

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ
КСЕНОБИОТИКОВ**

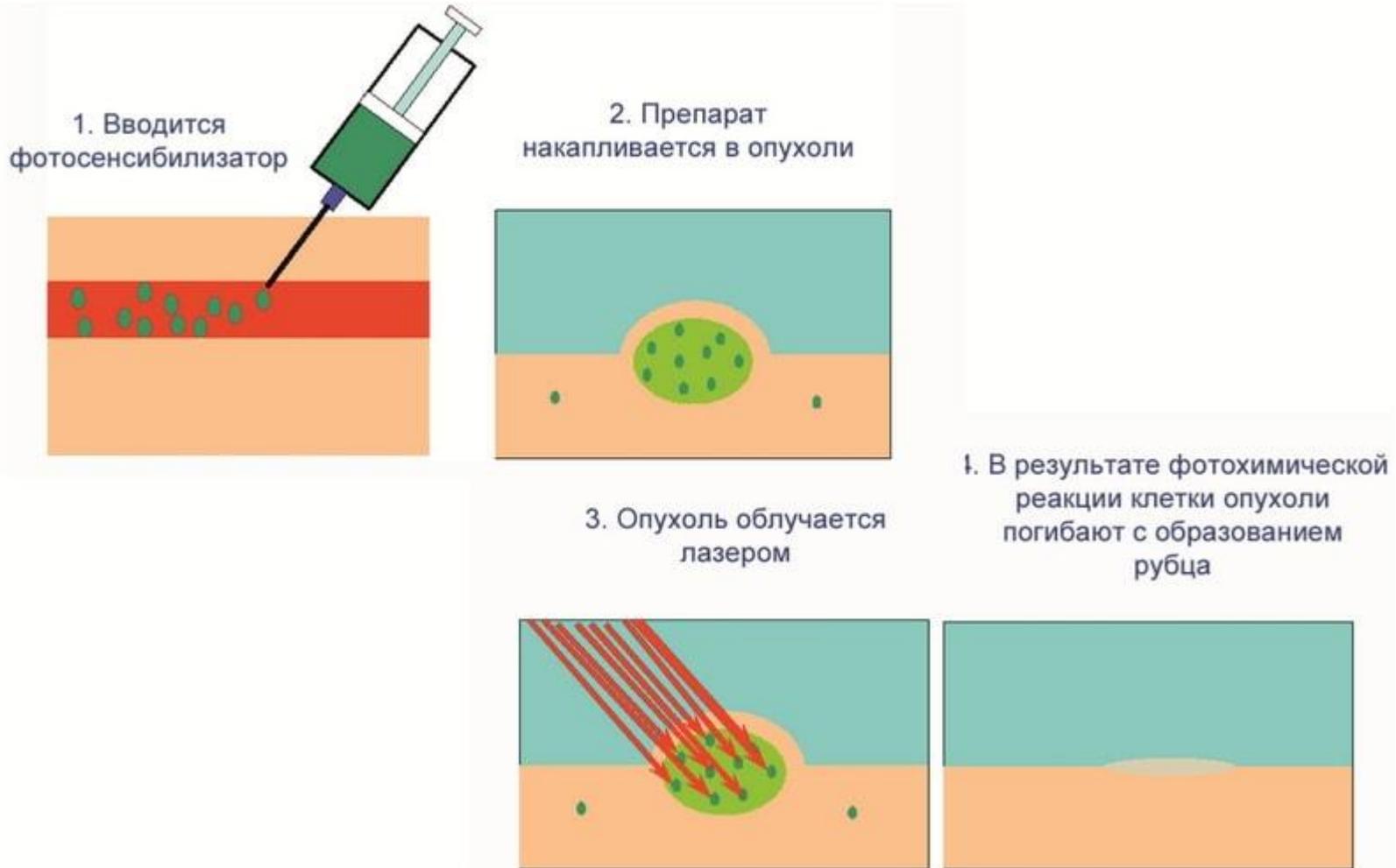
Биологической активностью ксенобиотика называют его способность изменять функциональные возможности либо компонентов организма (*in vitro* или *in vivo*), либо живого организма в целом, либо сообщества организмов.

Целый ряд порошкообразных веществ, характеризующихся сорбционными свойствами, таких, как кремнезем, доломит, каолин, карборунд, кажущиеся на первый взгляд лишенными биологической активности, оказались эффективными инсектицидами. Их влияние обусловлено тем, что они вызывают состояние, подобное стрессу, в результате чего в организме выделяются вещества, оказывающие на него парализующее действие.



Ксенобиотики, попавшие в клетку, могут проявить биологическую активность под влиянием дополнительных физических или химических факторов среды (например, многие красители способны к фотодинамическому эффекту при СВ)

Процедура ФДТ



Определение биологической активности ксенобиотиков, определяется следующими факторами:

- множеством биологических объектов, их состояний и протекающих в них реакций. Поскольку любой живой организм индивидуален, можно говорить об индивидуальной реакции на данный ксенобиотик;
- способом попадания в организм (доза, физическая форма вещества, временной режим введения, место введения и т. д.);
- наличием или отсутствием дополнительных воздействий, которые предшествуют, сопутствуют или следуют за введением химического соединения.
- способом, временем наблюдения, принципом подбора биообъекта, анализом информации и т. д.

Цели определения биологической активности в общем виде сводятся к следующим:

- выявление соединений, обладающих полезными для человеческого организма свойствами, например, для профилактики и лечения болезней, расширения физиологических и интеллектуальных возможностей человека и т. д.;
- обнаружение вредных для человеческого организма биологических активностей у испытуемых ксенобиотиков.
- нахождение ксенобиотиков, влияющих на продуктивность и биологическое равновесие естественных и искусственных экосистем.
- установление таких биологических активностей у испытуемых чужеродных соединений, которые могут вызвать неконтролируемое опасное или недостаточно прогнозируемое нарушение биологического равновесия природных экосистем.
- нахождение химических соединений, которые могут быть реактивами для исследовательских работ в биологии и медицине и которые могут привести к развитию принципиально новых методов исследования;
- накопление знаний, позволяющих предсказать виды биологической активности по химической структуре вещества.

Понятие о токсическом действии ксенобиотиков.

Приемы классификации

Активность некоторых токсинов

Токсин	Источник	Летальная доза, мкг/кг
Ботулинический, тип В (белок)	Микроорганизм	$1 \cdot 10^{-5}$
Дифтерийный (белок)	—	0,3
Тайпоксин (белок)	Змея	2
Абрин (гликопротеин)	Растение	20
Рицин (белок)	—	10
Майтотоксин (строение неизвестно)	Микроводоросль	0,2
Палитоксин	Мягкий коралл	0,45
Батрахотоксин	Лягушка	2
Сакситоксин	Микроводоросль	8
Тубокурарин (алкалоид)	Растение	200
Дизопропилфторфосфат	Синтетическое вещество	$3 \cdot 10^3$
Цианид натрия	—	10^4

Яды и токсины в целом делят на две группы: общие, основанные на каком-либо одном принципе оценки, и специальные, отражающие связь между отдельными физико-химическими или другими признаками веществ и проявлениями их токсичности

Принципы классификации токсикантов

Общие	Специальные
По химическим свойствам (химическая)	По типу гипоксии (патофизиологическая)
По целям применения (практическая)	По механизму взаимодействия с ферментными системами (патохимическая)
По степени токсичности (гигиеническая)	По характеру биологического последствия отравлений (биологическая)
По виду токсического действия (токсикологическая)	По степени канцерогенной, мутагенной и прочих видов активностей
По избирательной токсичности	

В зависимости от источника происхождения и практического применения токсические вещества (яды) подразделяют на группы:

1. Промышленные яды, к которым относятся органические растворители (дихлорэтан, тетрахлорметан, ацетон и др.); вещества, применяемые в качестве топлива (метан, пропан, бутан); красители (анилин и его производные; фреоны); химические реагенты, полупродукты органического синтеза и др.
2. Химические удобрения и средства защиты растений, в том числе пестициды, направленные на уничтожение вредных насекомых, сорных растений, грибов и т. д.
3. Лекарственные средства и полупродукты фармацевтической промышленности.
4. Бытовые химикаты, используемые в качестве инсектицидов, красителей, лаков, парфюмерно-косметических средств, пищевых добавок, антиоксидантов.
5. Растительные и животные яды.
6. Боевые отравляющие вещества.

Пестицид – вещество (или смесь веществ) химического либо биологического происхождения, предназначенное для уничтожения вредных насекомых, грызунов, сорняков, возбудителей болезней растений и животных, а также используемое в качестве дефолианта, десиканта и регулятора роста.

Пестициды по степени воздействия на организм

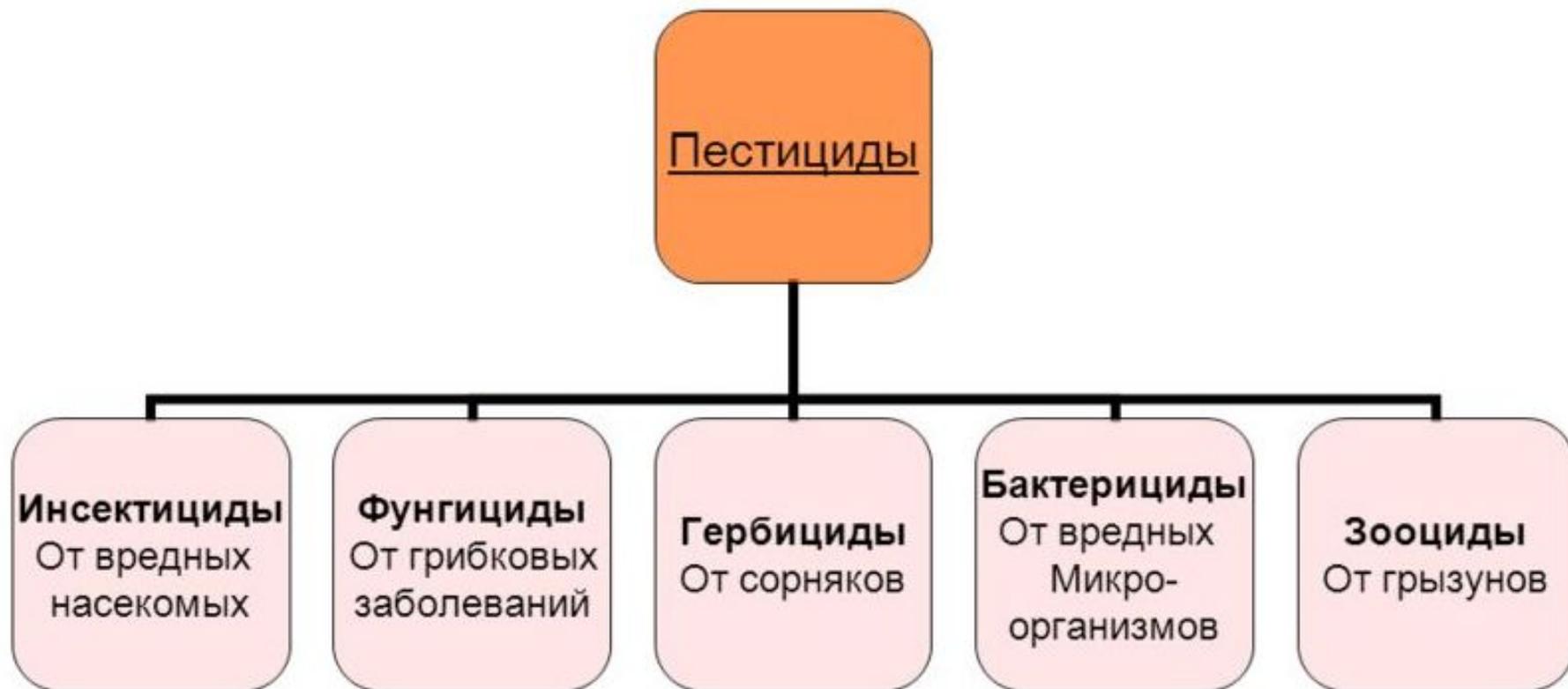
IA - Чрезвычайно
опасные
ПДК < 0,1 мг/м³
гранозан, мегафос

IB - Высоко
опасные
ПДК 0,1..1 мг/м³
никотин,
фосфид цинка

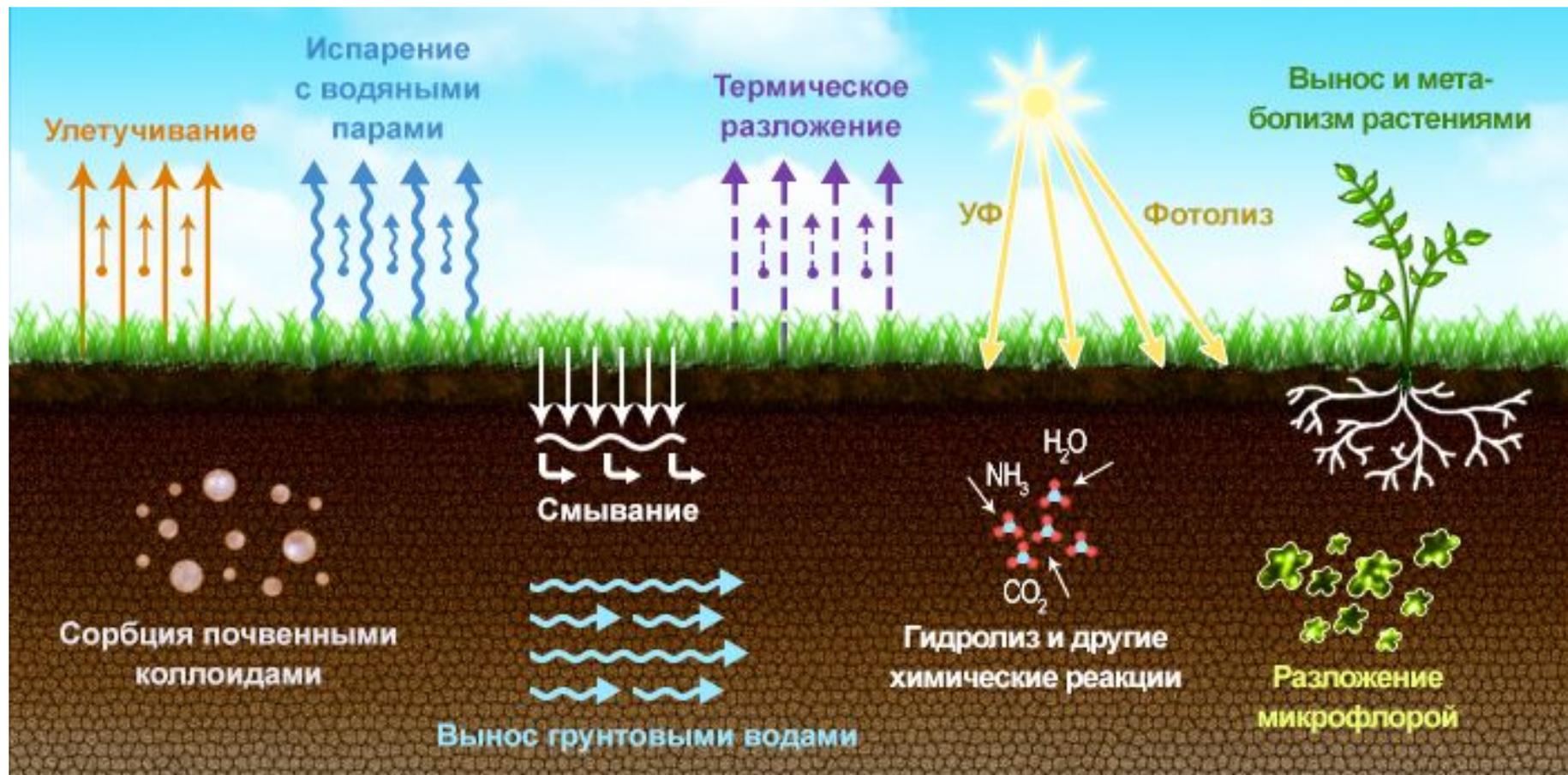
II - Умеренно
опасные
ПДК 1,1..10 мг/м³
карбофос, формалин,
хлорофос

III - Мало опасные
ПДК > 10 мг/м³
аммиак,
бордосская жидкость,
препараты серы

Классификация пестицидов



Персистентность – способность пестицидов противостоять разлагающему действию физических, химических и биологических (биохимических и микробиологических) процессов в объектах окружающей среды



КЛАССИФИКАЦИЯ БОЕВЫХ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

СМЕРТЕЛЬНЫЕ

Нервно-паралитические

GB (зарин), GD (зоман), VX (Ви-Икс)

Кожно-нарывные

HD (иприт), HL (люизит)

Удушающие

CG (фосген), дифосген

Общеядовитые

AG (синильная кислота), СК (хлорциан)

ВРЕМЕННО ВЫВОДЯЩИЕ ИЗ СТРОЯ

Психохимические

BZ (Би-Зет)

РАЗДРАЖАЮЩИЕ

Раздражающие

CS (Си-Эс)

Широкое признание получила гигиеническая классификация ядов, предложенная С. Д. Заугольниковым с сотр. (1970), в основу которой положена количественная оценка токсической опасности химических соединений согласно экспериментальным оценкам величин LC_{50} , LD_{50} и предельно допустимых концентраций (ПДК)

Гигиеническая классификация ядов

Классы токсичности	Пути поступления		
	ингаляционный		энтеральный
	LC_{50} , мг/л	ПДК, мг/м ³	LD_{50} , мг/кг
Чрезвычайно токсичные	<1	<1	<15
Высоко токсичные	1–10	<10	15–150
Умеренно токсичные	11–40	<100	151–1500
Мало токсичные	>40	>100	>1500

Большое значение имеет разделение химических веществ по характеру их токсического действия на организм

Токсикологическая классификация ксенобиотиков

Общий характер токсического воздействия	Характерные представители токсических веществ
Нервно-паралитическое действие (бронхоспазм, удушье, судороги и параличи)	Фосфорорганические инсектициды (хлорофос, карбофос и пр.), никотин, анабазин, БОВ («Ви-Икс», зарин и пр.)
Кожно-резорбтивное действие (местные воспалительные и некротические изменения в сочетании с общетоксическими резорбтивными явлениями)	Дихлорэтан, гексахлоран, БОВ (иприт, люизит), уксусная эссенция, мышьяк и его соединения, ртуть (сулема)
Общетоксическое действие (гипоксические судороги, кома, отек мозга, параличи)	Синильная кислота и ее производные, угарный газ, алкоголь и его суррогаты, БОВ (хлорциан)
Удушающее действие (токсический отек легких)	Оксиды азота, БОВ (фосген, дифосген)
Слезоточивое и раздражающее действие (раздражение наружных слизистых оболочек)	Хлорпикрин, БОВ («Си-Эс», адамсит и пр.), пары крепких кислот и щелочей
Психотическое действие (нарушение психической активности – сознания)	Наркотики (кокаин, опий), атропин, БОВ («Би-Зэт», ЛСД – диэтиламид, лизергиновая кислота)

Классификация ядов по избирательной токсичности

Характер «избирательной токсичности»	Характерные представители токсических веществ
Сердечные яды - кардиотоксическое действие – (нарушение ритма и проводимости сердца, токсическая дистрофия миокарда)	Сердечные гликозиды (дигиталис, дигоксин, ландозид и т.д.); трициклические антидепрессанты (имипрамин, amitриптилин); растительные яды (аконит, чемерица, заманиха, хинин и т.д.); животные яды (тетродотоксин); соли бария, калия
Нервные яды - нейротоксическое действие – (нарушение психической активности, токсическая кома, токсические гиперкинезы и параличи)	Психофармакологические средства (наркотические анальгетики, транквилизаторы, снотворные средства); фосфорорганические соединения; угарный газ, производные изониазида (тубазид, фтивазид); алкоголь и его суррогаты
Печеночные яды - гепатотоксическое действие – (токсическая дистрофия печени)	Хлорированные углеводороды (дихлорэтан и т.д.); ядовитые грибы (бледная поганка); фенолы и альдегиды
Почечные яды - нефротоксическое действие - (нефропатологические проявления)	Соединения тяжелых металлов; этиленгликоль; щавелевая кислота
Кровяные яды - гематотоксическое действие – (гемолиз, метгемоглобинемия, анемия)	Анилин и его производные; нитриты; мышьяковистый водород
Желудочно-кишечные яды - гастроэнтеротоксическое действие – (токсический гастроэнтерит)	Концентрированные кислоты и щелочи; соединения тяжелых металлов и мышьяка
Легочные яды - пульманотоксические эффекты – (отек и/или последующий фиброз легких)	Паракват; оксиды азота; фосген

По поводу показателя LD_{50} (LC_{50}) следует сказать следующее. Показатель LD_{50} долгое время рассматривался как один из наиболее точных и необходимых для характеристики токсичности веществ, но в последние 30 лет он подвергается критике по следующим причинам.

Во-первых, точность этого показателя начала вызывать значительные сомнения. Проведенные в 65 европейских лабораториях определения LD_{50} для таких веществ как анилин, ацетанилид, салицилат, хлорид кадмия в сходных условиях на одних и тех же животных показали, что полученные величины отличались для одного и того же вещества в 5– 10 раз.

Во-вторых, определение LD_{50} с использованием животных представляется несостоятельным с этической и гуманной точек зрения. Общее количество использованных для подобных экспериментов млекопитающих в мире оценивается в 100–160 млн в год. В этой связи в последние годы многие научные общества и общественные организации выступают против не всегда оправданного уничтожения животных в токсикологических опытах.



Помимо токсичности и опасности, всякое влияние ксенобиотика на объект можно охарактеризовать некоторыми элементами проявления его биологического действия, на основании которых возможно создать систему классификации наблюдаемых явлений, используя различные критерии.

1. По типу биологического действия на мишень (мембранотропные вещества, разобщители дыхания, ингибиторы биосинтеза ДНК, РНК и др.).
2. Принцип LD_{50} или LC_{50} может быть распространен на любую классификацию и не обязательно связан с гибелью организма. Можно говорить в этой связи о дозе (концентрации) ксенобиотика, вдвое снижающей любую тест-реакцию (скорость биосинтеза белка, мембранный потенциал и т. д.).
3. По видам токсичности и опасности (эмбриональная, мутагенная, канцерогенная); и в том и другом случае можно установить определенные классы. При классификации по видам опасного действия необходимо учитывать период действия и срок проявления эффекта (кратковременные, длительные).
4. По избирательности действия ксенобиотиков: вещества могут быть токсичными по отношению к разным организмам. Научные основы этой классификации были заложены в начале XX в. в трудах П. Эрлиха.
5. По концентрационным пределам (пороговым значениям) токсического и/или опасного действия.
6. По характеру фармакологического действия (снотворные, нейролептики, гормональные и т. д.).

Пристального внимания заслуживают проявления отдаленных эффектов биологической активности, такие как мутагенность, канцерогенность и др. Потенциально опасными мутагенами и канцерогенами являются такие ксенобиотики как ДДТ, ПХБ и полиароматические углеводы (ПАУ)

Примеры инициаторов и промоторов канцерогенеза

Инициаторы	Промоторы
Химические соединения	
ПАУ (полуконденсированные ароматические углеводороды)	Кротоновое масло
N-нитрозо-N-нитро-N-метил гуанидин	Фенобарбитал
Диметилнитрозамин	ДДТ, ПХБ
Диэтилнитрозамин	ТХДД
N-нитрозо-N-метилмочевина	Хлороформ
Уребан	Сахарин (под вопросом)
1,2-Диметилгидразин	Циклакат

Инициаторы в процессе взаимодействия с ДНК вызывают необратимые соматические мутации при очень малой дозе инициатора; предполагают, что в этих случаях не существует пороговых величин концентраций, т. е. любая малая доза в конечном итоге вызывает эффект.

Промотору требуется более длительное время воздействия на организм, чтобы он вызывал появление опухоли. Промоторы усиливают действие инициатора, а их собственное действие на организм в течение некоторого времени является обратимым. К

К основным **причинам**, вызывающим мутагенез (канцерогенез) под действием ксенобиотиков относятся:

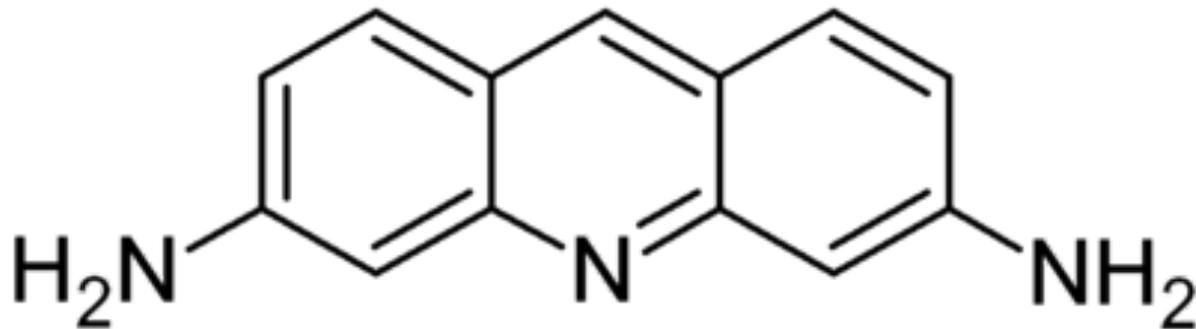
- активирование ферментов, изменение ДНК и нуклеофильных групп;
- ограниченная способность клеток удалять химически модифицированные участки ДНК и восстанавливать ее структуру;
- способность химических веществ активировать ферменты от вида клетки и стадии ее развития (фазы пролиферации), а также от вида организма;
- многоступенчатость процесса канцерогенеза и обуславливающие факторы, которые частично зависят от «микроокружения» раковой клетки;
- способность мутагенных химических соединений выступать в качестве промоторов появления опухолей; мутации лишь в определенных условиях приводят к образованию опухолей;
- возможность химических канцерогенов действовать либо непосредственно (без метаболического активирования, например эпоксиды), либо опосредовано через метаболиты (после предварительного активирования в результате биохимического окисления или гидроксилирования, например азо-, нитрозосоединения, ароматические амины, металлы).

Ионизация и биологическая активность ксенобиотиков

В зависимости от степени ионизации ксенобиотики обладают различной биологической активностью и их можно разделить на три большие группы.

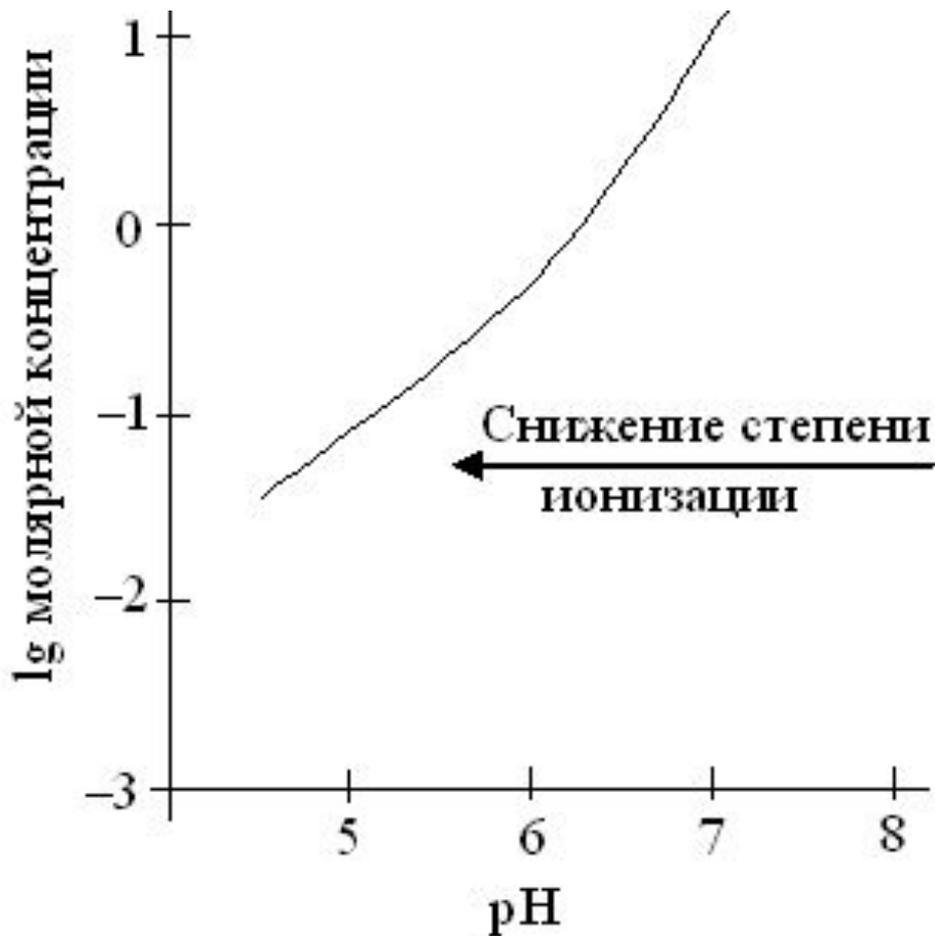
1. Ксенобиотики, обладающие большей биологической активностью в ионизированном состоянии.
2. Ксенобиотики, более активные в неионизированном состоянии.
3. Ксенобиотики, проявляющие биологическое действие в виде ионов и неионизированных молекул.

Ксенобиотики, обладающие большей биологической активностью в ионизированном состоянии. В тридцатых годах прошлого столетия было обнаружено, что многие органические катионы обладают антибактериальной активностью. Известно, что алифатические амины, существующие при pH 7 главным образом в виде катионов, проявляют бактерицидное действие, в отличие от ароматических аминов, которые существуют при pH 7 в основном в виде неионизированных молекул и этим действием не обладают. Однако тогда не связывали антисептическое действие с наличием органических катионов. Предполагалось, что антибактериальная активность зависит от наличия гидроксильных ионов, способных при взаимодействии аминов с водой сдвигать pH раствора в щелочную область. Таким образом, наличие бактерицидного эффекта объяснялось щелочностью антисептических растворов.



Ксенобиотики, более активные в неионизированном состоянии.

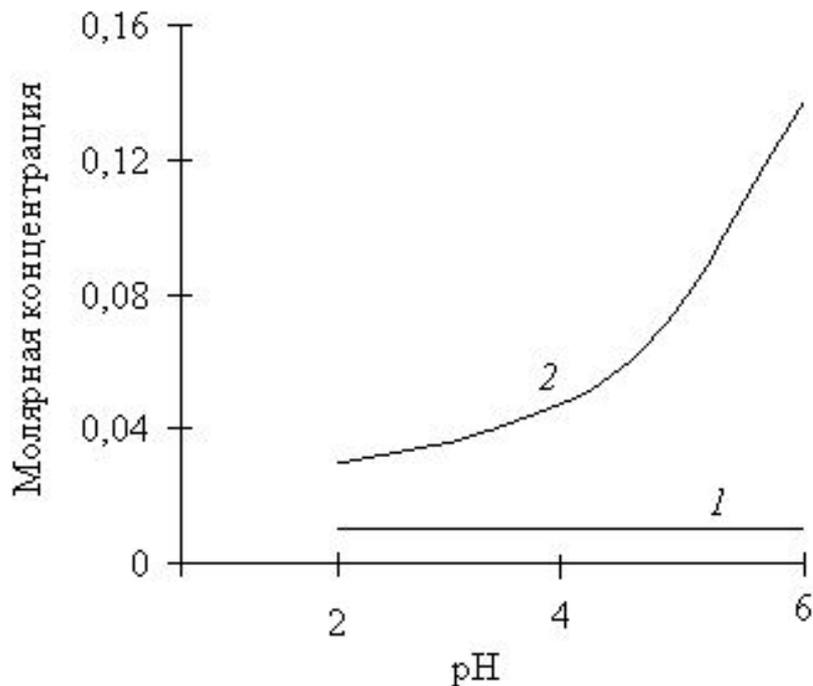
Неионизированные вещества могут обладать очень сильным физиологическим действием (эфир, хлороформ и др.). В этом можно убедиться на примере ингибирования клеток яиц иглокожих салициловой кислотой



Самое простое объяснение заключается в том, что нейтральные молекулы, а не анионы салициловой кислоты ингибируют деление клеток. Можно было бы сдвинуть интервал исследуемых pH в более кислую область, т. е. в ту, где будет присутствовать большее количество неионизированных молекул кислоты. Однако при снижении pH в такую кислую область возникает ряд затруднений: во-первых, организм может проявлять чувствительность к изменению pH среды; во-вторых, снижение pH может привести к изменению ионизации мест связывания и соответственно изменению сродства к агенту.

Влияние pH на концентрацию салициловой кислоты ($pK_a = 3,0$), необходимую для подавления деления клеток яиц морского ежа

При изучении действия слабых кислот на биологические объекты доказано, что количество вещества, необходимое для достижения эффекта, остается постоянным независимо от рН среды при условии, что рН по меньшей мере на одну единицу ниже, чем pK_a ; в этом случае не происходит ионизации токсического агента.



В других опытах было также доказано, что эффективность слабых оснований возрастает с повышением рН, т. е. пропорционально снижению их ионизации. Аналогичным образом эффективность слабых кислот, как отмечалось, повышается при уменьшении рН, что также связано с уменьшением ионизации.

Влияние рН на концентрации фенола (pK_a 9,9) (1) и уксусной кислоты (pK_a 4,8) (2), необходимые для ингибирования роста плесневых грибов

Но подобные эксперименты не дадут окончательного ответа, если не будет осуществлен контроль, позволяющий выяснить, не влияют ли изменения pH на подопытный организм.

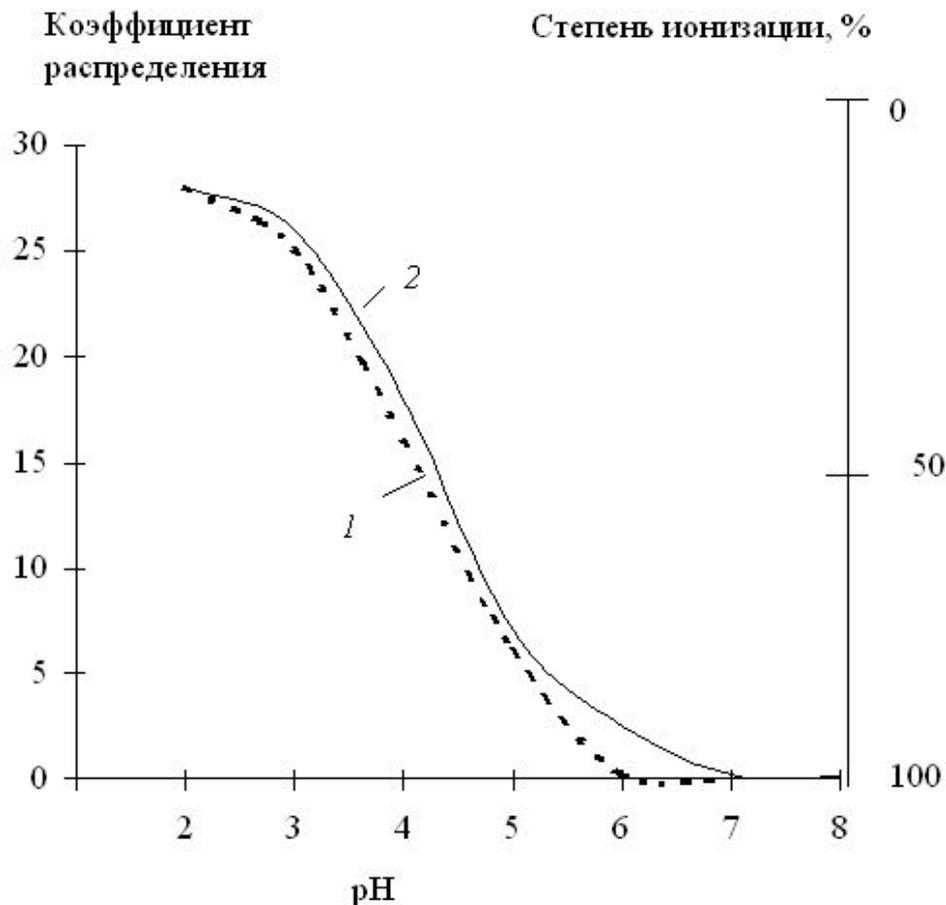
В этой связи рассмотрим опыт по выявлению наркотизирующего действия разных веществ на червя *Arenicola*. Опыты с неэлектролитами т. е. неионизирующими веществами, показали, что pH среды не влияет на тест-объект

Зависимость между степенью ионизации ксенобиотиков и их действием на обездвиживание червя (в г/100 мл морской воды)

Ксенобиотики	pH 7,0	pH 8,0	pH 9,0
Неэлектролиты:			
изопропиловый спирт	2,5	2,5	2,5
изоамиловый спирт	0,1	0,1	0,1
хлорбутол	0,025	0,025	0,025
Слабые основания ($pK_a \sim 8,5$):	→		
кокаин	0,01	0,005	0,0025
прокаин	0,002	0,001	0,0005
бутакаин	0,001	0,0002	0,0002
Барбитуровые кислоты ($pK_a \sim 8,0$):	←		
Изоамилэтилбарбитуровая кислота	0,006	0,025	0,05
Диэтилкарбинилэтилбарбитуровая кислота	0,006	0,012	0,05
<i>n</i> -амилэтилбарбитуровая кислота	0,006	0,012	0,05

→ Направление подавления ионизации

Ксенобиотики, проявляющие биологическое действие в виде ионов и неионизированных молекул. Многие вещества, особенно со значениями pK_a в пределах от 6 до 8, проникнув в клетки в виде неионизированных молекул, проявляют свое биологическое действие как ионы. Например, доказано, что поступление бензойной кислоты в клетки дрожжей обратно пропорционально степени ионизации



Поступление бензойной кислоты (pK_a 4,2) в пекарские дрожжи при разных значениях pH:

- 1 — кривая зависимости распределения всего вещества (клетка — жидкость);
- 2 — кривая изменения степени ионизации

Связь между структурой и биологической активностью ксенобиотиков

Выявление связи между химической структурой соединения и его физико-химическими свойствами, с одной стороны, и характеристиками биологической активности, с другой, позволяет прогнозировать и предсказывать последствия при его попадании в организм, в биосферу и способствует целенаправленному синтезу веществ с заданными свойствами.

Ценность таких прогнозов весьма велика, поскольку они экономят большие средства, необходимые для установления соответствующих свойств экспериментальным путем.

Решение задач подобного рода – прогнозирование с помощью ЭВМ биологической активности соединений на основе его структурной формулы – стало сегодня одной из надежд быстрого прогресса в области фармакологии (за рубежом исследования этого направл
екарств).



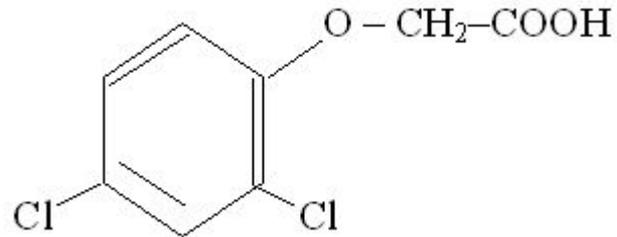
Что же следует иметь в виду, говоря о связи «структура – активность»?

Структура означает строение вещества, определяющее все его физические и химические свойства (как вытекающие из химической формулы, так и определяемые экспериментально).

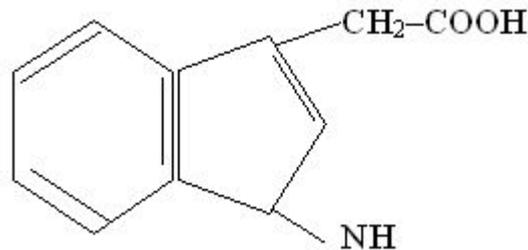
Активность – это взаимодействие вещества с центрами-мишенями, которое может быть связано длинной цепью событий с наблюдаемым физиологическим эффектом. Поэтому о влиянии строения вещества на биологическую активность уместно говорить только тогда, когда рассматривается действие его на конкретную мишень (место связывания).

Среди параметров веществ, изучаемых при установлении соотношения «структура – активность», можно отметить такие, как молекулярная масса, плотность, молекулярный объем, критическое давление, коэффициент теплопроводности, теплоемкость, поверхностное натяжение, вязкость и т. д.

Известно, что наиболее эффективные яды – это соединения, являющиеся аналогами природных биорегуляторов. Например, распространенный гербицид 2,4-Д (дихлорфеноксиуксусная кислота)



близок в структурном отношении по расположению карбоксильной группы относительно ароматического кольца гормону – индолилуксусной кислоте (ИУК),



регулирующему ростовые процессы у растений. Попадая на листья, 2,4-Д легко поглощается, вызывая регуляторные расстройства, приводящие, если концентрация его достаточно высока, к гибели растения. Поскольку злаковые (вообще однодольные) оказались устойчивее к действию 2,4-Д, чем двудольные, его и стали применять для борьбы с сорняками.

Не всегда, однако, способность соединения имитировать какой-то «естественный» метаболит обусловлена столь выраженной близостью молекулярного строения.

Возьмем другой класс пестицидов – фосфорорганические инсектициды.

Соединения этой группы «работают под эгидой»

Ацетилхолинэстераза



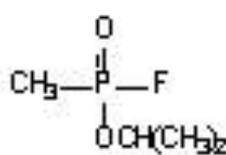
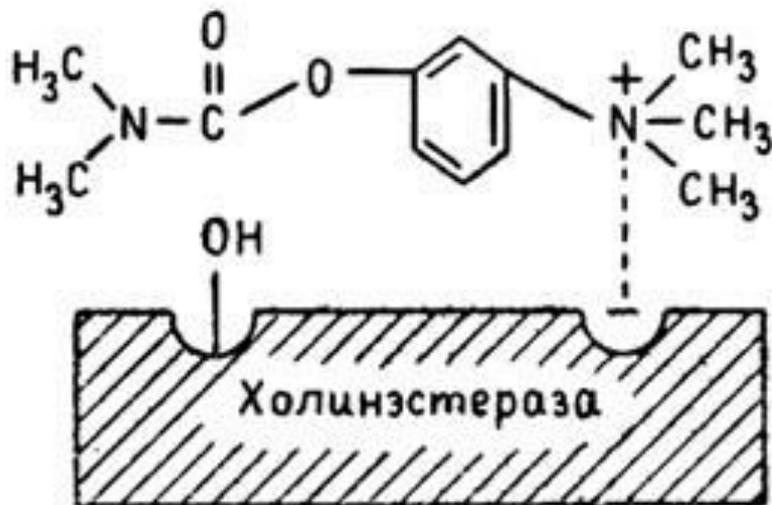
II ацетилхолин

ацетат

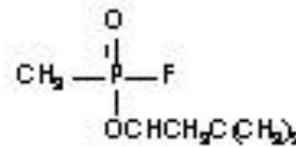
холин

O функционирует как
нейромедиатор

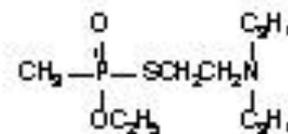
продукты распада,
не способные действовать как
нейромедиаторы



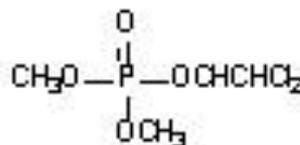
зарин



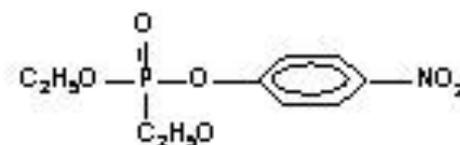
зоман



VX

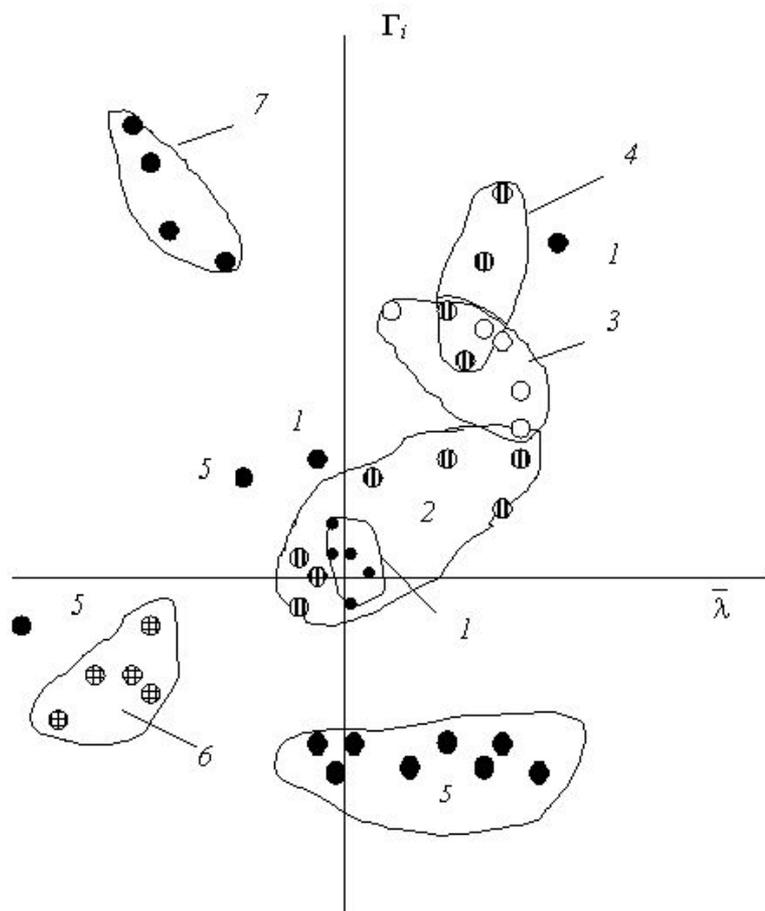


дихлофос



фосфакол

Биологическая активность в может быть представлена по попаданию нового тестируемого соединения в один их кластеров, объединяющих соединения со сходными видами активности. Однако надо иметь в виду, что при таком подходе вероятность ошибки предсказания активности может быть очень велика.



Разделение некоторых веществ с известной биологической активностью на группы по данным люминесцентного анализа:
 1 – стероидные гормоны; 2 – нейролептики; 3 – нуклеотиды;
 4 – адаптогены; 5 – канцерогены; (конденсированные углеводороды);
 6 – регуляторы обмена веществ; 7 – снотворные барбитураты

При исследовании закономерностей изменения биологической активности в ряду аналогов некоторого вещества модификации, вызывающие сдвиг биологической активности обычно, разделяют на две группы:

1. модификации, связанные с изменением сродства молекулы к мембранактивным структурам (рецептору),
2. модификации, нарушающие развитие реакции системы на образование комплекса «вещество – рецептор».

Сродство молекулы любого вещества к рецептору (активному центру) очевидным образом связано с определенными элементами ее пространственной структуры, обеспечивающими взаимную комплементарность рецептора и агониста.

С другой стороны, внутренняя активность определяется преимущественно природой функциональных групп (присутствием в некоторых положениях ароматического радикала, кислотной группы, гидрофобной группы и т. п.).

В самом кратком виде можно отметить некоторые особенности показателей связи между структурой веществ и их биологической активностью.

1. Немалую роль играет гидрофобность (липофильность), определяемая соотношением в структуре молекулы гидрофобных и гидрофильных групп. Для организмов существенное значение имеет не столько сама гидрофобность, сколько сочетание двух свойств: гидрофобности и стабильности молекул в воде.
2. Ионизация (или другой показатель распределения электронов).
3. Существенное значение имеет содержание галогенов в молекуле ксенобиотика. Замена атомов водорода в молекуле вещества на атомы галогенов увеличивает устойчивость данного соединения.
4. В большой мере на биологическую активность влияет конформация молекул. Например, структура изадрина и его эпоксипроизводного – эльдрин – легче атакуется ферментами, чем конформационно несколько иначе «вывернутая» структура альдрин и его эпоксидопроизводного – дизельдрин. Именно этим, вероятно, можно объяснить то, что у млекопитающих эльдрин метаболизируется быстрее, чем альдрин.



5. Замена двойной связи в молекуле на эпоксигруппу приводит к увеличению биологической активности вещества и в ряде случаев повышает его

Конец темы