

Л.Б.Пиотровский

**ДИЗАЙН
ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ВЕЩЕСТВ
В ИНСТИТУТЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
МЕДИЦИНЫ**

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

2021

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ»

Левон Борисович Пиотровский

**ДИЗАЙН ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ВЕЩЕСТВ В ИНСТИТУТЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
МЕДИЦИНЫ**

*Актовая речь на заседании
Ученого совета Института
экспериментальной медицины
декабрь 2021*

Санкт-Петербург
2021

Мы плохо знаем историю своего института, историю различных подразделений. Тем более, что сейчас уже немного сотрудников, которые помнят, что и как было (причем, естественно, что каждый помнит по-своему). Мне, например, неоднократно задавали вопрос, а что, собственно говоря, сделал отдел фармакологии? Поэтому одна из задач моей лекции — представление достижений как отдела фармакологии в целом, так и лаборатории синтеза лекарственных веществ.

Сразу предупреждаю, что от обилия структур может зарядить в глазах. Но такова работа химиков и фармакологов — работаем с разнообразными структурами — не с тем, с чем хочется, а с тем, с чем надо. Я буду говорить в основном о работах химиков отдела фармакологии, но все время имея в виду что это лишь часть всего отдела. Это не значит, что в отделе больше ничего не делалось. Просто про это не мне рассказывать. Итак...

Времена не выбирают

Я пришел в Институт экспериментальной медицины АМН СССР почти 53 года тому назад, в феврале 1969 г. На химическом факультете ЛГУ я проходил практику на кафедре природных соединений, в группе пептидной химии М.И. Титова, который тогда занимался первым советским синтезом инсулина. В первой половине года он должен был уехать в командировку в Швейцарию, и его сотрудники заявили, что тянуть целый семестр двух практикантов им не по силам. И поэтому я, как ленинградец, был отправлен на практику в ИЭМ.

Невозможно представить развитие чего угодно без связи с внешним миром. Поэтому я позволю себе маленькое отступление по истории института. Итак, я появился в ИЭМе 10 февраля 1969 г, через месяц после смерти Д.А. Бирюкова. У Пушкина в жизни было три царя. У меня за 50 с лишним лет в ИЭМе было пять директоров. Не претендуя на серьезный анализ, я позволю высказать свое собственное видение ситуации.

Пиотровский Левон Борисович

Дизайн лекарственных веществ в институте экспериментальной медицины. Актовая речь на заседании Ученого совета. – СПб.: Издательско-полиграфический комплекс „НП-Принт“, 2021. – 36 с.

При Д.А. Бирюкове ИЭМ представлял собой институт университетского типа. В институте работали такие известные ученые как В.И. Иоффе, П.С. Купалов, П.Г. Светлов, С.А. Нейфах, С.В. Аничков, А.А. Смородинцев и др.

После него пришла Н.П. Бехтерева. И институт университетского типа стал превращаться в обычный, так как ее усилия были направлены на развитие собственного отдела. Основное направление ее исследований в то время осталось у меня в памяти как решение «кроссвордов» — какой пик от какого нейрона на ЭЭГ соответствует слову «стул», а какой — слову «стол» и тому подобное.

Странные вещи при этом творились в институте. Я до сих пор не могу понять, почему, когда была объявлена государственная программа по развитию молекулярной биологии, в институте ее возглавил физиолог Г.А. Вартанян, а не кто-то из молекулярных биологов (а было кому!). Как я уже отмечал, Н.П. Бехтерева волновала только судьба ее отдела. А что касается всех остальных отделов, то они развивались не столько благодаря усилиям директора, сколько при полном ее невнимании. Как было сказано в одной из статей про институт, в конце своей деятельности на посту директора она поступила вопреки стратегическим интересам института. Хочу еще раз подчеркнуть — я высказываю свое личное мнение. Институт развивался, просто Н.П. Бехтерева делала уклон в одну сторону. А позиция директора все-таки значит немало. И институт покатился вниз.

В 1990 г. Н.П. Бехтеревой пришлось уйти с поста директора. Этот пост занял Б.И. Ткаченко. Но принял он институт в плачевном состоянии (хотя Н.П. Бехтерева увела из института «лишь один» отдел, это было 40% штата и 50% фондов). Да и времена наступили, в которых развиваться было трудно. Главное, что Борис Иванович смог институт сохранить. И к концу его директорства началось некоторое движение вперед. После смерти Б.И. Ткаченко стал директором один из его замов, и все остановилось. Ну, честно говоря, что был он директором, что не был — ничего не делал все равно.

Потом пришла очередь Г.А. Софронова — дела стали немножко улучшаться. Но я последую совету одного из великих Толстых:

«Ходить бывает склизко по камушкам иным, и так, о том, что близко, мы лучше умолчим».

Вернемся к лаборатории синтеза лекарственных веществ. Речь в моей лекции пойдет, естественно, именно о ней. Но при этом еще раз подчёркиваю, что лаборатория — часть отдела фармакологии, и многие работы проводились совместно со всем отделом.

Сам отдел фармакологии был создан в 1923 г. по инициативе крупнейшего отечественного фармаколога Н.П. Кравкова. Его преждевременная смерть в 1924 г. не позволила развернуть широкие исследования и отдел был возрожден в 1948 г. под руководством С.В. Аничкова. Практически сразу же им была создана лаборатория синтеза лекарственных веществ. С 1950 г. ею руководил Н.В. Хромов-Борисов.

Лаборатория в те годы располагалась в трех помещениях — на последнем этаже берегового корпуса, в «Красном доме» и были еще две комнаты на последнем этаже корпуса по Кировскому проспекту (там, где теперь музей).

Самым большим (но и самым холодным) было помещение в «Красном доме» — пять комнат и большой коридор. Шесть вытяжных шкафов работали практически весь рабочий день. Если учесть, что от улицы эти комнаты отделяли два неотапливаемых лестничных пролета и две двери (одна из них фанерная), то температура в лаборатории зимой выше 11–12°C не поднималась. Вот так и работали.

Один раз к нам зашла директор, и была в ужасе: как люди могут работать в валенках и ватниках? Но ничего после визита не изменилось. Более того, когда запускали новый корпус, где один этаж был запланирован под нашу лабораторию, нас пытались туда не пустить. Спасли строители: «В проекте есть вытяжные шкафы, значит будем их ставить, и знать ничего не знаем». А переделывать уже оборудованную химическую лабораторию под обычное помещение — дело слишком затратное, вот нас и пустили.

В 1969 г. я попал именно в «Красный дом» под непосредственное руководство Н.И. Кудряшовой. Выполнил работу по преддипломной практике и решил не возвращаться в Университет к пептидной химии, а остаться в ИЭМ как минимум на диплом.

Но одним дипломом это не кончилось — в 1970 г. я был принят в аспирантуру. Вот так и получилось, что реально с февраля 1969 г. (аспирант с сентября 1970 г.) моя жизнь уже 53 года связана с ИЭМом. (Хотя есть еще одна официальная дата — сентябрь 1973 г., когда я после аспирантуры был зачислен в штат. Так что если считать так, то 50 лет еще нет.)

Старые добрые времена

Годы примерно до середины 1960-х были самыми успешными годами создания новых лекарственных веществ. Первым препаратом, созданным в отделе, был дибазол. Работа велась совместно с кафедрой красителей Ленинградского технологического института им. Ленсовета и Военно-морской медицинской академией. В эти же годы в лаборатории были разработаны и доведены до клинического применения метилурацил, пентоксил, параамион, бензогексоний, сигетин, метамизил, этерофен, этимизол. Некоторые из них не потеряли своего значения до сегодняшнего времени.

В середине 50-х годов в мире всерьез обсуждалась идея всеобщего скрининга — все на все. Вспомним, какие это были годы. Только в 1953 г. была опубликована «двойная спираль», только в начале 60-х годов был расшифрован генетический код. Так что о мишенях лекарственных веществ, о рецепторах ничего не было известно и никаких серьезных методик *in vitro* почти не существовало. Но идея тотального скрининга достаточно быстро умерла, так стало очевидно, что при работе *in vivo* никаких денег не хватит.

В отделе основным направлением исследований был рациональный дизайн, и проводился он на основе модификации структур известных препаратов. С.Ф. Торф занимался производными мезо-3,4-дифенилгексана, Н.И. Кудряшова — производными β-фенилизопропиламина, Н.Б. Виноградова — производными имидазола и т.д. И всех в работе «объединяли» наши аналитики Т.А. Михайлова и Г.Ф. Леонтьева, так как без данных элементного анализа нельзя было судить не только о чистоте вещества,

но часто и о его строении, так как физико-химические методы находились еще в зачаточном состоянии.

Я часто повторяю фразу: «Нет неактивных веществ, есть плохие фармакологи». Часто ее воспринимают как отрицательную характеристику фармакологов. Но в действительности я имею в виду, что хороший фармаколог всегда найдет у данного соединения (а тем более в данном ряду) какую-то фармакологическую активность. Подбор заместителей для синтеза ряда проводится без какого-либо рационального базиса. Поэтому, как правило, ничего, кроме пригодного только для статей, не получается. Это и есть типичный «поиск лекарственных средств», а не «рациональный дизайн». Такие темы, к сожалению, в отделе существовали всегда, даже в последние годы.

Но внутри лаборатории уже зрели новые подходы к количественному дизайну и управлению действием лекарственных веществ. В 1966 г. Н.В. Хромовым-Борисовым была предложена тетрамерная схема строения никотинового холинорецептора, основанная на существовании двух типов бис-катионных блокаторов — с расстоянием между катионными группами в 20 Å или 14 Å. Согласно этой схеме, в самом рецепторе имеются четыре анионных пункта, расположенные по вершинам квадрата. Бис-катионы с расстоянием между атомами азота порядка 20 Å реагируют по диагонали квадрата, а бис-катионы с расстоянием между атомами азота 14 Å связываются с пунктами, расположенными на стороне квадрата. **Подчеркну еще раз, это была первая попытка молекулярного дизайна**, и делалась она в 60-е годы, когда никаких персональных компьютеров еще и в помине не было, а рассчитывалось все с помощью линейки и миллиметровки.

На основании этой схемы было получено несколько высокоактивных соединений (Н.В. Хромов-Борисов, В.Е. Гмиро), в том числе и бис-катион строения $\text{Me}_3\text{N}^+\text{C}_6\text{H}_5\text{-S-S-C}_6\text{H}_5\text{N}^+\text{Me}_3$. Это соединение представляло собой первую попытку управления действием лекарственного вещества в организме. При введении веществ, способных расщеплять дисульфидную связь, его действие прекращалось, так как монокатионы не способны активировать рецептор (схема 1):

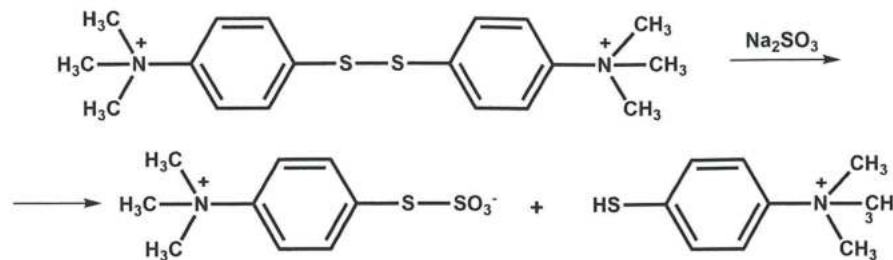


Схема 1. Управление действием лекарственных веществ

Что же касается предложенной схемы строения рецептора, то оказалось, что была предложена схема строения ионного канала рецептора, а не его узнающего сайта. Но когда эта схема появилась, о ионных каналах еще никто и не слыхивал.

По мере появления новых знаний и возможностей, расширялись и задачи. В частности, большой цикл работ Н.В. Хромова-Борисова и Н.Б. Бровцовой был посвящен анализу конформационных особенностей самого ацетилхолина. Так в лаборатории *еще* в начале 70-х годов развивался молекулярный дизайн. В 1989 г. за исследование механизмов блокирования хемоправляемых ионных каналов в периферических синапсах коллективу сотрудников ИЭФиБ АН СССР, Института физиологии им. А.А. Богомольца АН Украины и ИЭМ РАМН (В.Е. Гмиро) была присуждена Государственная премия.

Венцом работ по синтезу миорелаксантов в ряду блокаторов ионных каналов АХ рецептора явился синтез теркурония, но об этом позже.

Одним из наиболее значимых достижений отдела фармакологии в целом, и лаборатории синтеза лекарственных веществ в частности, было создание ряда антифеинов. Этот ряд был синтезирован Л.Р. Давиденковым (позднее с антифеинами работала Н.Б. Виноградова), как «разомкнутые» аналоги кофеина, но с «поворотом» одной группы. Достаточно быстро было установлено, что их действие противоположно действию кофеина, и поэтому ряд получил свое название «антифеины» (рис. 1).

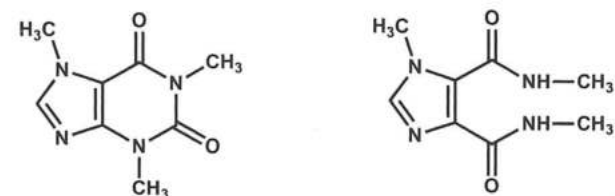


Рис. 1. Кофеин и антифеин

Из этого ряда в практику вышел этильный аналог под названием «этимизол». На его примере можно проиллюстрировать важность не только биологических, но и технологических факторов в создании лекарственных веществ. Хотя по активности этильный аналог незначительно уступал метильному, но в производстве был проще и выгоднее.

Этимизол оказался одним из самых сильных дыхательных analeптиков центрального действия, и применялся при травматических шоковых состояниях и асфиксии новорожденных. Но это лишь часть, причем незначительная, его полезных эффектов. Препарат изучался в отделе более 20 лет, литература по нему огромна, но я не буду останавливаться на этом. Отмечу лишь, что у этимизола было найдено еще и репаративное действие. Правда, проявлялось оно лишь в высоких дозах, когда уже были сильно выражены его центральные эффекты. Поэтому было решено лишить его центрального действия. И в данном случае для достижения поставленной цели в молекулу был введен заряд. Желательный эффект был достигнут, так как заряженные соединения не проникают через гематоэнцефалический барьер. Так был получен препарат, получивший впоследствии название крамизол и обладающий выраженным ранозаживляющим действием (рис. 2).

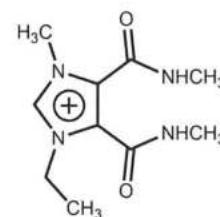


Рис. 2. Крамизол

И все было хорошо и замечательно. Время до середины 60-х годов XX в. было золотым для химии лекарственных веществ. Можно было просто прийти на завод с лабораторной прописью получения препарата, наработать опытную партию, провести все клинические испытания (которые оплачивались Минздравом), получить регистрацию и запустить препарат в практику.

Но в 1962 г. прозвучал тревожный звонок: талидомид. Компания Grünenthal с 1958 г. рекламировала его как лучшее лекарство для беременных и кормящих матерей. По продажам он занимал лидирующие позиции во многих странах, лишь кое-где отставая от аспирина. Но в начале 60-х годов стало очевидно, что прием талидомида беременными приводит к рождению детей с недоразвитием конечностей. Талидомидовая трагедия привела к коренному изменению принципов поиска новых лекарственных веществ и заставила пересмотреть существующую практику их создания и лицензирования, ужесточив требования к препаратам.

Справедливости ради, следует отметить, что препараты, созданные в отделе, были проверены хорошо — ни один из них не был снят из-за каких-либо побочных эффектов.

Ужесточения коснулись не только изучения биологической активности. Резко возросли требования и к химической документации, в частности — заводы стали требовать лабораторные регламенты. Так стала формироваться современная система создания новых лекарственных веществ, система, затрудняющая внедрение новых препаратов мелкими организациями.

Но работы по дизайну новых препаратов в отделе и лаборатории не прекращались. Шел поиск антагонистов никотиновых рецепторов (В.Л. Гольдфарб, Л.Л. Гречишкин), проводился синтез жестких холинергических соединений (В.П. Черепанова, М.Л. Инденбом, Л.Н. Тихонова), исследовались механизмы ароматического нуклеофильного замещения, (Л.Б. Пиотровский, Л.Н. Познякова), и реакция Фриделя-Крафтса в ряду нафталинов (М.А. Думпис) как источник новых синтонов для синтеза.

Н.В. Хромов-Борисов с Н.И. Кудряшовой вели работы по анальгетикам, изучению зависимости их активности от липофильности

молекулы. С этими исследованиями была связана интересная история. Известно, что кокаин имеет 8 изомеров, из которых только один обладает анальгетической активностью. Николай Васильевич попросил кого-то за рубежом прислать для исследования по несколько миллиграмм всех изомеров (кроме активного, естественно). На основании этих материалов была опубликована статья. Но вещества-то остались, и в начале 2000-х годов пришла какая-то инспекция, которая их нашла. Крик стоял «до небес». «Кокаин, да еще разный, о чем вы думаете, мы вас сейчас» и т.д. и т.п. И никакие уже опубликованные статьи не помогали. В результате просто забрали все вещества и ушли. Жалко было безмерно.

«Трансляционная медицина»

Введение новых правил сильно усложнило работу по внедрению новых разработок. Начало 70-х годов — это было время создания производственных объединений. Поэтому С.В. Аничков обратился к властям с предложением создать в Ленинграде химико-фармацевтическое объединение, включающее в себя завод «Фармакон» (производство субстанций), завод «Октябрь» (производство лекарственных форм) и наш отдел как научное подразделение. Но получил отказ — согласно правилам СЭВ (Совет экономической взаимопомощи, был такой, объединявший все социалистические страны) развитие фармацевтической промышленности и снабжение всех остальных стран социалистического лагеря лекарственными препаратами является прерогативой таких стран, как Венгрия, Польша, Болгария и Германия. Во всех остальных странах, в том числе и в СССР, фармацевтическая промышленность существует как стратегический резерв, на случай войны. Поэтому создавать в Ленинграде химико-фармацевтическое объединение никто не будет.

И тогда С.В. Аничков в середине 70-х годов создал в отделе прикладную лабораторию, в задачи которой входила как подготовка препаратов к внедрению, причем не только проведение лабораторных исследований, но и сопровождение клинических испытаний, так и подготовка и утверждение всей технологической

документации. Тогда еще не было термина «трансляционная медицина», но это было именно то, чем мы занимались.

Первым возглавил лабораторию Л.Л. Гречишкин, а технологическую группу — С.Ф. Торф. И все бы было хорошо, но тут грянуло дело Л.Л. Гречишкина (кто помнит, тот знает) и начались проблемы. Не вдаваясь в детали, отмечу лишь, что в результате я был назначен руководителем технологической группы.

В задачи этой группы входило полное сопровождение внедрения нового препарата — составление лабораторно-промышленного регламента, разработка лекарственных форм, разработка проектов временных фармакопейных статей (ВФС) на субстанции и лекарственные формы и их утверждение, исследование стабильности как самой субстанции, так и лекарственной формы, и еще многое другое.

Хочу сразу же отметить, что работа по внедрению лекарственных веществ никакого отношения к науке не имеет, это чисто технологическая проблема. И решать ее выпускнику Университета, а не Технологического института, да еще и в академическом институте, было нелегко. Не говоря уже о том, что это сильно тормозило развитие собственных научных исследований.

Первой нашей задачей стало внедрение теркурония (рис. 3).

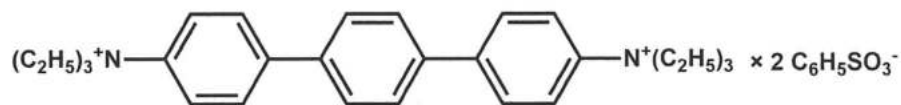


Рис. 3. Теркуроний

Теркуроний действует в низких дозах. Поэтому по самым завышенным подсчётам на всю страну требовалось 5 кг теркурония, а цена его составляла 5 000 руб./кг. Но ведь для завода это не объемы, особой прибыли не получишь. Да и его синтез достаточно прост — всего три стадии. Так что такие препараты выпускаются, как правило, силами и так загруженной центральной заводской лаборатории.

Не находили мы понимание и на уровне технического совета Минмедпрома, куда меня вызвали и трепали часа три. Но

я отбивался научными статьями, так что сразу меня выгнать не смогли. В реальности проблема заключалась в том, что брать на себя новый препарат не хотело и министерство. Но тогда они уцепились за синтез: первая стадия заключалась в нитровании дымящей азотной кислотой. А это, как и любое нитрование, действительно взрывоопасно. «Фармакон» совершенно категорически заявил — нитровать не будем. И пошел я по всей стране искать, кто нам пронирует п-терфенил.

Но тут со мной сыграла шутку советское стремление все засекретить. Я, естественно, обращался в министерство химической промышленности — нитрование процесс все-таки химический. И никто мне не сказал, что я лезу не туда. Производством порохов, и, соответственно, нитрованием занималось, оказывается, Министерство машиностроения. Почему машиностроения — до сих пор не понимаю. Но, к нашему счастью, в это время Б.В. Гидаспов уже организовал при Технологическом институте СКТБ «Технолог», и они взяли нитрование на себя, а ампулы взялся выпускать «Октябрь».

В декабре 1984 г. вышел приказ Министра Здравоохранения СССР о разрешении теркурония к применению. В течение нескольких лет теркуроний выпускался на НПО «Октябрь». Но потом начались времена, о которых сейчас жутко даже вспоминать. Начался передел собственности, и «Октябрь» стал ICN «Октябрь», а выпуск теркурония, зарегистрированного только в России, прекратился.

Можно подумать, каждый день ИЭМ внедрял новые препараты. В действительности же это был практически единственный препарат за полтора-два десятка лет. Но дирекция проигнорировала это достижение — никаких плюсов ни отдел, ни авторы не получили. Это было тогда не в струе «развития» института, главный интерес заключался в «добывании» позитронного эмиссионного томографа.

Кроме теркурония, наша группа занималась антиаритмическим препаратом мезотрин и препаратом репаративного действия крамизол. Оба препарата были наработаны в количествах, необходимых для клинических испытаний, разработаны и наработаны их лекарственные формы (ампулы в первом случае и таблетки во

втором), и представлены на клинические испытания. Была разработана и утверждена также вся технологическая документация на эти препараты — лабораторные регламенты, проекты ВФС на субстанции и лекарственные формы.

Крамизол оказался несчастливым препаратом. Первый раз его представили на клинические испытания как противоязвенный препарат одновременно с даларгином, разработанным под эгидой Е.И. Чазова. Понятно, что эти испытания крамизол не прошел. Были еще две попытки предложить крамизол фирмам «Procter & Gamble» и «Biodiem». Я до сих пор не понимаю, почему наши фармакологи предлагали им крамизол как сердечно-сосудистое средство, хотя кардиологи и говорили, что это бессмысленно. При этом уже было хорошо известно о его ранозаживляющих свойствах. Но что было, то было, и, естественно, на этом все и закончилось. Фирмы потратили большие деньги на клинические испытания и получили предсказуемый отрицательный результат.

В новые времена наша внедренческая деятельность достаточно быстро прекратилась: изменились времена, и, главное, пропали деньги и пропало государство, которое хоть как-то, но финансировало эти работы.

Почему именно государство? А потому, что мезотрин мы планировали внедрять вместе с заводом «Олайнфарм» (Латвия), а крамизол на заводе им. Фрунзе (Киев) (а таблетки должно было делать ПО «Дарница»). Но «вдруг» все заводы оказались за границей.

Метаболизм этимизола

Одним из самых удачных препаратов отдела был этимизол. Так как к нему проявляли интерес и зарубежные фирмы, то необходимо было изучить его фармакокинетику. Что и было сделано совместно с Институтом экспериментальной фармакологии Словацкой АН. С использованием меченого препарата было установлено, что время полужизни этимизола в крови очень мало. У человека это время составляет полтора часа, а у мышей вообще менее чем через полчаса он исчезает из крови. Основное наше внимание как химиков уделялось его метаболизму. Было найдено три

первичных метаболита М1, М2 и М3. Структуры М2 и М3 легко устанавливались по данным масс-спектров как производные, деалкилированные в положениях 4, 5 и 1, соответственно (схема 2):

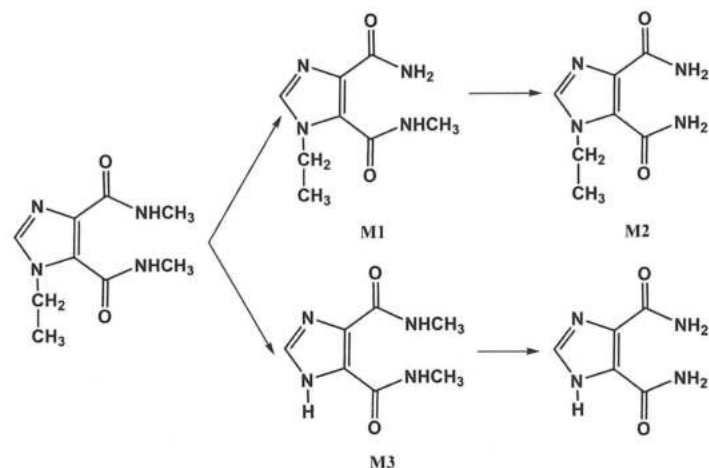


Схема 2. Схема метаболизма этимизола

Сложность заключалась в установлении строения метаболита М1. Не ясно было, откуда уходит первая метильная группа — из амидной группы в положении 4 или 5? Эта достаточно непростая задача была решена нами «приведением» данного метаболита к описанному ранее 7-этилтеофиллину, который получается циклизацией именно изомера с метиламидной группой в положении 5 (И.Я. Александрова) (схема 3):

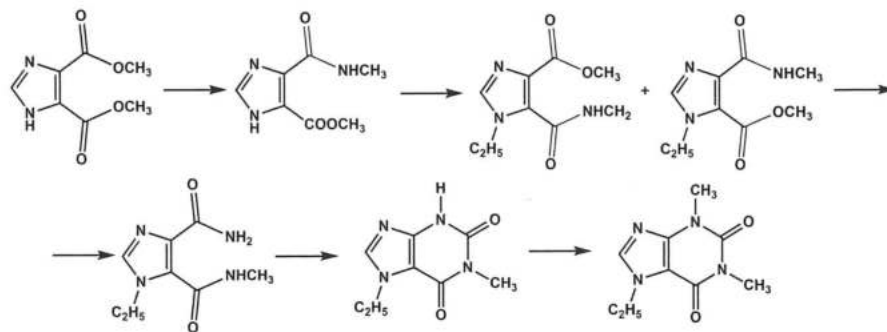


Схема 3. Установление структуры метаболита М1

Новые времена

В 1983 г. Н.В. Хромов-Борисов ушел на пенсию. На меня приказом директора было возложено уже и научное руководство всей лабораторией, а не только вопросы внедрения. Не всем это понравилось, но что было, то было...

Я уже говорил о том, что у нас был определенный задел по «трансляционной медицине», которая тогда честно называлась внедрением. И поэтому встал вопрос о направлении теоретических изысканий лаборатории, тем более что холинергия себя во многом исчерпала, да и занимались ею в Институте эволюционной физиологии и биохимии и В.Е. Гмиро в ИЭМе.

Глутаматергическая передача и NMDA рецепторы

Наше внимание привлекла глутаматергическая передача. Эта относительно новая медиаторная система, она была открыта в середине 50-х годов Дж. Ваткинсом. В то время было известно три ионотропных рецептора этой нейромедиаторной передачи, которая называлась еще и ВАКергической (передачей возбуждающих аминокислот), а именно NMDA, AMPA и каинатный рецепторы, названные так по именам наиболее селективных агонистов. Ни о каких десятках metabotropic рецепторов тогда еще и речи не было. И о том, что глицин представляет собой коагонист NMDA рецепторов тоже никто не знал.

Исходя из структур избирательных лигандов, фармакофор глутаматных рецепторов представлялся как структура с тремя зарядами: два в альфа-аминокислотной и один в дистальной кислотной функциях. Причем расстояние до дистальной группы определяет тип действия — у антагонистов это расстояние больше (схема 4).

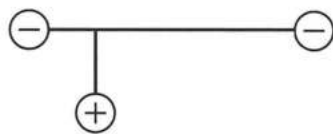


Схема 4. Структура фармакофора лигандов глутаматных рецепторов

Но сначала несколько слов об общей методологии поиска медиаторных средств. Для каждого из нейромедиаторов — ацетилхолина, глутамата и аспартата, ГАМКа и т.п. — существует свой рецептор, отличающийся от других как общим строением (связь с ионным каналом в ионотропных рецепторах или G-белком в metabotropic рецепторах), так и деталями, в том числе наличием различных модулирующих сайтов. Не останавливаясь на всех деталях строения рецепторов, отметим лишь, что у каждого рецептора есть один сайт, определяющий его специфичность — это лиганд-узнающий сайт, созданный Природой специально для того, чтобы каждый медиатор действовал только на свой рецептор.

Так как именно структура медиатора определяет избирательность действия, при планировании исследований по изучению глутаматергической передачи мы сразу же ориентировались только на вещества, действующие на узнающий сайт рецептора. Ацетилхолин не способен взаимодействовать с узнающим сайтом любого из подтипов глутаматных рецепторов, а глутамат не способен связываться с узнающим сайтом холинорецептора — именно этот принцип лежит в основе избирательности химической передачи нервного импульса. Но это относится только к узнающему сайту. Что касается других составных частей рецептора, то там далеко не всегда есть избирательность. В частности, известно, что ионные каналы холино- и глутаматного рецептора похожи. А неконкурентный антагонист NMDA рецепторов МК-801 также действует как антагонист никотиновых рецепторов ацетилхолина. Поэтому рациональный дизайн нейротропных средств должен основываться на лигандах узнающего сайта данного рецептора, т.е. агонистах и конкурентных антагонистах.

С самого начала исследований наше внимание было сосредоточено на NMDA рецепторах. Они играют важную роль в регуляции длительности возбуждающего потенциала, тем самым участвуя в осуществлении когнитивных функций. Им отводится ключевая роль в синаптической пластичности, в процессах обучения и памяти. Также с NMDA рецепторами связано явление долговременной потенциации (LTP), т.е. усиление синаптической

передачи между двумя нейронами, сохраняющееся на протяжении длительного времени после воздействия на синаптический проводящий путь. LTP лежит в основе клеточных механизмов памяти и обучения.

Именно для NMDA рецептора в 1982 г. был найден первый антагонист — МК-801 (дизоцилпин). Правда, он является неконкурентным антагонистом, т.е. блокирует ионный канал NMDA рецептора. Как и следовало ожидать от блокатора NMDA рецепторов, он действительно проявляет сильные противосудорожные свойства. МК-801 вызывает также ряд побочных эффектов, включая когнитивные нарушения и реакции психотического спектра. Он подавляет индукцию долгосрочной потенциации и ухудшает усвоение задач у крыс и приматов. Таким образом, применение МК-801 отчетливо показало, что «выключение» NMDA рецепторов ведет к существенным нарушениям жизненных функций. В принципе это относится и к другим рецепторам — немало можно найти примеров, когда полное «выключение» рецептора приводит к серьезным нарушениям функций (вплоть до смерти). А отсюда следует вывод, что блокировать полностью функции нейрональных рецепторов (а равно как и других) нельзя, их функции можно только модулировать.

Примером этого является то, что клиническое применение нашел другой неконкурентный антагонист мемантин. Это низкоаффинный неконкурентный антагонист, и поэтому он блокирует только процесс патологической активации NMDA рецепторов, вызванный избыточно высокими уровнями глутамата, сохраняя при этом возможность физиологической активации, что необходимо для процессов обучения и формирования памяти.

Но дело далеко не только в антагонистах. Для узнающего сайта рецептора существует несколько типов лигандов — это полные и частичные агонисты и конкурентные антагонисты, так же связывающиеся с узнающим сайтом и блокирующие, соответственно, действие агонистов. Полные агонисты, по определению, вызывают максимальный ответ при оккупации всех рецепторов, частичные агонисты — даже при оккупации всех рецепторов дают меньшую реакцию. И здесь встает та же проблема выбора.

Получается, по аналогии с неконкурентными антагонистами, что управлять действием нейрональных рецепторов следует с использованием «не очень высоко аффинных» лигандов, позволяющих модулировать функции рецептора. По отношению к лигандам узнающего сайта речь идет о частичных агонистах, ответ на которые не достигает максимума. Правда, такие соединения еще надо было найти.

А их поиск затруднен тем, что все агонисты и конкурентные антагонисты глутаматных рецепторов в целом, и NMDA в частности, представляют собой кислые аминокислоты. А это значит, что они плохо проникают через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). И для таких соединений очень трудно оценить направленность их действия при системном введении. Следовательно, изучение их активности в опытах *in vivo* не очень показательно. А для получения хороших результатов работать нужно на системах *in vitro*.

Первой структурой, которой мы занялись, был природный дипептид N-Ас-L-Асп-L-ГлуОН (NAAG), являющийся, по литературным данным, агонистом глутаматных рецепторов. Нами были синтезированы оба изомера NAAG — α - и β - (рис. 4).

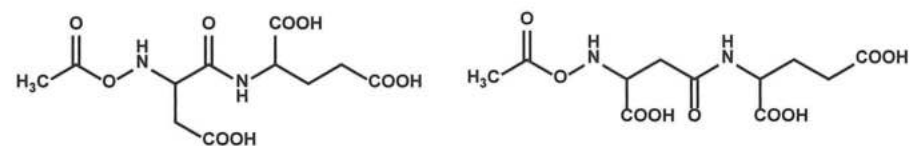


Рис. 4. Изомеры дипептида NAAG

К сожалению, никакого агонистического или антагонистического действия на NMDA рецепторы ни у одного из этих изомеров обнаружить не удалось.

Но оставлять эти структуры просто так тоже не следовало. Поэтому был синтезирован целый ряд дипептидов R-Ас-Асп(Gлу)ОН (рис. 5а), отличающихся N-концевой аминокислотой и ацильным заместителем. Использование только аминокислот ограничивает набор возможных структур. Поэтому, наряду с дипептидами, были синтезированы и N-ацилпроизводные L-аспарагиновой (или L-глутаминовой кислот) (рис. 5б).

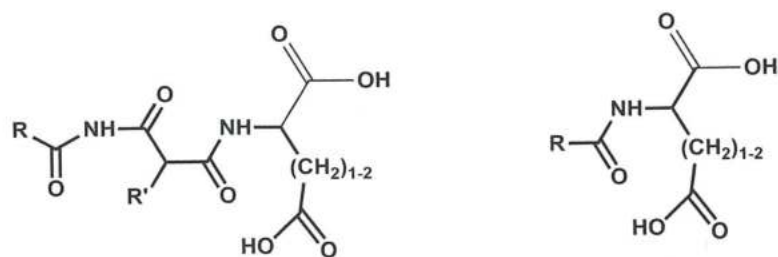


Рис. 5а — R-CO-Aa1-Asp(Glu)OH Рис. 5б — R-CO-Asp(Glu)OH

Оценка фармакологической активности этих рядов проводилась при прямом введении в боковые желудочки мозга мышей. Оценивалась как судорожная активность самих соединений, так и чувствительность к действию диэтилового эфира глутаминовой кислоты (ДЭЭГ) или γ -D-глутамилглицина (γ -DGG), практически единственных тогда доступных антагонистов глутамата. На основе исследования соединений этих рядов удалось показать, что глутаматергическая активность сохраняется и у соединений, содержащих только карбоксильные группы. Она же сохраняется и у соединений, содержащих только карбоксильные группы и амидную группу вместо аминофункции (М.А. Думпис, Л.Н. Познякова, А.П. Гаряев).

Все эти пептиды и амиды были проверены также в опытах на изолированных нейронах гиппокампа в лаборатории О.А. Крышталя (Институт физиологии им. А.А. Богомольца, АН Украины, Киев). Оба изомера NAAG в этом тесте тоже оказались неактивны. Но в принципе полученные нами ранее данные на пептидах и амидах в первом приближении подтвердились. При этом оказалось, что одно из них проявило отчётливые NMDA-агонистические свойства (М.А. Думпис) (рис. 6а).

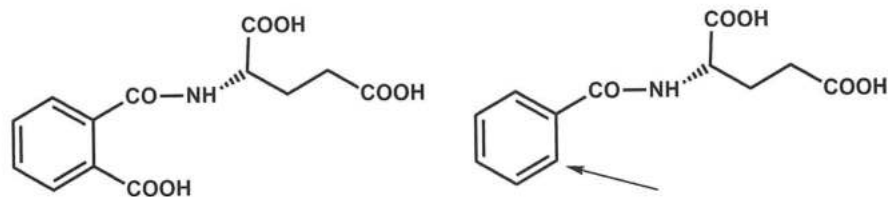


Рис. 6а — PhGa

Рис. 6б — BzGa

Это означало, что найден агонист NMDA рецепторов принципиально новой структуры, содержащий только отрицательно заряженные карбоксильные группы, но не содержащий положительно заряженную аминогруппу, т.е. «суперкислый» агонист. Необходимо отметить, что в этой молекуле для проявления активности важными оказались все три карбоксильные группы — ее аналог VzGA (рис. 6б), производное бензойной кислоты, не содержащее третьей карбоксильной группы, было полностью неактивным. К большому сожалению, нам не удалось продолжить ряд PhGA — было синтезировано несколько подобных и изостерных соединений, но все они оказались неактивны.

Но на этом поиски новых структур, способных избирательно взаимодействовать с NMDA рецепторами, не закончились.

Имидазол-4,5-дикарбоновые кислоты

Методом молекулярного моделирования нами было показано, что молекула имидазол-4,5-дикарбоновой кислоты (4,5-ИДК) представляет собой изостер молекулы хинолиновой кислоты. Атом азота пиридинового типа играет роль псевдоаминогруппы, а расстояние между центральными атомами фармакофорных групп (атом азота и атомы углерода карбоксильных групп) близко к соответствующим параметрам молекулы NMDA (схема 5).

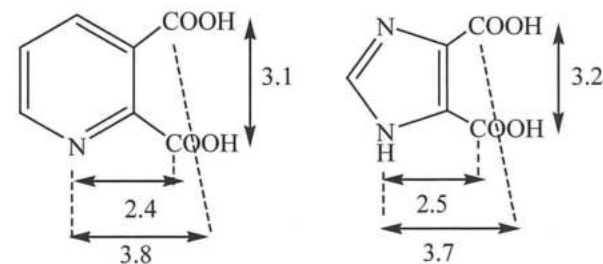


Схема 5. Фармакофорные расстояния (в Å) в молекулах хинолиновой и имидазол-4,5-дикарбоновой кислот

Расчетные данные подтвердились и в эксперименте. На изолированных нейронах гиппокампа было показано, что 1- и 2-производные 4,5-ИДК действуют на NMDA рецепторы.

При этом мы натолкнулись на неожиданный факт — тип проявляемой активности производными ИДК зависит от минимальных структурных изменений молекулы в той ее части, которая не содержит фармакофорных групп или атомов. Например, это инверсия NMDA-агонистических свойств в NMDA-антагонистические при замене метильного радикала в положении 2 на этильный (рис. 7).

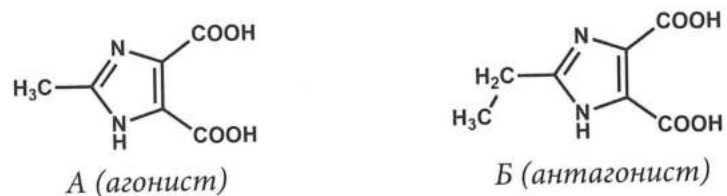


Рис. 7. Молекулы 2-метил- (А) и 2-этил-4,5-имидазолдикарбоновых кислот (Б)

Влияние метильной группы на биологические свойства всей молекулы известно достаточно хорошо. Оно может быть вызвано как пространственными, так и электронными влияниями метильного радикала. Однако, поскольку в ряду 2-замещенных производных 4,5-ИДК с увеличением длины алкильного заместителя изменение электронной плотности незначительно и структурные изменения не затрагивают фармакофорных групп, оставалось только сделать вывод, что появление антагонистического действия на NMDA рецепторы у данного класса соединений связано с увеличением липофильности молекулы. Это предположение в принципе подтвердилось — наблюдается некоторая зависимость от неполярной насыщенной поверхности. Так, если у молекулы 2-метил-4,5-ИДК, проявляющей свойства NMDA агониста, площадь неполярной насыщенной поверхности равна 41.5 \AA^2 , то у антагониста 2-этил-4,5-ИДК она равна 67.4 \AA^2 . Такое изменение активности при минимальном изменении структуры позволяет надеяться найти в этом ряду и частичные агонисты. Некоторые из производных 4,5-ИДК были проверены нами и при системном введении. Оказалось, в частности, что 1- и 2-пропилзамещенные производные не только могут

вызывать судороги *in vivo* сами, но и блокируют NMDA-индуцированные судороги.

Таким образом, мы частично приблизились к цели — получили в руки широкий набор лигандов NMDA рецепторов, а производные 1- и 2-замещенных гетероциклических дикарбоновых кислот — 4,5-ИДК представляют собой новый перспективный класс лигандов рецепторов возбуждающих аминокислот, способных в дальнейшем найти применение при лечении судорожных состояний, при ишемиях головного мозга, нейродегенеративных нарушениях и в ряде других патологий. Дальнейшая работа с ними требовала решения двух основных задач.

Первая задача — синтез большого набора новых 1-, 2-алкил- и 1,2-диалкилзамещенных 4,5-ИДК для изучения связи структура-активность. Жесткое окисление бензимидазолов бихроматом дает только ограниченный набор соединений с короткими алкильными цепочками. Но новый метод окисления с помощью пероксида водорода позволил получать производные 4,5-ИДК с практически любыми заместителями (М.А. Брусина, Д.Н. Николаев) (схема 6).

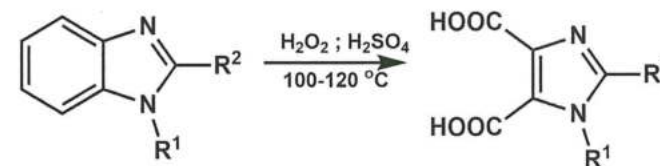


Схема 6. Новый метод синтеза 1-, 2- и 1,2-дизамещенных производных 4,5-ИДК

В итоге мы располагаем на сегодняшний день 38 соединениями. Но, к сожалению, потеряли возможность работы с Институтом физиологии НАН Украины. Поэтому в отделе активно ведутся работы по фармакологическому обследованию этого ряда.

Вторая задача связана с низкой активностью этих соединений при системном введении. Поэтому необходимо создать для них формы, удобные для исследования фармакологической активности новых лигандов, т.е. созданию систем доставки этих полярных

соединений в ЦНС, т.е. синтезу пролекарств (Л.В. Мызников, М.С. Квасов).

Одно маленькое отступление — выше я уже говорил о фармакокинетике и метаболизме этимизола. Среди большого набора фармакологических свойств этимизол улучшает обучение и память. А это, как известно, должно быть свойственно лигандам NMDA рецепторов. Из метаболитов этимизола нами были выделены лишь липофильные соединения. Но большое количество гидрофильных производных, про которых заранее было известно, что они плохо растворимы в большинстве растворителей, нам ни извлечь, ни идентифицировать не удалось. Поэтому в качестве предположения приведенную выше схему метаболизма можно продолжить до еще одного соединения, а именно самой имидазол-4,5-дикарбоновой кислотой (схема 7):

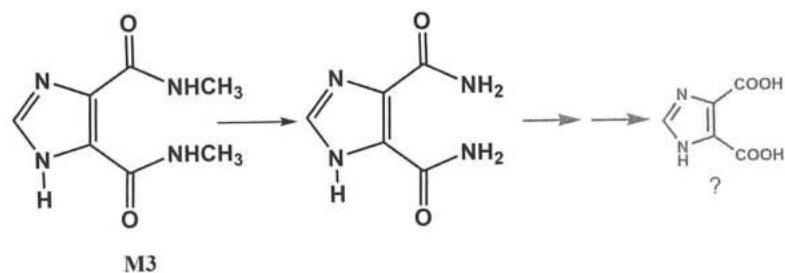


Схема 7. Предполагаемые конечные стадии метаболизма этимизола

И тогда получается, что этимизол является пролекарством для производных 4,5 ИДК.

Acid-sensitive ion channels (ASICs) — это нейронные потенциал-независимые катионные каналы, активируемые внеклеточными протонами. Впервые я познакомился с ними в лаборатории О.А. Крышталя, одного из первооткрывателей этого типа каналов. Механизм их действия заключается в том, что при изменении величины рН заряжаются гистидиновые остатки в полипептидной цепи, изменяется ее конформация, и канал начинает пропускать ионы натрия. Мы с О.А. Крышталем неоднократно обсуждали вопрос, как подобраться к этим каналам, но сам протоном

невозможно модифицировать. Потом появились данные, указывающие на то, что их функции модулирует пептид FMRFамид (H-Phe-Met-Arg-Phe-NH₂).

Сам FMRFамид скорее вызывает боль, а не проявляет анальгетическое действие. К счастью, известны были данные по сравнению активностей *in vitro* самого этого пептида и ряда его аналогов на ванилоидные рецепторы. Из этих данных уже можно сделать определенные выводы, и в первую очередь, что в структуре молекул не должно быть лишних карбоксильных групп, но обязательно должен быть положительный заряд в виде гуанидиновой группы аргинина. Сравнение наиболее устойчивых конформаций ряда активных аналогов позволило нам построить трехмерную модель фармакофора, действующего на ASICs. В этой модели можно выделить две основные области — большое липофильное облако, к которому линкером определенной длины присоединен положительно заряженный остаток аргинина. На основании полученных *in silico* данных нами были синтезированы 40 новых соединений (Е.В. Литасова, М.А. Думпис, С.В. Куликов).

Проверка активности этих соединений *in vitro*, на изолированных нейронах, показала, что большинство из них проявляет активность, противоположную самому FMRFамиду, что уже само по себе внушало определенные надежды. Некоторые фирмы ранее уже пытались найти соединения, блокирующие связывание этого амида. Но результаты выглядели далеко не многообещающими. Мы же смело перешли к опытам *in vivo*. Анализ анальгетического действия проводили на модели «корчи» («writhing» test) на мышах; удалось выявить девять соединений, превосходящих по своей анальгетической активности препараты сравнения. Итак, мы достигли поставленной цели — получены соединения, обладающие выраженной анальгетической активностью, т.е. удалось показать, что среди соединений, способных влиять на ASICs, есть вещества, проявляющие достаточно выраженное анальгетическое действие.

Мне могут возразить, что аргинин сам и его производные обладают пусть слабовыраженным, но анальгетическим действием, и мы просто видим эффект самого аргинина. Но аргинин сам

действует на ASICs, поэтому, где тут телега, где лошадь, еще надо разбираться.

Фуллерены

В 1985 г. в журнале Nature появилась статья Н. Kroto с соавторами об открытии новой геодезической структуры углерода — фуллерена C_{60} , имеющей внутреннюю полость (рис. 8).

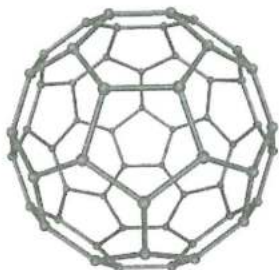


Рис. 8. Фуллерен C_{60}

Фуллерены сразу привлекли внимание исследователей необычностью и эстетичностью структуры. Поэтому, когда в 1992 г. был разработан метод препаративного получения фуллеренов, началось их триумфальное шествие по миру. В 1994–95-х годах в России была организована государственная программа «Фуллерены и атомные кластеры» и туда для обеспечения биологических исследований был приглашен Институт гриппа и наша лаборатория. Мы согласились — уж очень хотелось поработать с такой необычной структурой.

В качестве первой задачи мы выбрали изучение биологических свойств самого фуллерена C_{60} , уделяя также особое внимание вопросам безвредности его применения.

Молекулы фуллеренов отличаются от большинства других органических соединений тем, что представляют собой замкнутые каркасные структуры, имеющие внутри полость. Наиболее распространен и доступен для исследований фуллерен C_{60} . Диаметр этой молекулы равен 1 нм. Таким образом, она по размерам вполне «биологична». Что касается свойств, то эта молекула объединяет в себе два, казалось бы, не объединяемых свойства:

антиоксидант и окислитель. Антиоксидантные свойства являются следствием ненасыщенности молекулы, а окислительные — следствием способности превращать молекулу обычного кислорода в синглетный при освещении видимым светом. Таким образом можно говорить о том, что она представляет собой двуликого Януса.

Проявление антиоксидантных и окислительных свойств самого фуллерена C_{60} было продемонстрировано нами в биологических системах. Будучи нанесенным на дно лунки культурального планшета, он проявляет в темноте свойства антиоксиданта, а при освещении — окислителя.

Для изучения биологических свойств фуллерена C_{60} в качестве водорастворимой формы нами использовался надмолекулярный комплекс фуллерена с N-поливинилпирролидоном (C_{60} /ПВП). Была отработана методика получения этого комплекса, позволяющая получать стандартные образцы, в УФ-спектре, полоса поглощения которых — около 330 нм — свидетельствовала о том, что в этом комплексе молекулы фуллерена существуют практически в изолированном состоянии (Л.Н. Познякова).

Уже первые результаты показали, что этот комплекс (содержание фуллерена около 0,5%) ингибирует репродукцию вируса гриппа в дозах от 250 до 1000 мкг/мл, не проявляя при этом цитотоксического действия (К.Н. Козелецкая, О.И. Киселев). Его эффекты были сравнимы с действием ремантадина, а пересчет на содержание самого фуллерена показал, что по своей противовирусной активности он на порядок сильнее ремантадина.

Противовирусное действие фуллерена связано с действием на клеточные мембраны, а не на процессы слияния вируса с клеткой или процессы синтеза. Исследования с помощью просвечивающей электронной микроскопии показали, что инкубация вируса гриппа с комплексом C_{60} /ПВП приводит к разрушению вирусной мембраны (А.К. Сироткин, О.И. Киселев). Тем самым было впервые показано, что фуллерен C_{60} обладает мембранотропным действием. Поэтому и не удивительно, что комплекс C_{60} /ПВП оказывал противовирусное действие как против РНК-, так и ДНК-содержащих вирусов, так как он влияет на процесс сборки вирусов.

Другой пример мембранотропного действия комплекса C_{60} /ПВП связан с его использованием в микробиологическом синтезе. Добавление комплекса C_{60} /ПВП в реактор с *Aspergillus niger* при получении лимонной кислоты, приводит к возрастанию выхода последней примерно на 10%, настоящей причиной чего является увеличение проницаемости мембраны, приводящей к большему выходу продукта в среду.

Скорее всего при использовании фуллерена C_{60} для заживления ран также проявляется его мембранотропная активность. В этих опытах использовалась суспензия кристаллического фуллерена в вазелиновом масле. И наилучшие результаты были получены с мазями с низкой концентрации фуллерена (0,05%), приближающейся к его растворимости в масле, т.е. фуллерен «работал» в максимально диспергированном состоянии.

Мембранотропная активность фуллерена C_{60} оказывает существенное влияние на его биологические свойства, так как лежит в основе его взаимодействия с липофильными структурами в организме, и очень важна с точки зрения его судьбы в организме.

Комплекс C_{60} /ПВП проявляет и другие интересные свойства, механизм которых не всегда понятен. Так, наши коллеги в Пущино показали, что его введение в дорсальную область гиппокампа крысы предупреждает нарушения памяти, вызванные введением циклогексимида. Предполагается, что комплекс предотвращает гибель нейронов, но механизм этого действия пока не установлен. Ранее было известно, что некоторые фуллерены ингибируют димеризацию амилоидов. А фуллерен в составе комплекса разрушает амилоидные фибриллы $A\beta(1-42)$ -пептида мозга, но при этом не влияет на нити актина и не препятствует их формированию, что свидетельствует о специфическом взаимодействии с амилоидными фибриллами X-белка и $A\beta(1-42)$ -пептида.

При работе с комплексом C_{60} /ПВП мы ни разу не замечали каких-либо токсических эффектов. Например, если к клеточной культуре добавить комплекс C_{60} /ПВП, то фуллерен достаточно быстро перестает детектироваться в жидкой фазе, а поглощается клетками. Но при этом никаких видимых изменений в клеточном монослое в течении нескольких пассажей не наблюдается, т.е. сам

фуллерен не оказывает влияния на клетки. Как уже упоминалось выше, и в других экспериментах было установлено, он не проявляет цитотоксичности.

Но следовало все-таки оценить его общее воздействие на организм. Оказалось, что включение фуллерена в комплекс снижает острую токсичность самого ПВП. Правда, речь идет о цифрах порядка 15 000 и 12 000 мг/кг, что само по себе уже свидетельствует о нетоксичности обоих компонентов. При хроническом введении комплекса C_{60} /ПВП вообще не было установлено никаких токсических проявлений.

Таким образом, в исследованиях, с использованием различных образцов и форм фуллерена, неоднократно было показано отсутствие у него токсичности. Справедливости ради, следует отметить, что при этом в нескольких работах показано, что в случае беременных самок картина не такая хорошая. Так что в принципе вопрос о безвредности фуллерена остается открытым.

Более того, фуллерен C_{60} , по литературным данным, накапливается в организме. Следовательно, он может со временем оказывать вредное влияние на организм. В частности, поэтому даже не стоял вопрос о практическом использовании комплекса при производстве лимонной кислоты: отходы микробиологического синтеза идут на корм скоту, но никто не будет их использовать после «загрязнения» фуллереном.

В литературе нет сведений о метаболизме самого фуллерена. С одной стороны, этого следовало ожидать, так как при внутривенном введении ^{14}C - C_{60} исчезал из системной циркуляции уже через 1 минуту, накапливаясь в печени. Таким образом при быстром выведении фуллерена из кровотока ферменты крови, в том числе окислительные, на него подействовать просто не успевают. С другой стороны, нет свидетельств, что ферменты системы митохондриального окисления и цитохрома P450 способны на него действовать. Подчеркну, что речь идет о самом фуллерене C_{60} , а не его функционализированных производных.

На других наноструктурах углерода, в частности нанотрубках, показано, что некоторые ферменты, в частности, фермент нейтрофилов миелопероксидаза, способны их разрушать. Поэтому

совместно с отделом молекулярной биологии мы изучили действие этого фермента на фуллерен C_{60} (А.В. Соколов, В.В. Ильин). Фуллерен использовали в виде наноС60. На основании данных ИК- и УФ-спектров очевидно, что фуллерен исчезает из среды на третий-четвертый день инкубации. Обычный путь окисления фуллерена C_{60} — это образование полигидроксилированных производных, фуллеренолов. Но в нашем случае их образование обнаружить не удалось. Действие миелопероксидазы на фуллерен представляет собой первый пример его деградации под действием ферментов человека.

Сам фуллерен C_{60} при системном введении не может использоваться как лекарственное вещество, так как он быстро выводится из циркуляции, накапливаясь в липидных депо и зачастую не успевая проявить эффект. Но это не мешает его использованию при местной аппликации, например, в косметических целях. Кожный покров является эффективным барьером, задерживающим большинство молекул, в том числе и липофильных, и вероятность попадания фуллерена в системный кровоток через кожные покровы минимальна. В результате фуллерен достаточно время находится в месте действия, с одной стороны, с другой — можно не беспокоиться о последствиях накопления фуллерена в целом организме. Об этом, в частности, свидетельствует достаточно обширный набор известных косметических препаратов, содержащих фуллерен.

Накопив определенный опыт работы с фуллереном C_{60} и установив его основные свойства, мы перешли к работе с его функционализированными производными. Ранее мы уже упоминали, что в принципе набор свойств у самого фуллерена невелик. И получение функционализированных производных открывает новые возможности.

Плюс к этому, все-таки основным отрицательным свойством фуллерена C_{60} , препятствующим его применению в качестве лекарственного вещества, является то, что он накапливается в организме и не метаболизирует, чего не происходит с производными.

Но здесь существует одна проблема — при реакции фуллерена C_{60} с каким-либо реагентом в подавляющем большинстве

случаев реакция приводит к трудноразделимой смеси моно- и полизамещенных производных. Только дизамещенных фуллеренов C_{60} существует восемь региоизомеров, не говоря уже о моно- и полиаддуктах. Есть, правда, своеобразный способ получения моноаддуктов фуллерена: берется 100-кратный избыток фуллерена и 1 эквивалент реагента. В результате, после отделения непрореагировавшего фуллерена, остается достаточно чистый моноаддукт. Но этот путь требует наличия большого количества фуллерена и мощных хроматографических установок.

Поэтому мы решили пойти другим путем, а именно разработать метод матричного синтеза, приводящий только к моноаддуктам. Нам удалось этого достигнуть, используя метод синтеза на подложке (Д.Н. Николаев) (схема 8).

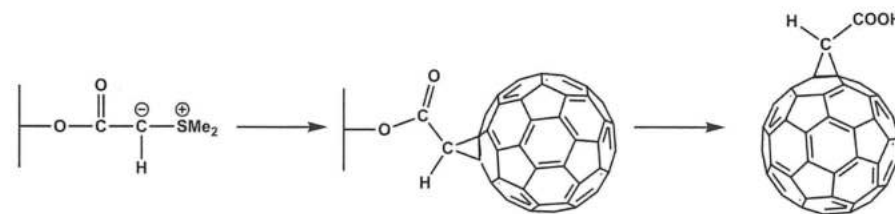


Схема 8. Схема получения монозамещенного производного фуллерена C_{60}

Однако полученная таким методом кислота плохо растворяется в воде даже в виде соли, но ее можно использовать для введения остатка фуллерена в какую-либо молекулу для изменения ее липофильности или же для создания фуллерен-содержащих флуоресцентных зондов. Такие работы в настоящее время ведутся.

В фармакологии давно существует одна проблема — многие вещества не проявляют действие на ЦНС, так как не могут проникнуть через гематоэнцефалический барьер. Для этого надо увеличить их липофильность. И вот тут очень кстати могут быть функционализированные производные фуллерена. В большинстве случаев они остаются липофильными соединениями, и поэтому могут быть использованы в качестве носителей для доставки полярных веществ в ЦНС. Поэтому мы взялись

за синтез производных, способных выступать переносчиками полярных веществ в ЦНС.

Для самого переноса в качестве модельного соединения было выбрано основание ганглиоблокатора гексония (гексаметония). Сам гексоний действует только на периферическую нервную систему, так как наличие двух четвертичных аммониевых групп препятствует его проникновению через ГЭБ. Соответственно, для его переноса, нейтрализации аммониевых групп необходимы «кислые» носители. В нашем случае это могли быть фуллеренкарбоновые кислоты.

Поэтому сначала была воспроизведена известная реакция Бингеля, приводящая к фуллеренполикарбонным кислотам. Из реакционной смеси после реакции фуллерена с малоновым диэфиром нам удалось выделить в препаративных количествах два региоизомера — *экваториальный* и *транс-3* (рис. 9).

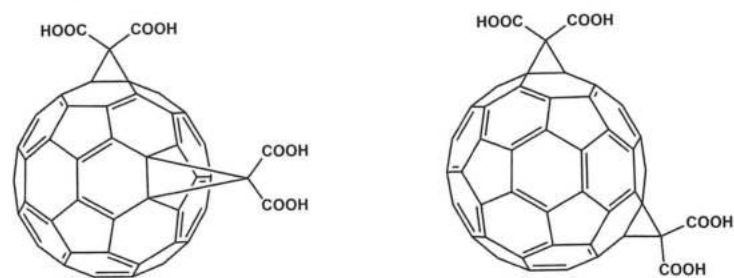


Рис. 9. Экваториальный и транс-3 изомеры фуллерендималоновой кислоты

С этими фуллерентетракарбонными кислотами были получены соли с основанием гексония (примерно 1.5 эквивалента основания гексония). Но это был один путь получения фуллеренкарбоновых кислот.

В качестве другого пути модификации молекулы фуллерена, придания ей как способности растворяться в воде, так и связывать другие полярные молекулы, была выбрана реакция с аминокислотами. Преимущества такой модификации заключаются в том, что получаются соединения, способные связывать как кислые, так и основные соединения.

При реакции фуллерена с 6-аминогексановой кислотой в щелочных условиях образуются сложные продукты, содержащие несколько аминокислотных остатков (до 5–6) и кислородсодержащие функциональные группы (по данным ВЭЖХ и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии). Нейтрализация этой смеси поликислот основанием гексония дает препарат, содержащий примерно 25% основания.

При исследовании влияния производного аминокислотной кислоты, на двигательную активность, вызванную введением никотина, оказалось, что его предварительное введение увеличивает вызванную никотином локомоторную активность. Уже эти данные свидетельствуют о том, что мы добились желаемого результата: основание гексония проникло через ГЭБ.

Другие препараты были проверены при внутрибрюшинном введении на модели никотиновых судорог. Оказалось, что самый активный препарат, аминокислотное производное, практически полностью подавлял никотиновые судороги уже в дозе 6,55 мкг/кг. Оба препарата на основе тетракарбонных кислот проявили меньшую активность. Вероятно, более выраженный эффект аминокислотного производного объясняется предпочтительностью его взаимодействия с отрицательно заряженными липидами. В то же время возможно, что в случае фуллерентетракарбонных кислот заряды двух близко расположенных карбоксильных групп компенсируются положительными зарядами бис-катиона гексаметония, что делает эти соединения нейтральными.

Практические итоги работы лаборатории синтеза лекарственных веществ: десять препаратов доведены до клинической практики, шесть препаратов (фепрацет, этефил, ритетроний, тидазин, мезотрин и крамизол) были доведены до клинических испытаний. За годы существования лаборатории химики передали фармакологам более 2300 новых соединений (в количествах от 1 до 10 000 г). Их синтез проводился в следующих рядах химических соединений: пиримидина, β-фенилизопропиламина, диалкиламиноуксусной кислоты, дифенилэтана, мезо-3,4-дифенилгексана, нафталина, гетероциклических дикарбонных кислот, пептидов, фуллерена C₆₀ и его производных, нуклеотидов

и т.п. Созданы препараты следующих типов действия: курарепо-добные вещества, миорелаксанты, местные анестетики, антифе-ины, антиаритмики, стимуляторы энергетического обмена, сти-муляторы ЦНС, ненаркотические анальгетики.

Теоретические достижения: заложены основы теоретического дизайна лекарственных веществ, показана возможность управ-ления действием лекарственных веществ *in vivo*, получены изби-рательные блокаторы каналов различных ионных рецепторов, найдены новые лиганды NMDA рецепторов, предложен новый класс анальгетиков на основе лигандов протон-чувствительных ионных каналов (ASICs), изучается биологическая активность наноструктур углерода, на их основе создана система доставки в ЦНС полярных веществ, установлена возможность биодеграда-ции фуллерена C₆₀.

Перечислив научные достижения лаборатории, следует, веро-ятно, упомянуть и достижения лаборатории, свидетельствующие о признании наших работ: грант Минпром СССР (1990–1991 гг.), три гранта INTAS (совместно с Институтом физиоло-гии НАН Украины, 1996, 1998 и 2002 гг.), гранты по программе «Фуллерены и атомные кластеры» (совместно с Институтом гриппа МЗ РФ, 1994–2002 гг.), грант МНТЦ (совместно с Инсти-тутом лазерной физики (2006–2009 гг.), грант по европейской программе F7 (Швеция, Португалия, Израиль, Украина, Россия) (2011–2016 гг.).

Лабораторию синтеза лекарственных веществ создал великий фармаколог С.В. Аничков, прекрасно понимавший, что без хими-ков фармакология развиваться не может. И в этом ему помогал Н.В. Хромов-Борисов. Об их успехах говорит десяток препара-тов, упомянутых ранее. Но пришедший в конце 80-х годов к вла-сти новый заведующий отделом в 1992 г. на волне реорганизации отдела решил закрыть лабораторию. Мы смогли сохранить ядро коллектива с минимальными потерями. Поэтому через 15 лет усилиями Б.И. Ткаченко удалось сломить сопротивление упомя-нутого выше заведующего и открыть лабораторию вновь, но уже с добавкой «Лаборатория синтеза и нанотехнологий лекарствен-ных веществ».

К сожалению, я не могу перечислить всех бывших и настоя-щих сотрудников лаборатории. Но их было много, и каждый внес весомый вклад в общие достижения. Именно поэтому наша лабо-ратория существует уже более 70 лет.

Верстка — Денис Чижов

Подписано в печать 00.10.2021

Формат 148×210

Тираж 100 экз. Заказ 48212

Отпечатано в ООО «Издательско-
полиграфический комплекс „НП-Принт“».
Санкт-Петербург, наб. Обводного канала 199-201,
тел. 611-11-07, 324-65-15

order@npprint.com
www.npprint.com

