**ИСТОЧНИКИ И МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ**

**Источники получения лекарственных веществ**

Источником получения неорганических JIB является минеральное сырье, причем используют либо сами минералы, либо отдельные элементы.

Для получения синтетических органических JIB применяют продукты сухой перегонки каменного угля, дерева, горючих сланцев, а также различные фракции нефти. Переработкой этих видов сырья занимается коксохимическая, лесохимическая и нефтеперерабатывающая промышленность. Продукты переработки широко используются в самых различных отраслях народного хозяйства, в том числе в медицинской промышленности.

Каменноугольная смола представляет собой сложную смесь, которая включает более 480 различных ароматических и гетероциклических соединений. С помощью ректификационных колонок каменноугольную смолу подвергают разделению на фракции. В табл. 3.1 указаны температурные интервалы (пределы выкипания) и основные продукты, содержащиеся в каждой фракции.

Затем каждую фракцию перегоняют в более узком температурном интервале, выделяя индивидуальные вещества. Для их очистки используют адсорбцию, обработку серной кислотой (сульфирование), щелочами (выделение фенолятов) и т.д. Выделенные индивидуальные вещества служат исходными продуктами для основного и тонкого органического синтеза различных соединений, в том числе JIB.

Аналогично перерабатывают древесину, которая при сухой перегонке образует древесный уголь и две фракции жидкостей (древесную смолу). Одна из них содержит метиловый спирт, ацетон и уксусную кислоту, а другая (древесный деготь) — фенолы, фенолокислоты, жирные кислоты, углеводы и некоторые другие органические вещества. Древесина является также источником получения фурфурола, крезола, эфиров пирокатехина и пирогаллола.

**Фракции каменноугольной смолы**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Фракции | Пределы выкипания, °С Основные компоненты |  |
| Легкая | 80-160 | Бензол, толуол, ксилол, тиофен, сероуглерод, пиридин и др. |
| Фенольная | 165-210 | Фенол, крезолы, нафталин, азотистые и сернистые соединения (инден, кумарон и др.) |
| Нафталиновая | 216-230 | Нафталин, метилнафталин, тионафтен, индол и др. |
| Поглотительная | 235-300 | Производные нафталина, ацетанафтен, флуорен, индол и др. |
| Антраценовая | 280-360 | Антрацен, фенантрен, карбазол, их аналоги, парафины и др. |
| Пек каменноугольный  | Выше 360 | Парафины, пирен, хризен и др. |

Используют в качестве исходных веществ для синтеза JIB продукты переработки нефти, которая представляет собой смесь около 1000 соединений — главным образом углеводородов различных классов, а также сернистых и азотистых соединений (производные пиррола, пиридина, хинолина, индола, карбазола). В медицине и фармации применяют смеси жидких и твердых предельных углеводородов и азотистые соединения, получаемые при перегонке нефти.

Более 40% ЛС, используемых в медицине, имеют растительное происхождение. Как правило, их отличают малая токсичность и отсутствие побочных эффектов при длительном применении. В настоящее время, по данным ВОЗ, в 73 странах мира для лечебных целей применяют около 10 000 видов лекарственных растений, но в официальные издания 38 стран входит только около 2000 видов. Экспертами ВОЗ составлен «Перечень наиболее широко используемых во всем мире видов лекарственных растений», в который вошли 235 наименований. В нашей стране применяют примерно 170 видов растений и получают из них более 100 ЛВ.

Растительное сырье — листья, цветки, корки, семена, плоды, корни растений — само по себе может представлять лекарственные средства. В растениях обнаружено более 12 000 химических соединений различных классов. Из JIPC выделяют эфирные и жирные масла, смолы, белки, углеводы, которые либо прямо используют как ЛС, либо в качестве исходного сырья для их получения. ЛРС является источником получения природных БАВ: алкалоидов, терпенов, гликозидов, витаминов. Выделенные в виде индивидуальных соединений, они представляют собой ЛВ. Путем экстракции из растительного сырья получают также галеновые препараты.

Основные направления создания новых лекарственных веществ

Научные принципы создания ЛС стали формироваться в начале XX в. До этого их обнаруживали случайно или, используя опыт народной медицины, среди растений. Случайно было обнаружено наркотизирующее действие хлороформа, этанола, закиси азота, снотворное действие барбитуратов, сосудорасширяющий эффект нитратов и т.д. Но уже в конце XIXв. рядЛВ был создан в результате эмпирического поиска. Исследуя жаропонижающую активность производных анилина, получили ацетанилид и фенацетин, из фенола и салициловой кислоты был получен сложный эфир — фенилсалицилат, проявляющий после гидролиза в кишечнике антисептическое и противовоспалительное действие более «мягкое», чем исходные компоненты и т.д.

Несмотря на то что в последующие годы все шире стали применять научные подходы создания ЛВ, эмпирический поиск своего значения полностью не потерял. И сейчас продолжают им пользоваться, подвергая скринингу как вновь синтезированные органические соединения, так и продукты природного происхождения, выделенные из растений, грибов, животного сырья. Исходя из рассмотренных предпосылок создания новых Л В, можно выделить следующие основные направления в решении этой проблемы.

Выделение и изучение биологически активных веществ (алкалоидов, гормонов, терпенов, гликозидов, сапонинов, кума- ринов). Это один из важнейших принципов получения ЛВ, имеющий уже вековую историю. Так были получены кокаин, морфин, хинин, пилокарпин, платифиллин и др.

Химическая модификация структуры известных синтетических и природных ЛВ. Сущность ее заключается в изменении химического строения известного ЛВ с целью получения нового, более активного. Примером может служить модификация структуры природных пенициллинов или цефалоспоринов с целью получения более активных синтетических аналогов. Используется также прием получения структурных аналогов с новой направленностью фармакологического действия. Например, в результате исследования побочного диуретического действия у сульфаниламидов создан целый ряд диуретических средств, производных сульфонилмочевины.

Воспроизведение биогенных физиологически активных веществ. Получение витаминов, гормонов, ферментов, аминокислот из растительного и животного сырья сопряжено с рядом трудностей. Основной из них является малое их содержание и сложность выделения. Поэтому более эффективной является разработка способов синтеза этих веществ химическим, микробиологическим, генноинженерным путем. Так получают рибофлавин, кислоту никотиновую, ряд гормональных препаратов и др.

Введение фармакофора известного ЛВ в молекулу нового органического соединения. Фармакофором называют фрагмент молекулы, обусловливающий фармакологическую активность ЛВ. Так, например, получение многочисленных противоопухолевых ЛВ было осуществлено путем введения в молекулу дихлорэтиламинового фрагмента.

Принцип молекулярного моделирования, сущность которого состоит в предварительном установлении стереохимических особенностей молекулы ЛВ и биорецептора. Например, измерение с помощью рентгеноструктурного анализа расстояний между атомами или зарядами у стероидных соединений и синтез на этой основе аналогов с заданными на молекулярном уровне параметрами. На основе этого принципа созданы синтетические аналоги эстрогенных гормонов, не имеющие стероидной структуры.

Создание ЛВ на основе естественных метаболитов используется в различных направлениях. Способность возмещать необходимое физиологически активное вещество при недостатке его поступления или образования в организме открывает большие возможности заместительной терапии. Вместе с тем полученное на основе естественного метаболита Л В может оказывать при наличии определенного патологического состояния выраженный фармакологический эффект. Он возникает за счет активации или корреляции биохимических процессов и физиологических реакций и направлен на ликвидацию патологических сдвигов. Это позволило создать на основе метаболитов ЛВ — антидепрессанты, антиконвульсанты, антиаритмики, анальгетики, иммуномодуляторы, ноотропы и др. Особенно важно, что эти Л В отличаются безопасностью и быстрым проявлением указанной активности (в течение нескольких минут).

Использование антиметаболитов основано на создании синтетического ЛВ, сходного по химической структуре с метаболитом. При применении такого антиметаболита происходит процесс подмены метаболита в естественных биологических реакциях. Возникает нарушение (торможение) функции ферментных систем имитаторами метаболита. Этот принцип лежит в основе действия сульфаниламидных, многих противоопухолевых и противовирусных средств. Как правило, антиметаболиты не вызывают побочных эффектов благодаря сходству химической структуры с биогенными веществами.

Использование комбинаторной химии, сущность которой состоит в совмещении химических и биологических методов. Создана эта методология в 1990-х гг. и основана на параллельном синтезе и биологических испытаниях большого числа новых соединений в очень малых количествах. На твердых подложках в миниатюрных реакционных ячейках получают до нескольких тысяч соединений в день и тут же тестируют их в виде смесей или после выделения индивидуальных веществ. В совокупности с автоматизацией параллельного синтеза целых семейств веществ значительно сокращаются затраты реа- ге.-ггов при очень большом росте производительности.

Поиск экономичных схем синтеза осуществляется также блочным методом, позволяющим получать БАВ малым числом стадий из крупных фрагментов молекул или блоков, которые связывают между собой. Уже в самой химической структуре многих сложных природных соединений заложена информация о возможных путях их синтеза. Извлечь ее помогает блочный метод на основе деструктивного подхода, позволяющего осуществить подбор блоков, необходимых для последующего синтеза.

Генная фармакология возникла на основе достижений современной генетики в последние годы. Суть ее заключается в использовании для лечебных целей и для управления действием ЛС «клонированных» генов и других генетических приемов. Эти исследования находятся на начальной стадии и требуют еще серьезного изучения с точки зрения безопасности лля больного.

Таким образом, в настоящее время используются самые разнообразные принципы создания новых ЛВ от различных вариантов скрининга до выявления и исследования биологически активных веществ растительного и животного происхождения, воспроизведения их синтетическим путем и получения различных модификаций молекул.

Получение лекарственных веществ из растительного и животного сырья

Общие методы выделения биологически активных веществ

Основой для проведения исследований в области выделения новых ЛВ из растений обычно являются сведения, имеющиеся в народной медицине, или другие предпосылки, позволяющие считать, что в растении содержатся БАВ. Обязательным условием является наличие необходимых ресурсов для исходного сырья. Если его в природе недостаточно, то оно вводится в культуру, что требует проведения необходимых испытаний.

Для получения ЛС перспективные растения подвергают химическим исследованиям. При этом изучается процесс накопления БАВ в зависимости от климатических, возрастных, сезонных, суточных изменений. Это позволяет выбирать оптимальные условия выращивания или заготовки дикорастущего ЛРС. Затем осуществляют разработку оптимальных условий выделения суммы и последующего разделения БАВ.

Выделение БАВ из растительного и животного сырья, их разделение и очистка представляют собой сложную задачу. Несмотря на многообразие видов сырья, физических и химических свойств извлекаемых соединений, процесс их выделения состоит в основном из следующих стадий: измельчение исходного сырья, приведение его в тесный контакт с растворителем, отделение экстракта от сырья, удаление и регенерация растворителя из экстракта и исходного сырья, выделение и очистка биологически активного вещества.

Экстракция природных веществ из растительных или животных тканей может быть осуществлена либо извлечением комплекса содержащихся в них соединений с последующим разделением на отдельные компоненты, либо последовательной экстракцией отдельных соединений или классов соединений. Обычно в растениях содержится несколько биогенетически связанных соединений, сходных по химической структуре и свойствам, что значительно усложняет задачу. Вот почему чаще всего извлекается сумма БАВ с примесью других сопутствующих природных соединений, содержащихся в исходном сырье.

Из ранее не исследованного растительного или животного сырья экстракцию последовательно проводят растворителями с повышающейся полярностью. Если объектом служат сухие ткани, то проводят возгонку или перегонку с водяным паром с последующей экстракцией следующими растворителями: петролейным эфиром, эфиром, хлороформом, этанолом, водой (последовательно — холодной, теплой, подкисленной, подщелоченной). В случае необходимости создают более узкие интервалы рН водных растворов. Нередко из полученных водных извлечений БАВ экстрагируют растворителем, не смешивающимся с водой (эфиром, хлороформом). Затем после отделения экстракта и отгонки растворителя получают выделяемое вещество.

При выделении БАВ необходимо учитывать возможность их разложения под влиянием растворителей, температуры, условий выполнения экстракции, а также воздействия ферментов, содержащихся в растительном или животном сырье. Особенно важно учитывать эти обстоятельства при проведении перекристаллизации, возгонки, различных видов перегонки. Поэтому для очистки лабильных органических веществ обычно пользуются перегонкой в вакууме при 13,33-19,99 ■ 102 Па (10-15 мм рт. ст.) или высоком вакууме при 1,33-0,133 Па (0,01-0,001 ммрт. ст.).

Ставную массу растительного сырья составляют клетчатка, белки, хлорофилл, смолы, слизи, дубильные и другие вещества. Поэтому очень сложно отделить БАВ от этих сопутствующих веществ. В химико-фармацевтической промышленности для этой цели пока еще широко используются различные варианты экстракции (непрерывная, полунепрерывная, ре- экстракция и др.). Применяют также более современные методы разделения, например метод многократного фракционного экстрагирования, или метод противоточного экстрагирования, а также электрофорез, диализ,' позво- ."люшие разделять сложные смеси высокомолекулярных веществ. Недостатками указанных методов являются возможная деактивация БАВ вследствие низкой их стабильности и недостаточная степень очистки.

Наряду с этими методами все шире используют различные варианты хроматографии. Для выделения, разделения и очистки от примесей органических соединений пользуются колоночной и ионообменной хроматографией.

Более перспективно использование для выделения метода гельпроникающей хроматографии, позволяющего разделять смеси на составляющие компоненты, различающиеся по молекулярной массе. Химическая инертность используемых при этом неподвижной и подвижной фаз исключает возможность дезактивации выделяемых веществ. В случае необходимости хроматографический процесс разделения нестабильных веществ можно проводить в холодильной камере.

Выделенное соединение подвергают структурному химическому исследованию, а затем изучают его фармакологическое действие.

Получение лекарственных веществ методом культуры тканей высших растений

В нашей стране заготавливаются десятки тысяч тонн ЛРС. Однако потребность в БАВ, содержащихся в растениях, с каждым годом возрастает, а природные запасы лекарственных растений снижаются вследствие интенсивной урбанизации, освоения новых пахотных земель, сокращения лесных угодий и т.д.

Указанные обстоятельства потребовали изыскания новых путей получения БАВ. Одним из них является принципиально новый метод получения этих веществ, основанный на использовании в качестве сырья изолированных тканей и клеток, растущих на искусственных питательных средах. Доказано, что в этих условиях растительные клетки способны синтезировать различные БАВ подобно тому, как это происходит при выращивании самого растения. Кроме того, клетки культуры тканей могут быть использованы для биотрансформации ряда БАВ. Все это дает возможность разработки технологии получения БАВ, обладающих различным фармакологическим действием.

Исследования в области культуры тканей и клеток различных растений проводятся в последние десятилетия во многих странах, особенно в США, Англии, Японии. Основные направления исследований — получение штаммов культур лекарственных растений и скрининг выделяемых ими БАВ, полученных в условиях культур тканей растений, для выявления наиболее эффективных ЛВ.

Научные основы метода культуры тканей высших растений начали разрабатываться в нашей стране в 1959 г. в Институте физиологии растений АН СССР им. К.А. Тимирязева. Здесь проведены исследования культуры ткани мака снотворного — источника морфиновых алкалоидов. Учитывая сложность синтеза этой группы алкалоидов и ликвидацию посевов мака снотворного, культура его ткани остается единственным путем получения алкалоидов группы морфина.

Систематические исследования культуры ткани раувольфии змеиной и жень-шеня проведены в С.-Петербургской химико-фармацевтической академии. Разработана оригинальная технология выращивания тканей. Активизируются работы в ВИЛАР по культивированию тканей таких ЛР, как крестовник ромболистный, скополия гималайская, наперстянка шерстистая и красная, паслен дольчатый, диоскорея дельтовидная, стефания гладкая и др. Экстракцию алкалоидов можно производить как из высушенной (выход до 88%), так и из сырой (до 80%) биомассы. Технология выделения алкалоидов из биомассы мало отличается от их получения из ЛРС.

Конечно, культура растительных тканей не всегда может заменить традиционные способы выращивания ЛРС. В тех случаях, когда сырьевая база может быть легко обеспечена за счет гарантированных запасов дикорастущих видов в природе или в условиях сельскохозяйственного производства, не имеет смысла заниматься меточной промышленной технологией. Однако несомненный интерес такая технология представляет для эндемичных видов, многих тропических и субтропических растений, выращивание которых в силу климатических условий невозможно в нашей стране (строфант, пилокарпус, физостигма, ипекакуана, чилибуха и др.).

Получение лекарственных веществ на основе применения биологического синтеза

Общие представления о биотехнологии и ее основные отрасли

Одним из перспективных путей получения ЛВ является биотехнология с использованием методов генной инженерии. Ее основу составляют генетические ресурсы, заложенные в клетках растений, животных и микроорганизмов. Современный уровень развития химии, биологии и других наук позволяет изменять молекулы, входящие в состав биологических систем, и создавать их варианты, которые не могли появиться в процессе естественной эволюции.

Биотехнология — это технология получения различных продуктов из живых клеток различного происхождения. Успешное развитие биологии значительно обогатило такие направления биотехнологии, как техническая биохимия, микробиология, и привело к возникновению принципиально новых, перспективных направлений — генетической и клеточной инженерии. Объектами биотехнологии являются культивируемые ткани и клетки животных и растений (высших организмов), а также микроорганизмы, созданные методами генной инженерии, т.е. путем переноса генетического материала от одних организмов к другим, в том числе от высших к одноклеточным.

Понятие «клеточная инженерия» включает использование либо самих культивируемых клеток, либо различных манипуляций с ними для создания новых технологий. Клеточное конструирование осуществляют гибридизацией или введением в них чужеродного генетического материала (клеточных органелл, бактерий). Результатом клеточного конструирования является улучшение клеток-продуцентов в культуре или получение клеточных систем с новыми свойствами, а в случае растительных клеток — получение растений с новыми свойствами.

Биотехнология обеспечивает самые прогрессивные методы получения новых ЛВ. Начиная со второй половины 70-х гг. в нашей стране и за рубежом, особенно в США, Японии, ФРГ, создана отрасль биотехнологии, обеспечивающая получение ЛВ на основе использования генной инженерии. С помощью генной инженерии были разработаны новые штаммы микроорганизмов, позволившие получить гормональные вещества, осуществить микробиологический синтез инсулина, интерферона и других ценных веществ, синтезируемых только организмом человека.

Чрезвычайно важно, что в качестве источников сырья для биотехнологии все шире используются непищевые растительные ресурсы и отходы сельского хозяйства, пищевой промышленности. Это позволяет превратить биотехнологию в безотходное производство. Сравнительная оценка продолжительности традиционных и биотехнологических методик убедительно подтверждает преимущества последних.

Наибольший интерес для фармации представляют такие отрасли биотехнологии, как производство вторичных метаболитов, протеиновая технология, получение моноклональных антител, инженерная энзимология.

Традиционная методика получения ЛВ путем выращивания растений на опытном поле требует длительного времени (1-6 мес.). Более экономично использование биотехнологической методики, основанной на выращивании каллусных и меристемных клеточных культур (7-14 дней). При получении биологически активных веществ из животных тканей традиционный способ разведения животных требует 1-9 мес., выращивание культуры клеток ткани на твердой фазе — 7-10 дней. Меньше всего времени, всего 1-3 дня, требуется для получения БАВ путем культивирования микроорганизмов, так как они растут быстрее клеток растений и животных и требуют простых питательных сред.

Сущность протеиновой технологии заключается в применении генетически измененных микроорганизмов. Это позволяет значительно снизить стоимость дорогостоящих ЛВ, например таких, как инсулин или интерферон, требующих для производства дефицитного природного сырья.

Так, наиболее продуктивными для получения интерферона являются дрожжевые клетки. Введение в них чужого гена осуществляют с помощью вектора, которым служат минихромосомы (плазмиды), содержащиеся во многих бактериях и состоящие из маленьких кольцевых молекул ДНК. Технология введения гена состоит в его выделении из бактерии, создании рекомбинантных ДНК, встройке их в микробную или животную клетку — реципиент, которая приобретает новое свойство — продуцировать заданный белок.

Получение моноклональных антител — метод иммунной биотехнологии. Он основан на создании гибридов, продуцирующих моноклональные антитела ко многим антигенам бактерий, вирусов, животных и растительных клеток. Метод позволяет получать чистые ферменты и белки.

Важной составной частью современной биотехнологии является инженерная энзимология. Одно из ее достижений — создание иммобилизованных ферментов — нового типа биокатализаторов. В отличие от природных ферментов они обладают термостабильностью, работают в широком интервале рН, могут использоваться многократно, легко отделяются от продуктов реакции. В химико-фармацевтической промышленности иммобилизованные ферменты используются для разделения рацемических смесей аминокислот, биосинтеза ряда природных веществ и их полусинтетических аналогов, в частности 6-аминопенициллановой (6-АПК) и 7-аминодезацетоксицефалоспорановой кислот и др.

Микробиологический синтез

Промышленный способ получения химических соединений и других продуктов, осуществляемый благодаря жизнедеятельности микробных клеток, известен под названием микробиологического синтеза. Такие его продукты, как пекарские дрожжи, известны давно, однако широкое использование микробиологического синтеза началось с 50-х гг. XX в. в связи с освоением производства пенициллина. С этого времени начала бурно развиваться микробиологическая промышленность.

В процессе микробиологического синтеза происходит образование сложных веществ из более простых в результате функционирования ферментных систем микробной клетки. Этим он отличается от брожения, в процессе которого также образуются продукты обмена веществ микроорганизмов (спирты, кислоты и др.). Однако брожение сопровождается, наоборот, ферментативным распадом органических веществ. Микробиологический синтез использует способность микроорганизмов размножаться с большой скоростью и выделять избыточные количества продуктов обмена веществ (аминокислот, витаминов и др.), во много раз превышающие потребности микробной клетки. Такие микроорганизмы-продуценты выделяют из природных источников или получают мутантные штаммы, более активные, чем природные. В последние годы в качестве продуцентов применяют культуры, полученные методами генной инженерии, в которых функционирует чужеродный для них ген. Исходным сырьем для микробиологического синтеза органических соединений служат дешевые источники азота (нитраты) и углерода (углеводороды, углеводы, жиры).

Микробиологический синтез включает ряд последовательных стадий, основными из которых являются: подготовка необходимой культуры микроорганизма-продуцента, выращивание продуцента, ферментация (культивирование продуцента в заданных условиях) или собственно процесс синтеза, фильтрация и отделение биомассы, выделение и очистка полученного продукта, высушивание.

В настоящее время микробиологический синтез широко используют для промышленного получения аминокислот, витаминов, провитаминов, коферментов и ферментов, нуклеозидфосфатов, алкалоидов и ряда других ЛВ.

Микробиологический синтез витаминов и коферментов все шире включается в новые технологические схемы. Использование достижений в области физиологии микроорганизмов — продуцентов БАВ — позволяет оптимизировать биосинтез и увеличивать их выход. Использование в промышленности указанных методов дает возможность применять более дешевые источники сырья, увеличивать выход продукции, заменять дорогостоящие и трудоемкие стадии химического синтеза.

Изучение химии и биохимии микробных ферментов не только расширяет возможности получения, но и позволяет выявить существование новых витаминов и ферментов. Это открывает пути создания новых ЛВ природного происхождения.

Большинство органических кислот получают химическими методами из продуктов переработки нефти и сухой перегонки древесины. Однако, когда кислота используется для пищевых или медицинских целей или синтез ее является сложным, целесообразно использовать микробиологические методы. Сейчас лимонную, глюконовую, кетогулоновую и итако- новую кислоты получают только микробиологическим путем, а молочную и уксусную — как химическим, так и микробиологическим методами. Многие из этих кислот либо сами являются Л В, либо используются в качестве исходных продуктов их синтеза или получения солей. Основным сырьем для производства органических кислот ранее служили углеводы (глюкоза, сахароза, крахмал). Начиная с 60-х гг. XX в. для этой цели все шире используется непищевое сырье — нормальные парафины нефти в сочетании со специально селекционированными штаммами дрожжей.

Микроорганизмы являются продуцентами аминокислот, используемых в медицинской практике, или полупродуктами синтеза Л В. Производство аминокислот в настоящее время — широко развитая отрасль биотехнологии. В нашей стране широко развито промышленное производство триптофана, лизина, лейцина, изолейцина, пролина и других аминокислот. Технология производства основана на управляемом процессе ферментации с использованием методов традиционной селекции. С этой целью предварительно производится отбор мутантов для создания штаммов — продуцентов той или иной аминокислоты. Такие штаммы являются активными продуцентами аминокислот, в том числе применяемых в медицине.

При получении ряда ЛВ используется микробиологическая трансформация органических соединений, т.е. превращение одних органических соединений в другие, осуществляемое ферментами микроорганизмов. Преимущество микробиологической трансформации по сравнению с органическим синтезом заключается в специфичности действия ферментов и выполнении биосинтеза в «мягких» условиях (в водной среде при температуре не выше 100°С), что значительно упрощает технологию. При этом существенно уменьшается образование побочных продуктов и вредных отходов.

Микробиологическая трансформация может быть применена для превращений органических соединений с помощью таких процессов, как окисление, восстановление, аминирование, декарбоксилирование, дезаминирование, гидролиз, метилирование, конденсация, этерификация, галогенирование, изомеризация, расщепление на оптические антиподы, синтез нуклеотидов из предшественников и др.

Установлена таксономическая специфичность ряда микробиологических трансформаций. Так, например, гидроксили- рование стероидов происходит в присутствии ряда грибов, а восстановление стероидов — мукобактерий. Окислению аминогруппы способствует наличие стрептомицетов, а дезаминированию и восстановлению — дрожжи; окисление различных углеводородов и расщепление ароматического кольца происходит под влиянием псевдомонад, а гидроксилирование ароматического ядра — в присутствии артробактерий и т.д.

Сущность биохимического окисления заключается в использовании изолированных органов животных. Так, например, получают 11-оксистероиды, пропуская через изолированные надпочечники или их гомогенаты раствор соответствующего стероида.

Для микробиологического окисления стероидных соединений (например, прогестерона в положении 11) используют микроорганизмы некоторых видов Як^ориз. Такого типа окисление отличается от биохимического сравнительно более простой технологией выделения, очистки и значительным выходом (30-60%) конечного продукта.

В нашей стране микробиологическая трансформация широко используется при промышленном получении стероидных гормонов, в частности преднизолона из гидрокортизона, преднизона из кортизона, гидрокортизона из кортексолона и т.д. Применение микроорганизмов в синтезе таких ЛВ, как кортизон, гидрокортизон и др., позволило во много раз снизить стоимость производства.

Ряд полисахаридов, используемых в медицине в качестве заменителя плазмы крови, также продуцируется микроорганизмами. Перспективным оказалось использование полисахаридов в качестве антисептиков. Ученые Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академии на основе оригинального полисахарида создали ранозаживляющую губку — аубазипор, а НИИ вакцин и сывороток — новый антисептический препарат катацел (полимерная соль на основе целлюлозы и аммонийного основания).

Большие преимущества у биотехнологии алкалоидов на основе микробиологического синтеза по сравнению с методами их получения из растительного сырья. Зная биохимические особенности микроорганизмов-продуцентов и механизм биосинтеза алкалоидов, можно направленно управлять процессом микробиологического синтеза, который к тому же не зависит от погодных условий и может быть максимально автоматизирован. Методами селекции и генетики на основе диких штаммов получают высокоактивные продуценты алкалоидов. Большой интерес представляют, например, грибы и, в частности, аскомицеты рода С1а\ч'сер5, синтезирующие эргоалкалоиды.

Ферменты, являясь сложными по химической структуре соединениями, в большинстве случаев могут быть получены только на основе микробиологического синтеза. Ферменты все шире применяются в качестве ЛВ.

Интенсивное развитие биотехнологии открывает новые перспективы практического применения микроорганизмов для получения витаминов и коферментов, создает возможности для совершенствования технического уровня этих производств, внедрения в практику процессов управляемого непрерывного культивирования. Большие возможности создает применение в биотехнологии витаминов таких источников сырья, как углеводороды, низшие спирты и кислоты.

С помощью биотехнологии была решена проблема получения рибофлавина, широко применяемого в медицинской практике. Методы генной инженерии позволяют в бациллах размножать гены, отвечающие за биосинтез рибофлавина. В результате проведенных исследований количество продуцируемого рибофлавина возросло в 4-5 тыс. раз. Микроорганизмы служат продуцентами аскорбиновой кислоты (на ряде этапов ее получения), р-каротина, некоторых цитохромов и нуклеотидов, тиамина, цианокобаламина и др.

Основную часть биотехнологической продукции занимают антибиотики, потребность в которых очень велика. При этом биотехнология позволяет решить две проблемы: увеличить объем производства антибиотиков и вместе с тем уменьшить их отрицательное влияние на организм. Решению этих проблем способствовало создание научным коллективом ВНИИ антибиотиков под руководством акад. АМН С.М. Навашинатак называемых «ключевыхсоединений» для производства новых антибиотиков. Для этой цели из микроорганизмов выделены вещества, ускоряющие процессы образования антибиотиков. Помещенные в специальные полимерные гранулы, они в течение длительного времени позволяют получать новые антибиотики в промышленном масштабе. Реакторы, в которых происходит этот процесс, отличаются высокой производительностью, занимают мало места, отходов практически не дают. Полученное новое поколение антибиотиков имеет более широкий спектр антимикробного действия. Они практически не вызывают аллергических реакций.

Очень активно исследования в области биотехнологии и генной инженерии ведутся в Государственном научном центре — ГосНИИ особо чистых биопрепаратов. Совместно с учеными других НИИ здесь разрабатываются технологии получения ЛП на основе рекомбинантных белков, полипептидов и микроорганизмов; конструируются новые формы доставки ЛС и т.д. На опытном заводе этого НИИ выпускаются генноинженерные препараты: интерлейкин 1, эритропо- этин, интерферон 2 и бактериальный препарат витафлор. Вместе со специалистами Российской военно-медицин- ской академии удалось создать на основе интерлейкина 1-бета ЛП для лечения последствий поражений лучевой и химической природы, а эритропоэтин оказался эффективным при железодефицитной анемии.

Ученые ГНЦ прикладной микробиологии на основе генной инженерии с использованием бактерий Е. coli создали технологию культивирования гибридного белка-предшественника инсулина человека. Это позволит решить проблему производства отечественного инсулина.

В Новосибирском ГНЦ вирусологии и биотехнологии разработаны ЛП на основе рекомбинантных цитокинов. Один из — альнорин — перспективное противоопухолевое средство, а второй — бефнорин — прошел клинические испытания как иммуномодулятор.

Важной отраслью использования микроорганизмов является получение вакцин для медицинских целей. Вакцинам принадлежат большие перспективы в создании новых высокоэффективных ЛС для лечения таких опасных для человека заболеваний, как ВИЧ-инфекция, злокачественные и другие заболевания. Исследователи Вирусологического центра НИИ микробиологии вплотную подошли к созданию суперсовершенной вакцины. Она будет вызывать пожизненный иммунитет после однократного введения, содержать антигены максимального количества возбудителей инфекции, быть безопасной, устойчивой к положительным температурам, вводиться безопасным пероральным путем. И это не утопия, а реальный путь, в основе которого лежит создание генноинженерных, рекомбинантных вакцин. Исследования в этом направлении начались еще в 1982 г. и в результате уже создано несколько рекомбинантных конструкций, в частности вакцин против гепатита В и клещевого энцефалита. Эти вакцины показали гораздо большую безопасность и пониженную реакто- генность по сравнению с вакцинами на основе «родительских штаммов».

Ученые пришли к выводу о том, что лечение ВИЧ-инфекции возможно только с помощью вакцины. Все остальные Л С неэффективны и к тому же нарушают иммунную систему. Из 50 созданных вакцин две дошли до клинических испытаний (испытываются в США и Таиланде). Перспективными оказались вакцины на основе вирусов (в т.ч. убитых вирусов), а также на основе сальмонелл. Наиболее близки к созданию вакцины для лечения СПИДа ученые США. Предполагается ее создание в течение 5 лет, для чего имеется уже специальный фонд (1 млрд долларов). Предполагаемая стоимость такой вакцины очень высока, поэтому в другие страны она попадет не ранее чем через 15-25 лет.

Пути синтеза лекарственных веществ

Подавляющее большинство Л В представляют собой органические вещества.

Органический синтез осуществляется в лабораторных и промышленных условиях. Это раздел органической химии, в котором рассматриваются пути и методы создания новых соединений. Возникновение данного направления органической химии тесно связано с разработкой теории химического строения и накопления данных о химических свойствах органических соединений (вторая половина XIX в.).

В последние десятилетия исследования в области органического синтеза направлены на воспроизведение природных соединений и их аналогов, а также создание теории и надежных методов органического синтеза. В результате были синтезированы сложнейшие по химической структуре природные соединения (алкалоиды, гормоны, витамины, гликозиды, ферменты) и их синтетические аналоги. Синтез органического соединения с заранее заданной структурой осуществляют из относительно простых и доступных соединений, выпускаемых химической промышленностью. Из них формируется будущая молекула.

Получение органического ЛВ — сложный процесс, нередко состоящий из 10-20 стадий и более. Он включает множество технологических операций, основанных на химических, физических и физико-химических методах. Выход готовой продукции зависит от сложности технологии и других факторов. Он колеблется в очень широких пределах (от 1-2 до 50-80%).

Химические реакции, используемые для синтеза органических Л В, можно классифицировать на три основные группы: реакции замещения, реакции превращения заместителей и реакции окисления — восстановления.

Реакции замещения. Эти реакции основаны на замещении атомов водорода в алифатической цепи, ароматическом, гетероциклическом ядре или в функциональной группе различными заместителями. Реакции замещения используют для того, чтобы придать синтезируемому веществу какие-либо новые свойства или получить промежуточный продукт со свойствами, необходимыми для его дальнейшего превращения в ЛВ.

Реакции превращения заместителей. Эта группа реакций основана на химических превращениях заместителей, имеющихся в молекуле промежуточного продукта, чтобы придать ему новые свойства или изменить его реакционную способность.

Реакции окисления — восстановления. Восстановление и окисление — единый процесс, в результате которого одна группа атомов восстанавливается, приобретая при этом электроны, а другая группа атомов окисляется. В окислительно-восстановительных реакциях происходит изменение не только степени окисления, но и состава молекулы.

Различают основной органический синтез и тонкий органический синтез.

Основной органический синтез — промышленное многотоннажное производство органических соединений, осуществляемое из продуктов переработки угля, нефти, природного газа. Основной синтез отличается от тонкого органического синтеза сравнительной малостадийностью. Он осуществляется на крупных производственных комплексах, мировое производство продуктов достигает 180 млн тонн/год. Продукты основного органического синтеза используются в различных отраслях химической промышленности, в т.ч. химико-фармацевтической. Некоторые из них применяют в качестве ЛВ, но главным образом это исходные продукты синтеза органических ЛВ. И в том, и в другом случаях необходима тщательная дополнительная очистка продуктов основного синтеза от различных примесей. Требования к качеству Л В отражены в соответствующей нормативной документации.

Тонкий органический синтез отличается от основного тем, что его продукция представляет собой результат малотоннажного производства органических веществ сложного строения. Осуществляется тонкий органический синтез из продуктов основного органического синтеза. Для него характерны многостадийность, высокие энерго- и трудозатраты, сложное оборудование, использование гибких блочно-модульных систем, автоматических систем управления, привлечение методов биотехнологии, лазерной химии и др. Большое число стадий приводит к образованию не только промежуточных, но и различных побочных продуктов синтеза, а следовательно, требует постадийного контроля качества и дополнительной очистки от примесей и отходов производства.

Поскольку современные ЛВ отличаются сложным химическим строением, тонкий органический синтез — единственный путь синтетического получения субстанций из числа алкалоидов, гормонов, антибиотиков, их аналогов, а также других органических Л В.

Для получения ЛВ используются различные синтетические методы. Более простые по химическому строению органические соединения, имеющие алифатическую, ароматическую, гетероциклическую структуру, получают с помощью полного органического синтеза. Его применяют и для получения ряда природных БАВ: алкалоидов (атропин, кофеин), витаминов (кислота никотиновая), антибиотиков (левомицетин) и др. Исходными продуктами синтеза служат главным образом продукты сухой перегонки каменного угля.

Широкое применение в медицинской промышленности нашел частичный синтез (полусинтез) на основе природных веществ, имеющих сходную с ЛВ химическую структуру. Так получают многие Л В, являющиеся синтетическими аналогами алкалоидов, витаминов, продуктами гидролиза гликозидов, полусинтетические антибиотики, а также аналоги ан- дрогенных, гестагенных, эстрогенных гормонов, анаболические стероидные препараты и др.

Синтез лекарственных веществ — важнейшая составная часть фармацевтической химии. Вместе с тем фармацевтический синтез — составная часть органической химии. Развитие исследований в области фармацевтического синтеза (первый этап) берет свое начало с работ Д.Л. Романовского, И.И. Мечникова и П. Эрлиха после открытия и становления принципов химиотерапии. Затем в 30-х гг. последовала эра создания сульфаниламидов (Г Домагк, О.Ю. Магидсон, М.В. Рубцов и др.), а в 40-х гг. — эра антибиотиков (Э. Чейн, Э. Ваксман, А. Флеминг и др.).

Второй этап развития фармацевтического синтеза связан с установлением химической структуры и получением синтетическим путем витаминов, кортикостероидов, анаболических, противотуберкулезных, противоопухолевых, холинолитических, анестезирующих и других средств (Р. Вудворд, С.А. Гиллер, М.Н. Щукина, H.A. Преображенский, И.Я. Постовский и др.).

Третьим этапом явилось создание простагландинов и нейрогормонов. После классических исследований лауреатов Нобелевской премии Р. Елоу, Р. Гиллемена, А. Шеллы была установлена структура нейрогормонов и синтезированы различные пептиды (Г.И. Чиппенс).

Благодаря успехам современной органической химии удалось осуществить полный синтез многих природных соединений, в том числе таких сложных, как витамин Bij. Некоторые из таких природных БАВ синтезируют в промышленных масштабах. Однако сложность технологических процессов, многостадийность синтеза сдерживают расширение указанного пути получения ряда ценных ЛВ. Это вызывает необходимость разработки направленного органического синтеза, поиска рациональных синтетических схем.

Вторая половина XX в. характеризуется бурным ростом числа работ по синтезу ЛВ и созданием новых синтетических аналогов антибиотиков, стероидных гормонов, ЛВ для лечения нервной и сердечно-сосудистой систем. Были синтезированы и исследованы тысячи БАВ, десятки из них пополнили арсенал ЛВ.

Создание нового, оригинального ЛВ — чрезвычайно сложный и длительный процесс. Из нескольких тысяч синтезированных веществ отбирается лишь около 500 для тестирования на органопрепаратах, из которых до 250 изучаются на животных, 5 допускаются к клиническим испытаниям и только один становится полноценным лекарственным веществом. На его создание уходит от 8 лет (60-е гг.) до 15 лет (90-е гг.). Соответственно растут затраты на разработку ЛС, которые в 90-е гг. XX в. достигли 300-500 млн долл. США.

. Разработка новых методов синтеза Л В, необходимость их тщательной очистки тесно взаимосвязаны с проблемами исследования качества. Большие перспективы в решении этих проблем создает использование комплекса современных физико-химических методов. Применявшиеся ранее химические методы давали лишь ориентировочное представление о наличии тех или иных примесей в ЛВ. Различные хроматографические методы и их сочетание с абсорбционными и другими современными физико-химическими методами позволяют не только идентифицировать, но и количественно определить содержание малых количеств (десятых долей процента) примесей исходных и промежуточных продуктов тонкого органического синтеза. Отраженное в нормативной документации (ФС, ФСП) допустимое содержание примесей устанавливают при проведении доклинических испытаний. Фармакопейный анализ должен подтверждать требования НД к качеству лекарственного средства. От степени чистоты ЛВ во многом зависит терапевтический эффект и наличие побочных явлений.

К вновь создаваемым синтетическим ЛВ предъявляются разносторонние жесткие требования. Как и ЛВ, полученные иными путями, они прежде всего должны обладать более высокой активностью, избирательностью, продолжительностью фармакологического действия по сравнению с уже имеющимися аналогами. Они не должны иметь нежелательных побочных эффектов и токсичности, быть достаточно стабильными при хранении и не содержать недопустимых примесей иных веществ. Эти ЛВ должны иметь достаточно низкую себестоимость и приносить прибыль на фармацевтическом рынке. Только при соблюдении всех указанных требований новое ЛВ будет пользоваться достаточным спросом.