

УДК 615.015.11

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ СООТНОШЕНИЯ «ХИМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА — БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ»

С. В. Нижний, Н. А. Эпштейн

Дан обзор основных методов, применяющихся для получения количественных соотношений между химической структурой и биологической активностью. Рассмотрены предпосылки, возможности и перспективы этих методов.

Библиография — 299 ссылок.

### ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	739
II. Метод подструктурного анализа. Метод опознавания образов	748
III. Математическая аддитивная модель	749
IV. Многопараметрный регрессионный метод	751
V. Проведение анализа структура — активность методом Ганча	756
VI. Квантостатистический подход	758
VII. Применение факторного анализа для выявления соотношений структура — активность	759
VIII. Использование полуэмпирических методов для исследования механизма реакций биологически активных веществ	760
IX. Возможности практического применения. Успехи. Трудности и перспективы	763
X. Заключение	766

### I. ВВЕДЕНИЕ

Установление связи между химической структурой веществ и их фармакологическим действием — важнейшая задача при создании лекарств, обладающих высокой эффективностью и избирательностью действия. Биохимическая фармакология пока не позволяет строго ставить задачи направленного синтеза. Между тем для выявления новых лекарственных средств сейчас направлены огромные научные силы и капиталовложения<sup>1</sup>. В такой ситуации оправданными являются попытки создания свода эмпирических и полуэмпирических правил, связывающих отдельные особенности строения веществ с их действием на биологические системы.

К настоящему времени накоплен обширный экспериментальный материал, свидетельствующий о том, что между физико-химическими свойствами вещества и проявляемым им биологическим действием существуют определенные взаимосвязи. Выяснение происхождения эмпирических зависимостей между свойствами соединений *in vitro* и их биологическим действием на организм должно позволить получить представления о механизмах биологически важных химических реакций и на этой основе давать обоснованные рекомендации химикам-синтетикам, и, с другой стороны, прогнозировать возможную направленность и эффективность биологического действия вновь синтезированных веществ, сократив тем самым трудоемкие и дорогостоящие стадии биологических испытаний.

Возможность установления связей структура — активность выявилась

около ста лет назад, когда было обнаружено<sup>2</sup>, что сила наркотического действия некоторых веществ уменьшается с увеличением их растворимости в воде. Несколько позднее была обнаружена взаимосвязь между наркотической способностью и распределением веществ в системе вода — липид<sup>3,4</sup>. В дальнейшем был установлен целый ряд физико-химических параметров веществ, связь которых с наркотическим действием и токсичностью увлекательно описана Лазаревым<sup>5,6</sup>.

Несмотря на ограниченность и качественный характер большинства обнаруженных в первой половине XX века зависимостей структура — активность, их общим итогом следует считать обоснование положения о том, что биологическое действие вещества в отдельных случаях может быть объяснено в результате исследований *in vitro* и описано на основе законов физической химии и в терминах ее понятий.

Ниже рассмотрены современные подходы к проблеме структура — активность (опирающиеся в основном на принципы физической и теоретической химии), с помощью которых в настоящее время можно пытаться ограничить тотальный синтез и биологический скрининг всех веществ, представляющихся из общих соображений перспективными как лекарственные средства.

Обычно легко принимаемое на веру утверждение о том, что структура вещества и вызываемая им биологическая реакция состоят в однозначной причинно-следственной зависимости, на самом деле следует рассматривать лишь как один из постулатов, лежащих в основе подхода к проблеме структура — активность<sup>7,8</sup>. Наиболее общие предпосылки такого рода могут быть сведены к следующим.

1. Структура  $S$  химического соединения  $Y$ , обозначенная  $S_y$ , может быть выражена через набор некоторых структурных параметров  $S_y = \{S_y^i\}$ , где  $i = 1, 2, \dots, n$ .

2. Существует связь между структурой вещества и его биологической активностью, т. е. имеется некоторая функция  $F_y(S_y, A_y)$ , связывающая активность  $A$  вещества  $Y$  с его структурой  $S_y$  или с отдельными ее характеристиками —  $F_y(S_y^i, A_y)$ .

3. Если вид функции  $F(S, A)$  установлен, то функцию можно экстраполировать на соединения ряда  $Y_1, Y_2, Y_3, \dots$  со сходной структурой, отличающейся заместителями  $X_1, X_2, \dots$ , или их положением в молекуле.

4. Из анализа набора функций  $F_{Y_1}(S_{Y_1}, A_{Y_1})$ ,  $F_{Y_2}(S_{Y_2}, A_{Y_2}) \dots$  можно выявить последовательность активностей веществ, например  $A_{x_1} > A_{x_2} > A_{x_3} \dots$ , в некотором ряду соединений.

При этом прогнозирование биологической активности ограничивается рядами соединений, связанных общностью структуры, причем подразумевается, что некая «ведущая» структура уже установлена, и применение того или другого подхода должно сократить количество экспериментальных испытаний биологической активности членов ряда.

Для получения рабочей модели (т. е.  $F(S, A)$ ), достоверность которой в дальнейшем предстоит оценить, предполагается, что молекулы биологически активного вещества претерпевают в организме ряд физико-химических и химических превращений: растворение, сорбцию, распределение, связывание, химическую реакцию, выделение и т. п. Очевидно, что любой из этих этапов или их сочетание в каждом конкретном случае может определять направленность фармакологического действия вещества или являться лимитирующей стадией суммарного эффекта, определяемого как биологическая активность.

Если выполняется первое условие, т. е. физико-химические характеристики вещества отражают его структуру через набор некоторых ее параметров, то для установления вида  $F_Y(S_Y, A_Y)$  необходимо получить

$A$  в количественном виде —  $[A]^*$ . Величина  $[A]$ , обычно определяемая путем биологических испытаний, является, во-первых, среднестатистической величиной; во-вторых, она может отражать только конечный результат воздействия вещества на организм или моделирующую его систему. На самом же деле конечный результат может быть следствием одного или нескольких этапов действия вещества. Отсюда очевидно, что наиболее сложной задачей для установления  $F_Y(S_Y, A_Y)$  является параметризация  $[A]$ .

Если наблюдаемая биологическая реакция BR организма или моделирующей его системы на некоторое вещество является следствием последовательных физико-химических процессов, происходящих с его участием, то время  $t$ , разделяющее начало действия вещества и его конечный результат, можно связать с наличием некоторой контролирующей скорость процесса стадии. Когда вещество с исходной концентрацией, вызывающей стандартную биологическую реакцию  $C_0$ , вводится в биологическую систему, то существует некоторая вероятность  $N$  того, что в количестве  $C_0 N$  вещество достигнет места, реакция с которым через время  $\Delta t$  приведет к  $[BR]^*$ . В этом случае скорость процесса можно представить в виде (подробно см. гл. IV)<sup>8, 11, 12</sup>:

$$\frac{d[BR]}{dt} = KC_0 N \bar{k}_i, \quad (1)$$

где  $K$  — коэффициент пропорциональности, связывающий скорость биологической реакции<sup>11, 12</sup> со скоростью контролирующей стадии, а  $\bar{k}_i$  — константа скорости или равновесия этой стадии.

Приведенные рассуждения и выражение (1) не являются строго обоснованными. Дело в том, что стандартная биологическая реакция ( $ED_{50}$ ,  $LD_{50}$  и т. п.) не содержит в явном виде сведений о скорости  $d[BR]/dt$ . Более того, в реальном случае скорость процесса  $\bar{k}_i$  может определяться любой отдельной стадией, их многократным повторением или сочетанием. Поэтому функцию (1) следует рассматривать лишь как формально отражающую связь  $[BR]$  с гипотетическим скоростьюопределяющим стационарным физическим или химическим процессом. Однако вводя дополнительный постулат

$$\frac{d[BR]}{dt} = \text{const}, \text{ т. е. } KC_0 N \bar{k}_i = \text{const}, \quad (2)$$

можно получить набор функций  $F_Y(S_Y^i, A_Y)$ , аналогичный наблюдаемым на опыте<sup>9-11</sup> (подробнее см. гл. IV), учтя, что в качестве  $[A]$  обычно используется  $1/C_0$ .

Выбор значения  $1/C_0$  в качестве меры эффективности биологического действия вещества  $[A]$  в настоящее время не может быть строго обоснован. Тем не менее некоторое оправдание правомерности использования  $1/C_0$  в качестве меры  $A$  вытекает из экспериментальных данных<sup>13-16</sup> и модели равновесного распределения<sup>17</sup>. Действительно, если химические потенциалы вещества в месте его введения и в месте действия равны<sup>17</sup>, то исходная концентрация вещества ( $C_0$ ) должна определять его концентрацию в определенной области биофазы ( $C_B$ ), связывание (т. е. реакция) с которой вызывает биологический эффект, так как в этом случае соблюдается закон распределения вещества между фазами —  $C_B/C_0 = \text{const}$ , откуда смысл использования  $1/C_0$  как критерия эффективности биологического действия очевиден. С другой стороны, если биологическое

\* Здесь и далее  $[A]$  и  $[BR]$  — количественная мера активности, выражаемая через концентрацию, и количественная мера биологического эффекта, выражаемая в произвольных единицах соответственно.

действие вещества определяется ингибированием конкретного фермента биофазы, константа скорости его ингибирования может быть использована для оценки  $[A]$ <sup>13</sup>; получены экспериментальные доказательства связи  $1/C_0$  с константой ингибирования<sup>15, 16, 18</sup>.

Теоретически случай, когда время достижения определенного состояния ингибирования фермента обратно пропорционально  $C_0$ , осуществляется для реакций второго порядка. Действительно, в этом случае  $[A] = K_{0,5}^{\text{инг}} = k_1(1/C_0)$  с точностью до константы  $k_1$ . Фактически же постулат (2) или его логарифмическая форма

$$\lg [A] = \lg (1/C_0) = \text{const} + \lg N + \lg K + \lg \bar{k}_i \quad (3)$$

означает лишь то, что при одинаковой скорости лимитирующей стадии все вещества в серии (т. е. родственные соединения), независимо от их структуры и состава, должны вызывать одинаковую биологическую реакцию за фиксированный промежуток времени. Ввиду этого в уравнении (1) следовало бы записать не формальную величину  $d[BR]/dt$ , а непосредственно  $-dC_{\text{кр}}/dt$ , в виде  $-dC_{\text{кр}}/dt = \bar{k}_i NC_0$ . В такой форме задача выглядит корректно и сводится к установлению зависимости  $\lg(1/C_0)$  от различных физико-химических параметров.

Для облегчения математической интерпретации выражения (3) принимается, что лимитирующая стадия, определяющая скорость процесса на данном этапе, является реакцией первого (или псевдопервого) порядка. Это возможно, если: 1) лишь малая часть из реагирующих активных центров в организме взаимодействует с исследуемым веществом; 2) вещество находится в организме в значительном избытке относительно числа реакционноспособных мест. Второй случай часто осуществляется в условиях *in vitro*, т. е. в модельной физико-химической системе; первый, вероятно, имеет место в условиях реального воздействия веществ на организм.

Происхождение связей структура — активность основывается на сопоставлении результатов независимых физико-химических и биологических исследований веществ. В табл. 1 приведены виды биологического действия, для которых эмпирически установлена корреляция типа биологического действия вещества с его физико-химическими характеристиками.

Если считать, что уравнение (3) корректно, то для количественного выражения влияния заместителей на  $\lg \bar{k}_i$  и, следовательно, на  $\lg[A]$ , необходимо в первом приближении учесть гидрофобные, электронные и стерические составляющие взаимодействия, которые можно представить в виде их линейной комбинации:

$$\lg \bar{k}_i = f_r(S_r) + f_s(S_s) + f_c(S_c). \quad (4)$$

Комбинируя (3) и (4), получаем:

$$\lg [A] = \lg (1/C_0) = f_r(S_r) + f_s(S_s) + f_c(S_c) + \lg N + \text{const}. \quad (5)$$

Конкретный вид и содержание каждого члена уравнения (5) могут быть раскрыты различными путями в зависимости от принятой модели или имеющихся экспериментальных наблюдений (см. ниже).

Все подходы к проблеме структура — активность, включающие рассмотрение (в виде уравнения (3)) конкретных физико-химических характеристик вещества, условно относятся нами к полумпирическим.

ТАБЛИЦА 1

Виды биологического действия, для которых установлена количественная корреляция с физико-химическими свойствами веществ и параметрами их модельных взаимодействий

Физико-химическая характеристика вещества	Тип биологического действия	Ссылки	Источники табличных значений физико-химических параметров
Логарифм коэффициента распределения $\lg P$	Бактериостатическая активность	77, 84, 87, 147—149	41, 176—178
	Наркотическая активность	12, 135, 150, 151	
	Ингибирование ферментов	12, 18, 77, 152, 153	
	Протеиновое связывание	12, 53, 135, 154—156	
	Противосудорожное действие	77, 157	
	Местноанестезирующее действие	77, 151	
	Проницаемость тканей или искусственных мембран	12, 158, 159	
	Спазмолитическое действие	77, 135	
	Канцерогенная активность	160	
	Ингибирование поглощения кислорода	135	
	Локализация бора в мозгу	12, 161	
	Токсичность против многоклеточных организмов	162	
	Ингибирование деления клеток	135	
	Андрогенное действие	163	
	Анаболическая активность	163	
	Противоопухолевая активность	164	
	Ингибирование люминесценции	135	
	Действие на центральную нервную систему	165—167	
	Антагонизм к гистамину, серотонину и т. п.	135	
	Фибринолитическое действие	156, 168	
	Ингибирование реакции Хилла	169—171	
	Обезболивающая активность	150	
	Противовоспалительное действие	172	
	Рост-активирующее действие	173	
	Антиэлектрошокковая активность	174	
	Противогрибковое действие	175	
Параметр липофильности $\pi$	Бактериостатическая активность	77, 81, 147, 179—182	41, 52, 72, 177, 178, 210, 211
	Наркотическая активность	12, 60	
	Ингибирование ферментов	18, 86, 179, 183—191	
	Протеиновое связывание	53, 156, 192	
	Антималарийное действие	193	
	Инсектицидная активность	194	
	Местноанестезирующее действие	195	
	Антигельминтное действие	88	
	Сладкость (относительная)	196	
	Гипотензивное действие	197	
	Локализация бора в мозгу	12	
	Синергическое действие	11, 76	
	Ингибирование реакции Хилла	198	
	Натрийуретическое действие	91	
	Гемолиз эритроцитов	128, 148	
	Адреноблокаторная активность	199, 200	
	Антиаритмическое действие	94	
	Действие на потенциал аксона	128	
	Ингибирование комплемента	201	
	Прогестеронная и пр. активности	144, 202	
	Противогрибковая активность	203	
	Фитотоксическая активность	81, 179	
	Ингибирование деления клеток	204	
	Антифагоцитарное действие	205	

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

Физико-химическая характеристика вещества	Тип биологического действия	Ссылки	Источники табличных значений физико-химических параметров
Параметры тонкослойной хроматографии (т. с.) $R_m$ , $\Delta R_m$	Токсичность против многоклеточных организмов	179	57, 178, 212, 216, 217
	Акарицидная активность	206	
	Антагонизм к гистамину, серотину и т. п.	207	
	Ингибирование секреции слюны	179	
	Фунгицидное действие	98	
	Гербицидное действие	68, 208	
	Противовоспалительное действие	179	
	Деполаризующее действие на электровозбудимые мембраны	179	
	Ингибирование митохондриального переноса электронов	209	
	Бактериостатическая активность	57, 182, 212	
д.т.с. Парахор $Pr$ , $г^{1/4} \cdot см^3 / сек^{1/2} \cdot моль$	Токсичность против многоклеточных организмов	55, 212	215 43, 60, 61, 220—222
	Протеиновое связывание	96, 178, 212	
	Андрогенное действие	163	
	Синергическое действие	163	
	Гемолиз эритроцитов	148, 178, 212	
	Гипогликемическое действие	96	
	Анаболическая активность	163, 212	
	Ингибирование митохондриального переноса электронов	209, 212, 213	
	Прогестеронная и пр. активности	214	
	Ингибирование реакции Хилла	179	
Мольный объем $V_m$ , $см^3 / моль$	Обезболивающая активность	212	44
	Фунгицидное действие	212	
	Гербицидное действие	212	
	Ингибирование реакции Хилла	179, 215	
	Бактериостатическая активность	42, 60, 62	
	Наркотическая активность	42, 60, 61, 218	
	Протеиновое связывание	60	
	Ингибирование развития эмбриона	60	
	Ингибирование деления клеток	42	
	Тиромиметическая активность	62	
Молекулярная связуемость $\chi_m$	Местноанестезирующее действие	62	67
	Фибринолитическое действие	62	
	Гемолиз эритроцитов	62	
	Действие на потенциал аксона	62	
	Симпатомиметическая активность	62	
	Парасимпатолитическая активность	62	
	Противовоспалительное действие	219	
	Бактериостатическая активность	42, 70	
	Наркотическая активность	42, 61, 70	
	Наркотическая активность	67	
Молекулярный вес $M$ , $г / моль$	Ингибирование ферментов	67	223
	Противогрибковое действие	67	
	Наркотическая активность	60, 61	
	Протеиновое связывание	60	
	Ингибирование развития эмбриона	60	
	Бактериостатическая активность	42	
	Наркотическая активность	42	
	Анестезирующее действие	179, 26	
	Логарифм растворимости в воде $\lg C_s$ , моль/литр		
	Парциальное давление (в модельной системе) $p$ , мм рт. ст.		

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

Физико-химическая характеристика вещества	Тип биологического действия	Ссылки	Источники табличных значений физико-химических параметров
Параметр растворимости Гильдебранда $\delta$ , $\text{кал}^{1/2} \cdot \text{см}^{3/2}$	Гемолиз эритроцитов	227	65, 228, 229
Мольная аттракционная постоянная $F_a$ , $\text{кал}^{1/2} \cdot \text{см}^{3/2} / \text{моль}$	Наркотическая активность Ингибирование развития эмбриона	60, 61, 66 60	60, 66
Константа Ван-дер-Ваальса $a$ , $\text{л}^2 \cdot \text{атм} / \text{моль}^2$	Наркотическая активность	142	230
Константа Гаммета $\sigma$ ( $\sigma_m$ , $\sigma_p$ )	Бактериостатическая активность Ингибирование ферментов  Гемолиз эритроцитов Местноанестезирующее действие Антагонизм к серотонину, гистамину и т. п. Сладкость (относительная) Ингибирование митохондриального переноса электронов Токсичность против многоклеточных организмов Адреноблокаторная активность Ингибирование гормонального действия Фибринолитическое действие Гипотензивное действие Антималарийное действие Антифагоцитарное действие Акарицидная активность Рост-активирующее действие Антиэлектрошоковая активность Противогрибковое действие Гербицидное действие	12, 147, 180, 181 12, 18, 77, 184—188, 231, 232 12 195, 237 238  196 209  162, 179  199, 200 239  156 197 193 205 206 173 174 175 68, 208	69, 72, 210, 233—236
Индукционная и резонансная составляющие константы Гаммета $\sigma$ , $\sigma_R$	Ингибирование ферментов Антагонизм к серотонину, гистамину и т. п. Противовирусная активность	18, 129, 185, 240 238 242	235, 241
Электронодонорные и электроноакцепторные константы заместителей $\sigma^+$ , $\sigma^-$ , $\Delta\sigma_R^+$	Ингибирование ферментов Гемолиз эритроцитов Ингибирование комплемента Токсичность против многоклеточных организмов	12, 18, 77, 129, 179 12 201 12	69, 90, 235, 241, 243—245
Индукционная постоянная Тафта $\sigma^*$	Бактериостатическая активность Ингибирование ферментов Противосудорожное действие Адреноблокаторная активность Действие на центральную нервную систему Ингибирование секреции слюны Антиэлектрошоковая активность Деполаризирующее действие на возбуждаемые мембраны Противогрибковое действие	87, 149 18, 195, 240 157 127 167  179 174 179 175	235, 245, 246
Радикальные константы заместителей $\sigma^\cdot$ , $E_R$	Бактериостатическая активность Ингибирование ферментов Местноанестезирующее действие Синергическое действие	77, 148 18, 77 77 12, 76	74, 76

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

Физико-химическая характеристика вещества	Тип биологического действия	Ссылки	Источники табличных значений физико-химических параметров
Параметры Свайна и Лаптона $\mathcal{F}$ , $\mathcal{R}$	Антагонизм к серотонину, гистамину и т. п. Ингибирование ферментов Прогестеронная активность	238 18, 185 202	69, 72, 210
Константа переноса заряда $C_T$	Ингибирование ферментов Канцерогенная активность	18, 78 79, 80	78
Изменение константы ионизации $\Delta pK_a$	Бактериостатическая активность Ингибирование ферментов Ингибирование поглощения кислоты Ингибирование деления клеток Ингибирование митохондриального переноса электронов Противовоспалительное действие Натрийуретическое действие Фитотоксическая активность	81, 179, 181, 182 12, 13, 18, 77, 179—185, 191 135 135 209 179 91 81	247, 248, 284
Мольная электронная поляризация $P_E$ , $см^3/моль$	Бактериостатическая активность Ингибирование ферментов Анестезирующее действие	85, 87 18, 86, 185 249	
Поляризуемость $\alpha$ , $см^3$	Местноанестезирующее действие	83	60, 83
Молекулярная рефракция $MR$ , $см^3/моль$	Ингибирование ферментов Ингибирование комплемента Наркотическая активность Прогестеронная активность	18, 153, 188, 232 201 61 2 2, 250	72, 210, 222, 251, 252
Дипольный момент $\mu$ , Д	Антигельминтное действие Ингибирование ферментов	88 18, 152	253
Ионизационный потенциал $I$ , эВ/моль	Наркотическая активность Местноанестезирующее действие Канцерогенная активность	254, 255 83 79, 256	83, 257, 258
Полярнографический потенциал полуволны $\Phi_{1/2}$ , в	Бактериостатическая активность	84	230
Стерический параметр Тафта $E_s$	Бактериостатическая активность Ингибирование ферментов  Противосудорожное действие Антагонизм к серотонину, гистамину и т. п. Противовирусная активность Синергическое действие Двигательная активность Фибринолитическое действие Антифагоцитарное действие Антиэлектрошокковая активность Антиаллергическое действие Противогрибковое действие	37, 149 18, 129, 185, 186, 188, 190, 240 157 102 8 11, 76 259 156, 168 205 174 97 175	128, 235
Откорректированный стерический параметр Тафта $E_s^c$	Ингибирование ферментов Адреноблокаторная активность Деполаризирующее действие на возбуждаемые мембраны	195 127 179	235
Ван-дер-ваальсов радиус $r_v$ , Å	Бактериостатическая активность Адреноблокаторная активность	37 200	260
Поверхностное натяжение $\gamma$ , дин/см	Наркотическая активность Действие на центральную нервную систему Местноанестезирующее действие	261, 262 263 264	221, 265, 266



ТАБЛИЦА 1 (окончание)

Физико-химическая характеристика вещества	Тип биологического действия	Ссылки	Источники табличных значений физико-химических параметров
Поверхностное давление $\pi$ , <i>дин/см</i>	Действие на центральную нервную систему Местноанестезирующее действие	226, 263, 257 237	265
Гидрофильно - липофильный баланс ГЛБ	Модификация гербицидного действия	68	268
Мольная теплота адсорбции $Q_{адс}$ , <i>кал/моль</i>	Проницаемость тканей и искусственных мембран Ингибирование поглощения кислорода Ингибирование люминесценции	269 269 269	269
Логарифм удельной скорости растворения $\lg K_{раст}$ , <i>мкмоль/см<sup>2</sup>·сек</i>	Местноанестезирующее действие	59	
Константа связывания модельным рецептором (протеин и пр.) $K_b$	Обезболивающая активность Противоопухолевая активность Канцерогенная активность	145 270 271, 272	41
Мольная диамагнитная восприимчивость $\chi$ , <i>см<sup>3</sup>/моль</i>	Наркотическая активность	61	202
Химический сдвиг атомов X в спектре ЯМР $\delta^X$ , м. д.	Гипогликемическая активность Натрийуретическое действие Фунгицидное действие	90, 96 91 98	274—279
Спектроскопические данные: частота колебаний $\nu$ , <i>сек<sup>-1</sup></i> волновое число $\omega$ , <i>см<sup>-1</sup></i>	Бактериостатическая активность Антиаритмическое действие Антиаллергическая активность	95 94 97	
Периферический параметр, характеризующий свойства заместителя в стероидах с	Прогестеронная и т. п. активности	144	250
Основные квантовохимические параметры: суммарный заряд $\pi$ -электронов на атоме г, $q_g$ или $e$ , <i>кул</i> полный суммарный $(\sigma + \pi)$ -заряд электронов на атоме г $Q_g^T$ , <i>кул</i>	Бактериостатическая активность Ингибирование ферментов Бактериостатическая активность Антихолинэргическое действие Ингибирование ферментов	120 18, 109, 232 114, 120, 280 113 18, 110, 152	
Энергии наивысшей занятой и низшей незаанной молекулярных орбиталей $E_{ВЗО}$ и $E_{НСО}$ , <i>эв</i>	Бактериостатическая активность Местноанестезирующее действие Обезболивающая активность Гипотензивное действие Действие на центральную нервную систему Ингибирование деления клеток	280 83 281 115 282, 283 204	
Электрофильная (E) и нуклеофильная (N) сверхделокализуемости $S_r^E$ и $S_r^N$	Бактериостатическая активность Антихолинэргическое действие Гипотензивное действие Никотиноподобная активность	114, 120 113 115 12	
Индекс свободной валентности $F_r$	Бактериостатическая активность	114	
Атомно-орбитальный коэффициент атома г $C_r$	Бактериостатическая активность	120	

Вклад другой группы методов — эмпирических заключается в систематическом анализе исследований биологической активности с целью выявления элементов структуры и их комбинаций, характерных для определенного типа действия. В эту же группу нами включены методы оценки математического вклада определенных элементов структуры в биологическую активность соединения.

## II. МЕТОД ПОДСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА. МЕТОД ОПОЗНАВАНИЯ ОБРАЗОВ

Оба эти подхода базируются на предположении о том, что биологическая активность вещества обусловлена наличием в его молекуле определенных элементов структуры (подструктур).

Частота активности подструктуры  $L$  характеризует вклад, который эта подструктура вносит в вероятность того, что соединение биологически активно<sup>19</sup>. Численно она выражается через отношение количества биологически активных веществ, содержащих определенную структурную единицу ( $B$ ), к общему числу анализируемых соединений, где эта подструктура также встречается ( $T$ ), т. е.  $L = B/T$ .

Используя дескрипторную систему фрагментарного кодирования<sup>20, 21</sup>, способную различать 1200 фрагментов структуры — функциональных групп, цепей, колец и т. д. и 110 видов их сочетаний, был разработан формализм<sup>22</sup> и машинная программа, способная определять  $L$  для значительно отличающихся по химическому строению соединений с известным типом биологической активности, которые сравнивались с теми же величинами для анализируемых на потенциальную биологическую активность соединений.

Попытка<sup>19</sup> оценить антиартритиммунологическое действие 850 препаратов различного строения и различного механизма фармакологического действия по критерию  $L$ , независимо испытываемых также по физиологическим методикам<sup>23</sup>, показала:

1) что простое выделение фрагментов структуры, присущих наиболее активным веществам этой группы, как и следовало ожидать, не позволяет сделать выбор оптимальных соединений и, следовательно, установить последовательный ряд по убыванию или возрастанию их активностей;

2) что экспериментально полученные таблицы частот активности подструктур, включающие значения  $L$  для 492 фрагментов структуры, встречающихся в наиболее активных соединениях указанного типа действия, дают возможность составить ряд соединений по убывающей активности, соответствующий обнаруженному на опыте\*.

Далее та же программа использовалась для поиска активных веществ антиартритиммунологического действия среди 703 не обследованных еще веществ. Было показано<sup>19</sup>, что критерий  $L$  пригоден не только для установления потенциальной активности разнообразных типов соединений, но и для рекомендаций необходимого сочетания подструктур при синтезе соединений, неизвестных прежде как антиартритиммунологические агенты.

Естественно, что в том виде, как он предложен, критерий  $L$  не может быть непосредственно отнесен к структурно-активным зависимостям. При применении метода опознавания образов<sup>24, 25</sup> кроме подструктурного принципа характеристики веществ дополнительно вводятся их физико-химические параметры. В этом случае серия заранее выбранных хими-

\* Для того чтобы избежать «открытий» в виде соединений, положенных в основу составления таблиц, эти соединения исключались из общего числа испытываемых веществ.

ческих соединений определенной направленности биологического действия (учебная серия, включающая более 100 веществ) представляется в виде поверхности в  $n$ -мерном пространстве, координатами в котором служат формализованные эквиваленты фрагментов структуры и физико-химические параметры вещества; точкам на этой поверхности соответствуют индивидуальные соединения. Испытуемое вещество или группа веществ формализуется по тем же признакам, что и учебная серия, после чего определяется, насколько близко находятся они в описанном  $n$ -мерном пространстве к точкам, отвечающим активным соединениям из учебной серии. Специальная методика<sup>25</sup> позволяет формировать отдельные группы признаков в векторы пространства, что позволяет сократить число переменных и выявить характерные для активных соединений фрагменты. По данным<sup>24</sup>, комбинированное применение фрагментарных и физико-химических критериев для характеристики вещества дало возможность с вероятностью 80—90% предсказывать противоопухолевую активность в ряду из 17 ранее не изученных соединений.

### III. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ АДДИТИВНАЯ МОДЕЛЬ

Математическая аддитивная модель (МАД)<sup>26</sup> основана на предположении о независимом аддитивном вкладе заместителей в значение  $[A]$  для ряда соединений  $Y_1, Y_2, Y_3, \dots$ , отличающихся заместителями  $X_1, X_2, X_3, \dots$ , причем математический вклад остова молекулы постулируется постоянным.

В соответствии с этим можно записать:

$$[A] = \sum_i a_i x_i + \lambda, \quad (6)$$

где  $a_i$  — математическое выражение вклада  $i$ -того заместителя в  $[A]$ ,  $x_i$  — равно 0 или 1 в зависимости от отсутствия или присутствия  $i$ -того заместителя,  $\lambda$  — постоянный математический вклад остова в  $[A]$ .

Дополнительное ограничение МАД налагает на суммарный вклад заместителей в биологическую активность для одного и того же положения во всем ряду соединений. Например, если в одном и том же элементе структуры может существовать три заместителя А, В, С, то

$$\sum_i^k a_i (A) + \sum_i^l a_i (B) + \sum_i^q a_i (C) = k a_i (A) + l a_i (B) + q a_i (C) = 0, \quad (7)$$

где  $k, l$  и  $q$  — количество соединений, содержащих в рассматриваемом положении соответственно заместители А, В и С. Поэтому вклад любого заместителя может быть выражен через линейную комбинацию вкладов остальных заместителей. Очевидно, что если испытуемый ряд соединений содержит  $h$  элементов структуры, где может находиться  $m$  заместителей, то для решения составленной системы уравнений необходимо  $n$  уравнений с  $(m-h)$  независимыми переменными. Значения индивидуальных вкладов заместителей могут быть использованы для расчета  $[A]$  не исследованных еще соединений ряда.

Возможности МАД неоднократно анализировались<sup>27–32</sup>, предприняты попытки усовершенствования модели<sup>33, 34</sup>. Исходя из той же гипотезы аддитивности, уравнение (6) записывается в виде:

$$\lg \frac{[A_i]}{[A_0]} = \sum_i G_i x_i, \quad (8)$$

где индексы «0» и «1» относятся к  $[A]$  незамещенного и замещенного соединения;  $G_i$  — логарифм изменения  $[A]$  при введении  $i$ -того заместителя вместо  $X_1 = H$ , а  $x_i$  — то же, что и в уравнении (6). Для гомологического ряда  $\lg[A_0] = \text{const}$  и уравнение (8) принимает вид:

$$\lg[A_1] = \sum_i G_i x_i + \text{const.} \quad (9)$$

Уже этот этап значительно упрощает МАД: во-первых, постоянный член является активностью исходного незамещенного соединения, а не некоторого произвольного остова молекулы; во-вторых, поскольку в модифицированной модели  $[A]$  рассматривается по отношению к активности  $H$ -содержащего соединения, можно отказаться от рестрикционного соотношения (7), что сокращает количество уравнений.

Несмотря на искусственность предположений, лежащих в основе МАД (об аддитивности и независимости вкладов заместителей), совпадение экспериментальной и вычисленной величин  $[A]$  может быть хорошим, если: а) исследуются последовательные изменения структуры в рядах соединений, б) результаты биологических испытаний для определения относительного вклада заместителей достаточно точны<sup>27</sup>.

Принципиальную эффективность применения МАД можно показать. Допустим, необходимо испытать ряд соединений, где заместители могут находиться в четырех положениях ( $h=4$ ), причем число заместителей в соединении варьирует —  $m=2, 3, 4, 5$ . Теоретически возможное число вариантов молекул составляет тогда 120. Число элементов структуры, которое необходимо ввести в МАД,  $\Pi = \sum_h m_i + 1 = 15$ , где 1 — вклад остова молекулы. Следовательно, для установления значений  $[A]$  для 120 соединений теоретически достаточно провести всего 11 испытаний биологической активности (т. е.  $\Pi-h$ ). Практически же, в связи с низкой точностью биологического эксперимента, для получения достоверного результата желательно иметь как можно больше экспериментальных данных<sup>28</sup>.

Учет в МАД взаимного влияния заместителей является более реалистическим подходом<sup>31, 32</sup>. С этой целью в уравнение (9) вводятся члены, учитывающие изменение  $[A]$  из-за взаимодействия заместителей,  $G_i^*$ :

$$\lg[A] = \sum_i G_i x_i + \sum_i G_i^* x_i x_j \dots + \text{const.} \quad (10)$$

Например, если в соединении имеются заместители  $X_1, X_2, X_3$ , то с учетом их взаимного влияния:  $\lg[A] = G_1 x_1 + G_2 x_2 + G_3 x_3 + G_1^* x_1 x_2 x_3 + G_2^* x_1 x_2 + G_3^* x_1 x_3 + G_4^* x_2 x_3 + \text{const}$ . Реализация этого пути позволяет, как было показано в<sup>34, 35</sup>, учесть влияние взаимного расположения заместителей относительно друг друга на биологическую активность. Естественно, что в этом случае резко увеличивается количество членов в уравнении и, следовательно, число необходимых биологических испытаний, что снижает практические возможности применения математической модели.

Описаны попытки связать математическую аддитивную модель с механизмом действия веществ<sup>34, 36-40</sup>.

Накопленные к настоящему времени результаты применения эмпирических методов оценки  $[A]$  свидетельствуют о том, что независимыми путями — расчетными и экспериментальными — можно получать достаточно близкие значения  $[A]$ .

Практическая реализация указанных подходов требует обобщения, систематизации и представления в виде, удобном для расчетов на ЭВМ, обширного опыта исследований биологической активности химических соединений и разработки единой системы математического представления структуры веществ.

#### IV. МНОГОПАРАМЕТРОНЫЙ РЕГРЕССИОННЫЙ МЕТОД

Установленные качественные связи между биологической активностью и физико-химическими свойствами веществ<sup>2-4</sup> стимулировали постановку работ для раскрытия сущности этих связей. Первой попыткой такого рода была модель равновесного распределения (МРР)<sup>17</sup>. Она основана на предположении о том, что после введения вещества в биологическую систему между концентрацией его в месте введения и концентрацией вблизи места реакции устанавливается химическое равновесие, которое определяется равенством химических потенциалов ( $\mu$ ) вещества в разных фазах. Из результатов испытаний наркотической способности разнообразных соединений следовало<sup>17</sup> постоянство изонаркотических концентраций в липидной фазе  $C_{\text{лип}}$ . При низких концентрациях  $\mu = \mu_0 + RT \ln C$ , откуда, приравнявая  $\mu$  для липидной и водной фаз и предполагая постоянство  $C_{\text{лип}}$ , можно получить связь между  $\lg(1/C_0)$  и коэффициентом распределения вещества в биологической системе ( $P_0$ ). Последний, как правило, не известен, однако установлено<sup>17, 41, 42</sup>, что вместо него можно применять  $P$  для модельной системы (например, оливковое масло — вода, октанол — вода):

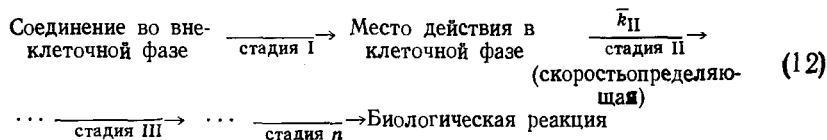
$$\lg(1/C) = a \lg P + b. \quad (11)$$

В уравнении (11) вместо  $\lg P$  можно использовать другие физико-химические параметры вещества, такие как парадокс ( $Pr$ ), мольный объем ( $V_M$ ) и растворимость ( $\lg C_s$ ). Наиболее полные сведения о корреляциях структура — активность с помощью МРР приведены в<sup>42</sup>. Исходя из теории растворимости, показано<sup>42</sup>, что  $\lg P$  можно представить в виде  $\lg P = k_1 Pr + E_A$ . Парадокс же можно связать с  $\lg C_s$  и  $V_M$  с помощью приближенных соотношений:  $\lg C_s \simeq \lg C_l + k_2 Pr$  и  $Pr \simeq k_3 V_M$ , где  $E_A$  — член, учитывающий ассоциацию веществ или их способность к образованию водородной связи,  $C_l$  — молярная концентрация соединения в пересчете на чистую жидкую фазу, а  $k$  — соответствующие коэффициенты пропорциональности. Наличие связи между  $\lg P$  и  $Pr$ ,  $V_M$  и  $\lg C_s$  в указанной модели можно объяснить из термодинамических соображений, исходя из того, что основной вклад в  $\lg P$  вносит изменение энтропии системы за счет реорганизации сольватных оболочек молекул при переходе из водной в органическую фазу. Степень дегидратации зависит от ряда факторов и прежде всего от размера и полярности молекул вещества и плотности их упаковки. В качестве характеристик этих факторов можно использовать  $\lg C_s$ ,  $Pr$  и  $V_M$ .

С помощью модели равновесного распределения была впервые показана возможность использования правила аддитивности для предсказания биологической активности веществ на основе аддитивности значений  $Pr$  и  $V_M$ <sup>42-44</sup>. Ограниченность МРР очевидна, поскольку в ней не учитывается ни кинетика установления равновесного состояния в системе, ни механизм протекающих в ней химических реакций.

В начале 60-х годов Ганч и сотр. предложили подход, принципиально отличный от МРР. Они предложили рассматривать вызывающий биологическую реакцию совокупный физико-химический процесс не как равно-

весный, а как стационарный<sup>9</sup>. При этом они исходили из того, что интервал времени, соответствующий биологическому испытанию, недостаточен для установления химического равновесия. В<sup>9</sup> использовалась известная схема<sup>45</sup> биологического действия вещества:



В качестве основных были выделены стадии I и II — процесс перемещения молекул из очень разбавленного раствора вне клетки в определенное место в клетке, и химический или физический процесс, определяющий суммарную скорость биологической реакции соответственно. При этом постулировалось, что другие стадии (III...n) не оказывают влияния на наблюдаемую биологическую реакцию.

Для вывода формулы, связывающей  $\lg(1/C_0)$  с физико-химическими параметрами в<sup>9</sup>, был использован феноменологический подход (см. гл. I). Из уравнения (2), которое для (12) можно переписать в виде:

$$\lg(1/C_0) = \lg N + \lg \bar{k}_{II} + \text{const} \quad (13)$$

следует, что задача сводится к выражению  $\lg(1/C_0)$  через физико-химические параметры, определяющие значения  $\lg N$  и  $\lg \bar{k}_{II}$ .

Основываясь на обнаруженной Колландером<sup>46, 47</sup> связи между  $\lg P$  и скоростью движения органических соединений через ткани, и на наблюдаемой в ряде случаев близкой к параболической зависимости  $\lg(1/C_0)$  от  $\lg P$ <sup>9, 12, 48</sup>, было положено, что  $N$  подчиняется нормальному закону распределения относительно  $\lg P$ :

$$N = N_0 \cdot \exp \left[ - \frac{(\lg P - \lg P_{\text{оп}})^2}{b} \right], \quad (14)$$

где  $P_{\text{оп}}$  — оптимальное значение  $P$ , отвечающее максимальной величине  $N = N_0$ , а  $b$  — константа. Для члена  $\lg \bar{k}_x$  было впервые использовано<sup>9</sup> уравнение Гаммета:

$$\lg \bar{k}_x = \rho \sigma + \lg \bar{k}_0, \quad (15)$$

в котором  $\bar{k}_x$  и  $\bar{k}_0$  представляют собой константы скорости или равновесия для *мета*- или *пара*-замещенного и незамещенного производного бензола соответственно (для одной и той же реакции и при одинаковых условиях),  $\rho$  — постоянная для данной реакции,  $\sigma$  — константа Гаммета для заместителя. После подстановки (14) и (15) в (13) получается:

$$\lg(1/C_0) = a_1 (\lg P)^2 + a_2 \lg P + a_3 \sigma + a_4, \quad (16)$$

где  $a_1$ — $a_4$  — константы.

Уравнение (15) является следствием применения принципа линейности соотношений свободных энергий (ПЛЭ)<sup>49–51</sup>. Его можно использовать для выражения констант скоростей или равновесия ( $\lg \bar{k}_x$ ) для серий родственных веществ, участвующих в подобных реакциях. При этом для различных типов взаимодействий получаются уравнения, аналогичные по

форме уравнению (15). Выражая с их помощью  $\lg \bar{k}_x$  в (13), можно получать разнообразные уравнения, учитывающие резонансные, конформационные, стерические и прочие факторы, влияющие на величину  $\bar{k}_x$ ; в частности, в<sup>41</sup> получено выражение:

$$\lg (1/C_0) = -a_1 (\lg P)^2 + a_2 \lg P + a_3 \sigma + a_4 E_s + a_5, \quad (17)$$

где  $E_s$  — стерический параметр Тафта.

С целью учета влияния на биологическую активность отдельных заместителей, т. е. для рассмотрения ряда соединений, а также для расчета значений  $\lg P$  еще не изученных веществ по аналогии с  $\sigma$  в<sup>52</sup> была введена константа заместителя  $\pi_x = \lg (P_x/P_0)$ . Здесь  $P_0$  — коэффициент распределения в модельной системе незамещенного исходного соединения, а  $P_x$  — коэффициент распределения соединения с заместителем X. Можно показать, что  $\pi$  получается также в результате применения ПЛЭ к гидрофобным взаимодействиям. Для ряда веществ, участвующих в реакции  $j$ , при варьировании заместителя X получаем:

$$\lg (\bar{k}_x/\bar{k}_0) = \kappa_j \lg (K_{xi}/K_{oi}), \quad (18)$$

где  $K_i$  — константы равновесия для стандартной реакции сравнения  $i$ ;  $\bar{k}_j$  — константы скорости реакции  $j$ ; соответственно  $K_{xi}$  и  $\bar{k}_{xj}$  — при наличии в молекулах заместителя X и  $K_{oi}$  и  $\bar{k}_{oj}$  при отсутствии его;  $\kappa_j$  — постоянная реакции  $j$ . Вид взаимодействия заместителя с реакционным центром для реакций  $i$  и  $j$  выбирается одинаковым. Если рассматривать в качестве такого взаимодействия гидрофобное, то очевидно, что константа равновесия в распределительной системе типа масло — вода есть не что иное, как коэффициент распределения вещества  $P$ . В качестве стандартной реакции сравнения можно использовать процесс распределения вещества (т. е. реакцию взаимодействия вещества с растворителями типа «сольватация  $\rightleftharpoons$  десольватация» по одному из растворителей) в модельной системе, например, октанол — вода. Тогда, подставляя  $P_x$  и  $P_0$  вместо констант равновесия  $K_{xi}$  и  $K_{oi}$  в (18), получим уравнение, подобное уравнению Гаммета, в котором константа  $\pi = \lg (P_x/P_0)$  аналогична константе Гаммета  $\sigma$ :

$$\lg \bar{k}_x = \kappa \pi + \lg \bar{k}_0. \quad (19)$$

Подобно другим реакционным константам заместителей, константа  $\pi$  зависит от системы, в которой она определена<sup>41, 52</sup>, что обусловлено взаимодействием заместителей с другими частями молекулы. Практически это учитывается путем подбора для расчета  $\pi$  соответствующих модельных систем (молекул), близких к анализируемым молекулам.

Между  $\lg P_x$  и  $\pi_x$ , по определению, имеется линейная связь, что позволяет вместо  $\lg P$  в уравнениях типа (17) использовать соответствующие значения  $\pi$ :

$$\lg (1/C_0) = a_1 \pi^2 + a_2 \pi + a_3 \sigma + a_4 E_s + a_5, \quad (20)$$

которые можно установить расчетным путем<sup>41, 52</sup>.

В отличие от кинетического подхода, лежащего в основе метода Ганча, в<sup>8</sup> описана попытка получить подобные соотношения структура — активность, исходя из равновесной модели. В этом случае предполагается, что вся цепь химических реакций, приводящих к конечному биологическому эффекту, действует только при установлении равновесия на

каждом ее этапе. Таким образом, вся система в целом может быть охарактеризована совокупной константой равновесия:

$$K_c = \prod_i K_i, \quad (21)$$

которая описывает соответствующее закону действия масс равновесие между исходным состоянием (активное вещество D+рецептор R) и конечным состоянием, отождествляемым с некоторым «биологическим стимулом»  $St$ . В качестве меры  $St$  в<sup>8</sup> вводится концентрация реакционного продукта  $C_x$ , основного для наблюдаемого биологического действия:

$$St = C_x = K_c C_D C_R. \quad (22)$$

В дальнейшем путем использования представления величины биологической активности  $[A]$  в виде

$$[A] = f(St) = f(K_c C_D C_R), \quad (23)$$

учета наличия линейных участков на кривых доза — активность, на которых

$$[A] = kSt, \quad (24)$$

и введения функции переноса  $W$  (аналогичной функции  $N$  в методе Ганча) для нахождения концентрации активного вещества вблизи репепеторов, получалось<sup>8</sup> общее уравнение типа (3), частными случаями которого являются уравнения (16), (17) и (20). Легко заметить, что и в этом случае использование уравнений (21)—(24) представляет собой формальный прием, позволяющий поставить в соответствие с  $\lg[A]$  (или с  $\lg(1/C_0)$ ) физико-химические параметры, которые определяют  $K_c$  и  $W$ .

Из изложенного ясно, что в настоящее время нет единой физико-химической теории, отвечающей как кинетическим, так и равновесным подходам. Можно, однако, пытаться группировать физико-химические признаки соединений согласно их физическому смыслу с тем, чтобы максимально учесть особенности структуры, ответственные за проявляемое соединением биологическое действие. Это позволяет в ряде случаев облегчить интерпретацию корреляционных зависимостей структура — активность и придать им конкретное физико-химическое содержание.

Рассмотрим некоторые возможности группировки параметров по физическому смыслу для получения корреляционных зависимостей. Согласно уравнению (5), если  $N$  выразить через гидрофобные свойства вещества, то

$$\lg [A] = \lg (1/C_0) = f'_r(S_r) + f_s(S_s) + f_c(S_c) + \text{const}, \quad (25)$$

где  $f'_r$  — функция, объединяющая распределительные явления и гидрофобное взаимодействие с рецептором.

В качестве  $S_i$  в уравнении (25) могут быть выбраны не только физико-химические параметры всей молекулы, но и некоторые константы заместителей. При этом могут быть использованы:

1) в качестве  $S_r$ : а)  $\lg P$ <sup>11, 12, 41, 48, 53</sup> или связанные с ним величины — константа Ганча  $\pi$  (параметр липофильности)<sup>11, 12, 41, 52</sup>;  $R_M = (1/R_f - 1)$  или  $\Delta R_M$  (аналог  $\pi$ ) из тонкослойной распределительной хроматографии<sup>54-58</sup>; константы протейнового связывания (определенные для мо-



дельной системы)<sup>42, 44, 57, 58</sup>;  $\lg C_s^*$ , где  $C_s$  — растворимость в воде<sup>42, 58, 59</sup>; б) величины, связанные с размером и упаковкой молекул: мольный объем ( $V_m$ ), парашор ( $Pr$ ), молекулярная рефракция ( $M\bar{R}$ ), параметр растворимости ( $\delta$ ), диамагнитная восприимчивость ( $\chi$ ), молекулярная связуемость ( $\chi_m$ )<sup>42, 60-67</sup>; молекулярный вес  $M^{60}$ ; в) мольная аттракционная постоянная ( $F_a$ )<sup>60, 63, 64</sup>; г) гидрофильно-липофильный баланс (ГЛБ)<sup>68</sup>;

2) в качестве  $S_3$ : а) различные электронные константы заместителей  $\sigma$ , характеризующие электронную плотность на реакционном центре<sup>8, 11, 12</sup>, если их можно представить<sup>69</sup> в виде линейной комбинации констант  $\mathcal{F}$  и  $\mathcal{R}$ , где  $\mathcal{F}$  — индукционная константа, которая учитывает только индукционное влияние заместителя на функциональную группу, а  $\mathcal{R}$  — резонансная константа, учитывающая все резонансные взаимодействия (использование  $\mathcal{F}$  и  $\mathcal{R}$ <sup>70-72</sup> позволяет избежать рассмотрения в корреляционных уравнениях различных видов  $\sigma^{**}$ ); б) константа переноса заряда ( $C_T$ ), являющаяся мерой прочности комплекса, образующегося путем переноса заряда<sup>78-80</sup>; в) различные параметры, характеризующие электронную плотность, порядок и длины связей. К первым относятся значения изменения константы ионизации  $\Delta pK^{10, 12, 81, 82}$ , потенциал ионизации ( $I$ )<sup>83</sup>, полярографический потенциал полуволны ( $\phi_{1/2}$ )<sup>84</sup>; ко вторым — мольная электронная поляризация ( $P_E$ )<sup>85-87</sup> или просто поляризуемость ( $\alpha$ )<sup>60, 83</sup>, дипольный момент ( $\mu$ )<sup>12, 88, 89</sup>, спектроскопические данные (ИК, УФ, ЯМР и т. д.)<sup>90-98</sup>; г) различные квантовохимические параметры (см. ниже);

3) в качестве  $S_4$ : а) определяемые аналогично  $\sigma$  стерические константы Тафта ( $E_s$ )<sup>11, 12, 99</sup> и откорректированные параметры стерических взаимодействий  $E_s^c = E_s + 0,306(n_H - 3)$ <sup>12, 100</sup>; б) Ван-дер-Ваальсовские радиусы заместителей ( $r_v$ )<sup>37, 101-103</sup>.

Литературные данные по корреляциям структура — активность показывают, что порядок функции  $f_r'$ ,  $f_a$  и  $f_c$  в (25), как правило, не выше второго, т. е. в общем случае они отвечают параболической зависимости и, следовательно, характеризуются некоторыми экстремальными значениями при  $S_i^0$ . Точка экстремума определяется из условия

$$\left( \frac{\partial \lg (1/C)}{\partial S_{i=k}} \right)_{i \neq k} = 0$$

и отвечает оптимальному для биологической активности значению соответствующего физико-химического параметра<sup>10-12, 104</sup>. Возможность появления оптимального значения  $S_r^0$  объясняется различными способами<sup>104</sup>. В качестве наиболее важных факторов для наличия  $S_r^0$ ,  $S_a^0$  и  $S_c^0$ , по-видимому, следует выделить: а) метаболизм или конкурирующие метаболические реакции в биологической системе, б) обязательную комплементарность молекулы (или ее активной части) и реагирующей области рецептора, в) низкую концентрацию активных молекул вблизи рецепторов. Кроме того, при изучении ферментов *in vitro* наличие величин  $S_i^0$  может быть обусловлено мицеллообразованием с включением активных молекул.

Количество приведенных выше параметров можно сократить, если выражать их квантовохимическим путем. В работе<sup>105</sup> показано, что зна-

\* В<sup>59</sup> показано, что в случае изучения биологической активности веществ, вводимых в биологическую систему в твердой форме, при корреляциях структура — активность необходимо учитывать скорость растворения этой формы. Это связано с тем, что между ней и  $C_s$  наблюдается плохая корреляция.

\*\* В случае радикальных реакций по-прежнему необходимо применять  $\sigma$  и  $E_R$ , поскольку они плохо коррелируют с  $\mathcal{F}$  и  $\mathcal{R}$ <sup>73-77</sup>.

чение  $\pi$ , а также  $\lg P$  можно выразить как линейную функцию квантово-химических параметров:

$$\pi = k_1 \sum_r |Q_r^T| + k_2 \sum_r S_r^E + k_3 \quad (26)$$

где  $|Q_r^T|$  — абсолютное значение суммарного заряда,  $S_r^E$  — электрофильность, вызванная сверхделокализацией электронов на атоме  $r$ ,  $k_1 \div \div k_3$  — константы.

Однако в силу того, что использование экспериментальных значений  $\pi$  и  $\lg P$  для установления корреляций структура — активность в отдельных случаях дает удовлетворительные результаты, квантовохимические методы представляется значительно более целесообразным применять для выражения члена  $f_s(S_a)$ <sup>12, 108–116</sup>, используя различные методы расчета<sup>116</sup>.

В качестве квантовохимических величин, используемых как параметры, характеризующие реакционную способность\*, применяются:  $q_r(\epsilon)$  \*\* — суммарный заряд  $\pi$ -электронов на атоме  $r$ ;  $Q_r^T$  — полный суммарный ( $\sigma + \pi$ )-заряд на атоме  $r$ ;  $E_{\text{ВЗО}}$  и  $E_{\text{НСО}}$  — энергии наивысшей занятой и низшей свободной молекулярных орбиталей;  $S_r^E$  и  $S_r^N$  — электрофильная ( $E$ ) и нуклеофильная ( $N$ ) характеристики влияния сверхделокализваемости<sup>118, 119</sup>;  $F_r$  — индекс свободной валентности (преимущественно для гомолитических реакций)<sup>114</sup>;  $C_r$  — атомно-орбитальный коэффициент<sup>120</sup>.

В общем случае неясно, каким квантовохимическим параметрам следует отдавать предпочтение для введения в корреляции структура — активность. Это зависит от предполагаемого механизма биологического действия соединения и обычно связывается с зарядом на гетероатоме (например, на азоте —  $q_N$ ), с энергиями  $E_{\text{ВЗО}}$  и  $E_{\text{НСО}}$  или с разностью  $E_{\text{ВЗО}} - E_{\text{НСО}}$ ,  $S^N$ <sup>8, 10, 12, 114, 116</sup>. Предположения такого рода на практике часто не сбываются. Вероятно, это связано с тем, что таким путем рассматривается лишь потенциальная реакционная способность соединений, без учета возможных стерических, конформационных и других параметров, влияющих на биологическую активность. Поэтому предприняты попытки использовать различные линейные комбинации квантовохимических параметров<sup>114</sup>. Однако такой путь пока еще недостаточно исследован и его возможности не вполне ясны.

## V. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА СТРУКТУРА — АКТИВНОСТЬ МЕТОДОМ ГАНЧА

Как указывалось выше, метод Ганча применяется для выражения биологической активности членов ряда родственных соединений в виде функции от физико-химических параметров, характеризующих структуру этих соединений. Как правило, относительная важность учета этих параметров для описания биологической активности заранее не известна, что заставляет испытывать ряд модельных уравнений, содержащих различные комбинации параметров. Эти уравнения получают с помощью регрессионного анализа, после чего проводят выбор лучшего из них на основе значимости коэффициентов корреляции. При этом рекомендуются<sup>8, 103</sup> придерживаться некоторых правил.

\* Для их расчета используют параметры, получаемые из спектроскопических измерений, величин потенциалов ионизации и т. д. Соответствующие значения для расширенного метода Хюккеля в табулированном виде приведены в<sup>117</sup>.

\*\* Здесь и ниже индекс « $r$ » означает, что соответствующая величина относится к атому  $r$  в молекуле.

1. Желательно рассматривать как можно большее количество независимых параметров.

2. Рассмотренные выше параметры  $S_i$  являются, как правило, интегральными величинами, комплексно характеризующими молекулярные свойства; поэтому между ними существует определенная взаимосвязь. Литературные данные показывают, что между  $S_i$ , относящимися к одинаковому типу взаимодействий (например, к гидрофобным взаимодействиям), корреляция гораздо лучше, чем между параметрами, характеризующими различные типы взаимодействий (например, между  $\lg P$  и  $\sigma$ )<sup>70, 121</sup>. Это наблюдение может быть использовано как одно из эмпирических правил для выбора различных комбинаций независимых параметров  $S_i$ \*.

3. После предварительного рассмотрения возможных вариантов набора параметров и сопоставления с помощью регрессионного анализа ряда модельных уравнений необходимо с помощью  $t$ -статистики Стьюдента определить уровень значимости отдельных коэффициентов. Параметры с низким уровнем значимости не рассматриваются.

4. Для статистической оценки полученных уравнений используется множественный коэффициент корреляции  $R^{122, 123}$  и стандартное отклонение, а также  $F$ -статистика. Квадрат коэффициента корреляции ( $R^2$ ) показывает долю вариаций в данных, полученных из соответствующих уравнений. Чем ближе он к 1, тем ближе полученная функциональная зависимость к искомой. При близких значениях  $R$  возникает необходимость учитывать стандартное отклонение и пользоваться уравнениями с наименьшими стандартными отклонениями.  $F$ -статистику используют для оценки вероятности того, что пригодность конкретного вида уравнения не является случайной.

5. Для исключения случайных корреляций на каждый испытываемый физико-химический параметр рекомендуется иметь по крайней мере 5—6 результатов биологических измерений<sup>124</sup>.

6. При прочих равных условиях предпочтение следует отдавать более простым уравнениям.

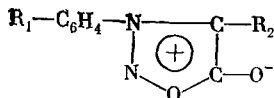
7. С целью сокращения и упрощения расчетов, а также для избежания принципиальных ошибок необходимо учитывать реальность механизма рассматриваемого явления (см. гл. VIII), поскольку по формальным признакам можно получить уравнения с хорошими значениями  $R^2$  и высокой значимостью по  $F$ -статистике, но имеющие мало общего с реальностью<sup>125</sup>.

Если возможно, следует разбивать сравниваемые вещества на ряд определенных подструктур с общими признаками, например, *цис*- и *транс*-положение некоторой группы; изменение одного заместителя при постоянстве заместителей в других положениях и т. п.<sup>8</sup> Такое дробление, естественно, упрощает задачу (сходный эмпирический подход рассмотрен выше в гл. III). Для получения уравнения в случае такой серии соединений удобно вводить вспомогательный параметр  $D$ , учитывающий различие между подструктурами. Его, например, использовали для учета стерического различия между *мета*- и *пара*-производными диэтилфенилфосфата при ингибировании холинэстеразы<sup>126</sup> — для первых он положен равным единице, а для вторых — нулю. В качестве  $D$  может быть выбрано значение  $n_H$  — число атомов водорода, связанных с определен-

\* Для характеристики отсутствия зависимости между физико-химическими параметрами используются так называемые индивидуальные коэффициенты корреляции  $r$ , определяемые как безразмерные величины, изменяющиеся в области  $-1 \leq r \leq 1$ . Чем ближе  $r$  к нулю, тем более не зависимы друг от друга являются соответствующие физико-химические параметры.

ным атомом в молекуле, например, с азотом аминогруппы<sup>127</sup>. Вспомогательный параметр может применяться для объединения уравнений, учитывающих различие подгрупп, с целью выявления биологической активности только у определенных типов стереоизомеров. В тех случаях, когда имеется несколько подгрупп, можно ввести два и более вспомогательных параметра<sup>128</sup>.

Наибольшие трудности представляет рассмотрение многозамещенных соединений. В этих случаях не всегда удается получить уравнение, описывающее корреляцию биологической активности с суммой одинаковых констант заместителей (т. е. с  $\sigma_i + \sigma_j$ ,  $\pi_i + \pi_j$  и т. п.), так как влияние различных типов замещения может по-разному сказываться на биологические активности. Этот вопрос решается подстановкой в уравнение параметров, свойственных именно данному виду замещения. Например, для описания ингибирования окислительного деалкилирования соединениями общей формулы уравнение с высоким значением коэффициен-



та корреляции получается лишь при раздельном учете  $\pi$  и  $\sigma$ -констант для  $R_1$  и  $R_2$ <sup>129</sup>.

Максимально сложным является случай, когда на биологическую активность веществ заметное влияние оказывает их метаболизм.

## VI. КВАНТОВОСТАТИСТИЧЕСКИЙ ПОДХОД

Попытки связать биологическую активность вещества с микроскопическими характеристиками взаимодействующей системы вещество — рецептор комбинацией методов квантовой статистики и статистической термодинамики предприняты в<sup>94, 120, 131</sup>. Для получения рабочей модели сделаны следующие допущения: 1) в многостадийном процессе, протекающем от введения в биологическую систему вещества до реакции с рецептором, приводящей к биологическому действию, вероятность осуществления каждого этапа не зависит от других стадий; 2) вещества достигают мест рецепции в силу броуновски-подобного движения; 3) места реакции представляют собой локализованные атомы; 4) связывание биологически активного вещества на одном рецепторе или группе рецепторных мест не зависит от связывания его на остальных местах системы.

Согласно этим предположениям, исходное уравнение может быть представлено в виде:

$$\frac{d[BR]}{dt} = KC_0 p_1 p_2, \quad (27)$$

где  $K$  — коэффициент пропорциональности,  $C_0$  — исходная концентрация вещества,  $p_1$  — вероятность завершения стадии проникновения вещества к рецептору,  $p_2$  — вероятность связывания вещества с рецептором. Далее предполагается, что  $p_1$  изменяется симбатно с параметром  $\pi$ , т. е. с липофильностью, обуславливающей прохождение вещества через биологические мембраны, а  $p_2$  — с адсорбцией вещества на рецепторном месте или группе мест. Если допустить, что связывание вещества с рецептором происходит на неразличимых с энергетической точки зрения местах, то  $p_2$  должна быть целиком обусловлена электронным состоянием гетероатомов адсорбирующегося вещества. Для конкретных примеров, рас-

смотренных в <sup>94</sup>, <sup>131</sup>, положено, что связывание происходит по карбонильной группе, энергетические характеристики вероятности связывания которой с рецептором определялись из спектроскопических данных.

Математическое выражение, полученное в <sup>131</sup> и связывающее активность вещества с его проницаемостью через мембраны и с вероятностью его взаимодействия с рецептором, включает следующие параметры: липофильность, спектроскопически оцениваемое распределение потенциальных реакционноспособных центров (групп) и химический потенциал испытуемого соединения в растворе. Из анализа этого выражения следует, что наиболее активное соединение может быть обнаружено или синтезировано при таком подборе заместителя или его положения в молекуле вещества, которое одновременно влияет на липофильность соединения и на энергетическое состояние реакционноспособной группы.

Для оценки прогностических возможностей метода <sup>130</sup> еще мало надежных данных. В настоящее время можно оценить только его принципиальное достоинство: необходимые параметры — липофильность и волновые числа предполагаемых реакционных групп — могут быть достаточно легко определены экспериментально.

## VII. ПРИМЕНЕНИЕ ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СООТНОШЕНИЙ СТРУКТУРА — АКТИВНОСТЬ

Очевидно, что ограничение рассмотренных выше методов каким-либо одним видом биологической активности является вынужденным. Для того чтобы решать задачу связи между структурой и активностью строго, необходимо учесть все возможные физиологические процессы и связать их со всем комплексом физико-химических параметров, характеризующих или определяющих каждую стадию действия вещества. Препятствиями на таком пути являются необычайная сложность биологических объектов, многообразие происходящих в них реакций, несовершенство наших знаний об их механизмах и взаимосвязи. Практически первой попыткой учета нескольких возможных вариантов взаимодействия является работа <sup>132</sup>, использующая метод факторного анализа.

Формально математический факторный анализ может быть применен к любой комплексной многомерной задаче, если ее можно представить в виде суммы взаимосвязанных функций некоторых переменных, т. е. в виде:

$$P(i, k) = \sum_{j=1}^m U(i, j) V(j, k), \quad (28)$$

где  $P(i, k)$  — измеряемое свойство системы в  $i$ -том случае при варьировании  $k$ ;  $U(i, j)$  —  $j$ -тый фактор для  $i$ -того случая;  $V(j, k)$  —  $j$ -тый переменный фактор для данной переменной  $k$ ; суммирование ведется по всем факторам  $j$ , представляющим важные <sup>132</sup>. В интересующем нас частном случае взаимосвязи структура — активность:

$$[A](i, k) = \sum_j D(i, j) H(j, k), \quad (29)$$

где  $[A](i, k)$  —  $k$ -я измеренная биологическая активность вещества  $i$ ,  $D(i, j)$  —  $j$ -тое свойство (физическое или химическое)  $i$ -того соединения;  $H(j, k)$  —  $j$ -тый параметр (физиологический)  $k$ -той биологической активности; суммирование ведется по всем  $j$  независимым параметрам, которые представляются необходимыми для учета результатов испытаний.

Форма факторного анализа, применяемого в описанном случае, отличается от стандартно принятой тем, что включает в себя в качестве одного из факторов регрессионную методику анализа<sup>132, 133</sup> в виде фактора тождественности. Таким образом, если известна точность экспериментальных данных, то можно определять количество независимых абстрактных факторов («собственных векторов», по<sup>132</sup>), необходимых для полной характеристики факторного пространства, т. е. установить число переменных, влияющих на испытываемую систему. Оставляя в стороне обсуждение математического формализма, используемого в<sup>132</sup>, отметим только, что на этом, первом этапе, количество собственных векторов эквивалентно размерности факторного пространства. Следующим шагом является идентификация каждого фактора в виде конкретного уровня его значимости для каждой физиологической реакции. С этой целью весь набор переменных сравнивается со всеми возможными предполагаемыми важными физико-химическими свойствами или параметрами модельных взаимодействий. Хотя в<sup>132</sup> использовались характеристики веществ, обычно применяемые для полуэмпирических моделей, это не означает обязательности применения именно поляризуемости, коэффициентов распределения и т. п. (см. табл. 1).

Поскольку член  $[A](i, k)$  в уравнении (29) может быть выражен и измерен экспериментально как биологическая активность, проявляемая в некотором  $k$ -том случае, а член  $H(j, k)$  связывает любой физиологический параметр с любым свойством вещества и величиной  $[A]$ , метод факторного анализа может быть использован для предсказания уникальности испытываемого соединения или для указания набора свойств, обуславливающего максимальную полезную активность при минимуме побочных эффектов. Проверка метода факторного анализа проводилась путем сопоставления расчетных данных с экспериментальными, полученными на основе измерения активности 16 веществ из ряда замещенных

соединений общей формулы  $R_1-N-R_2$  в 11 видах биологического и физиологического действия (в их числе — действие на определенную активность, антагонистические поведенческие рефлексy животного и объективные показатели состояния организма). Было установлено<sup>132</sup>, что для модельного воспроизведения результатов исследований с точностью  $\pm 0,1$  в логарифмическом масштабе необходимо использовать восемь параметров, описывающих, по<sup>132</sup>, основные структурные характеристики веществ. К сожалению, перечня использованных свойств в<sup>132</sup> не приводится; тем не менее потенциальные возможности подхода должны стимулировать расширение и углубление подобного направления работ.

#### VIII. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛУЭМПИРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА РЕАКЦИЙ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Кроме отбора лучших соединений, в результате анализа связи структура — активность желательнo получить представления о механизме проявляемой ими биологической активности. Рассмотрим один из возможных путей для этого:

1) на основе статистической значимости физико-химических параметров в корреляционных уравнениях можно сделать вывод о том, какие свойства веществ являются главными для проявляемой ими биологической активности;

2) далее следует определить пути влияния этих свойств на биологическую активность, исходя из вида функций  $f_i(S_i)$  (формула (25)). При этом необходимо учесть, что параболическая форма зависимости от  $\lg P$

(или от других  $S_r$ ) может быть следствием не только распределения вещества между фазами<sup>12, 134</sup>, но также и гидрофобного связывания его на рецепторе<sup>58</sup>. В силу этого лишь при наличии линейной зависимости от  $\lg P$  можно делать вывод, что именно гидрофобное связывание является определяющим процессом<sup>8</sup>.

В некоторых случаях при введении в (25) перекрестного произведения членов, типа  $S_i S_j$ , корреляция улучшается<sup>10, 135</sup>. Если  $S_i$  и  $S_j$  — константы заместителей, относящиеся к одному типу взаимодействий, такое перекрестное произведение учитывает взаимное влияние заместителей<sup>50</sup>; в противном случае оно учитывает взаимные возмущения различных типов взаимодействия<sup>8</sup>;

3) при определяющем влиянии гидрофобного связывания можно приблизительно оценить размеры связывающей области на рецепторе, исходя из значения параметров  $S_r$ , при котором наблюдается разрыв функциональной зависимости  $[A]$  от  $S_r$ <sup>58</sup>;

4) некоторые выводы о механизме действия могут быть сделаны из анализа вспомогательных параметров, которые необходимо включить в уравнение для улучшения корреляции;

5) если возможно, следует рассчитать значение  $\lg P_{оп}$  (или значения других  $S_r$ ) и сравнить с соответствующими величинами для других серий соединений, вызывающих сходную биологическую реакцию. Близость значений  $\lg P_{оп}$ , например, имеет место в случае неспецифического действия вещества. В частности, в случае наркотического действия одинаковое значение  $\lg P_{оп} \approx 2$  получено для ряда веществ принципиально различного строения и состава: барбитураты, тиаморфолидины, ацетиленовые спирты, ацетиленкарбаматы и др. Это позволяет заключить, что наркоз обусловлен неспецифическим действием веществ и что вообще наиболее эффективными наркотиками будут вещества с  $\lg P_{оп} \approx 2$ <sup>12</sup>.

На основе полученной изложенным выше путем информации можно предположить приближенную модель биологического действия вещества, которую в дальнейшем необходимо проверять и уточнять путем дополнительных экспериментов.

Интересные перспективы для понимания механизма наиболее сложного этапа взаимодействия вещества в организме — образования комплекса с рецептором — открывает теоретическая трактовка метода Ганча, рассмотренная в<sup>36, 120</sup>. Поскольку экспериментальное установление типа связи вещество — рецептор затруднительно, в качестве характеристики связи было предложено использовать полное изменение энергии ( $\Delta E$ ), происходящее при образовании комплекса вещество — рецептор. Если рассматривать серию веществ с одним типом биологического действия, проявляемая активность которых обусловлена связыванием с определенными рецепторами, то разница в силе действия этих веществ может быть в первом приближении выражена через изменение свободной энергии образования комплекса вещество — рецептор:

$$\Delta [A] = -\left(\frac{1}{RT}\right) \Delta G + \text{const}, \quad (30)$$

где  $\Delta G = \Delta E + \text{const}$ .

Величина  $\Delta E$  представляет собой, по<sup>36, 120</sup>, сумму независимых вкладов электронной ( $\Delta E^e$ ), сольватационной ( $\Delta E^d$ ), стерической ( $\Delta E^s$ ) и конформационной ( $\Delta E^p$ ) составляющих изменения энергии. Это предположение отвечает линейному соотношению свободных энергий<sup>36</sup>. Дальнейшая задача состоит в том, чтобы представить различные вклады  $\Delta E^i$  через экспериментальные или расчетные величины. Для расчета

$\Delta E^e$ , например, используя теорию возмущений<sup>136, 137</sup>, получим:

$$\Delta E^e = \sum_r \sum_s E_{rs} = \sum_r \sum_s \left( -\frac{Q_r Q_s e^2}{D_{rs} R_{rs}} + \sum_m \sum_n \frac{2C_{mr}^2 C_{ns}^2 \beta^2}{E_m^* - E_n^*} \right), \quad (31)$$

(I) (II)

где  $E_{rs}$  — электронная энергия взаимодействия атомов  $r$  и  $s$ ;  $Q_r$  и  $Q_s$  — их суммарные заряды;  $e$  — заряд электрона;  $R_{rs}$  — расстояние между атомами  $r$  и  $s$ ;  $D_{rs}$  — диэлектрическая постоянная среды;  $E_m^* - E_n^*$  — разность в энергии между наивысшей занятой молекулярной орбиталью (МО) рецептора и низшей свободной МО соединения;  $\beta$  — обменный интеграл, учитывающий взаимодействие между МО;  $C_{mr}$  и  $C_{ns}$  — атомно-орбитальные (АО) коэффициенты. При этом каждая пара взаимодействующих атомов из молекулы соединения ( $s$ ) и рецептора ( $r$ ) рассматривается как вносящая независимый вклад в  $\Delta E^e$ .

Поскольку в выражение (31) входят свойства, характеризующие рецептор, непосредственно его использовать нельзя. В связи с этим в<sup>36, 120</sup> рассматриваются предельные случаи, отвечающие различным соотношениям между величинами  $E_m^*$  и  $E_n^*$  в уравнении (31).

1. Случай, «контролируемый границей». Если  $E_m^* \simeq E_n^*$ , то определяющим для  $E_{rs}$  становится взаимодействие между соответствующими орбиталями. Тогда в уравнении (31) можно пренебречь членом (I) по сравнению с (II). Этот случай отвечает образованию ковалентной связи между молекулами вещества и рецептора. Для определения необходимых свойств, отвечающих рецептору, было предположено, что для серии родственных соединений, присоединяющихся в одном и том же месте рецептора, коэффициенты  $C_{mr}$  постоянны для каждого соединения. В силу этого

$$\Delta E^e = \sum_s \alpha_s C_{ns},$$

где в  $\alpha_s$  входят  $C_{mr}$ . Окончательное выражение для  $\Delta E$  с учетом энергии сольватации  $\Delta E = \Delta E^e + \Delta E^d$  получается следующим:

$$\Delta E = \sum_s (\alpha_s C_{ns} - \lambda_{ns} Q_s \pm \lambda'_{ns} Q_s^2), \quad (32)$$

где  $\alpha_s$ , как уже отмечалось выше, приблизительно постоянны для серий веществ, взаимодействующих с одинаковым рецептором, а  $\lambda_{ns}$  и  $\lambda'_{ns}$  — константы, получаемые из рассмотрения  $\Delta E^d$ .

Примером корреляции  $\lg(1/C_0)$  с параметрами, представленными в (32), является уравнение:

$$\lg(1/C_0) = 8,8C_{nN} + 237Q_N - 1670Q_N^2 + 6,6, \quad (33)$$

полученное для бактериостатической активности сульфамидов против *E. Coli*<sup>120</sup>. Индекс «N» в (33) относится к атому азота.

2. Случай, «контролируемый зарядом», имеет место, если разница между  $E_m^*$  и  $E_n^*$  велика. Тогда член (I) по сравнению с (II) в уравнении (31) является решающим, и взаимодействие между атомами  $r$  и  $s$  будет определяться главным образом полными зарядами  $Q_r$  и  $Q_s$ . При таком типе взаимодействия связь между соединением и рецептором имеет ионный характер. С учетом этого уравнение (31) за-



писывается в виде:

$$\Delta E = \sum_r \sum_s \left[ -\frac{Q_r Q_s e^2}{D_{rs} R_{rs}} + 2 \left( \sum_m C_{mr}^2 \right) \left( \sum_n C_{ns}^2 \right) \gamma \right], \quad (34)$$

где  $\gamma$  — среднее значение отношения  $\beta^2/(E_m^* - E_n^*)$ . Сделав предположение о постоянстве  $C_{mr}$  и  $Q_r$  по отношению к  $C_{ns}$  и  $Q_s$  соответственно для серии родственных соединений, взаимодействующих с одинаковым рецептором, и учтя, что  $\Delta E^d$  для случая, контролируемого зарядом, равно нулю, можно получить следующее уравнение <sup>36</sup>:

$$\Delta E = \Delta E^e = \sum_s (v_{ns} Q_s + \xi_{ns} S_s^E), \quad (35)$$

где  $v_{ns}$  и  $\xi_{ns}$  — константы, а  $S_s^E$  — параметр сверхделокализуемости (см. гл. IV).

Вероятно, наиболее распространенным на практике оказывается положение, промежуточное между двумя рассмотренными граничными случаями. Для него предложено использовать следующее выражение для  $\Delta E$  <sup>36\*</sup>:

$$\Delta E = \Delta E^e + \Delta E^d = \sum_s (v_{ns} Q_s + \xi_{ns} S_s^E) + h \lg P. \quad (36)$$

Подобным путем может быть дано и представление параметра  $\pi$  через квантовохимические характеристики <sup>105</sup> (см. гл. IV). Не останавливаясь на возможностях использования метода Каммарата для определения биологической активности, явно ограниченных сложностью расчетов, следует еще раз подчеркнуть, что заложенные в нем принципы могут быть продуктивными для трактовки механизма образования комплекса вещество — рецептор.

#### IX. ВОЗМОЖНОСТИ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ. УСПЕХИ. ТРУДНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Как видно из изложенного, в настоящее время существует ряд подходов к решению проблемы корреляции структуры и активности, различного уровня разработанности и сложности. В табл. 2 проведено их сопоставление — указаны принципы, заложенные в основу методов, область их использования и некоторые недостатки. Обычно практическая ценность корреляций зависит от трех факторов <sup>138</sup>: точности, простоты и типа информации, необходимой для использования в эмпирическом уравнении. Очевидно, что по критериям «точность и простота» предпочтение не может быть отдано ни одному из описанных подходов, и только будущее покажет, оправдает ли себя кажущийся наиболее прогрессивным метод факторного анализа. Если рассматривать существующие подходы с точки зрения употребляемой в них информации, то в скрытом (аддитивная модель, подструктурный анализ) или явном (факторный анализ) виде она может быть сведена к одному из конкретных типов многопараметровой регрессионной модели. Действительно, показано <sup>139</sup>, что между вкладом заместителей в биологическую активность и их физико-химическими характеристиками (константами заместителей  $\pi$ ,  $\sigma$  и т. д.) существует взаимосвязь, т. е. все перечисленные модели имеют общее информационное содержание, наиболее четко выраженное в модели Ганча. Это позволяет рассматривать различные подходы с единых

\* В (36) вместо  $\lg P$  можно использовать  $\pi$ .

Метод	Принцип (гипотеза), положенный в основу метода	Область использования	Недостатки	Примечание
<b>Математическая аддитивная модель</b>	Эффективность биологического действия химического соединения определяется его структурой и может быть рассчитана как сумма вкладов заместителей, входящих в молекулу вещества, причем вклад каждого заместителя не зависит от присутствия других (гипотеза об аддитивности и независимости вкладов заместителей)	Прогнозирование эффективности биологического действия в рядах родственных соединений и таким образом сокращение объема биологических испытаний	Не соответствует представлениям о влиянии заместителей друг на друга, а следовательно, на физико-химические свойства молекул вещества. Метод применим только в рядах соединений для одного типа биологического действия	С целью усовершенствования модель может быть а) модифицирована для учета взаимного влияния заместителей, б) связана с многопараметровой регрессионной моделью. В обоих случаях метод значительно усложняется
<b>Подструктурный анализ</b>	Произвольные элементы структуры (фрагменты) характеризуются частотой их повторяемости в известных биологически активных соединениях. Проверяемое соединение анализируется с точки зрения наличия таких фрагментов. (Гипотеза — биологическая активность вещества определяется наличием определенных элементов структуры)	Внеэкспериментальный скрининг — прогнозирование направленности и эффективности биологического действия веществ. Выявление оригинальных структур	Не имеет физико-химического содержания. Количественные предсказания эффективности биологического действия недостоверны	Для улучшения количественных оценок дополнительно вводятся физико-химические характеристики веществ — в такой комбинации назван «метод опознавания образов»
<b>Многопараметровый регрессионный метод</b>	Совокупность параметров, характеризующих модельные физико-химические процессы, происходящие с участием вещества, коррелирует с его биологическим действием. (Гипотеза — биологическое действие определяется строением и реакционной способностью молекул химического соединения)	Прогнозирование эффективности биологического действия в рядах родственных соединений, минуя биологические испытания. Изучение механизма биологически важных химических реакций	Применим для рядов соединений. Не дает возможности предсказать направленность биологического действия. Выводы об эффективности веществ часто ошибочны	С целью сокращения числа параметров можно использовать расчетные или экспериментальные квантово-химические параметры — квантово-статистический подход, метод Каммарата
<b>Факторный анализ</b>	Связывает характеристики структуры соединения с комплексом возможных физиологических результатов действия вещества. На основании перебора возможных вариантов устанавливает пути возникновения и эффективность проявления биологического действия веществ	Внеэкспериментальный скрининг — прогнозирование направленности и эффективности биологического действия. Предсказание уникальности структуры и вида действия, а также побочных эффектов	Сложность. Возможности метода пока недостаточно проверены	Включает как один из факторов многопараметровую регрессионную модель

позиций и в значительной степени оправдывает то внимание, которое уделяется в литературе многопараметровой регрессионной модели.

В настоящее время описано более 2000 уравнений типа (16), (17), (20) для более чем 20 000 химических соединений<sup>140</sup>. Значительное число из них обладает всеми формальными признаками (высокими коэффициентами корреляции и статистическими уровнями значимости), позволяющими на первый взгляд заключить, что изменение заместителей в структуре меняет ее гидрофобные, электронные, стерические и другие свойства и соответственно вызываемую соединением биологическую реакцию. Последнее, в соответствии с методом Ганча, может быть учтено и математически выражено путем суммирования физико-химических свойств замещенных соединений. В литературе приводится около 50 соотношений, которые были использованы для прогнозирования эффективности биологического действия веществ<sup>98, 141–143</sup>; значительно шире корреляция структура — активность применяются для выявления механизма действия биологически активных веществ (например, в<sup>8, 10–12, 18, 36, 95, 144, 145</sup>). В качестве причин, обуславливающих некоторый разрыв между теорией и практикой, можно предполагать следующие.

1. Результирующее биологическое действие веществ зависит от их влияния на многие физиологические процессы, происходящие в организме. В связи с этим экспериментальное ограничение описанных выше методов какой-либо одной биологической активностью, выраженной через концентрацию вызывающих эффект веществ, является слишком грубым приближением к реальности, чтобы быть использованным как параметр. Представляется, что только в случае надежно установленного механизма, например, при детерминировании его определенным ферментом, концентрация веществ, вызывающая некоторое стандартное изменение концентрации фермента, может быть корректно использована для расчета [A] через соответствующие свойства и характеристики модельных взаимодействий.

2. Широкое применение методов математической статистики, характерное для полуэмпирических подходов к проблеме структура — активность наряду с очевидными достоинствами привело к тому, что истинные пути действия веществ и достоверные результаты оказываются статистически незначимыми на фоне огромного количества данных биологических испытаний, полученных различными исследователями; при этом естественно сказываются низкая точность и воспроизводимость биологического эксперимента.

3. Использование регрессионных методик для получения корреляционных уравнений требует значительно более осторожного отношения к ним, чем это зачастую встречается в литературе. Известно, что можно успешно коррелировать ряд независимых переменных, используя случайные члены, если они также независимы. Фактически это положение означает, что наши сведения о механизмах и путях проявления определенной биологической активности еще недостаточны для того, чтобы учесть максимум параметров вещества, важных для проявления биологического действия.

Указанные сложности носят принципиальный характер и лишь недавно предпринята попытка устранить некоторые из них путем применения факторного анализа<sup>132</sup>. Тем не менее сегодня не существует никакой альтернативы методу Ганча и его вариантов при формулировании количественных соотношений структура — активность. Это связано в основном с тем, что в фундамент метода Ганча заложены наиболее общие физико-химические принципы, которые, вероятно, служат основой механизма действия биологически активных соединений.

## Х. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя краткие итоги изложенному выше, представляется целесообразным привести некоторые соображения, относящиеся к проблеме в целом.

Рассмотренные методы установления видов функций, количественно связывающих особенности строения вещества с проявляемой им биологической активностью, являются естественным следствием тех теоретических предпосылок, которые в этих методах заложены, и тех типов взаимодействий (из множества возможных) в системе вещество — биологический объект, которые принимаются во внимание.

Надежно установлено, что наилучшую корреляцию биологической активности в рядах веществ с коэффициентом распределения ( $\lg P$ ), константами липофильности заместителей ( $\pi$ ) и другими, связанными с ними характеристиками, обнаруживают вещества, обладающие неспецифическим характером биологического действия\*. Это означает, что химическая реакция, предопределяющая итог действия вещества, происходит на поверхности или внутри клеточной мембраны, причем место эффективного действия соединения не локализовано. Вероятно, на практике столь простая картина встречается редко.

Совершенно очевидно, что ценность любой зависимости структура — активность, не включающей характеристик специфичности в качестве фактора проявления биологической активности, будет низка. Однако в случае специфического связывания веществ в настоящее время нельзя указать число и тип параметров, комбинация которых была бы достаточна для исчерпывающего и общего решения задачи нахождения взаимосвязи структура — активность. Именно этим обстоятельством и объясняется, вероятно, то количество разных параметров и их сочетаний (см. табл. I), которые уже использовались для установления корреляционных соотношений и которые, по сути дела, трудно дальше расширять. Казалось бы, хорошее описание теоретической зависимости экспериментальными данными должно свидетельствовать о том, что принятая модель верно отражает существо реальных процессов и что ведущая роль в них принадлежит именно тем взаимодействиям, которые учитываются в соответствующей корреляции. Тем не менее «удивительные уродцы», по выражению Ганча<sup>146</sup> (т. е. уравнения, нереальные по физическому смыслу или неэффективные в прогнозе, но с высокими коэффициентами корреляции), слишком часто выявляются при проверке результатов эмпирических и полуэмпирических подходов, что наиболее четко свидетельствует о некоторых существенных просчетах, заложенных в основу вывода соответствующих уравнений. Является ли это положение следствием невозможности полного учета всей совокупности видов взаимодействия вещества с организмом и отсутствия четких принципов для сведения в каждой конкретной ситуации в одно уравнение всех необходимых параметров, или оно вызвано другими, менее очевидными, причинами, установить трудно. Кроме объективной сложности проблемы, этому, на наш взгляд, способствует излишне широкое применение различных вариантов описанных выше подходов, зачастую без достаточно критического анализа используемых данных биологических испытаний и выбранных физико-химических параметров.

Будущий прогресс в применении наметившихся направлений установления количественных соотношений структура — активность будет, вероятно, достигнут не путем нагромождения новых результатов, а на-

\* В работе<sup>60</sup>, например, даже предлагается использовать хорошую корреляцию с  $\lg P$  и  $\pi$  как критерий оценки неспецифичности биологического действия вещества.

против, постановкой немногих фундаментальных опытов в сочетании с их глубокой теоретической разработкой. Кроме того, на первом плане по-прежнему остается основная задача — параметризация биологической активности, которая в том виде, как она существует сейчас, не может считаться окончательно решенной.

В связи с этим представляется, что реальные успехи полуэмпирических подходов могут ожидать не при безграничном распространении их на все виды биологической активности *in vivo*, а наоборот, в сужении областей использования, например, до тех случаев, когда определенная биологическая активность может быть охарактеризована через поведение молекулярно-биологических, биохимических и других моделей.

\* \* \*

Приведенный выше обзор охватывает литературу до 1975 г. включительно. Из работ, вышедших за последнее время, следует отметить обзоры по математической аддитивной модели (МАД) <sup>286, 287</sup>, по связям МАД и многопараметрного регрессионного метода (МРМ) <sup>287</sup>, о возможности использования параксора при корреляциях химической структуры с биологической активностью веществ <sup>288</sup>; новую, «билинейную» модель для нелинейной зависимости биологической активности от гидрофобных свойств молекул <sup>290</sup>; модельные уравнения для МРМ в случае веществ, способных к ионизации <sup>291</sup>; классификацию терапевтических агентов в соответствии с фармакофорами для метода опознавания образов <sup>292</sup>; выяснение относительной важности стерических параметров на примере стероидных гормонов <sup>293</sup>; сводку табличных данных по параметру липофильности <sup>294</sup>.

Предложено использовать в МРМ новые параметры: коэффициенты распределения, учитывающие как нейтральную, так и ионную форму вещества <sup>295</sup>; поверхностную активность и работу адсорбции из водной фазы на границе масло — вода <sup>296</sup>; параметры «водородного связывания» <sup>297</sup>. Все большее внимание привлекают различные модификации молекулярной связуемости, легко поддающиеся расчету для соединений любой сложности <sup>298, 299</sup>.

## ЛИТЕРАТУРА

1. C. Hansch, S. H. Unger, A. B. Forsythe, J. Med. Chem., 16, 1217 (1973).
2. C. Richet, Compt. rend. soc. biol., 45, 775 (1893).
3. H. H. Meyer, Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol., 42, 109 (1899).
4. E. Overton, Studien über die Narkose, Fischer, Jena, 1901.
5. Н. В. Лазарев, Неэлектролиты, Изд-во Воен.-мор. мед. академии, Л., 1944.
6. Н. В. Лазарев, Наркотики, Изд-во Ин-та гигиены труда, Л., 1940.
7. С. А. Гуллер, А. Б. Глаз, В. Е. Голендер, Л. А. Растринин, А. Б. Розенблит, Хим.-фарм. журн., 1972, № 12, 18.
8. R. Franke, P. Oehme, Pharmazie (Berlin), 28, 489 (1973).
9. C. Hansch, T. Fujita, J. Am. Chem. Soc., 86, 1616 (1964).
10. I. Schwartz, Stud. Cercet. Chim. (Bucuresti), 21, 721 (1973).
11. C. Hansch, Accounts Chem. Res., 2, 232 (1969).
12. C. Hansch in Drug Design, v. 1, ed. E. Ariens, Acad. Press, N. Y., 1971, p. 271.
13. Р. О'Брайн, Токсичные эфиры кислот фосфора, «Мир», М., 1964.
14. K. H. Meyer, H. Hemmi, Biochem. Zt., 277, 39 (1935).
15. I. V. Berezin, A. V. Levashov, K. Martinek, V-th Federated European Biological Society Meeting, Prague, 1968; цит. по <sup>11</sup>.
16. И. В. Березин, А. М. Клибанов, К. Мартинек, Успехи химии, 44, 17 (1975).
17. J. Ferguson, Proc. Roy. Soc., (B), 127, 387 (1939).
18. C. Hansch, Adv. Pharmacol. Chemother., 13, 45 (1975).
19. R. D. Cramer, G. Redl, C. E. Berkoff, J. Med. Chem., 17, 533 (1974).

20. M. F. Lynch, J. M. Harrison, W. G. Towne, J. E. Ash, in *Computer Handling of Chemical Structural Information*, Elsevier, N. Y., 1972, p. 67.
21. P. N. Craig, U. M. Ebert, J. Chem. Docum., 9, 141 (1965).
22. P. J. Harrison, J. Appl. Statist., 17, 226 (1967).
23. O. T. Walz, M. J. Di Martino, A. Misher, J. Pharm. Exptl. Ther., 178, 223 (1971).
24. K. C. Chu, R. J. Feldmann, M. B. Shapiro, G. F. Hazard, R. I. Geran, J. Med. Chem., 18, 539 (1975).
25. K. C. Chu, Analyt. Chem., 46, 1181 (1974).
26. S. M. Free, J. W. Wilson, J. Med. Chem., 7, 395 (1964).
27. W. P. Purcell, Biochim. Biophys. Acta, 105, 201 (1965).
28. W. P. Purcell, J. M. Clayton, J. Med. Chem., 11, 199 (1965).
29. J. A. Singer, W. P. Purcell, Там же, 10, 1000 (1967).
30. D. R. Hudson, G. E. Bass, W. P. Purcell, Там же, 13, 1184 (1970).
31. J. Kopecký, Experientia (Bucuresti), 20, 667 (1967).
32. J. Kopecký, K. Bocek, Там же, 23, 125 (1967).
33. T. Ban, T. Fujita, J. Med. Chem., 12, 353 (1969).
34. T. Fujita, T. Ban, Там же, 14, 148 (1971).
35. P. Pratesi, E. Grana, Adv. Drug. Res., 2, 134 (1965).
36. A. Cammarata in *Molecular Orbital Studies in Chemical Pharmacology*, ed. L. B. Kier, Springer-Verlag, Berlin — N. Y., 1970, p. 156.
37. A. Cammarata, S. J. Yau, J. Med. Chem., 13, 93 (1970).
38. A. Cammarata, Там же, 8, 150 (1968).
39. J. M. Clayton, W. P. Purcell, Там же, 12, 1087 (1969).
40. P. N. Craig, Там же, 15, 144 (1972).
41. A. Leo, C. Hansch, D. Elkins, Chem. Rev., 71, 525 (1971).
42. J. C. McGowan, J. Appl. Chem., 1S, 120 (1951); 2, 323 (1952); 2, 651 (1952); 4, 41 (1954).
43. O. Exner, Coll. Czech. Chem. Commun., 32, 24 (1967).
44. O. Exner, Там же, 32, 1 (1967).
45. E. J. Ariens, Arch. Int. Pharmacodyn., 127, 459 (1960).
46. R. Collander, Acta Chem Scand., 4, 85 (1950); 5, 774 (1951).
47. R. Collander, Physiol. Plantarum., 7, 420 (1954).
48. C. Hansch, W. J. Dunn, J. Pharm. Sci., 61, 1 (1972).
49. Л. Гаммет, Основы физической органической химии, «Мир», М., 1972.
50. В. А. Пальм, Основы количественной теории органических реакций, «Химия», Л., 1967.
51. J. E. Leffler, E. Grunwald, Rates and Equilibria of Organic Reactions, John Wiley, N. Y., 1963.
52. T. Fujita, J. Iwasa, C. Hansch, J. Am. Chem. Soc., 86, 5175 (1964).
53. W. J. Dunn, C. Hansch, Chem.-biol. Interactions, 9, 75 (1974).
54. E. C. Bate-Smith, R. G. Westall, Biochim. Biophys. Acta, 4, 427 (1950).
55. C. B. Boyce, B. V. Milborrow, Nature, 208, 537 (1965).
56. G. L. Biagi, A. M. Barbaro, M. C. Guerra, G. C. Forti, M. E. Fracasso, J. Med. Chem., 17, 28 (1974).
57. F. Helmer, K. Kiehs, C. Hansch, Biochemistry, 7, 2858 (1968).
58. R. Franke, Acta biol. med. germ., 25, 789 (1970).
59. J. H. Collett, J. C. Dearden, E. Tomlinson, J. Pharm. Pharmacol., 25, Suppl., 136P (1973).
60. A. Leo, C. Hansch, C. Church, J. Med. Chem., 12, 766 (1969).
61. I. Moriguchi, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 23, 247 (1975).
62. P. Ahmad, C. A. Fyfe, A. Mellors, Biochem. Pharmacol., 24, 1103 (1975).
63. J. A. Ostranga, J. Med. Chem., 12, 766 (1969).
64. A. Cammarata, S. J. Yau, Там же, 14, 1211 (1971).
65. J. H. Hildebrand, J. M. Prausnitz, R. L. Scott, Regular and Related Solutions, Van Nostrand Reinhold, N. Y., 1970.
66. J. A. Ostranga, J. Med. Chem., 12, 349 (1969).
67. L. B. Kier, W. J. Murray, Там же, 18, 1272 (1975).
68. W. Van Valkenberg, A. F. Yapel, Adv. Chem. Ser., 1972, № 114, 252.
69. C. Swain, E. C. Lupton, J. Am. Chem. Soc., 90, 4328 (1968).
70. P. N. Craig, J. Med. Chem., 14, 680 (1971).
71. K. Bowden, R. Young, Там же, 14, 1211 (1971).
72. C. Hansch, A. Leo, S. H. Unger, K. H. Kim, D. Nikaitani, E. J. Lien, Там же, 16, 1207 (1973).
73. D. Farcașiu, Stud. Cercet. Chim. (Bucuresti), 14, 37 (1966).
74. T. Yamamoto, T. Otsu, Chem. Ind., 4, 787 (1967).
75. T. Otsu, T. Ito, Y. Fujii, M. Imoto, Bull. Chem. Soc. Japan., 41, 204 (1968).
76. C. Hansch, J. Med. Chem., 11, 920 (1968).
77. C. Hansch, R. Kerley, Там же, 13, 957 (1970).
78. B. Hetnarski, R. D. O'Brien, Там же, 18, 29 (1975).

79. B. Pullman, A. Pullman, *Nature*, 199, 467 (1963).
80. J. Izenberg, A. Szent-Guörgy, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 44, 857 (1958); 45, 519 (1959).
81. T. Fujita, *J. Med. Chem.*, 9, 797 (1966).
82. T. Fujita, C. Hansch, Там же, 10, 991 (1967).
83. D. Agin, L. Hersh, D. Holtzman, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 53, 952 (1965).
84. E. Kutter, H. Machleidt, W. Reuter, R. Sauter, A. Wildfeuer, *Adv. Chem. Ser.*, 1972, № 114, 98.
85. A. Cammarata, *J. Med. Chem.*, 10, 525 (1967).
86. E. Coats, W. R. Glave, C. Hansch, Там же, 13, 913 (1970).
87. C. Hansch, K. Nakamoto, M. Gorin, P. Denisevi, E. R. Garrett, S. M. Hemanack, C. H. Won, Там же, 16, 917 (1973).
88. J. W. McFarland, L. H. Conover, A. L. Howes, J. E. Lynch, O. R. Courtney, D. H. Morgan, 155-th Nat. Meet. Amer. Chem. Soc. (1968); цит. по <sup>12</sup>.
89. J. W. McFarland, *Progr. Drug Res.*, 15, 124 (1971).
90. C. D. Ritchie, W. F. Sager, *Progr. phys. org. Chem.*, 2, 342 (1964).
91. N. Kakeya, N. Yata, A. Kamada, M. Aoki, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 18, 191 (1970).
92. W. A. Seth-Paul, A. Van Duyse, *Spectrochim. Acta (A)*, 28, 211 (1972).
93. J. P. Tollenaere, *J. Med. Chem.*, 16, 971 (1973).
94. T. K. Lin, Y. W. Chien, R. R. Dean, J. E. Dutt, H. W. Sause, C. H. Yen, P. K. Yonan, Там же, 17, 751 (1974).
95. A. Rastelli, P. G. Debenede, G. G. Battistu, A. Albasini, Там же, 18, 963 (1975).
96. J. K. Seydel, H. Ahrens, W. Losert, Там же, 18, 234 (1975).
97. B. J. Broughton, P. Chaplen, P. Knowles, E. Lunt, S. M. Marshall, D. L. Pain, K. R. Wooldrid, Там же, 18, 1117 (1975).
98. W. H. Dekker, H. A. Selling, J. C. Overeem, *J. Agr. Food Chem.*, 23, 785 (1975).
99. R. W. Taft, *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 3120 (1952).
100. C. K. Hancock, C. P. Falls, Там же, 83, 4214 (1961).
101. M. Charton, Там же, 91, 615 (1969).
102. E. Kutter, C. Hansch, *J. Med. Chem.*, 12, 647 (1969).
103. S. H. Unger, C. Hansch, Там же, 16, 745 (1973).
104. C. Hansch, J. M. Clayton, *J. Pharm. Sci.*, 62, 1 (1973).
105. A. Cammarata, K. S. Rogers, *J. Med. Chem.*, 14, 269 (1971).
106. O. Chalvet, *J. Teoret. Biol.*, 8, 51 (1962).
107. Б. Пюльман, А. Пюльман, *Квантовая биохимия*, «Мир», М., 1965.
108. Б. Pullman, *Electronics Aspects of Biochemistry*, Acad. Press, N. Y., 1964.
109. C. Hansch, E. W. Deutsch, R. N. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 2738 (1965).
110. W. P. Purcell, *J. Med. Chem.*, 9, 294 (1966).
111. W. B. Neely, *Mol. Pharmacol.*, 3, 108 (1967).
112. W. B. Neely, H. C. White, A. Rudzik, *J. Pharm. Sci.*, 57, 1176 (1968).
113. A. Cammarata, R. L. Stein, *J. Med. Chem.*, 11, 829 (1968).
114. O. E. Schultz, H. Kollmann, E. Weber, *Arzneimittel-Forsch.*, 20, 1529 (1970).
115. A. J. Wohl, *Mol. Pharmacol.*, 6, 195 (1970).
116. L. B. Kier, *Molecular Orbital Theory in Drug Research*, Acad. Press, N. Y., 1971.
117. W. P. Purcell, J. A. Singer, *J. Chem. Eng. Data*, 12, 235 (1967).
118. K. Fukui, C. Nagata, A. Imamura, *Science*, 132, 87 (1960).
119. K. Fukui, T. Yonezawa, C. Nagata, *J. Chem. Phys.*, 27, 1247 (1957).
120. A. Cammarata, *J. Med. Chem.*, 11, 1111 (1968).
121. C. Hansch, R. M. Muir, T. Fujita, P. P. Maloney, F. Geiger, M. Streich, *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 2817 (1963).
122. R. A. Fischer, *Statistical Methods for Research Workers*, Oliver and Boyd, Edinburgh, 1970.
123. G. W. Snedecor, C. W. Gemmel, *Statistical Methods*, Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, 1967.
124. J. G. Topliss, R. J. Costello, *J. Med. Chem.*, 15, 1066 (1972).
125. P. J. Goodford, *Adv. Pharm. Chemotherapy*, 11, 51 (1973).
126. C. Hansch, *J. Org. Chem.*, 35, 620 (1970).
127. C. Hansch, E. J. Lien, *Biochem. Pharmacol.*, 17, 709 (1968).
128. Y. C. Martin, K. R. Lynn, *J. Med. Chem.*, 14, 1162 (1971).
129. R. Franke, E. Gäbler, P. Oehme, *Acta biol. med. germ.*, 32, 545 (1974).
130. T. K. Lin, *J. Med. Chem.*, 17, 151 (1974).
131. T. K. Lin, Там же, 17, 745 (1974).
132. P. Weiner, M. Weiner, Там же, 16, 655 (1973).
133. P. H. Weiner, E. R. Malinows, A. R. Levinsto, *J. Phys. Chem.*, 74, 4537 (1970).
134. J. W. McFarland, *J. Med. Chem.*, 13, 1192 (1970).
135. C. Hansch, S. M. Anderson, Там же, 10, 745 (1967).
136. G. Clopman, R. F. Hudson, *Teoret. Chim. Acta*, 8, 165 (1967).
137. G. Clopman, *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 223 (1968).
138. Р. Рид, Д. Шервуд, *Свойства газов и жидкостей*, пер. с англ., под ред. В. Б. Когана, «Химия», Л., 1971, стр. 22.

139. P. N. Craig, Adv. Chem. Ser., 1972, № 114, 115.
140. C. Hansch, J. Med. Chem., 19, 1 (1976).
141. W. P. Purcell, Europ. J. Med. Chem., 10, 335 (1975).
142. J. J. Kaufman, W. S. Koski, Int. J. Quantum Chem. Symp., 1975, № 2, p. 35.
143. P. G. Goodford, F. E. Norrington in Quantitative Structure — Activity Relationships, ed. M. Tichy, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1976, p. 79.
144. J. G. Topliss, E. L. Shapiro, J. Med. Chem., 18, 621 (1975).
145. M. E. Rogers, H. H. Ong, E. L. May, W. A. Klee, Там же, 18, 1036 (1975).
146. J. A. Montgomery, J. G. Mayo, C. Hansch, Там же, 17, 477 (1974).
147. E. J. Lien, C. Hansch, S. M. Andersen, Там же, 11, 430 (1968).
148. G. L. Biagi, M. C. Guerra, A. M. Barbaro, Там же, 13, 944 (1970).
149. F. R. Quinn, J. S. Driscoll, C. Hansch, Там же, 18, 332 (1975).
150. E. Kutter, A. Herz, H. J. Teschema, R. Hess, Там же, 13, 801 (1970).
151. C. Hansch, A. Vittoria, C. Silipo, P. Y. C. Jow, Там же, 18, 546 (1975).
152. W. P. Purcell, Там же, 9, 297 (1966).
153. C. Hansch, S. Silipo, Там же, 17, 661 (1974).
154. F. Helmer, K. Kiehs, C. Hansch, Biochemistry, 7, 2858 (1968).
155. C. Hansch, F. Helmer, J. Polymer Sci., A-1, 6, 3295 (1968).
156. C. Hansch, K. N. Kaula, Biochem. Pharmacol., 19, 2193 (1970).
157. G. H. Hamor, E. J. Lien, Farmaco (Pavia), 24, 704 (1969).
158. G. L. Flynn, S. H. Yalkowsky, J. Pharm. Sci., 61, 838 (1972).
159. A. A. Sinkula, S. H. Yalkowsky, Там же, 64, 181 (1975).
160. J. A. Montgomery, J. G. Mayo, J. Med. Chem., 17, 477 (1974).
161. C. Hansch, A. R. Steward, J. Iwasa, Mol. Pharmacol., 1, 87 (1965).
162. O. R. Hansen, Acta Chem. Scand., 16, 1593 (1962).
163. M. A. Q. Chaudry, K. C. James, J. Med. Chem., 17, 157 (1974).
164. E. M. Hodnett, W. I. Dum, Там же, 13, 768 (1970).
165. E. J. Lien, M. Hussain, M. P. Golden, Там же, 13, 623 (1970).
166. C. F. Barfknecht, D. E. Nichols, Там же, 18, 208 (1975).
167. R. I. Mrongovius, Europ. J. Med. Chem., 10, 474 (1975).
168. M. Yoshimoto, K. N. Kaula, C. Hansch, J. Med. Chem., 18, 950 (1975).
169. K. H. Büchel, W. Draber, A. Trebst, E. Pistorius, Z. Naturforsch., 21, 243 (1966).
170. W. Draber, K. Dickore, K. H. Büchel, A. Trebst, E. Pistoriu, Naturwissenschaften, 55, 446 (1968).
171. W. Draber, K. H. Büchel, K. Dickore, A. Trebst, E. Pistoriu, Progr. Photosynthesis Res., 3, 1789 (1969).
172. P. Moser, K. Jakel, P. Krupp, R. Menasse, A. Sallmann, Europ. J. Med. Chem., 10, 613 (1975).
173. T. Fujita, Chem. Regulation Plants (Tokyo), 5, 124 (1970).
174. G. H. Hamor, E. J. Lien, Farmaco (Pavia), 24, 704 (1969).
175. E. J. Lien, C. Hansch, Adv. Chem. Ser., 1972, 114, 155.
176. Справочник химика, т. 4, «Химия», М.—Л., 1965, стр. 118.
177. A. Leo, P. Low, C. Silipo, C. Hansch, J. Med. Chem., 18, 865 (1975).
178. G. L. Biagi, A. M. Barbaro, O. Gandolfi, M. C. Guerra, G. Cantelli, Там же, 18, 873 (1975).
179. T. Fujita, Adv. Chem. Ser., 1972, № 114, 1.
180. K. Bowden, M. P. Henry, Там же, 1972, № 114, 130.
181. G. H. Miller, P. H. Doukas, J. K. Seydel, J. Med. Chem., 15, 700 (1972).
182. T. Miyagishima, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 22, 2288 (1974).
183. Y. C. Martin, J. Med. Chem., 13, 145 (1970).
184. R. C. Allen, G. L. Carson, C. J. Cavallito, Там же, 13, 909 (1970).
185. E. Coats, W. R. Glave, C. Hansch, Там же, 13, 913 (1970).
186. T. Fujita, Там же, 16, 923 (1973).
187. E. A. Coats, Там же, 16, 1102 (1973).
188. C. Silipo, C. Hansch, Mol. Pharmacol., 10, 955 (1974).
189. C. F. Wilkinson, K. Hetnarski, G. P. Cantwell, F. J. Dicarlo, Biochem. Pharmacol., 23, 2377 (1974).
190. R. Labbe-Bois, C. Laruelle, J.-J. Godfroid, J. Med. Chem., 18, 85 (1975).
191. Y. C. Martin, W. B. Martin, J. D. Taylor, Там же, 18, 883 (1975).
192. T. Fujita, Adv. Chem. Ser., 1972, № 114, 80.
193. P. Craig, C. Hansch, J. Med. Chem., 16, 661 (1973).
194. W. B. Neely, W. K. Whitney, J. Agr. Food. Chem., 16, 571 (1968).
195. C. Hansch, Farmaco (Pavia), 23, 293 (1968).
196. E. V. Deutsch, C. Hansch, Nature, 211, 75 (1966).
197. J. G. Topliss, M. D. Yudis, J. Med. Chem., 15, 394 (1972).
198. C. Hansch, E. W. Deutsch, Biochim. Biophys. Acta, 112, 381 (1966).
199. S. H. Unger, C. Hansch, J. Med. Chem., 16, 745 (1973).
200. A. Cammarata, Там же, 15, 573 (1972).
201. M. Yoshimoto, C. Hansch, P. Y. Jow, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 23, 437 (1975).



202. M. E. Wolff, C. Hansch, J. Med. Chem., 17, 898 (1974).  
203. W. Dittmar, E. Druckrey, H. Urbach, Там же, 17, 753 (1974).  
204. I. Simiti, I. Schwartz, M. Farkas, E. Chindris, Rev. roum. biochim., 11, 145 (1974).  
205. R. Franke, W. Zschiesc, K. Augsten, J. Guttner, G. Hesse, RES-J. Reticuloendothel. Soc., 16, 87 (1974).  
206. B. Tinlano, Farmaco, Ed. Sci., 30, 423 (1975).  
207. R. F. Rekker, W. T. Nauta, T. Bultsma, C. G. Waringa, Europ. J. Med. Chem., 10, 557 (1975).  
208. A. F. Yapel, Adv. Chem. Ser., 1972, № 114, 183.  
209. K. H. Büchel, W. Draber, Там же, 1972, № 114, 141.  
210. F. E. Norrington, R. M. Hyde, S. G. Williams, R. Wootton, J. Med. Chem., 18, 604 (1975).  
211. A. Leo, P. Y. C. Jow, C. Silipo, C. Hansch, Там же, 18, 865 (1975).  
212. E. Tomlinson, J. Chromatogr., 113, 1 (1975).  
213. J. D. Turnbull, G. L. Biagi, A. J. Merola, D. Cornwell, Biochem. Pharmacol., 20, 1383 (1971).  
214. G. L. Biagi, A. M. Barbaro, M. C. Guerra, Experientia (Basel), 27, 918 (1971).  
215. W. Draber, K. H. Buechel, K. Dickore, Proc. II Int. Congr. Pestic Chem., ed. A. S. Tabori, Gordon and Breach, N. Y., 1972, v. 5, p. 153.  
216. Справочник химика, т. 4, «Химия», М.—Л., 1965, стр. 136.  
217. G. L. Biagi, O. Gandolfi, M. C. Guerra, A. M. Barbaro, G. Cantelli, J. Med. Chem., 18, 868 (1975).  
218. R. H. Adamson, Life Sci., 3, 1131 (1964).  
219. P. Ahmad, C. A. Fyfe, A. Mellors, Canad. J. Biochem., 53, 1047 (1975).  
220. Справочник химика, т. 1, «Химия», Л., 1971, стр. 390.  
221. O. R. Quayle, Chem. Rev., 53, 484 (1953).  
222. A. I. Vogel, W. T. Cresswell, G. H. Jeffrey, J. Leicester, J. Chem. Soc., 1952, 514.  
223. Справочник химика, т. 2, «Химия», М.—Л., 1971, стр. 398.  
224. Справочник химика, т. 3, «Химия», М.—Л., 1965, стр. 306.  
225. Справочник по растворимости, М.—Л., «Химия», т. 1, 1961; т. 2, 1963; т. 3, 1970.  
226. J. A. Clements, K. M. Wilson, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 48, 1008 (1962).  
227. A. Cammarata, S. J. Yau, K. S. Rogers, Pure Appl. Chem., 35, 495 (1973).  
228. G. M. Bristow, W. F. Watson, Trans. Faraday Soc., 54, 1731 (1958).  
229. A. F. M. Barton, Chem. Rev., 75, 731 (1975).  
230. Справочник химика, т. 4, «Химия», М.—Л., 1965, стр. 515.  
231. P. B. Hulbert, Mol. Pharmacol., 10, 315 (1974).  
232. A. Chiriac, D. Ciubotar, Z. Szabadai, R. Vilceanu, Z. Simon, Rev. roum. Biochim., 12, № 3, 143 (1975).  
233. H. H. Jaffe, Chem. Rev., 53, 191 (1953).  
234. D. H. McDaniel, H. C. Brown, J. Org. Chem., 23, 420 (1958).  
235. Справочник химика, т. 3, «Химия», М.—Л., 1965, стр. 935.  
236. M. S. Tute, Adv. Drug Res., 6, 1 (1971).  
237. M. Pesak, F. Kopecky, J. Celechovsky, A. Borovansky, A. Lukas, Cesk. Farm., 23, 207 (1974).  
238. K. Bowden, R. C. Young, J. Med. Chem., 13, 225 (1970).  
239. G. Berg, T. Bultsma, W. T. Nauta, Biochem. Pharmacol., 24, 115 (1975).  
240. J. J. Zimmerman, J. E. Goyan, J. Med. Chem., 13, 492 (1970).  
241. P. H. Wells, Chem. Rev., 63, 171 (1963).  
242. R. Franke, Acta biol. med. germ., 30, 467 (1973).  
243. H. C. Brown, Y. Okamoto, J. Am. Chem. Soc., 80, 4979 (1958).  
244. T. K. Chih, Acta Chim. Sinica, 32, 107 (1966).  
245. L. A. Cohen, W. M. Jones, J. Am. Chem. Soc., 85, 3398 (1963).  
246. R. W. Taft, J. Chem. Phys., 26, 93 (1957).  
247. А. Альберт, Е. Сергент, Константы ионизации кислот и оснований, «Химия», М.—Л., 1964.  
248. Справочник химика, т. 3, «Химия», М.—Л., 1965, стр. 77.  
249. Н. В. Дмитриева, Биофизика, 16, 958 (1971).  
250. G. Teutsch, L. Weber, G. Page, E. L. Shapiro, H. L. Herzog, R. Neri, E. J. Collins, J. Med. Chem., 16, 1370 (1973).  
251. C. E. Meloan, R. W. Kiser, Problems and Experiments in Instrumental Analysis, Ch. E. Merrill Books, Columbus, 1963, p. 295.  
252. Справочник химика, т. 1, «Химия», Л., 1971, стр. 395.  
253. О. А. Осипов, В. И. Минкин, А. Д. Гарновский, Справочник по дипольным моментам, «Высшая школа», М., 1971.  
254. G. Karremann, J. Izenberg, A. Szent-Guörgy, Science, 130, 1191 (1959).  
255. L. E. Lions, J. Mackie, Nature, 197, 589 (1963).  
256. A. C. Allison, T. Nach, Там же, 197, 758 (1963).  
257. Справочник химика, т. 1, «Химия», Л., 1971, стр. 329.

258. Л. В. Гурвич, Г. В. Карачевцев, Ю. А. Кондратьев, В. А. Лебедев, В. А. Медведев, В. К. Потапов, Ю. С. Ходеев, Энергии разрыва химических связей. Потенциалы ионизации и сродство к электрону (справочник), «Наука», М., 1974.
259. R. E. Tessel, J. H. Woods, R. E. Counsell, M. Lu, J. Pharm. Expt. Therap., 192, 310 (1975).
260. A. Bondi, J. Phys. Chem., 68, 441 (1964).
261. G. Feurstein, Arzneimittel Forsch., 8, 694 (1958).
262. J. Traube, Pflügers Arch., 153, № 5, 276 (1913).
263. Действие физиологически активных соединений на биологические мембраны (сборник), «Наука», М., 1974, стр. 280, 292.
264. Н. Т. Прянишникова, В. А. Пчелин, ДАН СССР, 126, 1358 (1959).
265. Справочник химика, «Химия», Л., т. 1, 1971, стр. 1011; т. 3, 1965, стр. 726.
266. J. J. Jasper, J. Phys. Chem. Ref. Data, 1, 841 (1972).
267. P. M. Seeman, H. S. Bialy, Biochem. Pharmacol., 12, 1181 (1963).
268. W. C. Griffin, Amer. Perfumer, 65, 26 (1955).
269. R. Vochten, G. Petre, Bull. Soc. Chim. Belges, 81, 583 (1972).
270. J. A. Hickman, Biochem. Pharmacol., 23, 2833 (1974).
271. R. Franke, Arch. Geschwulstforsch., 36, 30 (1970).
272. R. Franke, Там же, 37, 45 (1971).
273. L. N. Ferguson, Modern Structural Theory of Organic Chemistry, Prentice-Hall, Englewoods Cliffs, 1952, p. 54.
274. K. Nukada, O. Yamamoto, T. Suzuki, M. Takeuchi, M. Ohnishi, Analytic. Chem., 35, 1892 (1963).
275. S. Martin, B. P. Dailey, J. Chem. Phys., 39, 1723 (1963).
276. F. C. Stehling, K. W. Bartz, Analyt. Chem., 38, 1467 (1966).
277. G. Slomp, J. G. Lindberg, Там же, 39, 60 (1967).
278. D. Yamamoto, T. Suzuki, M. Yanagisa, K. Hayamizu, M. Ohnishi, Там же, 40, 568 (1968).
279. J. J. Reed, Там же, 39, 1586 (1967).
280. F. Peradejordi, A. N. Martin, A. Cammarata, J. Pharm. Sci., 60, 576 (1971).
281. W. B. Neely, H. C. White, A. Rudzik, Там же, 57, 1176 (1968).
282. S. Kang, J. P. Green, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 67, 62 (1970).
283. S. Kang, J. P. Green, Nature, 226, 645 (1970).
284. D. D. Perrin, Dissociation Constants of Organic Bases in Aqueous Solution, Butterworths, London, 1973.
285. R. K. Freier, Aqueous Solutions, v. 1: Data for Inorganic and Organic Compounds, de Gryter, Berlin — N. Y., 1976.
286. E. Gaebler, R. Franke, P. Oehme, Pharmazie (Berlin), 31, 1 (1976).
287. H. Kubinyi, O. H. Kehrhaun, J. Med. Chem., 19, 578, 1040 (1976).
288. С. В. Нижний, Н. А. Эпштейн, Хим.-фарм. журн., 1977, № 3, 81.
289. H. Kubinyi, J. Med. Chem., 19, 587 (1976).
290. H. Kubinyi, Там же, 20, 625 (1977).
291. Y. C. Martin, J. J. Hackbarth, Там же, 19, 1033 (1976).
292. A. Cammarata, G. K. Menon, Там же, 19, 739 (1976).
293. R. A. Coburn, A. J. Solo, Там же, 19, 748 (1976).
294. C. Hansch, S. D. Rockwell, P. Y. C. Jow, A. Leo, E. E. Steller, Там же, 20, 304 (1977).
295. R. A. Scherrer, S. M. Howard, Там же, 20, 53 (1977).
296. Н. А. Эпштейн, С. В. Нижний, Хим.-фарм. журн., 1977, № 4, 52.
297. T. Fujita, T. Nishioka, M. Nakajima, J. Med. Chem., 20, 1071 (1977).
298. L. H. Hall, L. B. Kier, J. Pharm. Sci., 66, 642 (1977).
299. L. B. Kier, L. H. Hall, Molecular Connectivity in Chemistry and Drug Research, Acad. Press, N. Y., 1976.

Научно-исследовательский институт  
по биологическим испытаниям  
химических соединений, Москва