселективности действия перечисленных средств, т.е. блокирования постсинаптических альфа-1-адренорецепторов и пресинаптических альфа-2-адренорецепторов, нарушается физиологическая авторегуляция продукции норадреналина. Происходит нарушение обратной отрицательной связи, в результате чего норадреналин постоянно поступает в синаптическую щель и, вступая в конкурентные соотношения с альфа-адреноблокаторами, вытесняет их с альфа-рецепторов. Последнее объясняет кратковременность действия неселективных альфа-адреноблокаторов и возникающие побочные реакции (тахикардия). Ввиду этого весьма перспективными оказались альфа-адреноблокаторы, блокирующие преимущественно постсинаптические альфа-1-адренорецепторы. Благодаря функционирующим пресинаптическим альфа-2-адренорецепторам сохраняется механизм отрицательной обратной связи и, следовательно, по-

вышенного выделения норадреналина не происходит. Блок постсинаптических альфа-1-адренорецепторов становится более стабильным. Тахикардии не возникает.

Празозин обладает преимущественным влиянием на постсинаптические альфа-1-адренорецепторы, вследствие этого он блокирует сосудосуживающее действие медиатора (норадреналина) без влияния на другие виды активности. По блокирующей активности превосходит фентоламин в 10 раз:



Празозин

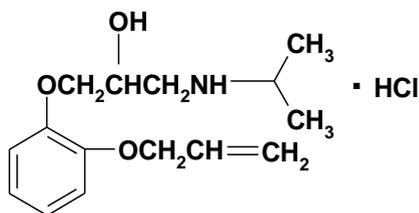
Основной фармакологический эффект празозина – снижение артериального давления. Данный эффект обусловлен падением тонуса артериальных, в меньшей степени венозных, сосудов, уменьшением венозного возврата и работы сердца. Частота сердечных сокращений изменяется незначительно: если и возникает тахикардия, то весьма незначительная. Препарат эффективен при введении внутрь. Действие его наступает через 30–60 мин и продолжается 6–8 ч. Празозин применяют в качестве антигипертензивного средства при гипертонической болезни (средней степени тяжести).

9.9. Средства, блокирующие бета-адренорецепторы, или бета-адреноблокаторы

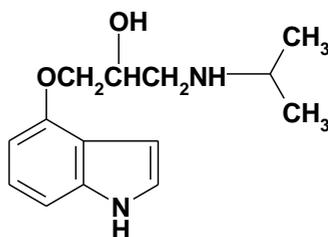
Сейчас более 20 препаратов (индерал, пропранолол, окспренолол, пиндолол, соталол, алпренолол, ацебуталол, сектрал, вискен, тразикор, тимолол, атенолол, лабетолол). По хи-

мической структуре сходны с изадрином. Препараты этой группы избирательно и конкурентно блокируют действие катехоламинов, опосредуемое через бета-адренорецепторы. Так, стимулирующее действие адреналина на бета-рецепторы, а также действие изадрина блокируются, но положительные инотропные эффекты кальция, теофиллина, сердечных гликозидов не изменяются.

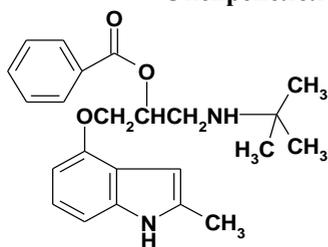
Механизм действия бета-адренорецепторов на клеточном уровне связывают с ингибированием активности мембранного фермента аденилатциклазы и, таким образом, снижением продукции цАМФ. Одним из первых препаратов этой группы средств был синтезированный индерал. В СССР это – анаприлин, в Германии – обзидан. Международное название *пропранолол*. Надо сказать, что все средства этой группы по международной классификации имеют окончание «ол»: пропранолол, окспренолол, пиндолол, тимолол, лабетолол:



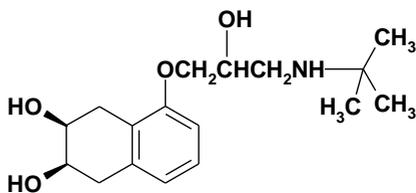
Окспренолол



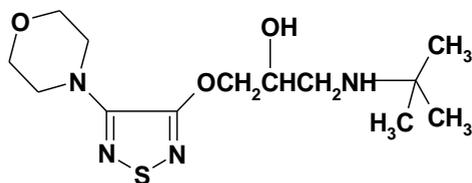
Пиндолол



Бипиндолол

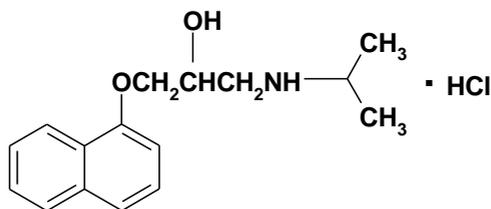


Надолол



Тимолол

Фармакологические эффекты бета-адреноблокаторов рассмотрим на примере анаприлина, неизбирательного (некардио-селективного) β -адреноблокатора:



Анаприлин

Все основные фармакологические эффекты связаны, как и главные показания к применению препаратов, с их действием на миокард, на сердце. Препараты этой группы не оказывают выраженного действия на работу сердца человека, находящегося в состоянии покоя. Однако при повышении тонуса бета-блокаторы предупреждают учащение ритма и увеличение минутного объема. Блокируя бета-1-адренорецепторы, анаприлин снижает сократимость миокарда, подавляет автоматизм, замедляет предсердно-желудочковую проводимость, ослабляет возбудимость. Ослабляется реакция сердца на физическую нагрузку и другие факторы, стимулирующие симпатическую нервную систему. Анаприлин, как и все бета-адреноблокаторы, снижает потребность миокарда в кислороде и повышает переносимость физических нагрузок у больных, страдающих стенокардией. Снижая частоту сердечных сокращений, а также понижая потребление кислорода миокардом, бета-адреноблокаторы, анаприлин в частности, снижают насосную функцию сердца, его работу. Снижение насосной функции сердца, сердечного выбро-

са приводит к тому, что анаприлин вызывает снижение артериального давления.

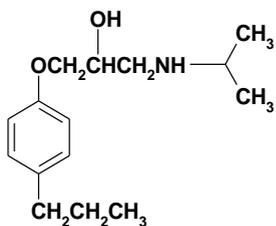
Эти средства являются ведущими препаратами для хронического лечения больных со стенокардией (в таблетках и инъекциях), так как снижают работу сердца, уменьшают потребление кислорода миокардом, т.е. применяются как антиангинальные средства для предупреждения приступов стенокардии. Используются как антиаритмические средства при тахиаритмиях предсердного характера (мерцание и трепетание предсердий); анаприлин используется при устранении тахикардий различного генеза (при митральном стенозе, тиреотоксикозе, аритмиях, вызванных адреномиметиками или гликозидами наперстянки). Применяется в лечении больных с гипертонической болезнью (длительное применение бета-адреноблокаторов сопровождается снижением насосной функции сердца, что ведет к стойкому снижению АД); как гипертензивные средства, инъекции – при кризе. Иногда используются для лечения больных с хронической открытоугольной формой глаукомы (закапывают в глаз 1–2 раза в сутки), но в офтальмологии чаще всего применяют с этой целью растворы тимолола.

Побочные эффекты анаприлина объясняются широтой фармакологического действия бета-адреноблокаторов. При блокировке бета-2-адренорецепторов бронхов у больных с бронхиальной астмой анаприлин может спровоцировать приступ бронхоспазма, так как при этом резко повышается тонус бронхов. Длительный прием препаратов может довести до сердечного блока, особенно у больных с серьезными нарушениями проводимости. Прием бета-адреноблокаторов может вызвать недостаточность работы сердца, особенно у больных с заболеванием сердца вследствие прямого кардиодепрессивного действия. Если надо отменить анаприлин у больного со стенокардией, то дозу препарата снижают постепенно, так как при резкой отмене может развиваться инфаркт миокарда. При приеме бета-адреноблокаторов лучше всего использовать их только в условиях стационара, когда можно контролировать каждую реакцию (пульс, артериальное давление). С осторожностью надо назначать бета-адреноблокаторы у больных сахарным диабетом, так

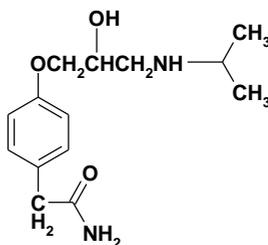
как они (анаприлин) пролонгируют лекарственную гипогликемию, способствуют развитию атеросклероза.

Особый интерес представляют соединения, блокирующие преимущественно бета-1-адренорецепторы сердца (кардиоселективные), а не бронхов.

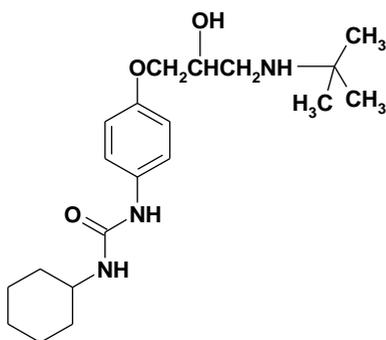
Один из бета-1-адреноблокаторов – *метопролол* (беталок, лопрессор, спесикор), а также *талинолол*, *атенолол*, *бетаксоллол*. Эти препараты хорошо всасываются из ЖКТ, максимальный эффект развивается через 1,5 ч и сохраняется в среднем 5–6 ч. Наиболее часто бета-1-селективные адреноблокаторы применяют у больных, имеющих хронические заболевания легких, сахарный диабет. Используют при артериальных гипертензиях, стенокардии, аритмиях. Предполагается большое будущее препаратов этой группы. Побочные эффекты возникают реже, но в принципе они те же:



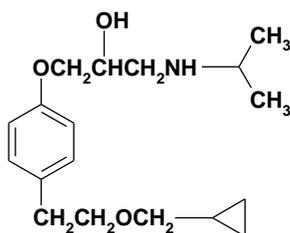
Метопролол



Атенолол

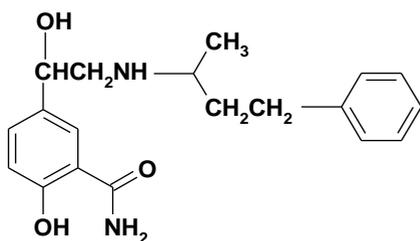


Талинолол

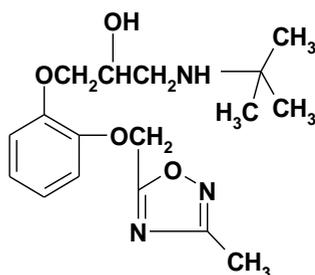


Бетаксоллол

В последние годы созданы гибридные $[\beta + \alpha]$ -адреноблокаторы (лабетолол, пиндолол, целипролол), которые являются бета-адреноблокаторами, оказывающими одновременно альфа-1-адреноблокирующее «гибридное», или «бинарное» действие. Они имеют важное практическое значение для лечения больных с гипертонической болезнью (снижение артериального давления):



Лабетолол

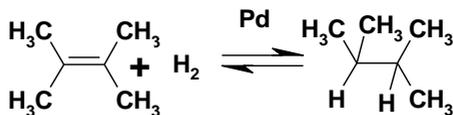


Проксодолол

10. ЭНЕРГЕТИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ И ВМЕШАТЕЛЬСТВО В НЕЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Ферменты – катализаторы. Без них клеточные химические реакции были бы слишком медленными, чтобы быть полезными, и многие не произошли бы вообще. Катализатор – вещество, которое ускоряет химическую реакцию без изменения самого себя.

Примером катализатора, часто используемого в лаборатории, является палладий на активированном древесном угле:



Заметим, что приведенная выше реакция показана как равновесная. Именно поэтому более корректно описать катализатор как вещество, которое может увеличивать скорость подхода реакции к состоянию химического равновесия.

В равновесной реакции катализатор будет в такой же степени увеличивать скорость как прямой, так и обратной реакций. Следовательно, катализатор не влияет на конечные равновесные концентрации исходных веществ и продуктов.

В настоящее время общепринято, что катализаторы уменьшают полную энергию активации процесса, так как каталитический процесс идет по другому пути, через другое промежуточное состояние, с образованием других промежуточных частиц.

Энергия активации – минимальная энергия реагентов (атомов, молекул и других частиц), достаточная для того, чтобы они вступили в химическую реакцию. Активированный комплекс с участием катализатора имеет меньшую энергию, чем комплекс без катализаторов (рис. 54), поэтому энергия активации каталитической реакции ниже, чем энергия некаталитических реакций.

Мы определили, что катализаторы (ферменты) увеличивают скорость реакции путем уменьшения энергии активации, но мы еще должны определить, как это происходит.

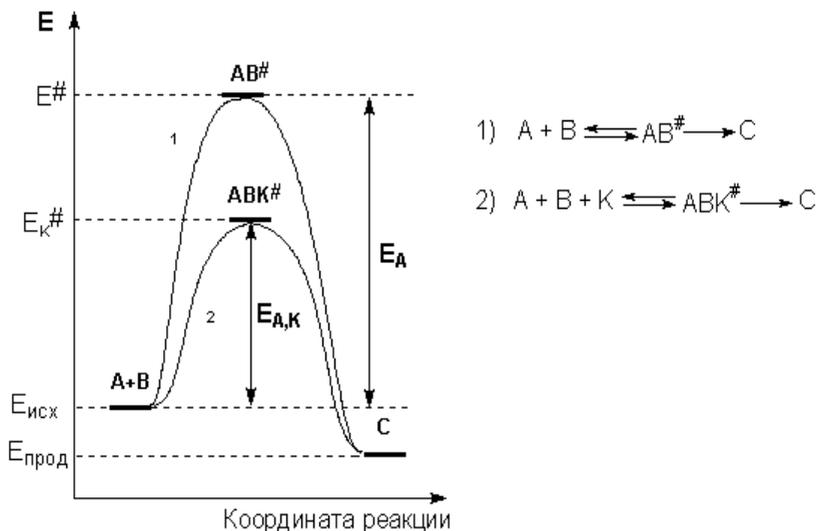


Рис. 54. Энергетическая диаграмма химической реакции без катализатора (1) и в присутствии катализатора (2)

Как катализаторы понижают энергию активации?

Есть несколько факторов, которые это обуславливают:

- катализаторы обеспечивают реакционную поверхность для реакции;
- объединяют реагенты;
- правильно их размещают – так, чтобы они легко достигли конфигурации своих переходных состояний;
- ослабляют связи в реагентах;
- могут участвовать в механизме реакции.

Мы можем увидеть действие этих факторов в нашем примере гидрирования на палладиево-угольном катализаторе (рис 55). В этой реакции поверхность катализатора взаимодействует с молекулой водорода и таким образом ослабляет связь Н–Н. Связь рвется, и водородные атомы связываются с катализатором. Катализатор может взаимодействовать с молекулой алкена, ослабляя его π -связь двойной связи. Водородные атомы и молекула алкена размещены на катализаторе удобно, близко друг к другу, чтобы произошла легкая передача атомов водорода от

катализатора к алкену. Алкановый продукт после этого покидает катализатор, как это было до реакции.

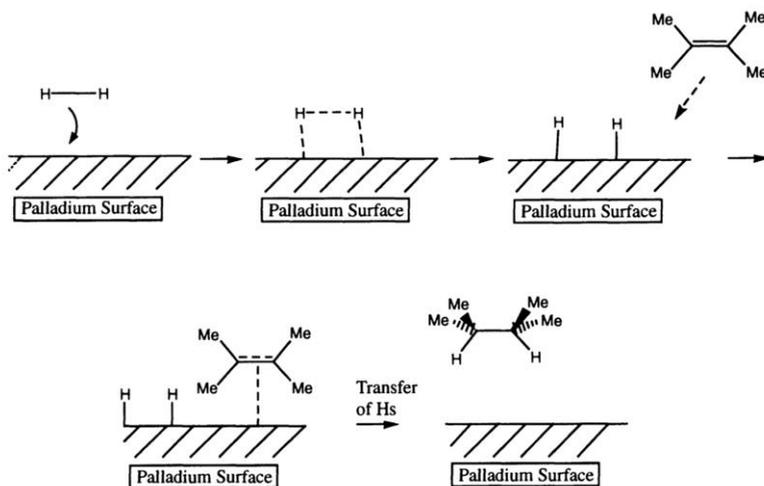


Рис. 55. Гидрирование на палладиево-угольном катализаторе

У ферментов более сложные структуры, чем поверхность палладия, но они катализируют реакции таким же образом (рис. 56).

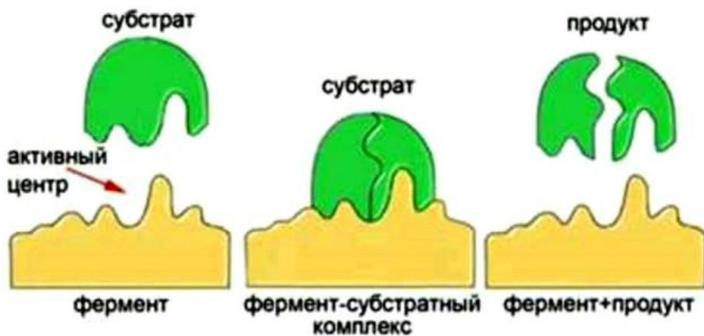


Рис. 56. Ферментативный катализ реакций

Субстраты связываются и реагируют в определенной области фермента, названной активным центром (зоной). Активный центр – обычно весьма маленькая часть полной структуры белка, но в рассматриваемых механизмах ферментов мы можем сделать упрощение, концентрируясь на том, что происходит на таком участке.

Активный центр (зона, сайт) фермента

Активный участок фермента (active site) (рис. 57) является трехмерной структурой. Чтобы субстраты его достигли, он может быть около поверхности фермента. Но, как правило, расположен в углублении, ниже поверхности фермента. В результате субстрат, связываясь с активным центром, оказывается не в водной среде цитозоля клетки, а в специфическом окружении функциональных групп активного центра.

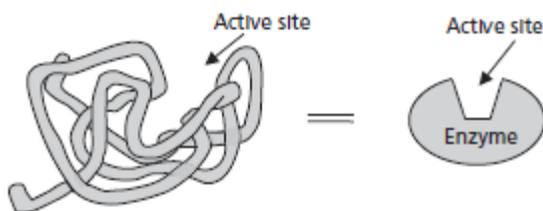


Рис. 57. Активная зона (сайт) фермента

Из-за полного скручивания фермента остатки аминокислоты, которые могли быть чрезвычайно далеко друг от друга в первичной структуре, теперь оказываются сближенными. Например, важные аминокислоты на активном участке молочнокислой дегидрогеназы показаны на рис. 58. Числа показывают их положения в первичной структуре фермента.

Набор аминокислот в ферменте постоянен независимо от того, как он получен. Аминокислоты, которые крайне важны для функции фермента, – часто аминокислоты, составляющие активный участок.

Аминокислоты, присутствующие в активной зоне, играют важную роль в функции ферментов. Они определяют их функции и образуют активную зону. Если одна из этих аминокислот

потерялась бы в результате мутации, то фермент стал бы бесполезным и животное, сохранившее эту мутацию, имело бы меньше шансов на выживание.

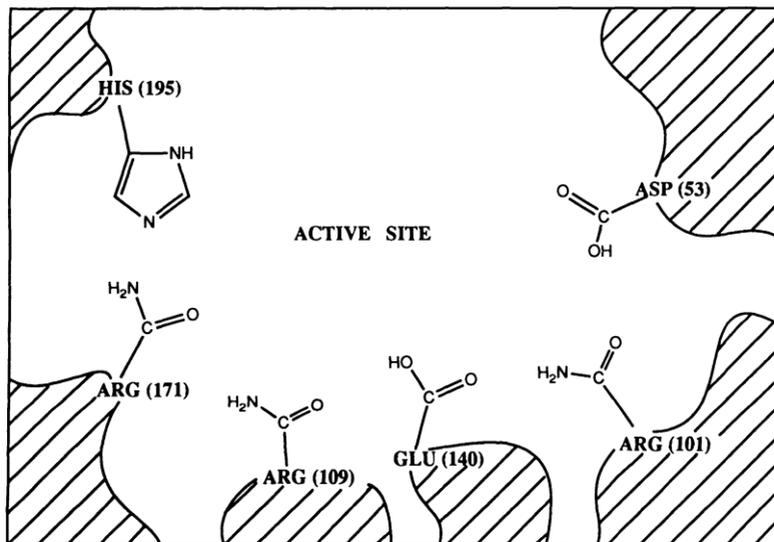


Рис. 58. Активная зона фермента – место присоединения к субстрату молочнокислой дегидрогеназы

У остатков аминокислот в активной зоне может быть одна из двух ролей:

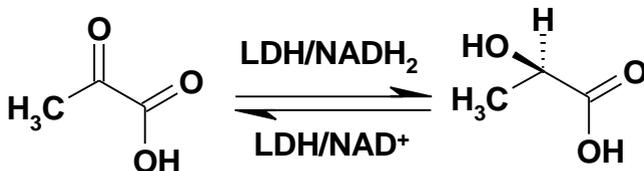
- 1) связывающая – остаток аминокислоты вовлечен в связывание субстрата с активной зоной;
- 2) каталитическая – аминокислота вовлечена в механизм реакции.

Связывающие силы

Силы, которые связывают субстраты с активными участками ферментов, являются такими же, что и силы, которые управляют третичной структурой ферментов, – ионные, водородные и ван-дер-ваальсовы связи. Однако, поскольку ионное соединение играет относительно незначительную роль в третичной структуре белка по сравнению с водородными связями

или силами ван-дер-ваальса, оно может играть важную роль в связывании субстрата с активным участком.

В качестве примера рассмотрим субстрат для молочнокислой дегидрогеназы – фермента, который катализирует превращение пировиноградной кислоты в молочную кислоту:



Глядя на структуру пировиноградной кислоты, мы можем предположить три взаимодействия, которые могли бы связать ее с активным участком: ионное, вовлекающее ионизированную карбоксильную группу; водородную связь, притягивающую кетонный кислород, и силы Ван-дер-Ваальса, вовлекающие метильную группу (рис. 59). Если эти предположения правильные, то должны быть подходящие аминокислоты в активном участке, чтобы принимать участие в этих связях. Остаток лизина, остаток серина и остаток фенилаланина отвечали бы этим предположениям.

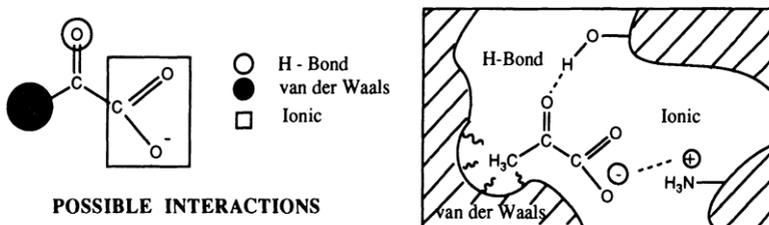


Рис. 59. Взаимодействие между пировиноградной кислотой и молочнокислой дегидрогеназой

Многие соединения могут влиять на обмен веществ, модулируя активность соответствующих ферментов. Особенно важные функции при этом выполняют *ингибиторы фермен-*

тов. Ингибиторами ферментов являются многие *лекарственные вещества* природного или синтетического происхождения.

Конкуреннтные (обратимые) ингибиторы

Связывающие взаимодействия между субстратом и ферментом, очевидно, важны. Если бы не было никаких взаимодействий, удерживающих субстрат в активной зоне, то он перемещался бы то внутрь, то наружу, прежде чем наступила вероятность для реакции.

Что случилось бы, если бы субстрат настолько был сильно связан с активной зоной, что не покинул ее (рис. 60)?

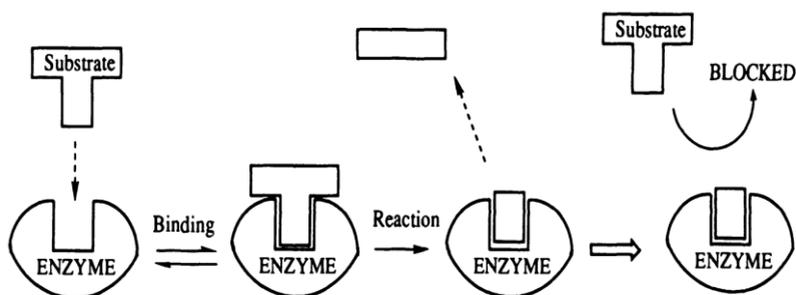


Рис. 60. «Блокировка» фермента

Фермент стал бы «забитым» и не смог бы принять больше любые другие субстраты. Ввиду этого связывающие взаимодействия между субстратом и ферментом должны быть сбалансированы так, чтобы быть достаточно сильными для удержания субстрата в активной зоне – позволить реакцию, но достаточно слабыми – позволить продуктам отделиться. Это связывающее сбалансированное действие может быть использовано химиками-фармацевтами, желающими ингибировать специфический фермент. Может быть сконструирована молекула, подобная натуральному субстрату, которая будет соответствовать активному участку, но связываться с ним более сильно. Она может не подвергаться реакции, когда находится в активном участке, но, пока она там, блокируется доступ естественного субстрата и ферментативная реакция останавливается (рис. 61).

Это известно как конкурентное ингибирование, так как лекарство конкурирует с естественным субстратом за активный участок. Чем дольше ингибитор присутствует в активном участке, тем больше ингибирование. Таким образом, если химик знает, какие связывающие группы присутствуют в активном участке и где они, он может сконструировать диапазон молекул с различной ингибирующей способностью.

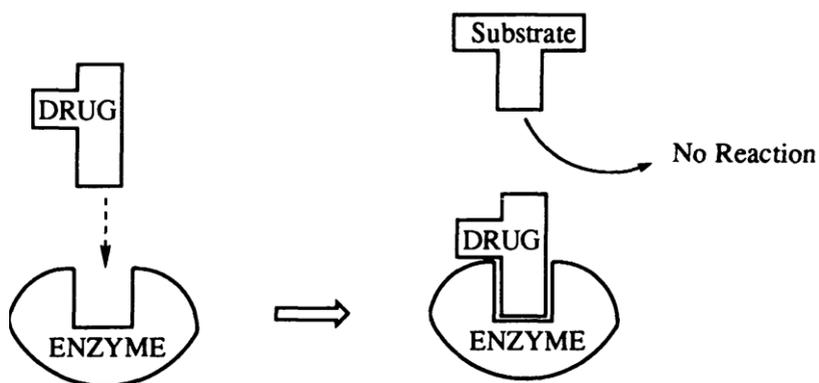


Рис. 61. Конкурентное ингибирование

Конкурентоспособные ингибиторы могут в основном замещаться путем увеличения уровня естественных субстратов. Эта особенность была полезна при лечении случайного отравления антифризом. Основным элементом антифриза – этиленгликоль, который окисляется в серии ферментативных реакций в щавелевую кислоту (рис. 62).

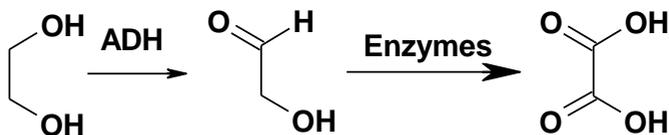
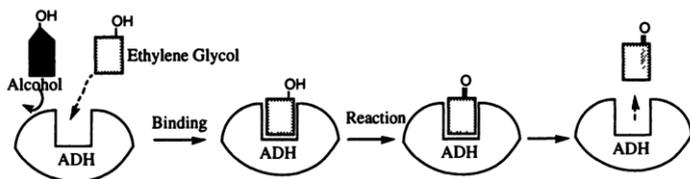


Рис. 62. Окисление этиленгликоля в щавелевую кислоту (ADH – алкогольдегидрогеназа)

Щавелевая кислота очень токсична, и если ее синтез может быть заблокирован, то можно избежать отравления.

Первая стадия в этом ферментативном процессе – окисление этиленгликоля алкогольдегидрогеназой (ADH). Этиленгликоль действует здесь как субстрат, но мы можем рассмотреть его как конкурентоспособный ингибитор, так как он конкурирует с естественным субстратом за фермент. Если концентрация естественного субстрата будет увеличена, то он будет конкурировать с этиленгликолем намного лучше и предотвратит его реагирование. Токсичная щавелевая кислота больше не будет образовываться, и не прореагировавший этиленгликоль в конечном счете выделится из тела (рис. 63).

OXIDATION OF ETHYLENE GLYCOL



BLOCKING WITH EXCESS ALCOHOL

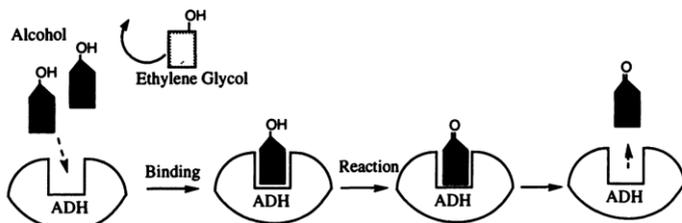


Рис. 63. Окисление этиленгликоля в блокирование избытком алкоголя

Лечение в том, чтобы управлять дозами естественного субстрата – алкоголя! Возможно, одно из наиболее приемлемых лечений в медицине.

Есть много примеров полезных лекарств, которые действуют как конкурентоспособные ингибиторы. Для примера: сульфонамиды ингибируют бактериальные ферменты, в то время как антихолинэстераза ингибирует фермент млекопитающих

– ацетилхолинэстеразу. Многие диуретики (мочегонные средства) используются, чтобы контролировать кровяное давление (конкурентные ингибиторы).

Неконкурентные (необратимые) суицидные ингибиторы

Чтобы остановить фермент в целом, химик может сконструировать лекарство, которое необратимо связывает активную зону и блокирует ее постоянно (рис. 64). Самые эффективные необратимые ингибиторы – те, которые могут реагировать с аминокислотами в активной зоне с образованием **ковалентной** связи. Аминокислоты (серин, цистеин), которые имеют нуклеофильные остатки (OH, SH), являются обычными обитателями активных зон ферментов, поскольку и они часто включены в механизм ферментативной реакции.

Возможность блокирования фермента может быть достигнута путем электрофильного дизайна лекарственного препарата, который бы соответствовал активной зоне и взаимодействовал с активными группами зоны.

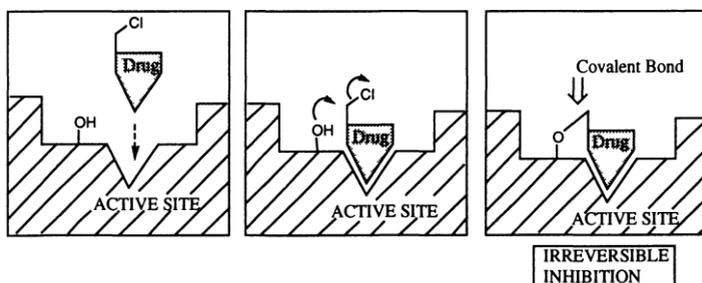


Рис. 64. Необратимое ингибирование

Нервно-паралитические газы – это необратимые ингибиторы ферментов млекопитающих, поэтому высокотоксичные. Пенициллин необратимо ингибирует фермент, упрочняющий клеточную стенку бактерий.

В случае так называемых *суицидных субстратов* речь идет о субстратных аналогах, дополнительно содержащих реакционную группу. Вначале они связываются обратимо, а затем образуют ковалентное соединение с активным центром фермен-

та. Таким образом, ингибирование такими соединениями проявляется как *неконкурентное*. Известным примером такого ингибитора является антибиотик *пенициллин*.

Неконкурентные обратимые (аллостерические) ингибиторы

До сих пор мы обсуждали ингибиторы, которые связываются с активной зоной и предотвращают закрепление естественного субстрата. Мы ожидали, что эти ингибиторы будут иметь своего рода структурное подобие естественному субстрату. Мы также ожидали, что обратимые ингибиторы будут удаляться при увеличении концентрации естественного субстрата.

Однако есть много ингибиторов ферментов, которые не имеют никакого структурного подобия естественному субстрату. Кроме того, увеличение количества естественных субстратов не имеет никакого влияния на ингибирование. Это неконкурентные обратимые ингибиторы.

В данном случае субстрат взаимодействует не с активной зоной фермента, а с областью, находящейся в непосредственной близости от нее, которая образует специфический центр связывания. Ингибирование осуществляется только в том случае, когда в результате такого связывания происходят определенные изменения в третичной структуре активного центра фермента, что в свою очередь препятствует субстрат-ферментному взаимодействию. Неконкурентные аллостерические ингибиторы связываются с другой областью фермента и поэтому не конкурируют за его активный участок (рис. 65).

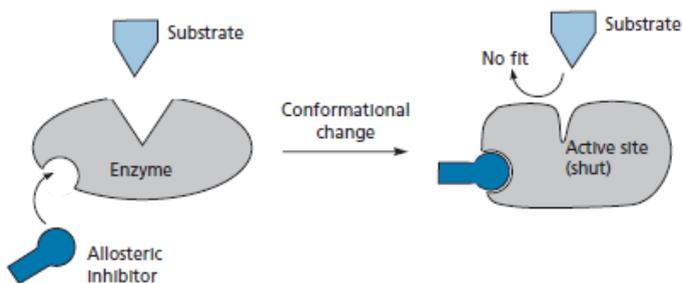


Рис. 65. Неконкурентное обратимое (аллостерическое) ингибирование

Добавление большего количества субстрата не изменяет ситуацию, но это не означает, что ингибирование необратимо. Поскольку ингибитор использует нековалентные связи, чтобы связаться с аллостерической связывающей зоной, в конечном счете он оставит этот участок, когда ему будет удобно.

Но почему в ферменте должен быть этот другой связывающий участок?

Аллостерические связывающие участки важны в контроле за биосинтезом ферментов. Биосинтетическая тропа от субстрата к продукту вовлекает ряд ферментов, чтобы преобразовать исходный субстрат в конечный продукт. В итоге клетка накопит достаточно необходимого вещества и должна будет остановить реакцию. Таким образом, должен быть своего рода контроль за этим процессом. Наиболее общий механизм управления известен как контроль за обратной связью, где конечный продукт управляет своим собственным синтезом. Это возможно, если прекратить действие первого фермента в биохимическом процессе (рис. 66).

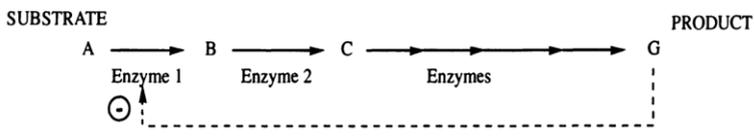


Рис. 66. Контроль фермента

Таким образом, когда в клетке низкая концентрация конечного продукта, первый фермент работает как обычно и не ингибируется. Как только концентрация конечного продукта возрастает, фермент блокируется и скорость синтеза постепенно понижается.

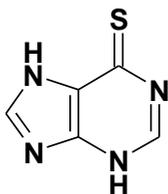
Итак, конечный продукт ингибирует фермент на *аллостерическом* участке, а не в активной зоне. Этому есть два объяснения.

Прежде всего, конечный продукт подвергся многим превращениям и больше никак не «узнается» этой активной зоной. Ввиду этого он должен связываться в другом месте фермента. Во-вторых, его связывание в активной зоне не было бы эффек-

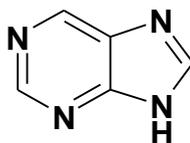
тивным методом обратного контроля, так как дальше он должен был бы конкурировать с исходным веществом. Если бы концентрация последнего возросла, то ингибитор был бы замещен, и обратный контроль потерпел бы неудачу.

Это дает химикам-фармацевтам дополнительный выбор в дизайне ингибитора. Химики могут проектировать не только лекарства, которые основаны на структуре субстрата и связываются непосредственно с активной зоной, но и лекарства, основанные на структуре полного конечного продукта, которые связываются с аллостерическим участком.

Например, препарат 6-меркаптопурин, используемый в лечении лейкемии, является примером аллостерического ингибитора. Он ингибирует первый фермент, вовлеченный в синтез пуринов, и поэтому блокирует синтез пурина. Это в свою очередь блокирует ДНК-синтез:



6-Меркаптопурин



Пуриин

Каталитическая роль ферментов

Ферменты катализируют реакции за счет:

- 1) связывающего взаимодействия;
- 2) кислотного (основного) катализа;
- 3) нуклеофильных групп.

Связывающие взаимодействия

Как упоминалось выше, скорость реакции возрастает, если энергия переходного состояния уменьшается. Это вытекает из связывающих взаимодействий между субстратом и ферментом.

Раньше думали, что субстрат соответствует своей активной зоне так же, как ключ соответствует замку. И фермент, и субстрат выглядели как ригидные структуры с субстратом (ключ), полностью соответствующим активной зоне (замок). Однако такой сценарий не объясняет того, как ферменты могут

катализировать реакцию в диапазоне разных субстратов, т.е. «замок-ключ» не совсем удачная аналогия.

Сейчас предполагают, что субстрат близок к активной зоне, но не полностью ей соответствует. Субстрат входит в активную зону и вынуждает ее изменить форму. Эта теория известна как теория индуцированного соответствия Кошланда.

Важным этапом в изучении механизмов ферментативного катализа были работы американского биохимика Д. Кошланда, предложившего динамическую модель ферментативного катализа, или теорию индуцированного структурного взаимодействия фермента и субстрата. В соответствии с этой теорией субстрат при взаимодействии с активным центром фермента вызывает существенные изменения его конформации, поэтому и происходит точная переориентировка функциональных групп активного центра (рис. 67). Главная причина увеличения скорости реакции состоит в замене маловероятной реакции высокого порядка высокоэффективной реакцией более низкого порядка.

Теория «ключ-замок»



Теория индуцированного взаимодействия

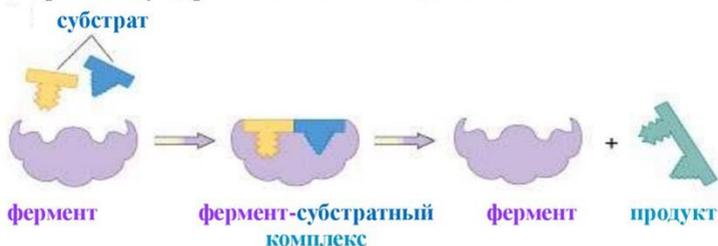


Рис. 67. Связывающие взаимодействия между субстратом и ферментом

Например, такой субстрат, как пировиноградная кислота, мог бы взаимодействовать со своей активной зоной посредством одной водородной связи, одной ионной связи и одной силы Ван-дер-Ваальса. Однако соответствие могло быть неполным, несовершенным, т.е. три связывающих взаимодействия могли бы быть немного длиннее, чтобы быть совершенными. С целью максимизации прочности этих связей фермент должен был изменить свою форму таким образом, чтобы аминокислотные остатки, включенные в связывание, приближались к субстрату.

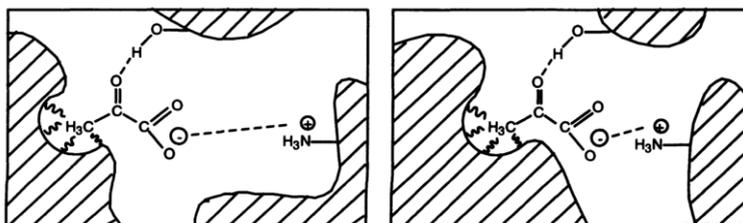


Рис. 68. Пример индуцированного соответствия

Эта теория *индуцированного соответствия* (рис. 68) помогает объяснить, почему ферменты могут катализировать широкий диапазон субстратов. Каждый субстрат переводит активную зону в форму, которая является идеальной для него, и, пока процесс распада комплекса не слишком деформирует активную зону, механизм реакции оказывается возможным и реакция протекает.

В свою очередь, субстрат не является пассивным зрителем процесса изменения формы активной зоны. Как фермент изменяет форму, чтобы максимизировать связывающие взаимодействия, так и субстрат – меняет форму, чтобы зафиксировать субстрат в определенной конформации. К примеру, может происходить поворот связи, причем не обязательно, что при этом будет самая стабильная конформация молекулы, связи могут становиться либо прочнее, либо слабее. Следовательно, процесс изменения формы максимизирует обязательные взаимодействия, которые могут далее заставить субстрат перейти в иде-

альную конформацию для реакции (переходное состояние) и сильно ослабить связи, которые будут разрываться.

После изменения активной зоны субстрат готов к реакции. Связывание зафиксировало субстрат так, чтобы он не мог уклониться от атаки, и одновременно ослабило его связи так, чтобы реакция проходила легче (более низкая энергия активации).

10.1. Кислотный / основной катализ

Обычно кислотный / основной катализ обеспечивается аминокислотой гистидином. Гистидин – слабое основание и может легко находиться в равновесии между своей протонированной формой и свободной основной формой. При этом он может действовать как «банк» протона, т.е. имеет способность принимать и отдавать протоны в механизме реакции. Это важно, поскольку активные зоны часто гидрофобны и имеют низкую концентрацию протонов.



10.2. Нуклеофильные группы

Аминокислоты серин и цистеин – частые составляющие активных зон. Эти аминокислоты имеют нуклеофильные остатки (ОН, SH), которые способны участвовать в механизме реакции. Они реагируют с субстратом, образуя интермедиаты, которые не могли бы образовываться в некатализируемых реакциях. Эти интермедиаты предлагают альтернативный путь реакции – избежать высокоэнергетического переходного состояния и, следовательно, увеличить ее скорость.

Обычно такая спиртовая группа, как в серине, не является хорошим нуклеофилом. Однако, чтобы катализировать реакцию, близко есть остаток гистидина, который является донором-

акцептором необходимого протона. Например, на рис. 69 показан механизм, посредством которого химотрипсин гидролизует пептидные связи. Присутствие нуклеофильного остатка серина означает, что вода на начальных стадиях механизма не требуется. Это важно, поскольку вода – слабый нуклеофил и ей, возможно, трудно проникнуть внутрь гидрофобной активной зоны. Молекула воды должна была бы войти в активную зону и найти карбоксильную группу, прежде чем сможет ее атаковать. С другой стороны, фермент может обеспечить ОН-группу серина, точно расположенную в правильном месте, чтобы реагировать с субстратом. Таким образом, нуклеофил не ищет субстрат – субстрат к нему доставлен.

В конечном счете вода нужна, чтобы гидролизовать ацильную группу, прикрепленную к остатку серина. Однако это более простая стадия, чем гидролиз пептидной связи, поскольку эфиры более реакционноспособные, чем амиды. Более того, гидролиз пептидной связи означает, что одна половина пептида должна покинуть активную зону и оставить место, чтобы ввести молекулу воды.

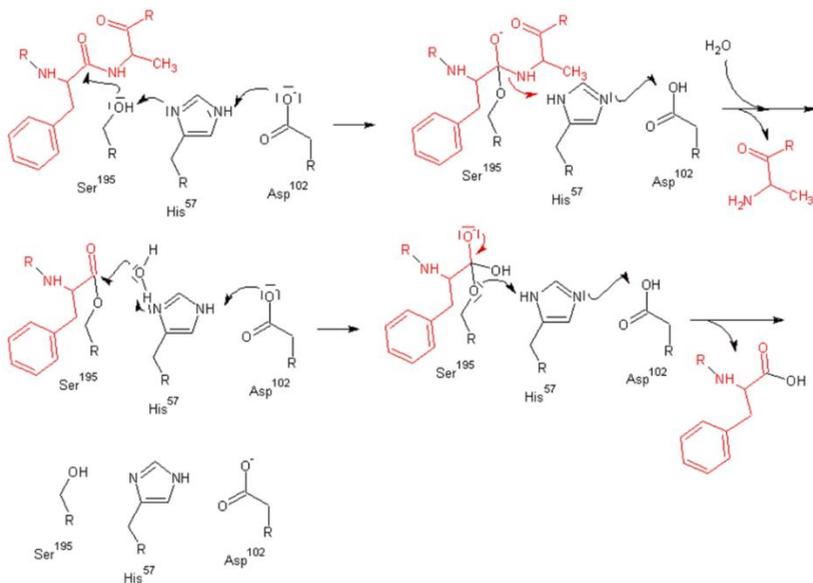


Рис. 69. Гидролиз пептидных связей посредством химотрипсина

Что касается химика-фармацевта, то понимание им механизма может помочь в дизайне многих эффективных ингибиторов ферментов.

Прежде всего, если механизм известен, то можно разработать такие антагонисты, которые посредством нековалентных сил настолько сильно связываются с активной зоной, что являются эффективными необратимыми ингибиторами.

Объясним это следующими доводами. Мы уже увидели, что фермент изменяет форму и длины связей в субстрате таким образом, чтобы конвертировать его в переходное состояние для реакции. Исходя из этого, если ферменту дать соединение, которое уже находится в той самой форме, в какой должно быть вещество в переходном состоянии, то такое вещество идеально для связывающих групп в активной зоне фермента. Если вещество, которое связалось с активной зоной фермента не способно реагировать дальше, то фермент становится ингибированным (понятно, что только до тех пор, пока вещество не снимется с активной зоны по каким-то причинам).

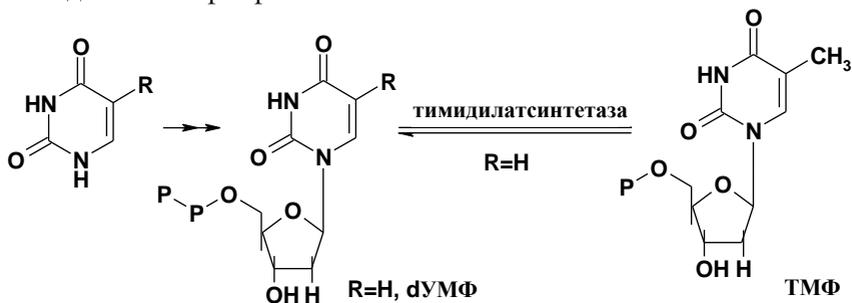
Такие соединения известны как аналоги *переходного состояния*.

Красота тактики в том, что она может быть эффективно использована против ферментативных реакций, включающих два субстрата. Для таких ферментов могли бы быть разработаны ингибиторы, основанные на одном субстрате или на другом, но ни один из них не будет так хорош, как ингибитор, основанный на аналоге переходного состояния.

Один интересный пример ингибитора переходного состояния – лекарство 5-фторурацил, используемое для того, чтобы лечить рак груди и рак кожи. Раковые клетки со свойственным им быстрым метаболизмом особенно чувствительны к отсутствию тимина, поэтому тимидилат-синтетаза оказывается одной из наиболее удачных мишеней для воздействия ингибиторами. Одним из мощных ингибиторов этого фермента является монофосфат 5-фтор-2'-дезоксинуридина. Его ингибирующее действие было обнаружено, когда выяснилось, что 5-фторурацил можно использовать для химиотерапии рака. Действие фторурацила на клетки может быть различным. Он может включаться и в состав РНК, но наиболее важное значение для химиотерапии рака име-

ет, по-видимому, ингибирование тимидилатсинтетазы продуктом его восстановления – 5-фтор-2'-дезоксинуридином.

Мишень – фермент тимидилат синтетазы, которая катализирует превращение 2'-дезоксинуридиловой кислоты в дезокси-тимидилатмонофосфат.

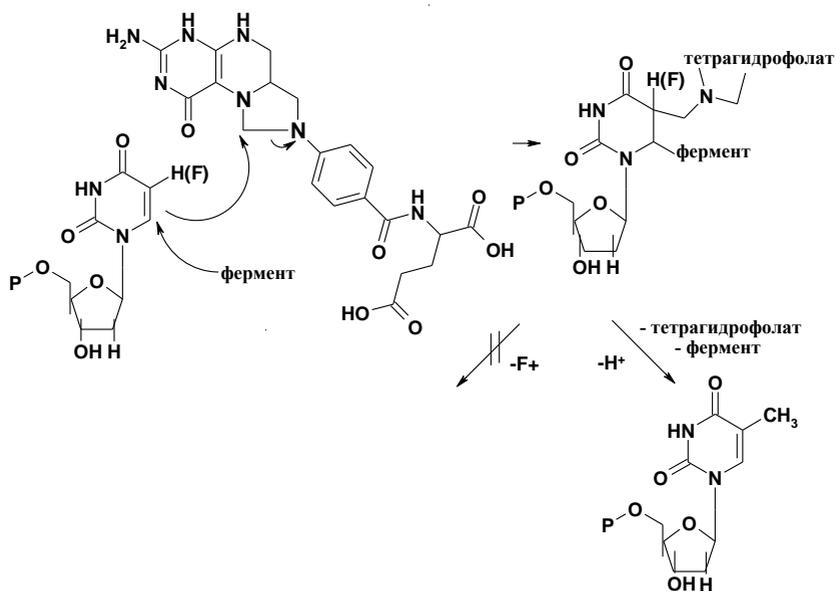


Следует заметить, что тимидилатсинтетаза требует присутствия метилентетрагидрофолата в качестве восстановителя и что важным звеном всего процесса является восстановление дигидрофолата. Сам 5-фторурацил не является аналогом переходного состояния. В организме он превращается во фторированный аналог 2'-дезоксинуридиловой кислоты, которая затем соединяется со вторым субстратом (тетрагидрофолатом), образуя *in situ* аналог переходного состояния. Вплоть до этого момента не происходит ничего необычного и реакция протекает по нормальному механизму. Тетрагидрофолат образует ковалентную связь с урацильным скелетом через метиленовое звено (мостик), которое должно быть перенесено в молекулу урацила в форме метильной группы. На этой стадии требуется миграция протона из 5-го положения. Однако 5-фторурацил имеет в этом положении вместо атома водорода атом фтора. Дальнейшая реакция невозможна, поскольку она бы требовала перевода фтора в положительный ион. Что касается фермента, то ситуация движется от «плохой» к «очень плохой». Мало того, что фермент не может завершить процесс, он не может освободиться от блокирующего его вещества. Как часть механизма скелет урацила ковалентно связан с ферментом. Эта ковалентная связь была бы нормальным образом разрушена, освобождая тиминный продукт, но, поскольку механизм застопорен, это оказывается не-

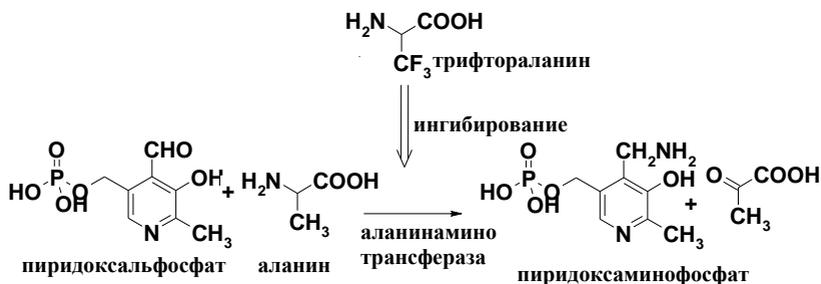
возможным. Синтез тимидина прекращен, что в свою очередь останавливает синтез ДНК, в результате репликация и клеточное деление блокированы.

5-Фторурацил является особенно полезным лекарством для лечения рака кожи, поскольку показывает высокий уровень избирательности раковых клеток над нормальными клетками кожи.

В приведенном примере фермент воспринимал лекарство как нормального партнера по синтезу, а получил неудобного «поселенца», не способного двигаться:



Еще один подобный пример – необратимое ингибирование фермента аланинтрансминазы посредством трифтораланина:



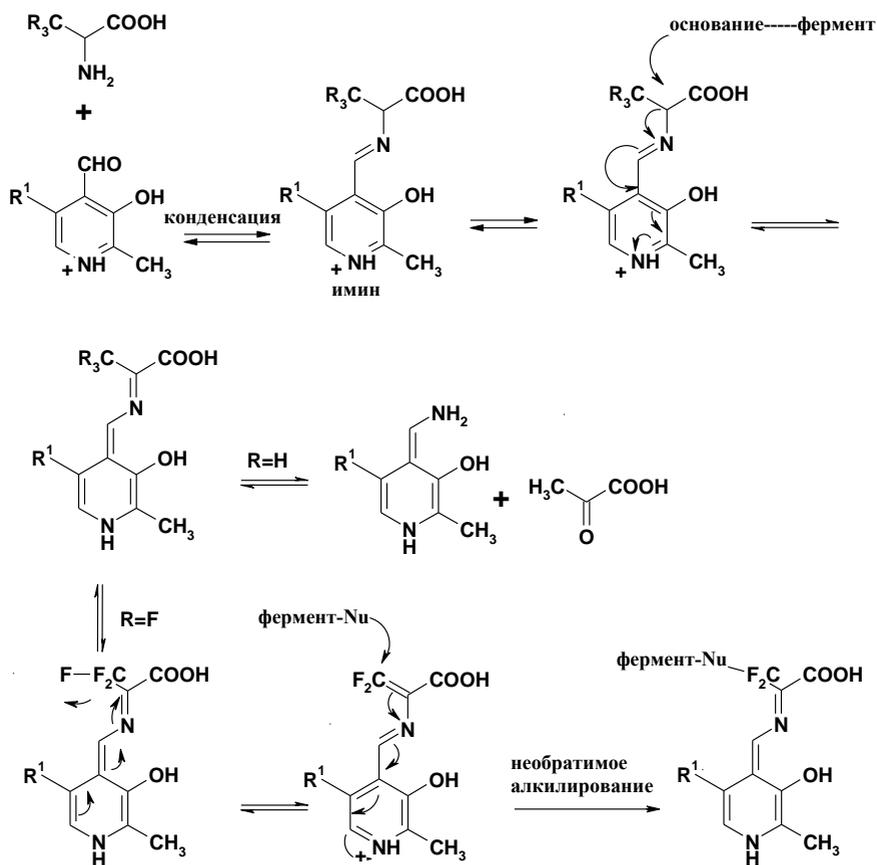
Нормальный механизм для реакции трансминирования включает конденсацию аланина и пиридоксальфосфата с образованием имина. Протон удаляется из имина, образуя дигидропиридиновый интермедиат. Эта реакция катализируется основной аминокислотой, обеспечиваемой ферментом, так же как электроноакцепторные эффекты протонированного пиридинового кольца. Образовавшаяся теперь дигидропиридиновая структура гидролизуется до продуктов реакции.

Трифтораланин содержит три атома фтора, которые очень похожи по размерам на атом водорода в аланине, поэтому молекула может соответствовать активной зоне фермента и занимать место аланина. Механизм реакции протекает как прежде, с образованием дигидропиридинового интермедиата. Однако на этой стадии становится возможным альтернативный механизм (R = F). Атом фтора является электроотрицательным и может действовать как уходящая группа. Когда это происходит, образуется мощный алкилирующий агент, который может необратимо алкилировать любую нуклеофильную группу, присутствующую в активной зоне фермента. Образуется ковалентная связь, и активная зона не способна далее принимать субстрат. Как результат этого – фермент необратимо ингибирован.

Лекарства, которые действуют таким образом, часто называют суицидными субстратами, поскольку фермент самоуничтожается, реагируя с ними. Большим преимуществом такого подхода является то, что алкилирующий агент генерируется в зоне, где он, как предполагается, действует, и поэтому является высокоселективным для фермента. Только данный фермент является мишенью. Если бы алкилирующая группа не была замаскирована в молекуле лекарства, то лекарство алкилировало бы первую нук-

леофильную группу, встретившуюся ему в организме, и оказалось бы малоселективным или не селективным вообще.

К сожалению, до сих пор нет ни одного терапевтического лекарственного средства, разработанного этим способом для работы с ферментами человека. Ингибирование фермента трансаминазы никак не используется в медицине, поскольку фермент является определяющим в биохимии млекопитающих и его ингибирование было бы опасным для человека.



Главное преимущество суицидных субстратов может быть в том, чтобы действовать на специфические ферменты.

Например, есть способы выявления подобных ферментов с использованием радиоактивных меток. Для распознавания ферментов-мишеней субстраты могут быть помечены радиоактивными атомами и после реакции выделены из ткани. Однако положительный результат этого применения еще не достигнут.

10.3. Лекарственное использование ингибиторов фермента

Подход к суицидным субстратам может еще оказаться успешным в медицине, если использовать их против ферментов, внешних возбудителей заболеваний, таких как бактерии, протозойные инфекции и грибы.

Наиболее успешно используются ингибиторы ферментов в войне против инфекций. Если фермент является определяющим для микроорганизма, то, заблокировав его, можно убить клетку или остановить ее рост. Конечно, выбранный фермент не должен существовать в нашем собственном организме. К счастью, есть существенные биохимические различия между бактериальной клеткой и нашей собственной, чтобы разрешить этому подходу работать.

Природа, конечно, далеко впереди нас. Например, грибковый метаболит пенициллин попадает в бактериальные клетки и располагается в активной зоне фермента, который является определяющим в построении стенки бактериальной клетки. Затем он реагирует по обычному механизму и образует стабильные ковалентные связи с ферментом. Фермент никак не может далее принимать нормальный субстрат, образование клеточной стенки прекращается, и клетка умирает.

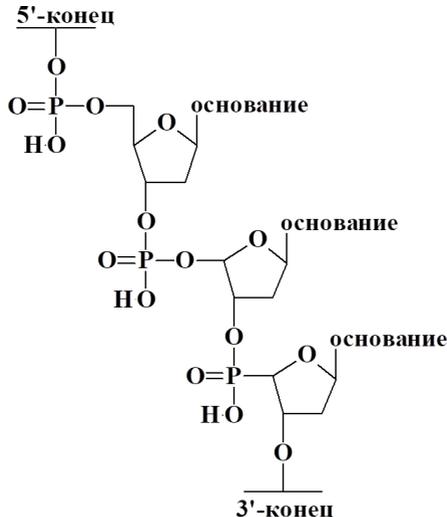
11. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ДЕЙСТВУЮЩИЕ НА ДНК

Мишенями лекарств являются оба типа нуклеиновых кислот – ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) и РНК (рибонуклеиновая кислота). Аналогично белкам ДНК и РНК имеют первичную, вторичную и третичную структуры.

Первичная структура ДНК

Первичная структура ДНК – это последовательность, в которой связаны друг с другом строительные блоки ДНК. В отличие от белков, первичная структура которых строится более чем из 20 аминокислот, первичная структура ДНК формируется из четырех структурных единиц – нуклеозидов.

Каждый нуклеозид содержит углевод дезоксирибозу и одно из четырех возможных оснований – аденин, гуанин (производные пурина) или тимин, цитозин (производные пиримидина). Нуклеозидные строительные блоки объединены через фосфатные группы, которые связывают 5'-гидроксигруппу одного нуклеозидов с 3'-гидроксигруппой следующего нуклеозидов:



Концы полинуклеотидной цепи различаются по структуре: на 5'-конце находится фосфатная группа, на 3'-конце цепи –

свободная ОН-группа. Молекула ДНК имеет, очевидно, простое строение, но содержит в себе тайну генетического кода, и связано это с вторичной структурой ДНК.

Вторичная структура ДНК

Молекула ДНК представляет собой спираль, образованную двумя полинуклеотидными цепями, закрученными относительно друг друга и вокруг общей оси. Полинуклеотидные цепи в двухцепочечной молекуле ДНК расположены антипараллельно. Цепи удерживаются относительно друг друга за счет водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями: аденином и тиминном, гуанином и цитозином. Комплементарные основания лежат в одной плоскости, которая практически перпендикулярна главной оси спирали. Бициклическое пуриновое основание всегда связано с моноциклическим пиримидиновым основанием, что придает двойной спирали постоянный диаметр. Пары оснований расположены друг над другом, и между ними возникают гидрофобные взаимодействия, что также стабилизирует двойную спираль. Полярные углеводно-фосфатные остатки расположены снаружи структуры спирали и могут участвовать в полярных взаимодействиях с водой. Тот факт, что порядок связывания оснований постоянен (А–Т и Г–Ц), свидетельствует о том, что цепи в структуре ДНК комплементарны друг другу. *Комплементарность* в молекулярной биологии – взаимное соответствие, обеспечивающее связь дополняющих друг друга структур (макромолекул, молекул, радикалов) и определяемое их химическими свойствами. Комплементарность возможна, если поверхности молекул имеют комплементарные структуры, так что выступающая группа (или положительный заряд) на одной поверхности соответствует полости (или отрицательному заряду) на другой. Комплементарность цепей нуклеиновых кислот основана на взаимодействии входящих в их состав азотистых оснований. Так, только при расположении аденина (А) в одной цепи против тимина (Т) (или урацила – У) в другой, а гуанина (Г) – против цитозина (Ц) в этих цепях между основаниями возникают водородные связи. Это, по-видимому, единственный и универсальный химический механизм матричного хранения и передачи генетической информации.

Одну цепь можно рассматривать как негативное отображение ее партнера (рис. 70). Двойная спираль имеет основное и минорное углубления, что значимо при действии некоторых антибактериальных препаратов. Молекулы ДНК имеют определенный молекулярный вес, однако в большинстве клеток размеры этих молекул настолько велики, что выделить их в интактном (неповрежденном, нетронутым) виде нелегко. Молекула ДНК среднего размера содержит 150 000 000 нуклеотидных пар и имеет длину 4 см. Если двойная спираль раскручивается, то новая цепь может быть построена на каждой из исходных цепей, которые работают как матрицы для построения новых идентичных двойных спиралей (процесс репликации цепей ДНК).

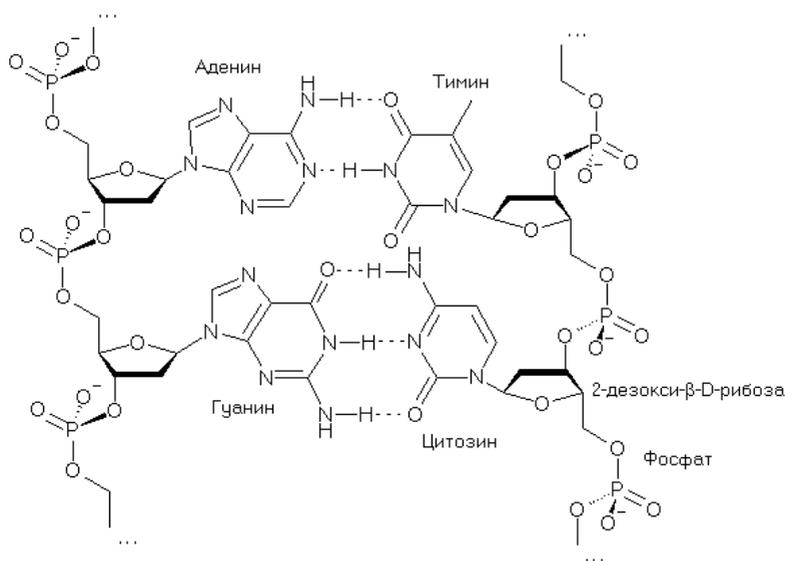


Рис. 70. Строение ДНК

Менее очевиден процесс кодирования белков, содержащих более 20 аминокислот, с помощью ДНК, имеющей четыре кодирующих нуклеотида. Кодирование осуществляется с использованием триплетного кода. Аминокислота кодируется не одним нуклеотидом, а тремя. Существует 64 варианта, в кото-

рых четыре нуклеотида могут быть связаны в триады, и этого более чем достаточно для решения задачи (рис. 71).

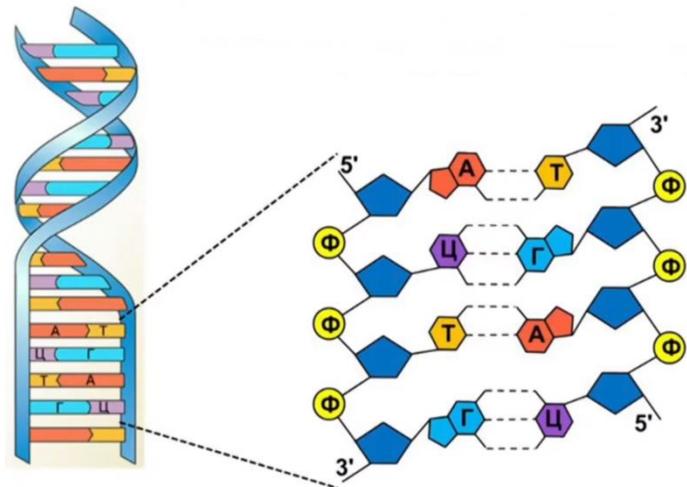


Рис. 71. Вторичная структура ДНК (А – аденин, Ц – цитозин, Г – гуанин, Т – тимин, Ф – остаток фосфорной кислоты)

Третичная структура ДНК

Двойная спираль ДНК способна сворачиваться в 3D- форму, известную как «супернамотка». Именно «супернамотка» является причиной сильных деформаций, возникающих во время репликации ДНК, когда двойная спираль должна раскручиваться.

Лекарственные средства, действующие на ДНК, можно разделить на три основные группы:

- 1) интеркалирующие вещества;
- 2) алкилирующие вещества;
- 3) вещества, разрушающие ДНК.

Поиск соединения-лидера, его модификация, установление механизма действия будут рассмотрены на примере интеркалирующих веществ, поскольку данный пример весьма типичен для медицинской химии.

11.1. *Интеркалирующие агенты*

Среди ряда веществ-ингибиторов расплетения ДНК, останавливающих как ее репликацию (*репликация ДНК* – это процесс синтеза дочерней молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты, который происходит в процессе деления клетки на матрице родительской молекулы ДНК. При этом генетический материал, зашифрованный в ДНК, удваивается и делится между дочерними клетками. Репликацию ДНК осуществляет фермент ДНК-полимераза), так и транскрипцию (*транскрипция* – процесс синтеза РНК с использованием ДНК в качестве матрицы, происходящий во всех живых клетках. Другими словами, это перенос генетической информации с ДНК на РНК), наиболее избирательными являются интеркалирующие агенты. Эти вещества вклиниваются между плоскостями пар азотистых оснований ДНК.

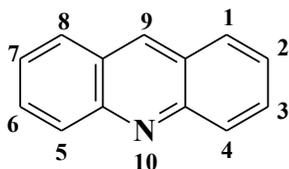
Еще в 1939–1944 гг. чисто внешнее сходство двух формул, наличие тех или иных групп (или циклов) перестали считать основными факторами, определяющими фармакологический эффект и стали уделять значительно больше внимания изменениям физических свойств, вызываемым введением этих групп или циклов.

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, облегчающая взаимодействие вещества с рецептором или препятствующая ему. 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.

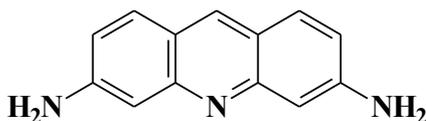
В 1913 г. шотландский патолог К. Браунинг предложил использовать аминокридины в качестве антибактериальных средств. Выяснилось, что один из них, профлавин (3,6-диаминокридин), токсичен по отношению к широкому ряду грамположительных и грамотрицательных бактерий, но безвре-

ден для тканей человеческого организма. Позднее, в 1939 г., было показано, что антибактериальная активность аминоакридинов возрастает при повышении степени их катионной ионизации.

Акридин – это слабое основание ($pK_a = 5,3$), и при pH 7,3 только 1 % молекул существует в виде катиона. Два из пяти возможных изомеров моноамиоакридина, а именно 3- и 9-аминоакридины, – сильные основания, так как их катионы стабилизированы сопряжением, отсутствующим в нейтральной молекуле. В молекулах 2- и 4-аминоакридинов дополнительное сопряжение существовать не может вообще, а в 1-изомере оно проявляется лишь в небольшой степени, так как ортохиноидное расположение связей, необходимое для возникновения сопряжения, энергетически невыгодно:



Акридин

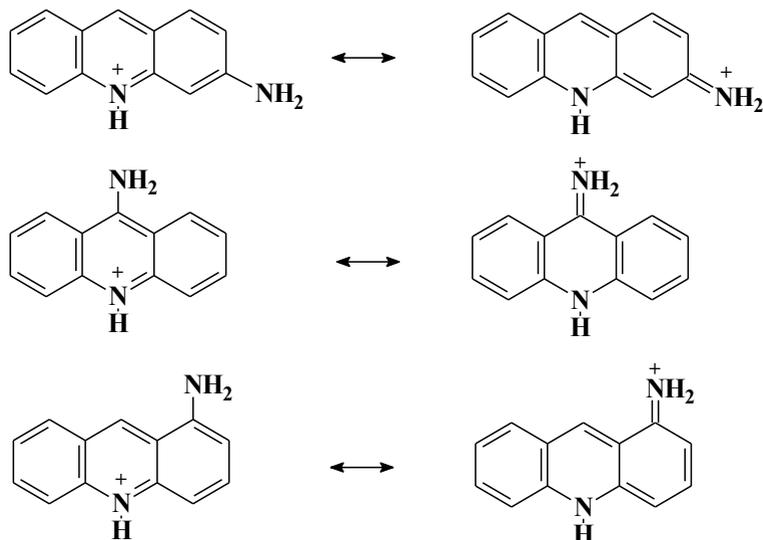


Профлавин

А. Альберт и сотрудники изучили широкий спектр из 102 производных акридина на 22 видах бактерий (аэробных и анаэробных, грамположительных и грамотрицательных) и установили, что если введение в молекулу акридина любого заместителя, электронодонорного или электроноакцепторного, не приводит к снижению концентрации катиона ниже 50 % (в условиях эксперимента), то активность соединений не уменьшается (табл. 4).

Из табл. 4 видно, что два изомера с высокой степенью ионизации обладают сильным антибактериальным действием, а эффективность слабоионизированных аминоакридинов очень незначительна. Такая же корреляция наблюдается и для остальных исследованных соединений в ряду сильно- и слабоионизированных метиламиноакридинов и активность сильноионизированных хлораминоакридинов в сравнении с их слабоионизированными изомерами. Во всех случаях ионизация сопровождается резким повышением активности, как правило в 8–16 раз. Та-

ким образом, в этой серии соединений изменения структуры незначительно изменяют активность, но только в том случае, если они не влияют на ионизацию:



Ионизация, определяющая наличие антибактериального действия производных акридина, должна быть катионной по своему характеру. Вводя кислотные группы в циклы сильноосновного акридина, можно легко получить соединение, представляющее собой цвиттер-ион (*цвиттер-ион* (биполярный ион) (*от нем. Zwitter* – гибрид, гермафродит) – молекула, которая, являясь в целом электронейтральной, в своей структуре имеет части, несущие как отрицательный, так и положительный заряды, локализованные на разных атомах) и, следовательно, уже не катион, как, например, 9-аминоакридин-2-карбоновая кислота (табл. 5). Эта кислота не обладает антибактериальными свойствами, но вновь приобретает их при этерификации, приводящей к образованию катионного соединения. Вводя кислотные группы в цикл слабоосновных производных акридина, можно получить соединение анионного характера, такое как акридин-9-карбоновая кислота (см. табл. 5).

Таблица 4

Зависимость бактериостатического действия производных акридина от ионизации

Производные акридина	Минимальная бактериостатическая концентрация для 48-часовой инкубации при 37 °С в бульоне с 10 % сыворотки при 7,3	Степень ионизации по катионному типу (рН = 7,3, 37 °С)
Акридин	1 : 5000	1
4-Амино-	1 : 5000	<1
2-Амино-	1 : 10 000	2
1-Амино-	1 : 10 000	2
4,5-Диамино-	1 : <5000	<1
2,7-Диамино-	1 : 20 000	4
3-Амино-	1 : 80 000	72
9-Амино-	1 : 160 000	99
(аминакрин)		
3,7-Диамино-	1 : 160 000	76
3,6-Диамино-	1 : 160 000	99
(профлавин)		
2-Амино-9-метил-	1 : 20 000	3
1-Амино-4-метил-	1 : 20 000	1
4-Амино-5-метил-	1 : <5000	<1
2-Амино-6-хлоро-	1 : <5000	<1
3-Амино-9-хлоро-	1 : <5000	11
3-Амино-7-хлоро-	1 : 40 000	20
3-Амино-6-хлоро-	1 : 40 000	24
9-Амино-1-метил-	1 : 160 000	99
9-Амино-2-метил-	1 : 160 000	99
9-Амино-3-метил-	1 : 160 000	99
9-Амино-4-метил-	1 : 320 000	99
9-Амино-1-хлоро-	1 : 160 000	86
9-Амино-2-хлоро-	1 : 160 000	94
9-Амино-3-хлоро-	1 : 160 000	98
9-Амино-4-хлоро-	1 : 80 000	83

Это соединение, его эфир, а также сам акридин (все эти вещества – не катионы) не проявляют сколько-нибудь заметной антибактериальной активности.

Было установлено также, что фактором, определяющим бактериостатическое действие производных акридина при любом рН, является концентрация катиона, а не общее количество вещества. Кроме того, простейшее объяснение механизма действия катионов акридина заключается в том, что они конкурируют с ионами водорода за жизненно важную анионную группу бактерий.

Таблица 5

Зависимость бактериостатического действия производных акридина от степени катионной ионизации

Соединение	Минимальная бактериостатическая концентрация после 48-часовой инкубации при 37 °С (среда: бульон с 10 % сыворотки, рН = 7,3)	Степень ионизации (рН = 7,3; 37 °С)			
		Катион	Анион	Цвиттер-ион	Нейтральная молекула
9-Аминоакридин	1 в : 160 000	99	0	0	0
9-Аминоакридин-2-карбоновая кислота	<5000	0	0,2	99,8	0
Метилловый эфир 9-амино-акридин-2-карбоновой кислоты	160 000	89	0	0	11
Акридин	5000	0,3	0	0	99,7
Акридин-9-карбоновая кислота	<5000	0	99,3	0,7	0

Установлено, что соединения, образованные удалением одного или двух колец из молекулы 9-аминоакридина, не обладают антибактериальной активностью, даже несмотря на то, что их молекулы по-прежнему полностью ионизированы. Это характерно для структурных аналогов 9-аминоакридина-4-аминохинолина и 4-аминопиридина. Отсутствие антибактериальных свойств у последних двух соединений связано с недостаточной величиной плоской поверхности их молекул. Если очертить молекулу (как показано на рис. 72), то полученная площадь составит 0,28 нм² для хинолина и 0,17 нм² для пиридина, тогда как для акридина она равна 0,38 нм²

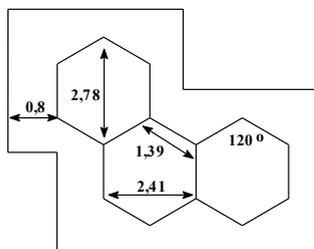
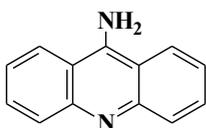
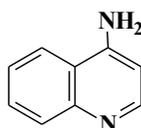


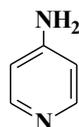
Рис. 72. Минимальный прямоугольный контур, равноудаленный от атомов углерода и азота молекулы на 0,08 нм, или 0,8 Э



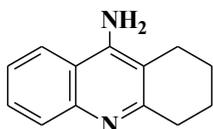
9-Аминоакридин
 $S = 0,38 \text{ нм}^2$
 МБК 1 : 160 000



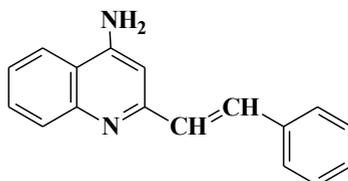
4-Аминохинолин
 $S = 0,28 \text{ нм}^2$
 МБК <1 : 5000



4-Аминопиридин
 $S = 0,17 \text{ нм}^2$
 МБК <1 : 5000



9-Аминотетрагидроакридин
 МБК 1 : 5000



4-Амино-2-стирилхинолин
 МБК 1 : 80 000

Все гетероциклы, о которых идет речь, совершенно плоские, поскольку они представляют собой полностью сопряженные системы, т.е. в молекуле каждая вторая связь – двойная. Однако при гидрировании одного из колец 9-аминоакридина в молекуле образовавшегося 9-аминотетрагидроакридина останется только 0,28 нм² плоской поверхности, так как гидрированные кольца трехмерны. Такое уменьшение плоской поверхности сопровождается почти полной утратой антибактериальной активности.

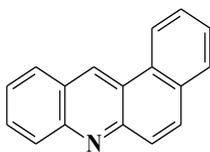
Исследование связи между плоской структурой молекулы и антибактериальной активностью позволило сделать выводы о возможности создания высокоэффективных антибактериальных средств путем введения в молекулы хинолина и пиридина заместителей, увеличивающих площадь их плоской поверхности. По данным рентгеноструктурного анализа стильбен имеет совершенно плоскую молекулу, поэтому возникло предположение, что введение стирильной группы в 4-аминохинолин с образованием 4-амино-2-стирилхинолина может привести к получению чрезвычайно активного антибактериального препарата. Это было подтверждено экспериментально. Введение двух стирильных групп в молекулу 4-аминопиридина также привело к хорошим результатам.

Антибактериальная активность присуща другим родственным акридину структурам с развитой плоской поверхностью (бензоакридины, фенантридины, бензохинолины) и при условии катионной ионизации (табл. 6).

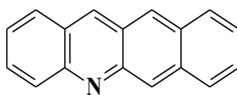
Таблица 6

Зависимость бактериостатического действия от степени ионизации и площади плоской поверхности молекулы в ряду катионных лекарственных средств

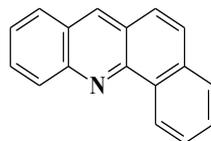
Соединение	Минимальная бактериостатическая концентрация для <i>Streptococcus pyogenes</i> после 48-часовой инкубации при 37 °С (среда: бульон с 10 % сыворотки, рН = 7,3)	Степень ионизации (рН = 7,3, 37 °С), %	Площадь плоской поверхности, нм ²
Акридин	1в : 5000	1	0,385
9-Аминоакридин	160 000	100	0,385
Бензо(с)акридин	<5000	1	0,487
11-Аминобензо(с)акридин	160 000	97	0,487
Бензо(б)акридин	10 000	<1	0,489
11-Аминобензо(б)акридин	320 000	100	0,489
Бензо(а)акридин	<5000	<1	0,487
11-Аминобензо(а)акридин	160 000	98	0,487
Фенантридин	10 000	<1	0,383
6-Аминофенантридин	40 000	50	0,383
3,6,8-Триаминофенантридин	80 000	98	0,383
Бензо(ф)хинолин	5000	<1	0,383
4-Аминобензо(ф)хинолин	20 000	98	0,383
Бензо(г)хинолин	10 000	<1	0,383
4-Аминобензо(г)хинолин	40 000	100	0,383
Бензо(н)хинолин	<5000	<1	0,383
4-Аминобензо(н)хинолин	80 000	96	0,383
Хинолин	<5000	<1	0,279
4-Аминохинолин	<5000	98	0,279
4-Амино-2-стирилхинолин	80 000	99	0,499
Пиридин	<5000	<1	0,174
4-Аминопиридин	<5000	98	0,174



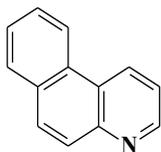
Бензо[а]акридин



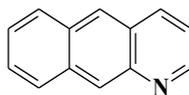
Бензо[б]акридин



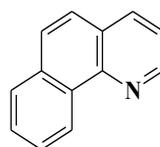
Бензо[с]акридин



Бензо[ф]хинолин



Бензо[г]хинолин



Бензо[х]хинолин

Данные о катионной ионизации и плоскостном строении акридинов позволили интерпретировать экспериментальный материал по установлению механизма связывания акридинов и их аналогов с нуклеиновыми кислотами. В экспериментах *in vitro* было продемонстрировано, что связывание профлавина с ДНК идет по двум механизмам: во-первых, по реакции первого порядка, в которой равновесие достигается при соотношении четыре или пять нуклеотидов на одну молекулу профлавина, и, во-вторых, по более медленной реакции высокого порядка, в которой одна молекула профлавина связывается с одной молекулой нуклеотида. Второй процесс заключается в неупорядоченной адсорбции дополнительных молекул акридина на внешней стороне спирали ДНК.

В 1961 г. Л. Лерман предположил, что молекулы профлавина более прочно присоединяются к ДНК благодаря интеркаляции между двумя слоями пар азотистых оснований, при этом первичные аминогруппы связываются ионной связью с двумя остатками фосфорной кислоты в спирали Уотсона – Крика, а плоский скелет акридинового цикла удерживается на молекулах пурина и пиримидина ван-дер-ваальсовыми силами.

На рис. 73 представлена эта структура (вид сбоку). Необходимость большой плоскости поверхности и высокой степени ионизации молекул, обладающих антибактериальным действием, объясняется образованием этой структуры.

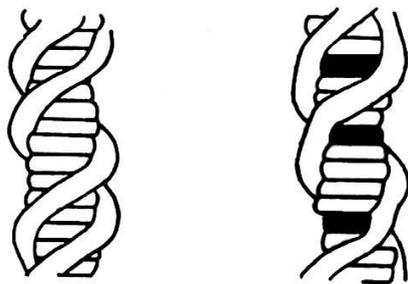


Рис. 73. Спираль нормальной ДНК (слева), спираль ДНК с включениями интеркалирующего вещества (справа)

По данным рентгеноструктурного анализа слои азотистых оснований ДНК обычно связаны между собой сверху и снизу ван-дер-ваальсовыми силами. Расстояние между центрами атомов соседних пар оснований в цепи составляет 0,336 нм. Это означает, что молекулы аминокридинов, имеющие точно такую же толщину, что и пуриновые, и пиримидиновые основания, могут проникать в оставшиеся 0,336 нм (от общего расстояния 0,672 нм). Это пространство может образоваться за счет небольшого раскручивания двойной спирали (угол поворота варьируется для каждого вещества).

Л. Лерман пришел к теории интеркаляции на основании следующих данных. При взаимодействии профлавина с ДНК происходит трехкратное увеличение вязкости. Это объясняли тем, что внедряющиеся молекулы не только вытягивают спираль, но и делают ее жесткой. Было установлено, что комплекс ДНК–профлавин имеет более низкий коэффициент седиментации, чем свободная ДНК. Это происходит за счет потери массы на единицу длины (ОММ профлавина составляет менее половины массы равного объема ДНК). Было также обнаружено, что

нити, вытягиваемые из комплекса, дают значительно более простые рентгенограммы, чем получаемые для чистой ДНК. Между соседними слоями расстояние 0,34 нм, но каждая молекула ДНК теперь имеет более плотную упаковку, а следовательно, и меньший диаметр, чем молекула чистой ДНК. В 1963 г. Л. Лерман показал, что соотношение значений интенсивности флуоресценции движущегося и неподвижного растворов согласуется с представлением о перпендикулярном расположении молекул акридина по отношению к оси спирали. Затем он обнаружил резкое падение скорости диазотирования первичных аминогрупп профлавина в присутствии ДНК. Это означало, что ДНК защищает аминогруппы от действия азотистой кислоты. Было замечено, что для денатурации ДНК после образования комплекса с 9-аминоакридином требуется более высокая температура.

Теория интеркаляции была подтверждена данными, полученными другими методами. Так, радиоавтография ДНК (содержащих [³H]тимин) проводилась до и после погружения в разбавленный раствор профлавина. При этом было показано, что аминоакридин удлиняет молекулу ДНК от 45 до 75 мкм. Столь же убедителен был и тот факт, что благодаря интеркаляции профлавина температура плавления ДНК повышалась на 20 °С, а при «расплавлении» комплекса происходило внезапное выделение большей части связанного профлавина (т.е. нити двойной спирали разделялись).

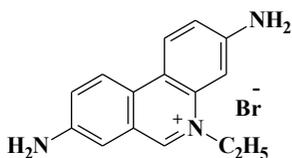
Прямое доказательство правильности теории интеркаляции было получено при рентгеноструктурном изучении комплекса профлавин–ДНК, показавшем, что молекула аминоакридина располагается параллельно парам оснований. Исследование растворов комплексов пяти моноаминоакридинов с ДНК методами линейного и кругового дихроизма подтвердило, что катионы акридина лежат в плоскостях, параллельных тем, в которых находятся пары оснований. И наконец, было обнаружено, что свободная энергия связывания аминоакридинов с ДНК близка энергии, характерной для процессов интеркаляции, но слишком высока для любого другого вида связывания на внешней стороне цепей ДНК.

С точки зрения электростатических взаимодействий область ДНК, доступная для интеркаляции, несет высокий отрицательный заряд, образующийся не только за счет фосфат-анионов, пуриновых и пиримидиновых оснований (за исключением аденина), но и за счет частичных отрицательных зарядов атомов кислорода дезоксирибозы. Именно в это отрицательно заряженное пространство и втягиваются катионы лекарственного вещества, почти полностью нейтрализуя избыточный отрицательный заряд. Последующее образование ван-дер-ваальсовых связей с основаниями ограничивает дальнейшее продвижение молекулы и обеспечивает относительную устойчивость комплекса. Согласно расчетам, средняя площадь пары оснований в спирали ДНК или РНК составляет около $0,5 \text{ нм}^2$, что превышает площадь молекулы акридина ($0,385 \text{ нм}^2$), рассчитанную методом, показанным на рис. 72. Однако в любой одноцепочечной модели небольшая часть каждой молекулы акридина будет выпячиваться наружу. Липофильные аналоги, такие как акридиновый оранжевый (3,6-бисдиметиламиноакридин) не только интеркалируют, но и прочно прикрепляются к внешней стороне ДНК.

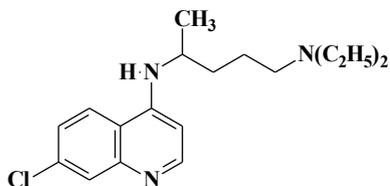
Вскоре после признания концепции интеркаляции очень многим лекарственным веществам самых разных типов стали «приписывать» именно этот механизм действия. Для проверки подобных утверждений был введен специальный тест на интеркаляцию, показывающий, вызывает ли исследуемое вещество локальное раскручивание двойной спирали суперспирализованной кольцевой ДНК, например ДНК колифага. При первичном добавлении аминоакридина количество правозакрученных суперспиралей равномерно уменьшается; при достижении критического соотношения добавленных молекул суперспирали исчезают и ДНК превращается в раскрученное открытое кольцо, имеющее благодаря интеркаляции большой диаметр. По мере дальнейшего добавления лекарственного вещества нарастание напряжений в кольце ДНК снова приводит к появлению суперспиралей, но теперь уже левозакрученных. Поскольку суперспирали более компактны, чем раскрытые кольца, они быстрее осаждаются, что позволяет судить о ходе процесса по изменению коэффициента седиментации, проходящего через минимум.

Применение этого метода позволило установить, что механизм интеркаляции характерен для некоторых аминофенантридинов, включая этидий, для антималярийного препарата хингамина, трех карциностатических антибиотиков: ногаломицина, даунорубицина и актиномицина D.

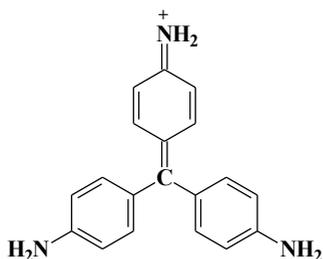
Парафуксин, краситель трифенилметанового ряда, интеркалирует в ДНК, однако не так плотно, как профлавин. Антибиотик эхиномицин содержит полипептидную цепь, с которой связаны два хиноксалиновых цикла, далеко отстоящие друг от друга. Эти циклы одновременно интеркалируют в разные участки ДНК. Вследствие этого происходит раскручивание, и удлинение спирали в два раза превышает то, которое вызывается действием аминоакридинов.



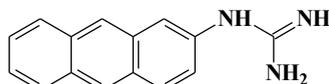
Этидий



Хингамин



Парафуксин



2-Антрилгуанидин

Аминоакридины и соединения с механизмом действия, рассмотренным выше, обладают высокой избирательностью действия по отношению к бактериям и практически не действуют на млекопитающих.

Доказано, что живые клетки млекопитающих и мозга тоже практически не повреждаются при обработке аминоакридинами. Аминоакридины способны накапливаться в нуклеиновых кисло-

тах, содержащихся в живых клетках позвоночных, не причиняя им никакого вреда. Было обнаружено, что при этом ядерная и цитоплазматическая РНК флуоресцирует огненно-красным цветом, а ядерная ДНК – зеленым (в поле флуоресцентного микроскопа). Эти красители не повреждают даже чувствительные половые клетки и, следовательно, не влияют на процессы размножения. Было получено наглядное доказательство того, что нуклеиновые кислоты способны избирательно накапливать аминокридины в живых клетках.

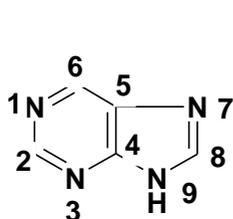
Способность к поглощению и концентрированию аминокридинов в ядре была показана на клетках легких, сердца, печени, селезенки, языка, почек и тонкого кишечника. Тот факт, что белки клеток не способны накапливать аминокридины, не вызывает удивления, так как известно, что при проведении экспериментов *in vitro* белок, содержащийся в сыворотке, не влияет на антибактериальное действие этих соединений. Нуклеиновые кислоты, напротив, эффективно ингибируют бактериостатическое действие профлавина. Максимальное количество моноаминокридина, которое может связать растворенная ДНК, варьируется в соответствии с изменением антибактериальной активности в ряду 9- > 3- > 1- > 2- > 4-NH₂-замещенных акридинов. Два факта указывают на то, что местом действия аминокридинов является внешняя поверхность плазматической мембраны бактерии. Во-первых, антибактериальная активность этих соединений не снижается при повышении степени ионизации от 70 до 100 %, несмотря на то, что при этом исчезают нейтральные молекулы, способные легче катиона проникать через мембрану. Во-вторых, при увеличении липофильности аминокридинов происходит резкое уменьшение их антибактериального действия. В бактериях большая часть ДНК клетки содержится в единственной кольцеобразной хромосоме, присоединенной к цитоплазматической мембране в одной точке.

Таким образом, подробное изучение акридина и его производных, а также аналогов по действию на микроорганизмы, привело к ряду открытий, позволило ответить на целый комплекс вопросов. Было установлено, что бактериостатическое действие в ряду акридинов обусловлено их взаимодействием с нуклеиновыми кислотами; неперенными условиями проявления актив-

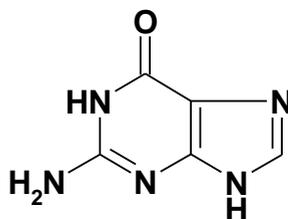
ности являются катионная ионизация и плоскостное строение молекулы; механизм действия веществ реализуется в результате их интеркаляции в ДНК; соединения избирательно токсичны и губительно действуют на микроорганизмы, оставаясь сравнительно безвредными по отношению к хозяину.

11.2. Алкилирующие агенты

Алкилирующие соединения получили свое название в связи с их способностью образовывать ковалентные связи своих алкильных радикалов с гетероциклическими атомами пуринов и пиримидинов и особенно азотом гуанина в положении 7.



Пурип



6-Окси-2-аминопурин

Алкилирование молекул ДНК, образование сшивок и разрывов приводит к нарушениям ее матричных функций в процессе репликации и транскрипции и в конечном итоге к гибели опухолевых клеток. Все алкилирующие средства являются циклонеспецифичными, т.е. способны повреждать опухолевые клетки в различные фазы их жизненного цикла. Особенно выраженным повреждающим действием они обладают по отношению к быстро делящимся клеткам.

Алкилирующие агенты – чрезвычайно электрофильные соединения, которые будут реагировать с нуклеофилами с образованием ковалентных связей. В ДНК есть несколько нуклеофильных групп и, в частности, 7 азот в гуанине. Лекарства с двумя такими алкилирующими группами могли бы реагировать с гуанином на каждой цепи и сшивать цепи таким образом, чтобы они не могли раскрутиться во время репликации или транскрипции.

Альтернативно препарат может связать две группы гуанина на той же самой цепи таким образом, что прикрепится к стороне спирали ДНК. Такое прикрепление замаскировало бы ту часть ДНК и блокировало бы доступ к необходимым ферментам для функции ДНК.

Из-за алкилированных единиц гуанина также возможно неправильное кодирование. Гуаниновое основание обычно существует как кето-таутомер в паре с цитозином. После того, как произошло алкилирование, гуанин предпочитает енольную форму и является более подходящей парой для тимина. Такое неправильное кодирование в конечном счете приводит к изменению аминокислотной последовательности белков и ферментов, которое в свою очередь приводит к разрушению структуры и функции белка.

Поскольку алкилирующие агенты являются очень реакционноспособными, они будут реагировать с любыми другими нуклеофилами и, таким образом, не являются очень селективными в своем действии. Они будут алкилировать белки и другие макромолекулы так же, как ДНК. Однако алкилирующие лекарства полезны при лечении рака. Опухолевые клетки часто делятся более быстро, чем нормальные, поэтому нарушение функции ДНК затронет их более сильно.

Азотистый иприт (хлорметин) – первый алкилирующий агент, который был использован в 1942 г. (рис. 74).

Атом азота в состоянии внутримолекулярно замещать хлорид-ион с образованием высокоэлектрофильного азиридин-иона. Затем может иметь место алкилирование ДНК. Поскольку процесс может быть повторен, произойдет сшивание между цепями.

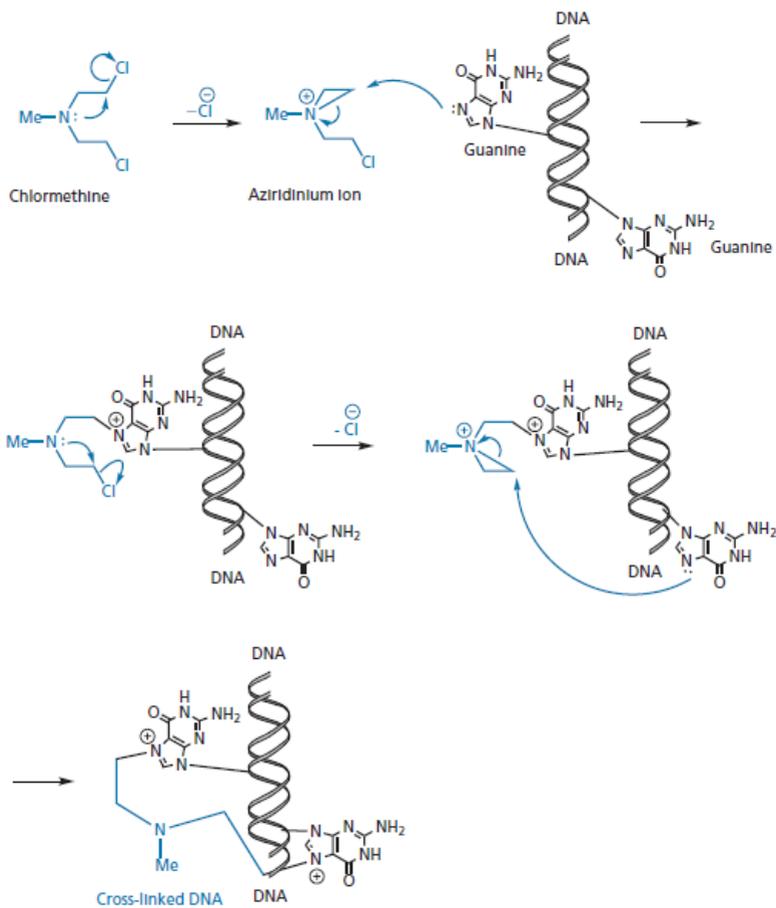
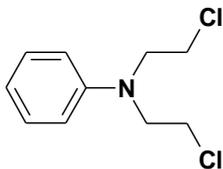


Рис. 74. Алкилирование ДНК хлорметином

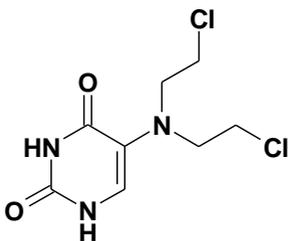
Неселективные реакции, упомянутые выше, могут быть сокращены, при этом реакционная способность алкилирующего агента уменьшится. Например, такой эффект имеет замещение метильной группы при атоме азота на ароматическое кольцо:



11.3. Метод сокращения активности алкилирующего агента

Неподеленная пара азота вступает в сопряжение с кольцом и меньше склонна к замещению хлорид-иона. В результате этого промежуточный азиридин-ион образуется труднее, и с ним будут реагировать только сильные нуклеофилы, такие как гуанин.

Другой подход, который использовался, чтобы направить эти алкилирующие агенты более определенно в ДНК, состоял в том, чтобы соединить строительный блок нуклеиновой кислоты с молекулой. Например, иприт урацила содержит одно из оснований нуклеиновой кислоты:

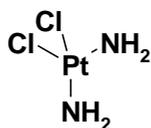


11.4. Метод уменьшения активности алкилирующего агента

Этот препарат успешно использовался в лечении хронической лимфатической лейкемии и имеет определенную избирательность по отношению к опухолевым клеткам по сравнению с нормальными ячейками. Опухолевые клетки делятся быстрее, чем нормальные. В результате синтез нуклеиновых кислот идет быстрее, и опухолевые клетки «испытывают голод» в строи-

тельных блоках нуклеиновых кислот. Ввиду этого они берут больше строительных блоков, чем необходимо в обычных условиях, и любой цитотоксический препарат, который подражает стандартным блокам. К сожалению, этот подход пока не достиг высокого уровня селективности, желательного для эффективного уничтожения клеток опухоли.

Цисплатин (цис-диамминдихлорплатина) – противоопухолевое (цитостатическое, иммунодепрессивное) средство алкилирующего типа с широким спектром активности, избирательно и преимущественно подавляющее синтез ДНК, содержит платину. Механизм действия цисплатина подобен действию алкилирующих препаратов:



Цисплатин

Его открытие было случайным. Он появился при выполнении исследований по изучению эффектов воздействия электрического тока на рост бактерий.

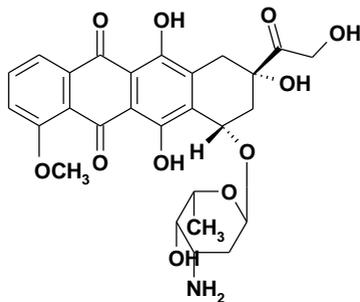
Во время этих экспериментов обнаружилось, что бактериальное клеточное деление было ингибированным. Дальнейшее исследование привело к открытию, что продукт электролиза с платиновых электродов отвечал за ингибирование микроорганизмов. И агент был в конечном счете идентифицирован как диамминдихлорид платины, известный как цисплатин.

Цисплатин бифункционально алкилирует нити ДНК (связывается с ДНК клеток в областях, содержащих несколько единиц гуанидина, с образованием внутри- и межспиральных сшивок, которые изменяют структуру ДНК), угнетает биосинтез нуклеиновых кислот. Блокирование нитей ДНК сохраняется в течение нескольких дней после введения цисплатина. Способность цисплатина вызывать регрессию первичных опухолей и метастазов отчасти обусловлена и влиянием на иммунную систему организма. При длительном применении возможно прояв-

ление отдаленного эффекта – развитие вторичных злокачественных опухолей (включая острый лейкоз).

11.5. Лекарства, действующие путем обрезания цепи, разрушения ДНК

Доксорубин – один из антрациклиновых антибиотиков, цитостатический препарат, широко используется для лечения карциномы и саркомы. В присутствии доксорубина у природной ДНК повышается температура плавления и вязкость, уменьшается константа седиментации. Это указывает на его принадлежность к интерколяторам. Высокоосновная аминогруппа в углеводородной части молекулы доксорубина образует ионную связь с фосфатной группой ДНК, а плоский антрахиноновый цикл вклинивается между слоями оснований. Ингибирует ДНК-зависимую РНК- и ДНК-полимеразу. Кристаллографически установлено, что углеводородная часть молекулы располагается в малой бороздке двойной спирали, метоксигруппа оказывается в большой бороздке, а гидроксильная группа в положении 9 антрациклиновой системы образует водородную связь с ближайшим гуанином.



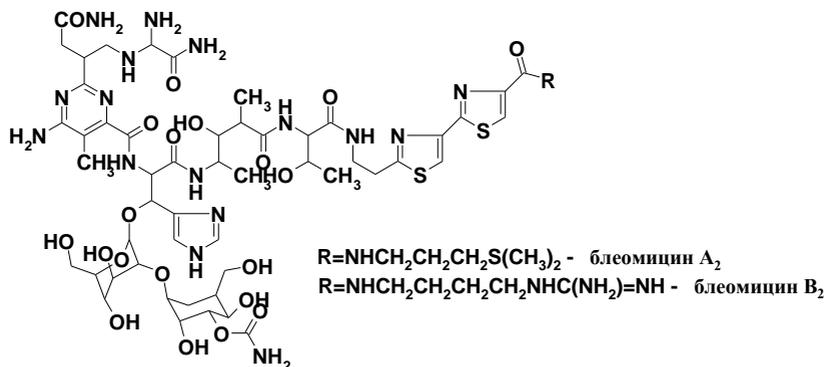
Доксорубин

Блеомицины – семейство антибиотиков, выделенных в Японии из культуры *Streptomyces verticillus*.

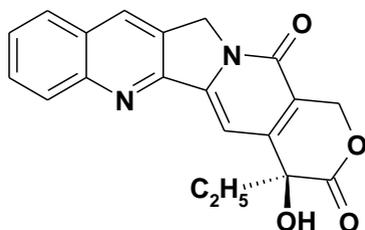
Блеомицин – большой гликопротеин, который оказывается способным обрезать цепи ДНК и затем не давать ферменту ДНК-лигазе восстанавливать повреждение.

Структура молекулы блеомицина на первый взгляд очень сложна. Однако при ее рассмотрении становится понятным, что активность блеомицина определяется наличием в молекуле двух областей: интеркалирующей (справа на формуле) и хелатирующе-окисляющей (слева). Так же как и молекулы аминокридинов, молекула блеомицина за счет своей высокоосновной группы (сульфониевой или гуанидиниевой) связывается с фосфатным анионом ДНК. При сближении двух молекул плоский би-тиазолиловый фрагмент блеомицина проскальзывает между парами оснований ДНК. Интеркаляция приводит к тесному соединению молекул, что обеспечивает активность второй части молекулы.

Предполагается, что далее блеомицин действует посредством отделения атомов водорода от ДНК. Образующиеся радикалы реагируют с кислородом, создавая пероксисоединения, которые затем фрагментируются. Лекарство полезно против некоторых типов рака кожи:



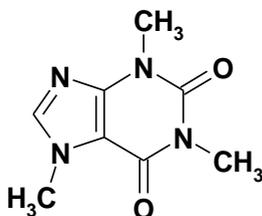
Камптотецин, алкалоид из тибетского кустарника *Camptotheca acuminata*, разрезает ДНК таким образом, что она может быть сшита клеточными лигазами. Молекула содержит пять конденсированных циклов, активность определяется наличием пиридинового лактона:



Камптотецин

Камптотецин и его аналоги проявляют антиопухолевую активность по отношению к раку толстой кишки, лейкемии.

Кофеин – алкалоид, содержащийся в таких растениях, как кофейное дерево, чай (кофеин, содержащийся в чае или экстрагированный из него, иногда называют теином), мате (кофеин, содержащийся в мате или экстрагированный из него, иногда называют матеином), гуарана, кола и в некоторых других, производится также синтетически:



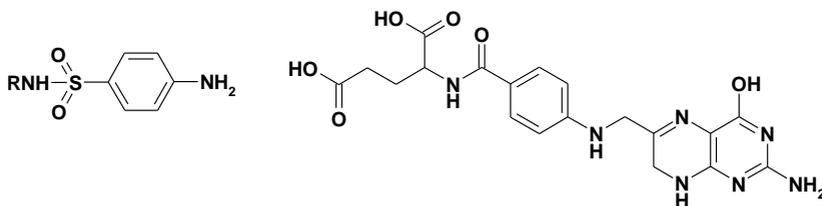
Кофеин

Кофеин увеличивает скорость спонтанного разрушения ДНК *E. Coli* (кишечная палочка) и является для нее сильным мутагеном, 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.

11.6. Вещества, ингибирующие начальные стадии синтеза ДНК

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

Все применяемые в химиотерапии сульфаниламиды, от простого стрептоцида до его сложных гетероциклических производных, конкурентно ингибируют дигидрофолатсинтетазу, встраивающую *p*-аминобензойную кислоту в молекулу дигидрофолиевой кислоты благодаря сходству стерических и электронных свойств ПАБ и сульфаниламидов. 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 из пищи. Дигидрофолиевая 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

Дигидрофолиевая кислота

Второй тип лекарственных веществ, вмешивающихся в синтез ДНК, – ингибиторы дигидрофолатгидрогеназы. Этот фермент восстанавливает дигидрофолиевую кислоту до 5, 6, 7, 8-тетрагидрофолиевой кислоты, превращающейся в одну стадию в кофермент для синтеза тимина и пуринов. 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 (2,4-диамино-6-этил-5-(*n*-хлорфенил)пиримидин), широко используемого для профилактики малярии. Наличие липофильных групп обеспечивает проникновение вещества в ткани и в паразита и увеличивает степень связывания его с ферментом за счет ван-дер-ваальсовых сил.



12. ОПИУМНЫЕ АНАЛЬГЕТИКИ

Теперь мы подробно рассмотрим одну из самых старых областей в лекарственной химии, ту, где истинный успех оказался иллюзорным, – поиск безопасного, орально активного и не вызывающего зависимость анальгетика, основанного на опиатной структуре.

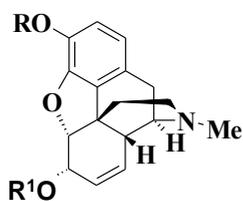
Важно понимать, что опиаты – не единственные соединения, которые используются для облегчения боли, есть некоторые другие классы соединений, которые борются с болью. Эти соединения, однако, действуют по механизмам, отличным от тех, по которым действуют опиаты, и поэтому облегчают другой более острый тип боли. Опиаты оказались идеальными для лечения «глубокой» хронической боли и работают в ЦНС.

Термин «опиумные алкалоиды» использовался, чтобы охватить все наркотические анальгетики, будь то синтетические соединения, полусинтетические или выделенные из растительного материала. Чтобы быть точными, мы должны реально использовать этот термин для тех природных соединений, которые выделены из опия – вязкого экстракта, полученного из мака

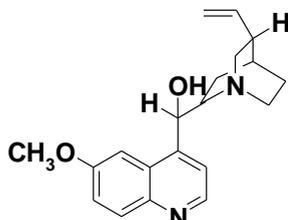
(*Papaversomniferum*). Термин «алкалоид» относится к природному продукту, который содержит атом азота и обладает основными свойствами. На самом деле существует несколько тысяч алкалоидов, которые выделены из различных растительных источников и идентифицированы. Эти соединения обеспечивают разнообразную «библиотеку» биологически активных соединений, которые могут быть использованы как lead-compounds во многих областях лекарственной химии. Однако в данный момент нас интересуют только алкалоиды, выделенные из опиума.

Наркотические анальгетики имеют более чем 5000-летнюю историю применения в медицине. Использование опиума было описано в Китае более 2000 лет назад и было перед этим известно в Месопотамии. Больше столетия сырой экстракт, полученный из маков, широко использовался как седативное средство. Тинктура опиума, названная ладаном (*laudanum*), была введена в Англии и считалась необходимой в медицине. Интересно, что соединение, известное своими успокаивающими эффектами, привело по крайней мере к одной войне. В XIX в. китайские власти стали так тревожиться о свойствах опиума, вызывающих зависимость, что пытались запретить все его производство. Это противоречило интересам британских торговцев, имеющих дело с опиумом, и в результате британцы послали канонерки, чтобы изменить решение китайцев.

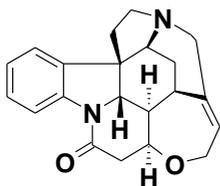
Опиум содержит сложную смесь почти 25 алкалоидов. Основной алкалоид в смеси, отвечающий за анальгетическую активность, – это морфин, названный в честь римского бога сна Морфея. Хотя чистый морфин был выделен немецким химиком в 1803 г., только в 1833 г. химикам из Macfarlane&Co (теперь Macfarlane-Smith) в Эдинбурге удалось выделить и очистить его в коммерческом масштабе. Хотя функциональные группы морфина были установлены к 1881 г., потребовалось гораздо больше времени, чтобы установить структуру морфина, и это случилось только в 1925 г., когда сэр Роберт Робинсон решил эту загадку. Прошло еще 27 лет, прежде чем в 1952 г. был осуществлен полный синтез морфина.



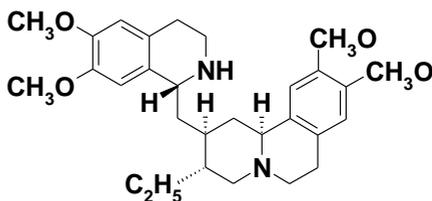
R=R¹=H- морфин
 R=CH₃, R¹=H- кодеин
 R=R¹=CH₃COO- героин



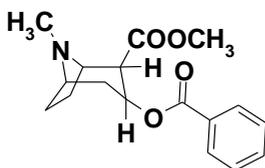
Хинин



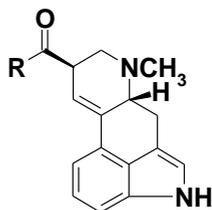
Стрихнин



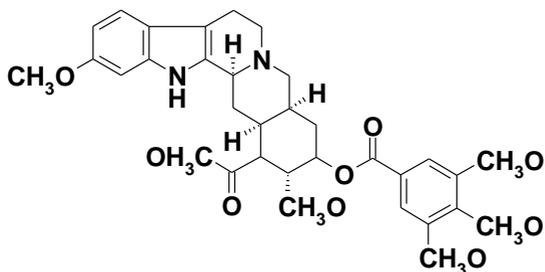
Эметин



Кокаин



R = OH-лизиргиновая кислота
 R= N(C₂H₅)₂ LSD



Резерпин

Однако задолго до того, как структура морфина была установлена, его анальгетические свойства были распознаны и применены в медицине. Поскольку морфин был в чистой форме,

он действовал как гораздо более эффективный анальгетик, чем исходный опиум. Но имелись и побочные эффекты – увеличивались риски зависимости, переносимости и угнетения дыхания.

Все лекарства имеют те или иные побочные эффекты, обычно из-за их недостаточно специфичного взаимодействия с нужными рецепторами. Это одна из причин для разработки лекарства – попытаться удалить побочные эффекты без потери полезной активности. Исходя из этого, химик должен модифицировать структуру исходной молекулы лекарства для того, чтобы сделать ее более специфичной для рецептора-мишени. В прошлом это часто был метод проб и ошибок.

Развитие наркотических анальгетиков является хорошим примером традиционного подхода в лекарственной химии и применения различных стратегий, которые могут быть использованы в разработке лекарств. Мы можем выделить несколько стадий в поиске лекарственного препарата:

Стадия 1. Определение того, какое растение имеет нужное фармакологическое действие.

Стадия 2. Выделение и идентификация активного начала (морфин).

Стадия 3. Синтетическое изучение (полный и частичный синтезы).

Стадия 4. Изучение соотношения структура-активность – синтез аналогов, чтобы видеть, какие части молекулы важны для биологической активности.

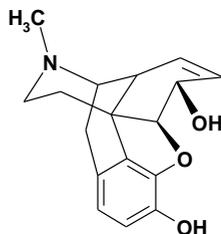
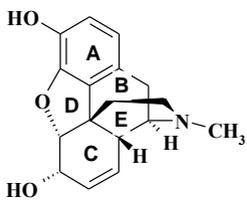
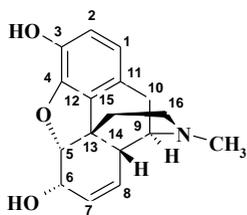
Стадия 5. Разработка лекарства – синтез аналогов, чтобы попытаться улучшить активность или уменьшить побочные эффекты.

Стадия 6. Теории анальгетических рецепторов. Синтез аналогов для проверки теорий.

Что касается химика-фармацевта, стадии 5 и 6 – наиболее спорные и полезные части процедуры поиска, поскольку существует возможность улучшения того, что дала природа.

Морфин

Активное начало опиума – морфин, и это соединение все еще одно из самых эффективных болеутоляющих, доступных в медицине. Оно особенно хорошо при лечении тупой, постоянной боли, нежели острой, периодической:



Морфин

К сожалению, морфин имеет много побочных эффектов:

- угнетение дыхательного центра,
- запор,
- возбуждение,
- эйфория,
- тошнота,
- сужение зрачков,
- переносимость,
- зависимость.

Некоторые побочные эффекты не особенно серьезны, а некоторые можно считать недостатками. Эйфория, например, – полезный побочный эффект, когда снимает боль у неизлечимо больных пациентов. Другой побочный эффект, например запор, неудобен, но может дать ключ к другому возможному использованию опиатоподобных структур. Опиатные структуры широко используются также в отхаркивающих медицинских препаратах и при диарее.

Опасные побочные эффекты морфина – переносимость и зависимость – в союзе с эффектами морфина могут влиять на дыхание. На самом деле самая частая смерть от передозировки морфина – удушье. Переносимость и зависимость от этого лекарства особенно опасны и ведут к серьезной абстиненции, когда лекарство больше не принимается.

Абстиненция, связанная с морфином, включает потерю веса, расширение зрачка, озноб, чрезмерное потение, брюшные судороги, мышечные спазмы, гиперраздражительность, слезотечение, трепет, ускорение сердцебиения и увеличение кровяного

давления. Не удивительно, что наркоманам трудно ей противостоять!

Выделение и структурная идентификация морфина (первые две стадии нашего исследования) уже были описаны. Структура молекулы содержит пять колец, отмеченных как А–Е, и имеет явную Т-форму, в основном из-за третичной аминогруппы. Морфин также содержит фенольную группу, спиртовую группу, ароматическое кольцо, простой эфирный мостик и двойную связь. Следующая стадия в процедуре поиска лекарственного препарата на его основе – определить, какие из функциональных групп отвечают за анальгетическую активность.

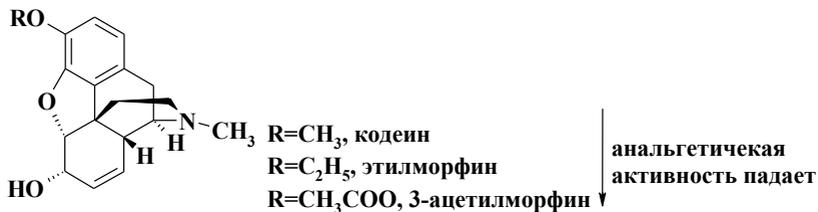
Отношения структура–активность

История того, как были раскрыты секреты морфина, представлена здесь постепенной, логической. Однако в действительности это не так, различные соединения были получены случайным образом и зависели от простоты синтеза. Представляя получение морфина таким образом, мы искажаем историю, но получаем общую стратегию и логический подход к разработке лекарственных препаратов на основе морфина.

Первые и простейшие аналоги морфина, которые могут быть получены, включают периферийные модификации молекулы (т.е. изменения, которые не влияют на ее основной скелет). При этом подходе мы рассматриваем различные функциональные группы и на предмет их необходимости для анальгетической активности морфина.

Фенольный гидроксил

Кодеин – метиловый эфир морфина – также присутствует в опиуме. Он используется при лечении умеренной боли, кашле и диарее.



При метилировании фенольного ОН анальгетическая активность значительно падает, и кодеин имеет только 0,1 % активности морфина. Этот спад активности наблюдается в других аналогах, содержащих замаскированную фенольную группу. Ясно, что свободная фенольная группа существенна для анальгетической активности.

Однако вышеупомянутый результат относится к изолированным рецепторам в лабораторных экспериментах. Если кодеин вводится пациентам, то его анальгетический эффект составляет 20 % эффективности морфина – намного лучше, чем ожидалось. Почему так происходит?

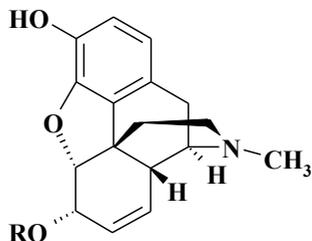
Оказывается, что кодеин метаболизируется в печени, давая морфин. Простой метиловый эфир гидролизует, образуя свободную фенольную группу. Следовательно, кодеин может рассматриваться как пролекарство для морфина. Этот факт подтверждается тем, что кодеин не имеет никаких анальгетических эффектов, если введен непосредственно в головной мозг. Кодеин вводится прямо в ЦНС и не проходит через печень, в результате деметилирования не происходит.

Этот пример выявляет проблемы, стоящие перед химиком-фармацевтом при тестировании лекарств. Подход к проверке биологически активной молекулы может быть столь же важен, как и создание самого лекарства.

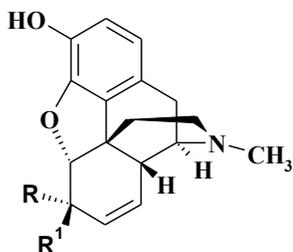
Во всех следующих примерах тестовые процедуры были выполнены на животных или людях. Нужно помнить, что есть несколько возможных путей изменения активности.

Спиртовая группа в 6-м положении

Результаты показывают, что маскировка или полная потеря спиртовой группы не только не уменьшает анальгетической активности, но и часто имеет противоположный эффект. Снова необходимо подчеркнуть, что тестирование препаратов в общем проводят *in vivo* и что есть много путей, благодаря использованию которых может быть достигнуто улучшение активности.



$R=CH_3$, гетерокодеин, C_2H_5 , 6-этилморфин, CH_3COO , 6-ацетилморфин – анальгетическая активность в 4–6 раз сильнее морфина.



$R=H$, $R^1=OH$; $R=R^1=H$; $R+R^1=O$ – анальгетическая активность этих соединений остается прежней или немного повышается по сравнению с морфином.

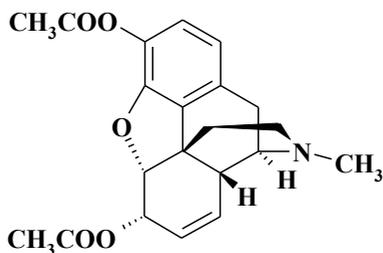
В этих примерах улучшение активности происходит скорее из-за фармакодинамических свойств лекарств, чем из-за их аффинности к анальгетическому рецептору. Другими словами, это отражает скорее то, как быстро лекарства могут достигнуть рецептора, чем то, как хорошо они свяжутся с ним.

Есть множество факторов, которые могут отвечать за воздействие, т.е. за то, сколько лекарства достигло своей мишени. Например, активное соединение могло метаболизироваться в неактивное соединение прежде, чем оно достигло рецептора, и, наоборот, оно могло распространиться более эффективно в одной части тела.

В этом случае показанные аналоги морфина способны достигнуть анальгетического рецептора гораздо более эффективно, чем сам морфин. Эти рецепторы расположены в ЦНС, и для того, чтобы достигнуть мозга, лекарства должны пересечь ге-

матознцефалический барьер. Поскольку барьер жирный, высокополярные соединения не могут туда проникнуть. Таким образом, чем более полярные группы имеет молекула, тем труднее ей достигнуть мозга. Морфин имеет три полярные группы (фенольная, спиртовая и amino), тогда как приведенные выше соединения либо не имеют полярную спиртовую группу, либо она замаскирована алкильной или ацильной группой. Ввиду этого они проникают в мозг более легко и аккумулируются в зонах рецептора в больших концентрациях, следовательно, анальгетическая активность выше.

Интересно сравнить активности морфина, 6-ацетилморфина и диаморфина (героина). Самое активное (и наиболее опасное) соединение – 6-ацетилморфин. Он в 4 раза более активен, чем морфин. Героин также более активный, чем морфин, но менее активный, чем 6-ацетилморфин. Как мы это объясним?



Диаморфин (героин)

6-Ацетилморфин менее полярный, чем морфин, и поэтому попадает в мозг более быстро и в больших концентрациях. Фенольная группа свободна, и он немедленно будет взаимодействовать с анальгетическими рецепторами.

Героин имеет две полярные группы, которые замаскированы, и поэтому является самым эффективным соединением из трех для пересечения гематоэнцефалического барьера. Однако, прежде чем он сможет действовать на рецептор, эстеразой мозга должна быть снята ацетильная группа с фенольной группы. Соответственно, он легче, чем морфин, пересекает барьер, но менее энергично взаимодействует с рецепторами, чем 6-

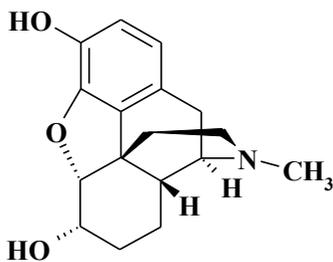
ацетилморфин, потому что прежде, чем он сможет действовать, должна быть снята 3-ацетильная группа.

Героин и 6-ацетилморфин – более мощные анальгетики, чем морфин. К сожалению, они также имеют большие побочные эффекты и серьезные характеристики переносимости и зависимости. Героин все еще используется в терапии неизлечимо больных пациентов, таких как умирающие от рака, но 6-ацетилморфин так опасен, что его синтез запрещен во многих странах.

Заметим, что 6-гидроксигруппа не требуется, а ее удаление может быть полезно для анальгетической активности.

Двойная связь при 7–8 атомах углерода

Дигидроморфин намного сильнее морфина, побочные эффекты сохраняются. Двойная связь не является необходимой для анальгетической активности:



Диаморфин

N-метильная группа

N-оксид и N-метил четвертичные соли морфина неактивны, из чего можно было бы предположить, что введение заряда в молекулу разрушает анальгетическую активность. Однако мы должны помнить, что эти эксперименты были сделаны на животных и заряженная молекула имеет очень малый шанс пересечь гематоэнцефалический барьер. Если подобные соединения вводить непосредственно в мозг, получится другой результат и будет обнаружена анальгетическая активность, подобная морфину. Этот факт показывает, что атом азота ионизируется, когда связывается с рецептором (табл. 7).

Замещение N-метильной группы на протон уменьшает активность, но не убирает ее. Вторичная NH-группа более полярна, чем третичная N-метильная группа, и поэтому она более трудно пересекает гематоэнцефалический барьер, приводя к уменьшению активности соединений:

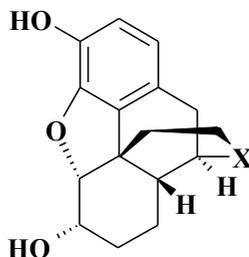
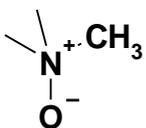
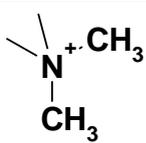


Таблица 7

Зависимость анальгетической активности от заместителя у атома азота

Заместитель у атома азота	Соединение	Анальгетическая активность по сравнению с морфином, %
NH	Норморфин	25
	N-оксид	0
	Четвертичная соль	0

Азот важен для активности и не взаимодействует с рецептором в ионизированной форме. Если его полностью удалить, вся анальгетическая активность теряется.

Ароматическое кольцо

Ароматическое кольцо существенно. Соединения, теряющие его, не показывают никакой анальгетической активности.

Эфирный мостик

Эфирный мостик не требуется для анальгетической активности.

Стереохимия

Морфин является асимметрической молекулой, содержащей несколько хиральных центров, и существует как единственный энантиомер. Морфин впервые был получен в виде рацемической смеси природного энантиомера и его зеркального отображения. Они были разделены, и неприродное зеркальное изображение было протестировано на анальгетическую активность. Оказалось, что оно вообще не имеет никакой активности.

Это не удивительно, если мы рассмотрим взаимодействия, которые должны происходить между морфином и его рецептором. Мы определили, что существует по крайней мере три важных взаимодействия, включающих фенольный гидроксил, ароматическое кольцо и аминный атом азота. Рассмотрим морфин как блок Т-формы с тремя группами, отмеченными, как показано на рис. 75. Рецептор имеет комплементарные связывающие группы, расположенные в таком порядке, что они могут взаимодействовать со всеми тремя группами. Если мы теперь рассмотрим зеркальное изображение морфина, то увидим, что в любой момент времени оно может взаимодействовать только с одной связывающей зоной.

Эпимеризация хирального центра в положении 14 (рис. 76) также невыгодна, поскольку изменение стереохимии даже одного хирального центра может привести к значительному изменению формы, делающему невозможным связывание молекулы с анальгетическим рецептором.

Важные функциональные группы (фенольный гидроксил, аминный азот, бензольное кольцо) для анальгетической активности показаны на рис. 77.

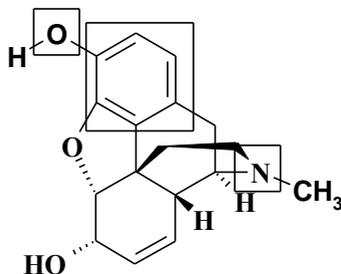


Рис. 77. Важные функциональные группы для анальгетической активности в морфине

Разработка аналогов морфина

Как упоминалось, есть несколько стратегий, используемых в разработке лекарства. Мы рассмотрим следующие стратегии разработки аналогов морфина:

- варьирование заместителей;
- распространение лекарства;
- упрощение;
- ригидификация.

Варьирование заместителей

Выше мы рассмотрели варьирование заместителей у фенольного гидроксила, которое дало неактивные или слабоактивные соединения.

Расширение лекарств

Расширение лекарства – стратегия, посредством которой молекула «расширяется» при добавлении дополнительных «связывающих групп». Причина такой тактики – проверить дополнительные связывающие зоны, которые могут быть доступны на поверхности рецептора и которые могут улучшить взаимодействие между лекарством и рецептором (рис. 78).

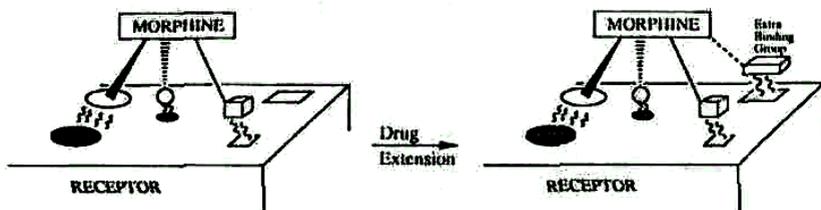
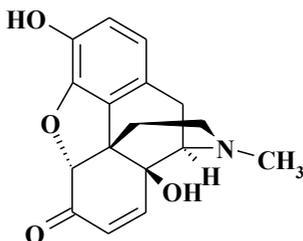


Рис. 78. Расширение лекарства морфина

Это справедливое предположение, поскольку маловероятно, что такое соединение, как морфин (который продуцируется в растении), было бы совершенным связывающим субстратом для рецептора в человеческом мозге.

Было синтезировано много аналогов морфина с дополнительно присоединенными функциональными группами, но они редко показывали какое-либо улучшение. Однако есть два исключения. Введение гидроксигруппы в положение 14 было особенно полезно. Исследователи предполагают, что, возможно, происходит водородное связывание между 14-ОН- группой и удобным аминокислотным остатком на рецепторе:



Оксиморфин (в 2,5 раза активнее морфина)

Самой простой позицией для добавления заместителей (и самой выгодной) был также атом азота. Синтез легко достигался удалением N-метильной группы из морфина с получением норморфина, затем происходило алкилирование аминогруппы алкилгалогенидом. Удаление N-метильной группы было первоначально достигнуто разложением Брауна с бромцианом, но сейчас это более удобно выполнять, используя хлорформильный реагент, такой как винилоксихлорид. Стадия алкили-

рования может быть иногда заменена двустадийным процессом, включающим ацилирование и последующее восстановление.

Результаты, полученные при изучении алкилирования, довольно драматичны. При возрастании алкильной группы по размеру от метильной до бутильной активность падает до нуля.

Однако с большими группами, такими как амильная или гексильная, активность слегка восстанавливается, а когда добавлена фенилэтильная группа, активность увеличивается в 14 раз – показатель того, что в активном центре расположена гидрофобная связывающая зона, которая взаимодействует преимущественно с новым ароматическим кольцом (рис. 79).

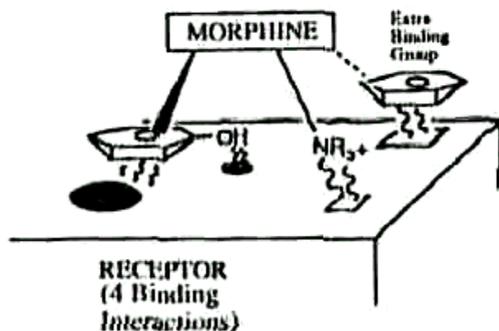
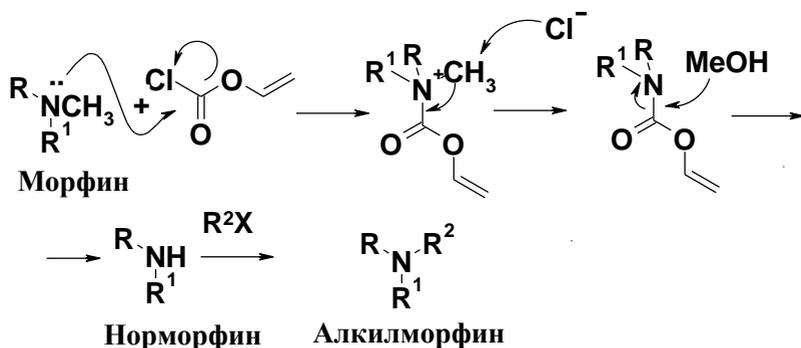
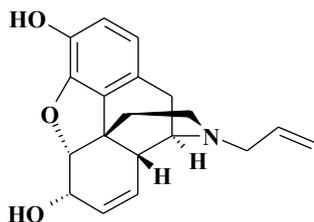


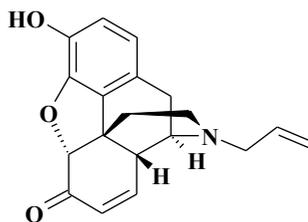
Рис. 79. Проявление четвертой связывающей зоны

Итак, размер и природа группы на атоме азота важны для спектра активности. Расширение спектра групп может приводить к лучшему связыванию посредством использования дополнительных связывающих взаимодействий.

Потрясающие результаты были получены при введении аллильной группы в структуру молекулы, хотя и не наблюдалось никакого увеличения анальгетической активности и результаты фактически были противоположные.



Налорфин



Налоксон

Налоксон, например, не имеет никакой анальгетической активности, тогда как налорфин сохраняет лишь незначительную. Однако важная черта этих молекул в том, что они действуют как *антагонисты* морфина, связываются с анальгетическим рецептором без «его включения» и блокируют его от действия морфина. В результате он не может больше действовать как анальгетик. Но какое в этом преимущество? Если мы рассматриваем только анальгезию, нет ни одного. Однако дело в том, что морфин блокирован от всех рецепторов и ни один из его побочных эффектов не наблюдается, это делает антагонистов морфина чрезвычайно полезными. В частности, благодаря им можно спасти жертв несчастных случаев, получивших передозировку морфина и умирающих от удушья.

Есть, однако, гораздо более важное наблюдение, являющееся биологическим результатом этих антагонистов. Много лет химики пытались найти аналог морфина с анальгетическими свойствами, но без депрессивного воздействия на дыхание или абстиненции. Конечно, антагонист налоксон блокировал анальгезию морфина и побочные эффекты, однако свойства налорфина давали призрачную надежду. Налорфин является сильным

антагонистом и блокирует рецепторы от действия морфина, поэтому никакой анальгетической активности не должно было наблюдаться. Однако, как показали эксперименты, очень слабая анальгетическая активность наблюдалась, и она оказалась без нежелательных побочных эффектов. Это был первый знак того, что возможен безопасный анальгетик.

Но как соединение может быть антагонистом морфина, но действовать как агонист и производить анальгезию? Если оно действует как агонист, почему активность так мала и почему у него нет побочных эффектов?

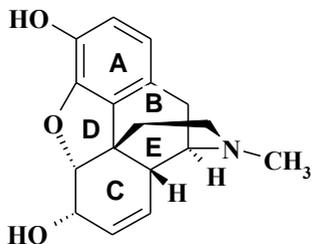
Как мы увидим ниже, существует несколько типов анальгетических рецепторов. Отличие между ними такое тонкое, что морфин активирует их все, но теоретически возможно найти соединения, которые были бы селективны для одного типа анальгетического рецептора. Однако налорфин связывается со всеми типами анальгетического рецептора, поэтому блокирует морфин везде. Сам он не способен активировать два рецептора, и поэтому истинный антагонист к этим рецепторам. Однако на третий тип рецептора налорфин действует как слабый или частичный агонист.

Результаты, наблюдаемые с налорфином, показывают, что активация этого типа анальгетического рецептора приводит к анальгезии без нежелательных побочных эффектов. К сожалению, налорфин имеет галлюциногенные побочные эффекты и поэтому не подходит как анальгетик.

Упрощение, или рассечение лекарства

Переходим к более значительным изменениям структуры морфина. Действительно ли необходим полный углеродный скелет? В конце концов, если бы мы могли упростить молекулу, то ее было бы легче получать в лаборатории. Это, в свою очередь, позволило бы химику намного проще и дешевле создавать аналоги.

В структуре морфина пять колец, можно ли удалить какие-либо кольца без потери анальгетической активности?



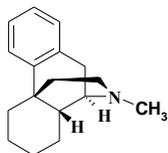
Морфин

Удаление кольца E

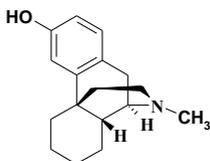
Удаление кольца E ведет к полной потере активности. Этот результат подчеркивает важность основного азота для анальгетической активности.

Удаление кольца D

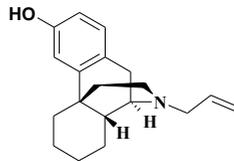
Удаление кислородного мостика дает серию соединений, названных морфинанами, которые имеют полезную анальгетическую активность. Это демонстрирует, что кислородный мостик в структуре молекулы не существует.



N-метилморфинан
20% активности морфина



Леворфанол
в 5 раз активнее морфина



Леваллорфан
антагонист,
в 5 раз активнее
налорфина

N-метилморфинан был первым таким протестированным соединением и показал только 20 % активности морфина, но это не удивительно, поскольку фенольная группа в нем отсутствовала. Более подходящая структура леворфанолола в 5 раз более активна, чем морфин, и, хотя побочные эффекты возросли, леворфанол имеет мощное преимущество перед морфином в том, что может быть введен орально и сохраняется в теле намного дольше, потому что не метаболизируется в печени в такой же

степени, как морфин. Как можно было бы ожидать, зеркальное отображение леворфанола (декстрорфан) имеет незначительную анальгетическую активность.

Та же самая стратегия расширения лекарства, уже описанная для морфиновых структур, была опробована на морфинанах с подобными результатами. Например, добавление аллильного заместителя на атом азота приводит к антагонисту морфина. Добавление фенэтильной группы на азот значительно увеличивает анальгетическую активность. Добавление ОН- группы в положение 14 также увеличивает активность.

Заключения:

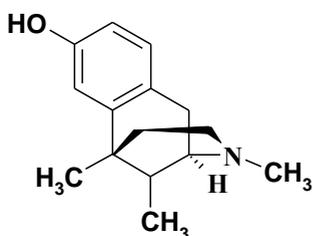
1. Морфинаны являются более мощными и долго действующими, чем их морфиновые аналоги, но они также имеют высокую токсичность и сравнимые характеристики зависимости.

2. Аналогичные модификации, ранее выполненные на морфине, приводят к тем же самым биологическим результатам и на морфинанах. Предположительно, что оба типа молекул реагируют с теми же самыми рецепторами тем же самым образом.

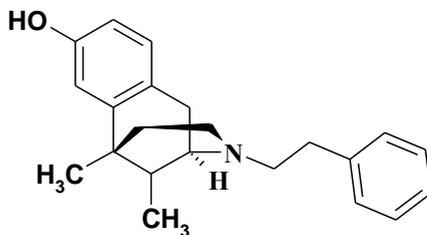
3. Морфинаны легче синтезировать, поскольку они являются более простыми молекулами.

Удаление колец C и D

Раскрытие обоих колец C и D дает интересную группу соединений, названных бензоморфанами, которые сохраняют анальгетическую активность. Одна из таких простейших структур – метазоцин, имеющий ту же анальгетическую активность, что и морфин. Отметим, что две метильные группы в метазоцине в *цис*-положении друг к другу и представляют «обрубки» кольца C:



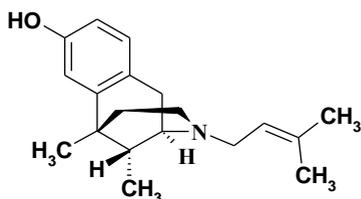
Метазоцин



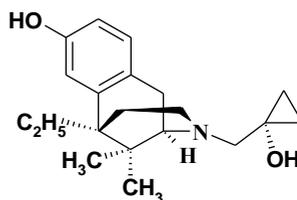
Феназоцин

Если на бензоморфанах выполнить химические модификации того же самого типа, что были описаны для морфианов и морфина, то наблюдаются те же самые биологические эффекты. Это предполагает, что бензоморфаны взаимодействуют с теми же рецепторами, что морфинаны и аналоги морфина. Например, замещение N-метильной группы метазоцина на фенэтильную группу дает феназоцин, который в 4 раза более активен, чем морфин, и является первым соединением, имеющим полезный уровень анальгезии без наркотических свойств.

Дальнейшие разработки привели к пентазоцину, который оказался полезным долговременным анальгетиком с очень малым риском зависимости. Новое соединение (бремазоцин) имеет продолжительность более длительную, в 200 раз активнее морфина, но оказывает выраженное побочное действие на ЦНС (нарушение ориентировки в пространстве и времени, искажение визуального восприятия):



Пентазоцин



Бремазоцин

Эти соединения должны быть похожи на налорфин в том, что они действуют как антагонисты на два типа анальгетических рецепторов и как агонист – на третий. Различие между налор-

фином и соединениями, подобными пентазоцину, в том, что последние более сильные агонисты, дающие более полезный уровень анальгезии.

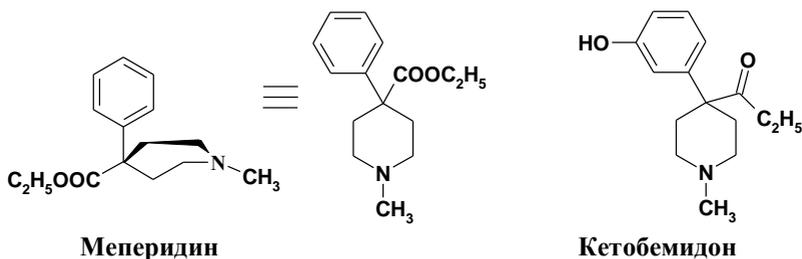
К сожалению, многие из этих соединений имеют галлюциногенные побочные эффекты из-за взаимодействия с неанальгетическим рецептором.

Мы вернемся к взаимодействию бензоморфанов с анальгетическим рецептором позже. На данный момент мы можем сделать следующие заключения о бензоморфанах:

- кольца С и D не существенны для анальгетической активности;
- анальгезия и зависимость не обязательно являются сосуществующими;
- 6, 7-бензоморфаны – клинически полезные соединения с приемлемой анальгетической активностью;
- бензоморфаны проще синтезировать.

Удаление колец В, С и D

Удаление колец В, С и D дает серии соединений, известных как 4-фенилпиперидины. Анальгетическая активность этих соединений была открыта случайно в 1940-х гг., когда химики изучали аналоги кокаина на антиспазматические свойства. Их структурное отношение к морфину определилось, когда было обнаружено, что они – анальгетики. Активность может быть шестикратно увеличена введением фенольной группы и изменением сложного эфира на кетон, дающим кетобемидон:



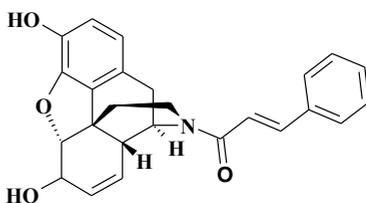
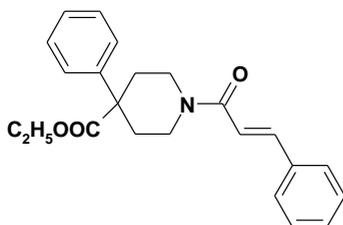
Меперидин

Кетобемидон

Меперидин (петидин) – не такой сильный анальгетик, как морфин, обладающий теми же побочными эффектами. Однако он быстрее действует, имея более короткую продолжительность,

и в результате использовался как анальгетик при трудных родах. Быстрое начало и короткая продолжительность действия обеспечивают меньший риск угнетения дыхания ребенка.

Пиперидины легче синтезировать, чем любую из вышеописанных групп, поэтому было изучено очень большое количество аналогов. Есть некоторое сомнение, будут ли они действовать на анальгетические рецепторы так же, как морфин. Например, добавление аллильной или циклопропильной группы не дает антагонистов морфина. Замещение метильной группы меперидина на остаток коричной кислоты увеличивает активность в 30 раз, тогда как введение той же самой группы в морфин ее элиминирует.

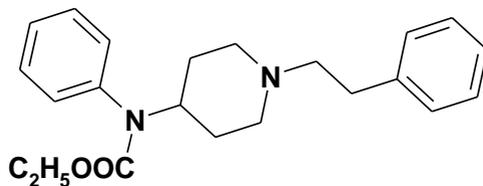


Активность в 30 раз выше морфина

Нулевая активность

Эти результаты могли бы иметь некоторое отношение к тому факту, что пиперидины – гораздо более гибкие молекулы, чем предыдущие структуры и, таким образом, могут взаимодействовать с рецепторами различными способами.

Одно из наиболее полезных производных пиперидина – фентанил, который более чем в 100 раз активнее морфина. Лекарство теряет фенольную группу, но является очень липофильным. В результате оно может эффективно пересечь гематоэнцефалический барьер:



Фентанил

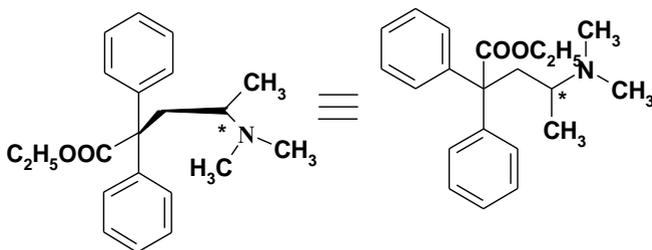
Заключения:

1. Кольца С, D и E не существенны для анальгетической активности.
2. Пиперидины сохраняют такие побочные эффекты, как зависимость и угнетение дыхательного центра.
3. Пиперидиновые анальгетики быстродействующие и имеют более короткую продолжительность действия.
4. Четвертичный центр, присутствующий в пиперидинах, необходим (фентанил – исключение).
5. Ароматическое кольцо и основной азот существенны для активности, но фенольная группа – нет.
6. Предположительно, что пиперидиновые анальгетики взаимодействуют с рецепторами другим способом, чем предыдущие группы.

Удаление колец B, C, D и E

Анальгетик метадон был открыт в Германии во время Второй мировой войны и оказался полезным веществом, сравнимым по активности с морфином. В 1937 г. немецкими исследователями Максом Бокмюлем и Густавом Эрхартом с использованием дифенилацетонитрила и диметиламин-2-хлорпропана удалось синтезировать «препарат 8909». Его назвали долафин, как считается, в честь самого Адольфа Гитлера. Позже синтез изменили на более простой, где использовалась уже дифенилбутансульфо кислота. В 1942 г. начался промышленный выпуск препарата амидон, использовавшегося вначале в экспериментальных целях в качестве анальгетика. Главной особенностью метадоны стало то, что, в отличие от морфина, он эффективен и при оральном употреблении. В конце 40-х гг. были осуществлены полноценные клинические испытания и препарат стал использоваться в медицинской практике как замена морфина при сильных болях. Собственно, метадоном он стал называться только с 1954 г. Владельцем патента на производство (до его истечения) являлась медицинская компания Ely Lilly & Co. В начале 1960-х гг. Винсентом Доулом (V. Dole) и Мэри Нисвандер (M. Nyswander) впервые была разработана методика лечения метадоном героиновой зависимости. Поначалу лечение метадоном давало впечатляющие результаты. Однако к середине 1970-х гг. резко возросло число смертельных исходов, свя-

занных с употреблением метадона. Дело в том, что широкое использование препарата в медицине обеспечило ему выход «на улицу», а применение без контроля со стороны врача оказалось гораздо опаснее даже самого героина. Опыт показывает, что применение метадона не является оправданным. Многие специалисты в области наркологии пришли к выводу, что использование метадона приводит к смене одной зависимости на другую.



Метадон

Молекула имеет единственный хиральный центр. *R*-энантиомер вдвое более активен, чем морфин, тогда как *S*-энантиомер – неактивен. Это довольно серьезная разница. Поскольку *R*- и *S*-энантиомеры имеют идентичные физические свойства, они оба в одинаковой степени должны реагировать с зоной рецептора, и, таким образом, наиболее вероятно, что разница в активности из-за взаимодействий субстрат–рецептор.

Ригидификация

До настоящего времени мы рассмотрели незначительные изменения функциональных групп на периферии морфинового скелета или существенное упрощение скелета морфина.

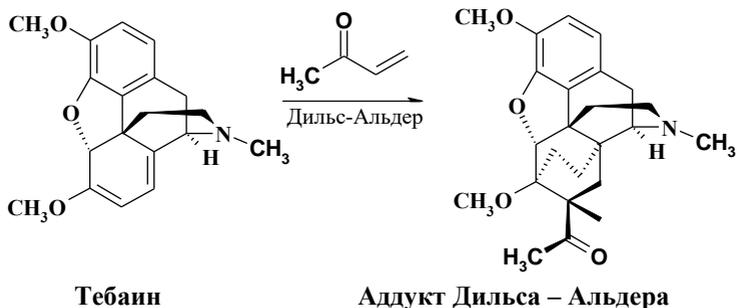
Полностью отличающаяся от этого стратегия в том, чтобы сделать молекулу более сложной или более жесткой. Она обычно используется при попытке избавиться от побочных эффектов или увеличить активность.

Принято считать, что побочные эффекты лекарства появляются из-за взаимодействия с дополнительными рецепторами, иными, чем те, которые нас интересуют. Эти взаимодействия возможны из-за того, что молекула принимает различные конформации или формы. Если мы сделаем молекулу более жест-

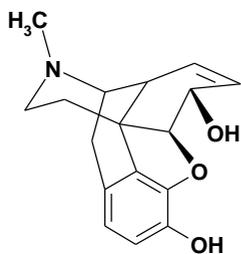
кой, то сможем исключить конформации, которые распознаются нежелательными рецепторами, и ограничить молекулу специфической конформацией, которая соответствует требуемому рецептору. Таким образом, можно исключить побочные эффекты – зависимость и угнетение дыхания. Можно также ожидать возрастания активности, поскольку более вероятно, что молекула будет в правильной конформации для взаимодействия с рецептором.

Лучший пример этой тактики в области анальгезии представлен группой соединений, известных как орипавины. Эти структуры часто показывают высокую активность.

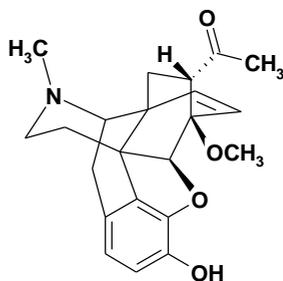
Орипавины получают из алкалоида тебаина. Он может быть выделен из опиума вместе с кодеином и морфином и имеет структуру, очень похожую на эти соединения. Однако в отличие от морфина и кодеина тебаин не обладает анальгетической активностью. В цикле С тебаина присутствует диеновая группа, благодаря которой он вступает в реакцию Дильса – Альдера с метилвинилкетонам. Образуется дополнительное кольцо, тем самым увеличивается «твердость» структуры молекулы:



Сравнение с морфином показывает, что дополнительное кольцо прикрепляется к структуре как «перекладина»:

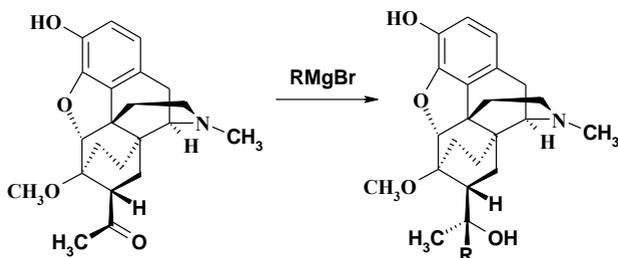


Морфин



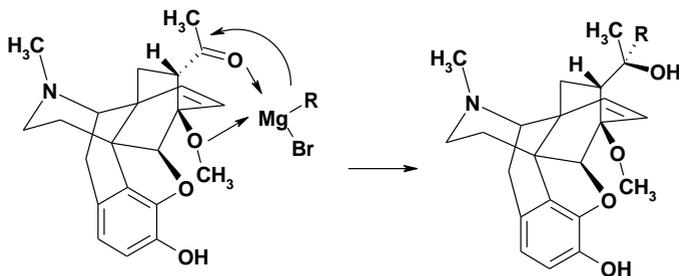
Аддукт Дильса – Альдера

Поскольку была введена кетонная группа, то можно вести стратегию расширения лекарства по реакции Гриньяра:



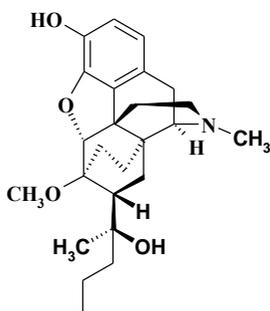
Стратегия расширения лекарства

Примечательно, что реакция Гриньяра является стереоспецифической и приводит к образованию продукта с асимметрическим центром:



При варьировании групп, вводимых в реакцию Гриньяра, были получены особенно мощные соединения, например этор-

фин, в 10 000 раз более мощный, чем морфин. Наряду с тем, что это очень гидрофобная молекула и может пересекать гематоэнцефалический барьер в 300 раз легче, чем морфин, она имеет аффинность к анальгетическому рецептору в 20 раз больше из-за лучших связывающих взаимодействий в активной зоне рецептора:



При дозах немного больших, чем требуется для анальгезии, он может действовать как «выбрасыватель», или успокоительное. Соединение имеет значительный предел безопасности и используется, чтобы обездвигивать таких больших животных, как слоны (4 мг соединения вгоняют в сон пятитонного слона). Поскольку соединение настолько активно, требуются лишь очень небольшие дозы, которые могут быть растворены в таких небольших объемах (1 мл), что могут поместиться в стрелы арбалета, ранящие животное.

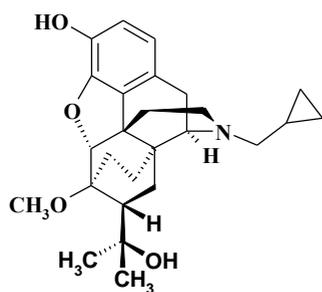
Обнаружено, что добавление липофильных групп значительно улучшает активность, показывая присутствие гидрофобной связывающей области на рецепторе. Группа, лучше всех способная реагировать с этой областью, – фенэтильный заместитель, и продукт, содержащий эту группу, даже более активен, чем эторфин.

Из-за своих ригидных структур эти соединения – высокоселективные агенты для анальгетических рецепторов. К сожалению, увеличение анальгетической активности также сопровождается недопустимыми побочными эффектами. Ввиду этого было решено посмотреть, будет ли добавление таких заместителей,

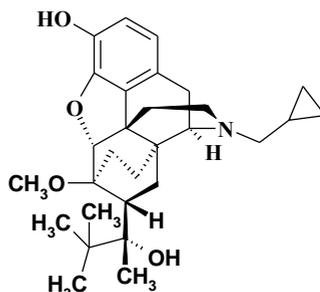
как аллильный и циклопропильный, давать антагонистов, как обнаружено в рядах соединений морфина, морфинанов и бензоморфанов. Если так, то можно было бы получить орипиван, эквивалентный пентазоцину или налорфину, – антагонист с некоторой агонистической активностью и с меньшими побочными эффектами.

Введение циклопропильной группы дает очень мощного антагониста, названного дипренорфин, который в 100 раз более мощный, чем налорфин. Дипренорфин не имеет никакой анальгетической активности.

Замещение метильной группы на *трет*-бутильную дает бупренорфин, свойства которого подобны налорфину и пентазоцину, т.е. он имеет анальгетическую активность с очень низким риском зависимости:



Дипренорфин



Бупренорфин

Бупренорфин является самым липофильным соединением в ряду орипиванов, поэтому проникает в головной мозг очень легко. Он в 100 раз более активен, чем морфин, как агонист и в 4 раза более активен, чем налорфин, как антагонист. Это особенно безопасное лекарство, поскольку оказывает очень слабый эффект на дыхание, риск запора от передозировки намного меньше, чем у морфина. Бупренорфин применяется в хирургической и онкологической практике. Его недостатки включают такие побочные эффекты, как тошнота и рвота, наряду с тем, что он не может быть введен орально. В ряде стран применяется при заместительной терапии опиатной наркомании в качестве более безопасного заместителя, чем метадон. Ограничивающим фак-

тором для более широкого применения в заместительной терапии является цена препарата (по оценкам, минимум в 10 раз дороже, чем метадон).

Бупренорфин медленно связывается с анальгетическим рецептором, но образующаяся связь очень прочная. Однако он лишь частичный агонист. Другими словами, не очень эффективен для «включения» анальгетического рецептора. Это значит, что он не способен достигнуть максимального уровня анальгезии, который может быть у морфина.

В целом более сильная аффинность бупренорфина к анальгетическим рецепторам перевешивает его относительно слабое действие, так что его низшая доза может обеспечить анальгезию, сравнимую с морфином. Однако если уровень боли высокий, то бупренорфин не способен ей противостоять и должен быть использован морфин.

Однако бупренорфин представляет еще один пример опитатного анальгетика, где анальгезия отделена от опасных побочных эффектов.

Теория анальгетических рецепторов

Хотя уже много лет было известно, что есть анальгетические рецепторы, более подробная информация о них получена в 1973 г.

Существует по крайней мере четыре разных рецептора, с которыми может взаимодействовать морфин, три из них – анальгетические. Исходная теория связывания рецептора принимала единственную зону рецептора, но это не лишало законной силы многие из предложений, которые были сделаны. Исходя из этого, информативно рассмотреть первую теорию – гипотезу Беккета – Кейси.

Гипотеза Беккета – Кейси

В этой теории принято, что есть ригидная зона рецептора и что морфин и его аналоги соответствуют этой зоне по классической аналогии замок-и-ключ.

С основой на уже описанные результаты были предложены следующие особенности как существенные для взаимодействия анальгетика с его рецептором:

1. Должен быть основной центр (азот), который может быть ионизирован при физиологическом рН, образуя заряженную группу. Эта группа затем образует ионную связь с соответствующей анионной группой рецептора. Как следствие этого, анальгетики должны иметь $pK_a = 7,8 \dots 8,9$, такую что существует примерно одинаковый шанс амина быть ионизированным и неионизированным при физиологическом рН. Это необходимо, поскольку анальгетик должен пересекать гематоэнцефалический барьер как свободное основание, но, как только пересечет, должен быть ионизирован для того, чтобы взаимодействовать с рецептором. Значения pK_a полезных анальгетиков полностью соответствуют этому прогнозу.

2. Ароматическое кольцо в морфине должно быть точно ориентировано относительно атома азота, чтобы позволить вандер-ваальсовы взаимодействия с подходящей гидрофобной областью рецептора. Природа этого взаимодействия предполагает, что должно быть близкое пространственное отношение между ароматическим кольцом и поверхностью.

3. Фенольная группа, возможно, водородно связана с подходящим остатком в зоне рецептора.

4. Чтобы соответствовать, могла иметься «полость» для этиленового мостика углеродов 15 и 16. Такое соответствие могло бы выровнять молекулу и увеличить полное соответствие.

Это была первая предложенная теория, хорошо «пригнанная» к главным результатам. Не могло быть никаких сомнений, что ароматическое кольцо, фенольная группа и азот важны, но есть некоторые сомнения в том, будет ли важен этиленовый мостик, поскольку есть несколько анальгетиков, у которых он отсутствует (например, фентанил).

Теория также не в состоянии включить дополнительную связывающую зону, которая была открыта посредством расширения лекарства. Этот факт легко мог быть включен в теорию, но существуют другие аномалии, которые уже обсуждались (например, разные результаты получены для *mepерidine* по сравнению с морфином, когда к азоту присоединен такой заместитель, как аллильная группа).

Еще одна аномалия была описана ранее: аналог петидин, содержащий остаток коричной кислоты, в 30 раз более активен, чем сам петидин, тогда как та же группа в морфине элиминирует активность. Такие результаты подтверждают, что простая однорецепторная теория не применима.

Множество анальгетических рецепторов

Предыдущая теория пыталась объяснить результаты, основываясь на единственном анальгетическом рецепторе. Сейчас известно, что существует несколько разных анальгетических рецепторов, которые связаны с разными типами побочных эффектов. Также известно, что несколько анальгетиков отдадут предпочтение одним из этих рецепторов перед другими. Это помогает объяснить аномалии, следующие из гипотезы Беккета – Кейси.

Важно оценить, что основные моменты исходной теории все еще применимы для каждого анальгетического рецептора, что сейчас будет описано. Важные связывающие группы для каждого рецептора – фенольная, ароматическое кольцо и ионизированный азотный центр. Однако есть тонкие различия между рецепторами, которые могут обуславливать существенные детали разных молекул анальгетиков. В результате некоторые анальгетики отдадут предпочтение одному из анальгетических рецепторов или действуют разными путями.

Существует три типа анальгетических рецепторов, с которыми может связываться сама молекула морфина и «включать» их. Эти рецепторы обозначаются греческими буквами μ , κ , Δ .

Мю-рецептор (μ)

Морфин сильно связывается с этим рецептором и производит анальгезию. Рецепторное связывание также приводит к нежелательным побочным эффектам: угнетению дыхания, эйфории и зависимости. Мы теперь можем видеть, почему так трудно избавиться от побочных эффектов морфина и его аналогов, поскольку этот рецептор, с которым они связываются так сильно, по существу, включает эти побочные эффекты.

Каппа-рецептор (κ)

Это другой анальгетический рецептор, который может связывать и активировать морфин. Однако сила связывания с ним меньше, чем с μ -рецептором.

Биологическим ответом является анальгезия с успокоением и отсутствием опасных побочных эффектов. Это рецептор, который дает надежду на получение безопасного анальгетика. Теперь могут быть объяснены ранние результаты, полученные с налорфином, пентазоцином и бупренорфином.

Налорфин действует как антагонист на μ -рецептор, блокируя морфин. Однако он действует как слабый агонист к κ -рецептору (как делает морфин), поэтому наблюдается слабая анальгезия из-за частичной активации κ -рецептора. К сожалению, налорфин имеет галлюциногенные побочные эффекты. Это обусловлено тем, что он также связывается с полностью отличным, неанальгетическим рецептором в мозге, названным сигма-рецептором (σ), где он действует как агонист.

Пентазоцин взаимодействует с μ - и κ -рецепторами тем же образом, но способен «включать» κ -рецептор более сильно. У него такой же недостаток – «включать» σ -рецептор. Бупренорфин отличается незначительно. Он сильно связывается со всеми тремя анальгетическими рецепторами и действует как антагонист на Δ - (см. ниже) и κ -рецепторы, но действует как частичный агонист на μ -рецептор, производя анальгетический эффект. Можно было предположить, что бупренофин должен обладать побочными эффектами морфина.

Дельта-рецептор (Δ)

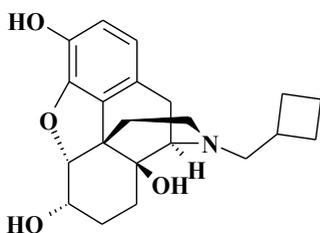
Δ -Рецептор находится там, где с ним взаимодействуют естественные болеутоляющие мозга (энкефалины). Морфин может связываться довольно сильно и с этим рецептором.

В табл. 8. показаны относительные активности морфина, налорфина, пентазоцина, энкефалинов, петидина и налоксона. Знак «плюс» означает соединение, действующее как агонист. Знак «минус» – то, что оно действует как антагонист. Ноль – отсутствие активности, или минорная активность.

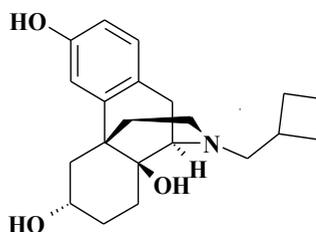
Относительные активности веществ

Тип	Эффект	Вещество					
		Морфин	Налорфин	Пентазоцин	Энкефалин	Петидин	Налоксон
μ	Анальгезия, угнетение дыхания, эйфория, зависимость	+++	–	–	+	+++	–
κ	Анальгезия, успокоение	+	+	+	+	+	–
σ	Галлюцинации	0	+	+	0	0	0
Δ	Анальгезия	++	–	–	+++	+	–

Поиск orally активных опиатных структур, действующих как антагонисты к μ-рецептору, агонисты к κ-рецептору и не имеющих никакой активности к σ-рецептору, привел к налбуфину и буторфанолу:



Налбуфин



Бупорфанол

Фармакологически налбуфин является агонистом / антагонистом опиатных рецепторов. Анальгезирующее действие связано главным образом с агонистическим влиянием на κ-рецепторы, но вместе с тем препарат является антагонистом μ-

рецепторов, в связи с чем не оказывает выраженного эйфорического действия. В целом налбуфин близок к пентазоцину, но оказывает более сильное анальгезирующее действие при меньших побочных эффектах и меньшей способности к развитию толерантности и физической зависимости.

Буторфанол является сильным анальгетиком для парентерального применения. Относится к группе антагонистов / агонистов опиатных рецепторов (агонист κ - и антагонист μ -опиатных рецепторов) и близок этим к пентазоцину и налбуфину. По силе и длительности действия, скорости наступления эффекта близок к морфину, но эффективен в меньших дозах, чем морфин.

Агонисты и антагонисты

Рассмотрим такую интересную проблему, как агонист / антагонист морфиновых аналогов. Почему такое небольшое изменение, как замещение N-метильной группы на аллильную, приводит к такому серьезному изменению в биологической активности, что агонист становится антагонистом? Почему такая молекула, как налорфин, должна действовать как агонист к одному анальгетическому рецептору и как антагонист к другому? Как могут разные рецепторы различать такие тонкие изменения в молекуле?

Проанализируем одну теорию, которая пытается объяснить, как могут возникать эти различия (есть и альтернативные ей теории). Предполагается, что в анальгетическом рецепторе присутствуют две дополнительные гидрофобные связывающие зоны. Структура будет действовать как агонист в зависимости от того, какая из этих дополнительных связывающих зон использована. Другими словами, одна из гидрофобных связывающих зон – связывающая зона агониста, тогда как другая – связывающая зона антагониста.

Снайдером и сотрудниками была предложена модель, представленная на рис. 80–82. В модели связывающая зона агониста дальше от азота и расположена аксиально относительно него. Зона антагониста ближе и расположена экваториально.

Рассмотрим аналог морфина, содержащий фенэтильный заместитель на азоте (см. рис. 80). Предположим, что эта структура связывается, как уже описано, так, что фенол, ароматическое кольцо и основной центр взаимодействуют с соответствующими

ющими связывающими зонами. Если фенэтильная группа в аксиальном положении, то ароматическое кольцо – в правильном положении, чтобы взаимодействовать со связывающей зоной агониста. Однако если фенэтильная группа в экваториальном положении, то ароматическое кольцо расположено вне связывающей зоны антагониста и не может связываться. Конечный результат – увеличение активности агониста.

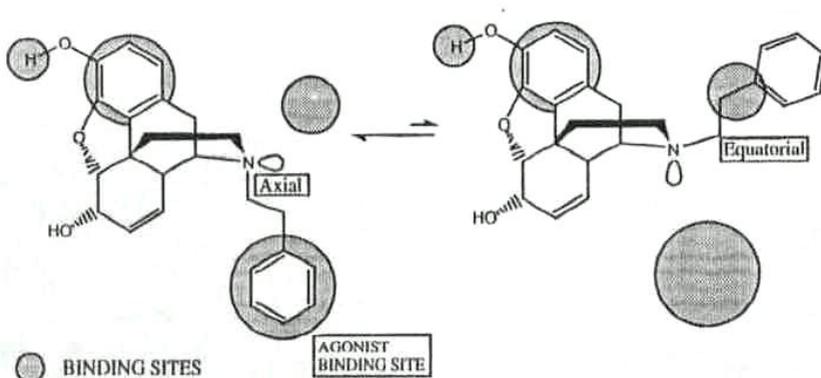


Рис. 80. Аналог морфина, содержащий фенэтильный заместитель на азоте

Рассмотрим, что произойдет, если фенэтильную группу заменить аллильной группой (см. рис. 81). В экваториальном положении аллильная группа способна сильно связываться со связывающей зоной антагониста, тогда как в аксиальном положении она только достигает связывающей зоны агониста, давая слабое взаимодействие.

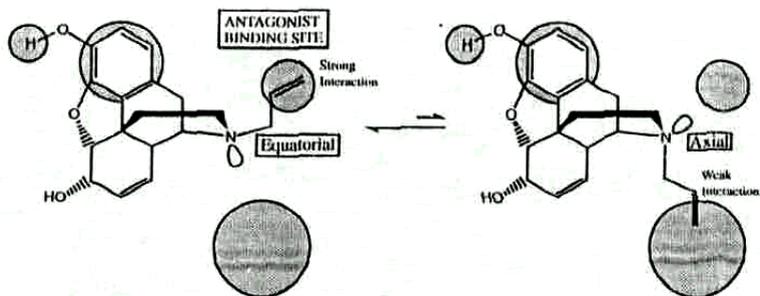


Рис. 81. Аналог морфина, содержащий аллильный заместитель

В этой теории предположено, что такая молекула, как феназоцин (с фенэтильной группой), действует как агонист, поскольку она может связываться только со связывающей зоной агониста. Такая молекула, как налорфин (с аллильной группой), может связываться с зонами агониста и антагониста, поэтому действует как агонист на один рецептор и как антагонист на другой. Отношение этих эффектов зависело бы от отношения равновесия аксиально и экваториально замещенных изомеров.

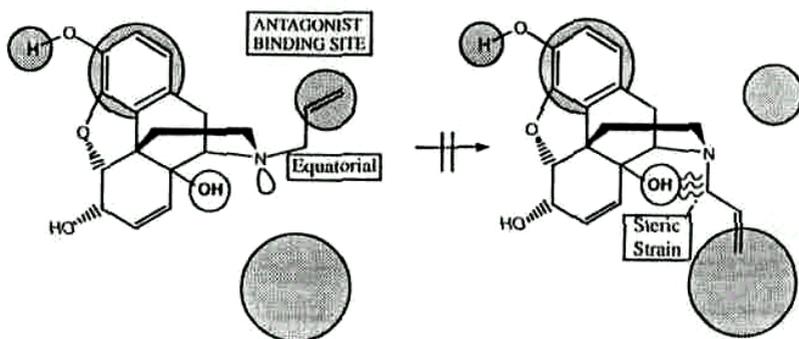


Рис. 82. Влияние 14-ОН на связывающие взаимодействия

Соединение, которое является чистым антагонистом, было бы вынуждено иметь подходящий заместитель в экваториальном положении. Предполагают, что присутствие группы 14-ОН стерически препятствует изомеру с аксиальным заместителем и вынуждает заместитель остаться экваториальным (см. рис. 82).

13. ЭНКЕФАЛИНЫ И ЭНДОРФИНЫ

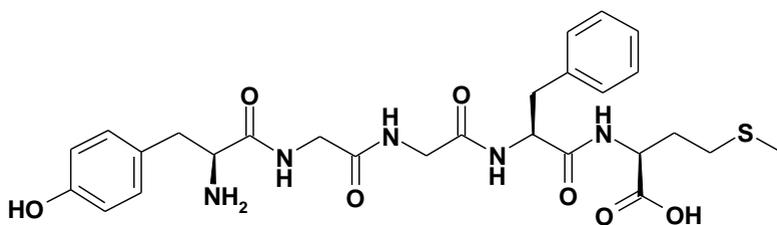
Энкефалины и эндорфины естественного происхождения

Морфин, как мы уже обсуждали, является алкалоидом, который облегчает боль и действует в ЦНС. Из этого можно сделать два вывода: в ЦНС должны быть анальгетические рецепторы и эндогенные вещества, которые взаимодействуют с этими рецепторами. Сам морфин не производится в нашем организме, поэтому он должен использовать другие естественные болеутоляющие.

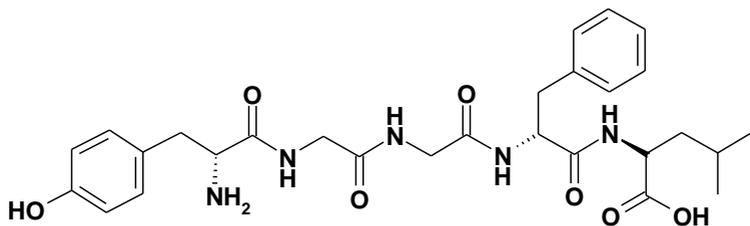
Поиск этих естественных анальгетиков отнял много лет, но в конечном счете привел к открытию энкефалинов и эндорфинов. История их открытия уходит корнями в далекий 1803 г., когда молодой немецкий аптекарь Сетюрнер открыл морфий и обнаружил, что добытый им белый порошок способен вызывать крепкий безмятежный сон. Позже, в 1906 г., было установлено, что за передачу импульсов в нервной системе ответственны нейромедиаторы – адреналин и ацетилхолин. Дальнейшее изучение работы нервной системы привело к открытию в 1976 г. особых медиаторов, вырабатываемых непосредственно в головном мозге, – энкефалинов и эндорфинов, как потом оказалось, во много раз превосходящих по силе действия морфий. Энкефалины и эндорфины синтезируются в гипофизе и участвуют в регуляции многих процессов организма. Они влияют на метаболизм, иммунную защиту, участвуют в поддержании постоянства внутренней среды, от них зависит память и настроение. Эндорфины и энкефалины ассоциируются с ощущением счастья и радости. По сути, они являются «внутренней биохимической наградой» организму за совершенное дело и достигнутый успех. Высокая концентрация молекул этих веществ отличает человека удачливого, счастливого от несчастного и невезучего. «Эндорфинный голод», по мнению медиков, – основная причина наркомании и алкоголизма, попыток «насытить» опиоидные рецепторы суррогатными заменителями гормонов счастья. Правда, такого рода замена вскоре приводит к привыканию, и гипофиз отказывается самостоятельно синтезировать «внутреннюю радость». К внутренним источникам радости относят и серотонин, – «гормон счастья», участвующий в синтезе эндорфинов и эн-

кефалинов. Серотонин снимает нервное напряжение, влияет на сон, аппетит, стимулирует двигательную и мозговую активность. Это вещество постоянно синтезируется и разрушается в организме, недостаток серотонина приводит к развитию депрессивных состояний и мигрени. И эндорфины, и энкефалины, и серотонин обладают уникальными свойствами, облегчают боль, стимулируют заживление ран. Люди, живущие в радости, реже болеют, легко добиваются успеха и легче переносят мелкие неудачи.

Первыми открытыми энкефалинами были пентапептиды мет-энкефалин (*Met-enkephalin*) и лей-энкефалин (*Leu-enkephalin*):



H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH



H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH

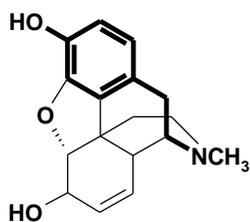
Сейчас открыто по крайней мере 15 эндогенных пептидов, варьирующих длину цепи от 5 до 33 аминокислотных остатков (энкефалины и эндорфины). Эти соединения являются нейрогормонами в мозге и действуют как естественные болеутоляющие тела. Они являются производными от трех неактивных белков-предшественников – *проопиомеланокортина*, *проэнкефалина* и *продинарфина*.

Проопиомеланокортин содержит по одной копии АКТГ (адреноркотикотропный гормон), β -липотропина, β -эндорфина, мет-энкефалина. **β -Липотропин**, полипептид гипофиза, является предшественником мет-энкефалина.

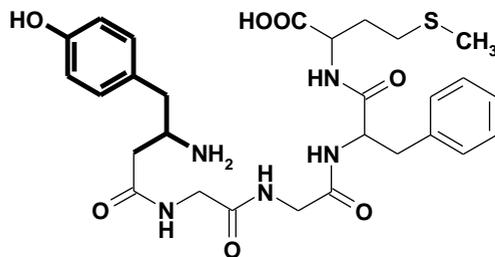
Продинорфин, полипептид гипоталамуса, содержит три копии лей-энкефалина и по одной β -неодинорфина и динорфина. **Динорфин**, полипептид гипофиза, является предшественником лей-энкефалина.

Прознкефалин содержит четыре копии мет-энкефалина, одну – лей-энкефалина.

Обнаружено, что все соединения имеют или мет- или лей-энкефалиновый скелет на N-конце, который подчеркивает важность пентапептидной структуры вместе с анальгетической активностью. Также показано, что тирозиновая часть этих молекул существенна для активности (из формул видно, что тирозиновую часть можно найти и в морфине):



Морфин



Мет-энкефалин

Аналоги энкефалинов

Исследования энкефалинов показали важность тирозинового фенольного кольца и тирозиновой аминогруппы, без которых активность теряется. Замещение тирозина другой аминокислотой приводит к потере активности (единственное исключение – D-серин). Также было обнаружено, что энкефалины легче инактивируются пептидазами *in vivo*. Самая лабильная пептидная связь в энкефалинах между остатками тирозина и глицина, поэтому было проведено много работ с целью стабили-

зировать эту связь по отношению к гидролизу. Можно заместить аминокислоту глицин неприродной D-аминокислотой, к примеру D-аланином. Поскольку D-аминокислоты неприродного происхождения пептидазы не распознают, то и пептидная связь не будет гидролизоваться. Альтернативная тактика замещения L-тирозина D-тирозином невозможна, поскольку это полностью изменяет относительную ориентацию тирозинового ароматического кольца относительно остальной части молекулы, в результате чего аналог не способен связываться с аналгетическим рецептором. Добавление метильной группы на амидный азот может также блокировать гидролиз пептидазами. Еще одна тактика состоит в том, чтобы использовать необычные аминокислоты, которые не распознаются пептидазами.

К сожалению, энкефалины имеют некоторую активность с μ -рецептором, поэтому поиск селективных агентов продолжается.

13.1. Механизмы опиоидных рецепторов

До настоящего времени мы обсуждали рецепторы в основном как «черные ящики». Субстрат подходит, связывается с рецептором и «включает» его. Происходит биологическая реакция, будь то аналгезия, успокоение или что-то еще, но мы не показывали ее суть. Почему морфин должен вызывать аналгезию только посредством присоединения к белку-рецептору?

В общем, все рецепторы в теле расположены на поверхности клеток и действуют как центры коммуникации для различных сообщений, посылаемых от одной части тела к другой. Сообщение может быть послано через нервы или через гормоны, но в конечном счете должно быть передано от одной клетки к другой с помощью химического посредника. Этот химический посредник должен «состыковаться» с рецептором, который его ждет. Когда это сделано, он вынуждает рецептор изменить форму. Это изменение в форме молекулы рецептора может привести к изменению формы некоторых соседних ионных каналов, вызвав изменение потока ионов в клетку или из клетки. Такие эффекты будут в конечном счете иметь биологический эффект в зависимости от воздействия на клетки.

Рассмотрим анальгетические рецепторы немного более детально.

Мю-рецептор (μ)

Как показано на рис. 83, морфин связывается с μ -рецептором и вызывает изменение его формы. Это изменение далее открывает ионный канал в клеточной мембране, в результате ионы калия могут выходить из клетки. Этот поток гиперполяризует мембранный потенциал и делает его более трудным для достижения активного потенциала.

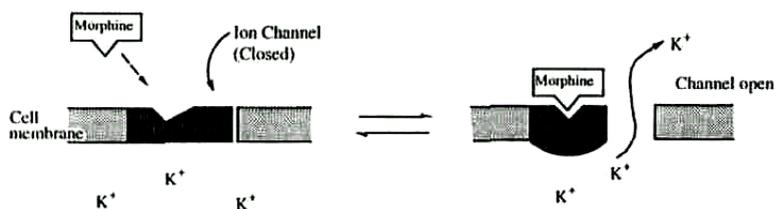


Рис. 83. Связывание морфина с μ -рецептором

Это приводит к уменьшению нейронной возбудимости. Увеличение калиевой проницаемости уменьшает приток ионов кальция в нервное окончание. Оба эффекта «закрывают» нерв и блокируют болевое сообщение.

К сожалению, этот рецептор также связан с опасными побочными эффектами наркотических анальгетиков. Возможно, есть два незначительно отличающихся мю-рецептора, один из которых отвечает за анальгезию, а другой за побочные эффекты.

Каппа-рецептор (κ)

κ -Рецептор напрямую связан с кальциевым каналом (рис. 84). Когда агонист связывается с κ -рецептором, рецептор изменяет конформацию и кальциевый канал (обычно открытый, когда нерв возбуждается и передает болевое сообщение) закрывается. Кальций требуется для производства нервных нейромедиаторов, поэтому нерв закрыт и не может передать болевое сообщение.

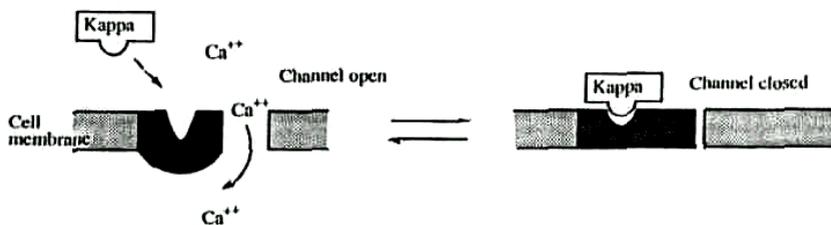


Рис. 84. Связь к-рецептора и кальциевых каналов

Дельта-рецептор (Δ)

В случае Δ -рецептора ионные каналы в передачу сигнала не вовлекаются (рис. 85). Молекула субстрата связывается с Δ -рецептором, сообщение проходит через клеточную мембрану к мембранно-связанному белку. Этот белок затем действует как фермент для образования циклического АМФ.

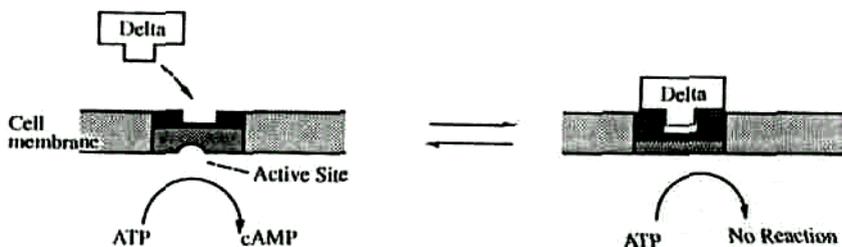
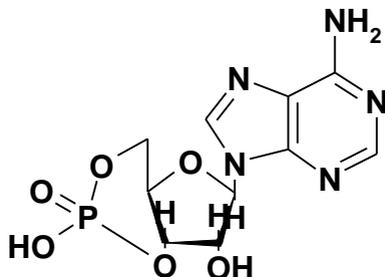


Рис. 85. Дельта-рецептор

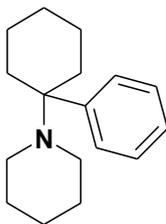
Циклический АМФ действует как вторичный посредник и передает болевые сообщения дальше:



Циклический аденозин монофосфат (цАМФ)

Сигма-рецептор(σ)

Этот рецептор не является анальгетическим, но мы уже видели, что он может быть активирован определенными опиатными молекулами, такими как налорфин. σ -Рецептор связан с галлюциногенными и психодислептическими эффектами фенциклидина, иначе известного как «присыпка ангела»:



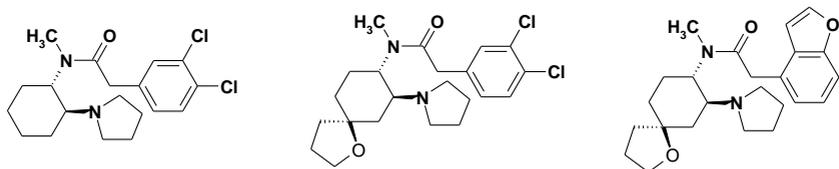
Фенциклидин («присыпка ангела»)

Будущее

В области поиска обезболивающих среди опиатов существует четыре подхода:

1. κ -Агонисты.

Соединения такого типа должны иметь гораздо меньшие побочные эффекты в сравнении с неселективными агонистами. Однако полностью специфичный κ -агонист еще не обнаружен. Примеры некоторых κ -агонистов:



2. Селективность между подтипами μ -рецепторов.

Предполагают, что существует два незначительно отличающихся друг от друга μ -рецептора, один из которых отвечает за анальгезию (μ_1), а другой – только за нежелательные побочные эффекты, такие как угнетение дыхания (μ_2). Если будет найдено вещество, проявляющее такую селективность, то оно окажется очень полезным анальгетиком.

3 Периферические опиатные рецепторы.

Периферические опиатные рецепторы были идентифицированы в подвздошной кишке, они отвечают за антидиарейную активность опиатов. Если периферические сенсорные нервы также обладают опиатными рецепторами, то могло бы быть разработано лекарство для этих зон, в результате не было бы нужды пересекать гематоэнцефалический барьер.

4. Блокирование постсинаптических рецепторов.

Возможна изоляция химических посредников от передачи болевой информации посредством блокирования постсинаптических рецепторов селективными антагонистами (самый лучший подход). Это включало бы опиоиды и неопиоидные механизмы, но могло бы быть самым лучшим способом элиминирования побочных эффектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Berger F. M. He pharmacological properties of 2-methyl, 2-n propyl-1,3 propandioldicarbamate (Miltown), a new inter-neural blocking agent // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1954. – Vol. 112. – P. 413–423.
2. Clemedson C., Barile F. A., Ekwall B. [et al.] // *AT LA.* – 1998. – Vol. 26, suppl. 1. – P. 93.
3. Courvoisier S., Fournel J., Ducrot R., Kolsky M., Koetchet P. // *Arch. Int. Pharmacodyn.* – 1953. – No. 92. – P. 305.
4. Neighbourhoodbehaviour: a useful concept for validation of “molecular diversity” descriptors / R. D. Cramer, R. D. Clark, D. E. Patterson, A. M. Ferguson // *J. Med. Chem.* – 1996. – No. 39. – P. 3049–3059.
5. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids / D. W. Cushman, H. S. Cheung, E. F. Sabo and M. A. Ondetti // *Biochemistry.* – 1977. – No. 16. – P. 5484–5491.
6. Daniel E. E., Paton D. M. *Methods in pharmacology. Vol. 3. Smooth muscle.* – London: Plenum Press, 1975.
7. Drews J. Drug discovery: a historical perspective // *Science.* – 17 March 2000. – Vol. 287. – P. 1960–1964.
8. Durant G., Emmett J. C., Ganellin C. R. *Second symposium on histamine H₂ – receptor antagonists* / eds. W. L. Burland, M.A. Simkins. – Amsterdam; Oxford, 1977.
9. Ehrlich Dtsch. In der modernen Computer chemie spielen Pharmakophore einewichtige Rolle // *Chem. Ges.* – 1909. – Vol. 42. – P.17.
10. Endo A. Review of mevastatin and related compounds // *J. Med. Chem.* – 1985. – Vol. 28. – P. 401.
11. Synthesis and antihypertensive activity of 6,7-disubstituted trans-4-amino-3,4-dihydro-2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran-3-ols / J. M. Evans, C. S. Fake, T. C. Hamilton, R. H. Poyser, G. A. Showell // *J. Med. Chem.* – 1984. – Vol . 27. – P.1127–1131.
12. Identification of nonpeptidicurotensin II receptor antagonists by virtual screening based on a pharmacophore model derived

- from structure-activity relationships and nuclear magnetic resonance studies on urotensin II / S. Flohr, M. Kurz, E. Kostenis, A. Brkovich, A. Fournier, T. Klabunde // *J. Med. Chem.* – 2000. – Vol. 45. – P. 1799–1805.
13. Hansch C., Leo A. // *Exploring QSAR. Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology* / American Chemical Society. – Washington, 1995.
 14. Kubinyi H. *Applications of Hansch analysis // QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches (Methods and Principles in Medicinal Chemistry)*. – VCH, 1993. – 251 p.
 15. Leake C. D. *A Historical account of pharmacology to the 20th century*. – Springfield: Charles C Thomas, 1975.
 16. Novel technologies for virtual screening / T. Lengauer, C. Lemmen, M. Rarey, M. Zimmermann // *Drug Discov.* – 2004. – Vol. 9. – P. 27–34.
 17. *Medicinal Chemistry: Principles and Practice* / ed. F. D. King, R.S. Chem. – Cambridge, 1994. – 182 p.
 18. Murray D. D., Shimkets R. Discovery and development of a genomic drug // *Current Drug Discovery Technologies*. – 2003. – No. 6. – P. 2733.
 19. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor / K. Palczewski [et al.] // *Science*. – 2000. – Vol. 289. – P. 739–745.
 20. Patrick G. L. *An Introduction to Medicinal Chemistry*. – 5th ed. – Oxford: Oxford University Press, 2013. – 814 p.
 21. Rang H. P., Dale M. M. *Pharmacology*. – Edinburgh: Churchill Livingstone, 2011.
 22. Smith C. M., Reynard A. M. *Textbook of Pharmacology*. – Philadelphia: Saunders, 1991.
 23. Suffness M. *Annual Reports in Medicinal Chemistry* / ed. J. A. Bristol. – San Diego, 1993. – 305 p.
 24. Sugrue M. F. New approaches to antiglaucoma therapy // *J. Med. Chem.* – 1997. – Vol. 40. – P. 2793–2809.
 25. Valler M. J. and Green D. Diversity screening versus focused screening in drug discovery // *Drug Discovery Today*. – 2000. – Vol. 7. – P. 286–293.
 26. Wermuth C. G. *The Practice of Medicinal Chemistry*. – 3rd ed. – France, Illkirch: Prestwick Chemical Inc., 2008. – 573 p.

27. Баренбойм Г. М., Маленков А. Г. Биологически активные вещества. Новые принципы поиска. – М.: Наука, 1986. – 231 с.
28. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия. – М.: Медпресс-информ, 2007. – 622 с.
29. Белоусов Ю. Б., Гуревич К. Г. Клиническая фармакология. – М.: Литтерра, 2005. – 288 с.
30. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.
31. Граник В. Г. Основы медицинской химии. – М.: Вузовская книга, 2001. – 384 с.
32. Двойрин В. В., Клименков А. А. Методика контролируемых клинических испытаний. – М.: Медицина, 1985. – 142 с.
33. Зефирова О. Н., Зефиров Н. С. Медицинская химия (Medicinal chemistry). Краткий исторический очерк, определения и цели // Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия. – 2000. – Т. 41, № 1. – С. 43–47.
34. Зефирова О. Н., Зефиров Н. С. Медицинская химия (Medicinal chemistry). Методологические основы создания лекарственных препаратов // Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия. – 2000. – Т. 41, № 2. – С. 103–108.
35. Косарев В. В., Бабанов С. А., Астахова А. В. Фармакология и лекарственная терапия: справочник / под ред. чл.-корр. РАМН В. К. Лепехина. – М.: Эксмо, 2009. – 482 с.
36. Косарев В. В., Лотков В. С., Бабанов С. А. Клиническая фармакология. – Ростов-на/Д: Феникс, 2008. – 352 с.
37. Котельников Г. П., Шпигель А. С. Доказательная медицина. Научно обоснованная медицинская практика / СамГМУ. – Самара, 2000. – 116 с.
38. Кукес В. Г. Клиническая фармакология. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2008. – 948 с.
39. Машковский М. Д. Лекарственные средства. – М.: Новая волна, 2010. – 1216 с.
40. Овчинников Ю. А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987. – 816 с.

41. Орлов В. Д., Липсон В. В., Иванов В. В. Медицинская химия. – Харьков: Фолио, 2005. – 461 с.
42. Петров В. И., Недогода С. В. Медицина, основанная на доказательствах. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2009. – 142 с.
43. Поздняков В. С., Иванов Н. Г. Изменение функционального состояния печени у крыс при воздействии ССЦ // Токсикология новых промышленных химических веществ. – М., 1979. – Вып. 15. – С. 87–90.
44. Харкевич Д. А. Фармакология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 908 с.
45. Химия антибиотиков / М. М. Шемякин, А. С. Хохлов, М. Н. Колосов, Л. Д. Бергельсон, В. К. Антонов. – М., 1961. – 776 с.

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Абстиненция. Особенное физическое и психическое состояние, появляющееся после внезапного прекращения принятия одурманивающих средств.

Агонист. Вещество, в результате взаимодействия которого со специфическим рецептором индуцируется цепь внутриклеточных биохимических процессов.

Активный транспорт. Перенос растворенного вещества против градиента концентрации, требующий энергетических затрат.

Аллергия. Приобретенная повышенная чувствительность организма к веществам (аллергенам), обусловленная иммунологическими механизмами.

Аллостерические ферменты. Регуляторные ферменты, активность которых меняется при связывании с ними субстрата не в каталитическом центре, а в другом участке.

Анаболизм. Процесс ассимиляции питательных веществ и превращения их в компоненты клеток, требующий затрат энергии.

Антагонист. Вещество, связывающееся с рецептором, но не вызывающее стимуляции внутриклеточного ответа.

Анальгезия. Состояние сниженного болевого восприятия, не сопровождающееся отключением сознания.

Анестезия. Отсутствие чувствительности, наступающее в результате медикаментозного угнетения (или заболевания) рецепции, проведения импульсов или функционирования нервных центров.

Анальгетик. Средство, устраняющее чувство боли.

Анестетик. Вещество, обратимо угнетающее нервную функцию, что сопровождается потерей болевых и/или других ощущений.

Анксиолитик. Вещество, устраняющее чувство страха (транквилизатор). Антиангинальные средства. ЛС, увеличивающие приток крови к миокарду или снижающие его потребность в кислороде.

Антибиотики. Вещества, продуцируемые различными видами микроорганизмов и растений в окружающую среду. Выполняют защитную функцию от других видов.

Антиген. Чужеродная для данного организма молекула, вызывающая синтез специфического антитела у позвоночных.

Антипиретик. Вещество, снижающее лихорадку.

Антисептик. Вещество, обладающее обеззараживающим действием.

Биодоступность. Количественная характеристика неизмененного вещества, поступившего в плазму крови, по отношению к исходной дозе введенного в организм ЛВ.

Генетический алгоритм (эволюционный алгоритм). Оптимизационный алгоритм, симулирующий механизмы дарвиновской эволюционной теории (случайные мутации и отбор) для нахождения наилучшей дескрипторной модели, описывающей фармакохимические данные.

Генетический код. Набор триплетов в ДНК, кодирующих аминокислоты белков.

Ген. Единица наследственности, занимающая специфическое место (локус) в хромосоме, способная к самовоспроизведению в клеточном цикле, содержит информацию о последовательности аминокислот, зашифрованную в виде последовательности нуклеотидов.

Геном. Полный набор хромосом. Геном человека состоит из 23 пар хромосом.

Гипергликемия. Повышенное содержание глюкозы в крови.

Гистоны. Основные белки, связанные с хромосомами эукариотических клеток.

Гидростатическое давление. Давление столба воды над условным уровнем.

Гомеостаз. Физиологический процесс поддержания постоянства внутренней среды организма, при котором различные параметры организма (давление крови, температура тела, кислотно-щелочной баланс и т.п.) поддерживаются в равновесии, несмотря на изменение условий окружающей среды.

Дескриптор. Параметр, характеризующий некий структурный, геометрический или физико-химический аспект молекулярной системы.

Дискриминантный анализ. Статистический метод нахождения функций дескрипторного набора, с помощью которых можно провести разделение молекулярных систем по различным классам биологической активности.

Инвагинация (*от лат. in – в, внутрь и vagina – ножны, оболочка*) клеточной мембраны с последующим образованием пузырька – вакуоли.

Кинины. Биологически активные полипептиды, образующиеся в плазме крови при наличии в организме повреждения или очага воспаления. Повышают проницаемость сосудов и расширяют просвет в них, снижают артериальное давление, сокращают гладкую мускулатуру.

Кластерный анализ. Метод группировки (кластеризации) химических или фармакологических данных. Цель кластерного анализа – выявление подобных молекулярных систем.

Количественные соотношения структура-активность (Quantitative Structure-Activity Relationships, QSAR). Математические соотношения, связывающие параметры химической структуры молекул с их фармакологической активностью. Методы QSAR обычно включают в себя различные регрессионные подходы и методы распознавания образов.

Методы распознавания образов (Pattern Recognition, PR). Группа статистических методов, позволяющих идентифицировать различные типы (классы) соединений по степени выраженности их биологического эффекта (активные – неактивные – слабоактивные).

Осмотическое давление. Диффузное давление, термодинамический параметр, характеризующий стремление раствора к понижению концентрации при соприкосновении с чистым растворителем.

Пироген. Вещество, вызывающее повышение температуры тела.

Пролиферация. Рост за счет размножения клеток.

Промотор. Участок ДНК, с которым связывается РНК-полимераза, инициируя транскрипцию.

Простагландины. Класс жирорастворимых гормоноподобных регуляторных молекул, являющихся производными арахидоновой кислоты и других полиненасыщенных жирных кислот.

Протозоозы. Патогенные для человека простейшие, являющиеся возбудителями различных заболеваний.

Регрессионный анализ. Метод построения зависимостей (линейных или нелинейных) между набором дескрипторов и биоактивностью молекул. В проблеме QSAR широко используется метод наименьших квадратов (МНК) и так называемый неполный метод наименьших квадратов (Partial Least Squares, PLS).

Ретровирусы. РНК-содержащие вирусы, в состав которых входит РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза).

Рецептор. Белковая молекула на поверхности клетки или в цитоплазме или участок ДНК в ядре клетки, связывающиеся со специфическими веществами – агонистами и антагонистами.

Сенсибилизация. Повышенная чувствительность организма к воздействию какого-либо фактора окружающей или внутренней среды.

Симптом. Любой болезненный феномен или отклонение от нормальной функции, возникающий или ощущаемый пациентом и указывающий на болезнь.

Синдром. Относящаяся к болезни совокупность симптомов патологического процесса.

Синергизм. Усиление действия ЛС при их совместном применении по сравнению с суммарным действием.

Стрептококк (лат. *Streptococcus*). Род шаровидных или овоидных аспорогенных грамположительных хемоорганотрофных факультативно-анаэробных бактерий из семейства *Streptococcaceae*. Паразиты животных и человека. Обитают в дыхательных и пищеварительных путях, особенно в полости рта, носа, в толстом кишечнике.

Толерантность. Способность переносить или становиться менее чувствительным к стимулу, особенно во время продолжительного контакта с ним. Способность противостоять действию

ЛВ или токсина в больших дозах без проявления его повреждающего эффекта.

Тонический. Находящийся в состоянии продолжительного непрекращающегося действия; термин используется в основном применительно к мышечным сокращениям.

Трипаносомы. Одноклеточные паразиты, вызывающие многие заболевания.

Ульцерогенный. Вызывающий язву.

Фагоцит. Клетка, способная поглощать бактерии, простейших, другие клетки и их остатки. К фагоцитам относятся лейкоциты и макрофаги.

Фертильность. Способность приносить потомство.

Цитоплазма. Вещество клетки за исключением ядра; состоит из коллоидной протоплазмы, содержащей различные органеллы и включения.

Цитохромы. Гем-содержащие белки-переносчики электронов при дыхании и фотосинтезе.

Широта терапевтического действия (LD_{50}/ED_{50}). Диапазон между минимальной терапевтической и минимальной токсической дозами.

Энтеральные способы введения препаратов. Способы, при которых ЛС, прежде чем попасть в системный кровоток, поступает в желудочно-кишечный тракт.

Экзон. Кодированный фрагмент молекулы ДНК, копия которого в виде информационной РНК транслируется на рибосомах.

Ядрышко. Структурная единица ядра эукариотических клеток, участвующая в синтезе рРНК и образовании рибосом.

In vivo (лат.) – буквально «в (на) живом»), т.е. «внутри живого организма» или «внутри клетки».

In vitro (лат. «в стекле») – это технология выполнения экспериментов, когда опыты проводятся «в пробирке» – вне живого организма.

In silico – термин, обозначающий компьютерное моделирование (симуляцию) эксперимента, чаще биологического.

СПРАВКА ОБ АВТОРЕ



Лисовенко Наталья Юрьевна,
канд. хим. наук, и. о. завкафедрой
биохимии и медицинской
биотехнологии.

Сфера научных интересов:
биохимия, химия гетероциклических
карбонильных соединений, синтез
биологически активных соединений.

Автор 110 научных работ,
в том числе 7 патентов РФ,
40 статей, входящих в перечень
ВАК, базы данных Scopus,
Web of Science.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие.....	3
Введение.....	4
Условные сокращения.....	6
РАЗДЕЛ I. КРАТКИЙ ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ. ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ЦЕЛИ МЕДИЦИНСКОЙ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ.....	7
1. История создания лекарственных препаратов.....	7
1.1. Период алхимии (IV–XV вв.).....	9
1.2. Период иатрохимии (XVI–XVII вв.)	10
1.3. Период зарождения и развития химических теорий (XVII–XX вв.).....	11
2. Медицинская и фармацевтическая химия.....	20
2.1. Медицинская химия.....	20
2.2. Основные фазы рационального поиска и конструирования лекарственных препаратов. Соединение-лидер и стратегия поиска физиологически активных веществ.....	25
2.3. Фармацевтическая химия.....	41
3. Связь между химической структурой, свойствами веществ и их действием на организм.....	44
4. Роль вычислительной техники в драг-дизайне.....	48
5. Методы ММ, основывающиеся на структуре лиганда.....	49
6. Методы ММ, основывающиеся на структуре белка.....	50
7. Ограничения применения компьютерных методов.....	53
РАЗДЕЛ II. ПРОВЕДЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ.....	55
1. Последовательность и этапы внедрения препарата в практику. Основные фармакокинетические и фармакодинамические характеристики.....	55
1.1. Биологические испытания.....	57
1.2. Исследования на лабораторных животных.....	59
1.3. Доклинические исследования лекарственных средств.....	61
1.4. Клинические исследования.....	72
РАЗДЕЛ III. ФАРМАКОДИНАМИКА, ФАРМАКОКИНЕТИКА. ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И МОДЕЛИ.....	93
1. Фармакодинамика.....	93
2. Фармакокинетика.....	99
2.1. Фармакокинетические модели.....	100
3. Фармакогенетика.....	112
3.1. Наследственные дефекты ферментных систем.....	114

3.2. Недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.....	115
3.3. Недостаточность ацетилтрансферазы.....	117
3.4. Недостаточность каталазы.....	118
РАЗДЕЛ IV. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ.....	120
1. Дозирование лекарств.....	124
2. Пути введения лекарственных веществ.....	129
3. Клеточные мембраны, защитные барьеры организма и способы их преодоления.....	132
РАЗДЕЛ V. ЦЕНТРАЛЬНАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА (ЦНС) И ПЕРЕФЕРИЧЕСКАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ.....	137
1. Понятие – нейрон. Структура нейрона. Химические и физические основы возникновения нервных импульсов.....	138
1.1. Синапс.....	140
1.2. Нейромедиаторы.....	143
1.3. Природа нервного импульса.....	149
1.4. Строение клеточной мембраны.....	156
1.5. Перенос частиц и высокомолекулярных соединений через мембраны.....	161
1.6. Барьерные функции организма.....	163
2. Рецепторы.....	167
2.1. Лекарственное действие на рецепторы.....	171
3. Ионные каналы и их управление.....	174
3.1. Ферменты, граничащие с мембраной, – активация / дезактивация.....	177
4. Разработка агонистов.....	182
4.1. Связывающие группы.....	182
4.2. Расположение связывающих групп.....	184
5. Фармакофоры.....	187
5.1. Размер и форма.....	189
5.2. Дизайн антагонистов.....	190
5.3. Соединения, действующие как антагонисты в связывающей зоне.....	190
5.4. Частичные агонисты.....	193
6. Десенсбилизация.....	194
7. Переносимость и зависимость.....	195
8. Действие физиологически активных соединений на ацетилхолиновые рецепторы.....	197
8.1. Ацетилхолин и холиномиметические вещества.....	198
8.2. Средства, действующие на периферические холинергические процессы.....	208

8.3. Антихолинергические средства, блокирующие преимущественно периферические холинореактивные системы.....	211
8.4. Ингибиторы холинэстеразы.	217
9. Действие ФАВ на адренергические рецепторы.....	223
9.1. Синтез, высвобождение и распад катехоламинов.....	227
9.2. Классификация адренергических средств.....	233
9.3. Средства, стимулирующие альфа и бета-адренорецепторы.....	235
9.4. Средства, стимулирующие преимущественно альфа-адренорецепторы (альфа-адреномиметики).....	238
9.5. Средства, стимулирующие преимущественно бета-адренорецепторы.....	241
9.6. Симпатолитические средства (симпатолитики) или средства, угнетающие передачу возбуждения с адренергических нейронов (сердечно-сосудистые).....	245
9.7. Адренергические вещества, преимущественно угнетающие нейрональный захват катехоламинов.	246
9.8. Средства, блокирующие адренорецепторы (адреноблокаторы)....	250
9.9. Средства, блокирующие бета-адренорецепторы, или бета-адреноблокаторы	255
10. Энергетика биохимических процессов и вмешательство в нее лекарственных препаратов.....	260
10.1. Кислотный/основной катализ.....	276
10.2. Нуклеофильные группы.	276
10.3. Лекарственное использование ингибиторов фермента.....	283
11. Лекарственные средства, действующие на ДНК.....	284
11.1. Интеркалирующие агенты	288
11.2. Алкилирующие агенты.	302
11.3. Метод сокращения активности алкилирующего агента.....	305
11.4. Метод уменьшения активности алкилирующего агента	305
11.5. Лекарства, действующие путем обрезания цепи, разрушения ДНК.....	307
11.6. Вещества, ингибирующие начальные стадии синтеза ДНК.....	310
12. Опиумные анальгетики.....	311
13. Энкефалины и эндорфины.....	348
13.1. Механизмы опиоидных рецепторов.....	351
Список литературы.....	356
Словарь терминов.....	360
Справка об авторе.....	365

Учебное издание

Лисовенко Наталья Юрьевна

Медицинская химия

Учебное пособие

Редактор *Е. Б. Денисова*
Корректор *М. А. Антонова*
Компьютерная верстка: *Н. Ю. Лисовенко*

Объем данных 6,03 Мб
Подписано к использованию 05.03.2022

Размещено в открытом доступе
на сайте www.psu.ru
в разделе НАУКА / Электронные публикации
и в электронной мультимедийной библиотеке ELiS

Издательский центр
Пермского государственного
национального исследовательского университета
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15