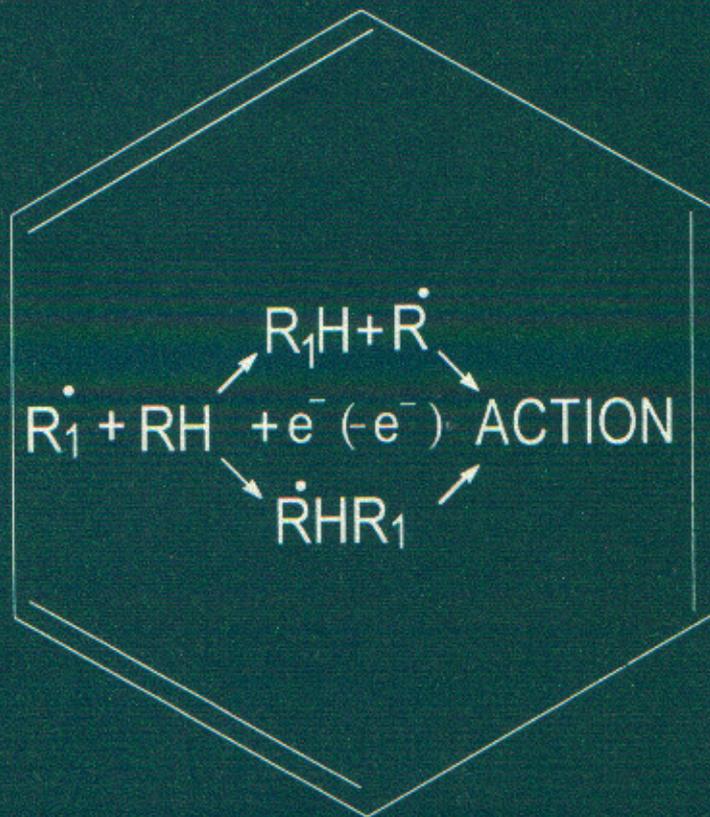


Б. А. Курчий

ЧТО РЕГУЛИРУЮТ РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА

What regulate the growth
regulators ?



Б. А. Курчий

ЧТО РЕГУЛИРУЮТ
РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА

What regulate the growth
regulators ?

Логос • Киев • 1998

ББК 28.072
К93

Б. А. Курчий

Что регулируют регуляторы роста. - Киев: Логос, 1998. -202 с.

В статьях сборника исследуется взаимосвязь между структурой вещества и его биологической активностью. Приведено описание дескрипторов для гербицидов, пестицидов, гормонов, токсинов и лекарств. Изложены общие правила, позволяющие конструировать новые биологически активные вещества с заданными свойствами. Предложена модель для оценки токсичности веществ, которые еще не были испытаны в тестах.

Предназначена для научных работников, химиков-органиков, занятых синтезом новых лекарств и пестицидов, биохимиков, фармакологов и молекулярных биологов.

B. A. Kurchii

What regulate the growth regulators? Logos Publisher, Kiev, 1998.

The paper presented here deals with the relationships between the structure of any chemical and its biological activity. The most important of this is that somehow the actual molecular structure is ultimately responsible for the observed biological effects. In our studies the common structural fragments that were called as functional-reactive groups (descriptors) for plant growth regulators, herbicides, pesticides, hormones and drugs were described. It is found that the presence of an active hydrogen atom or unsaturated function in the molecules is an essential factor determining biological activity of any chemical. From our study it is not need to use computer aided methods including molecular modeling and graphics for prediction of biological activity of chemicals. The results obtained from the study of dependence existing between the structure of a certain substance and its biological activity may be used in the designing of new compounds including: (1) Synthetic analgesic; (2) Synthetic antioxidants; (3) Antiviral and antibacterial substances, etc. Moreover our structure-activity relationship model can be useful for predicting the toxicity of industrial and environmental chemicals.

This book is intended for anyone who study structure-activity relationships to improve designing process of novel bioregulators. Also it will be of interest to biochemistry, agronomy, pharmacology, and to agricultural and medicinal chemists, pharmaceutical chemists, and also molecular biologists.

Copyright © 1998 by B. A. Kurchii

No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic (including Internet) or mechanical, including photocopy, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing form the author.

Любое использование этого издания или его элементов (фрагментов), т.е. копирование, тиражирование, распространение (включая Internet) и т.д. возможно только после предварительного письменного соглашения автора.

ISBN 966-581-101-0

© Б. А. Курчий. 1998.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	7
1. Что регулируют регуляторы роста	8
<i>Б. А. Курчий, Г. Н. Койдан</i>	
2. Механизмы действия регуляторов роста	11
<i>Б. А. Курчий, Г. Н. Койдан</i>	
3. Возможный альтернативный путь образования этилена из четвертичных аммониевых солей	13
<i>Б. А. Курчий</i>	
4. Возможные реакции окисления и образования свободных радикалов этилена	25
<i>Б. А. Курчий</i>	
5. Снижение эндогенного содержания абсцизовой кислоты при ингибирующем действии некоторых природных и синтетических биорегуляторов на рост проростков озимой ржи	34
<i>Б. А. Курчий</i>	
6. On the Possible Antioxidative Mode of Action of Plant Stress Growth Regulator Abscisic Acid	38
<i>В. А. Kurchii</i>	
7. Мембранные аспекты механизма действия биорегуляторов небелковой природы	42
<i>Б. А. Курчий</i>	
8. Функционально-активные группы биорегуляторов	70
<i>Б. А. Курчий</i>	
9. The Summarizing Model of Action of Growth Retardants on Crops to Prevent Lodging	81
<i>В. А. Kurchii</i>	
10. On the Possible Antioxidative Mode of Action of Stress Proteins ...	82
<i>В. А. Kurchii</i>	

11. Хиральность биологических молекул – ферментативное предпочтение химических реакций с меньшей энергией активации	83
<i>Б. А. Курчий</i>	
12. Chemical Structure of Descriptors with an Active Hydrogen Atom in Certain Bioregulators	87
<i>Б. А. Курчий</i>	
13. Using of Descriptors to Design of Novel Drugs and Pesticides, and to Predict the Biological Activity from the Structure of Chemicals which have not been Bioassayed	96
<i>Б. А. Курчий</i>	
14. Lipids as Possible Source of Stress Ethylene Formation and its Mode of Action	176
<i>Б. А. Курчий</i>	
15. Theoretical Investigation of Relationships Between the Chemical Structure of some Blue-Green Algae Metabolites and their Biological Activity	178
<i>Б. А. Курчий, P. D. Klochenko</i>	
Заключения и перспективы	186

Contents

Preface	7
1. What Regulate the Growth Regulators	8
<i>B. A. Kurchii and G. N. Koydan</i>	
2. The Mechanisms of Action of Growth Regulators	11
<i>B. A. Kurchii and G. N. Koydan</i>	
3. Possible Alternative Way of Ethylene Formation from Quaternary Ammonium Salts	13
<i>B. A. Kurchii</i>	
4. Possible Reactions of Ethylene Oxidation and Formation of its Free Radicals	25
<i>B. A. Kurchii</i>	
5. Decreasing of Endogenous Content of Abscisic Acid in the Winter Rye Seedlings Influenced by Some Natural and Synthetic Bioregulators.	34
<i>B. A. Kurchii</i>	
6. On the Possible Antioxidative Mode of Action of Plant Stress Growth Regulator Abscisic Acid	38
<i>B. A. Kurchii</i>	
7. The Membrane Aspects of the Mode of Action of Nonprotein Bioregulators	42
<i>B. A. Kurchii</i>	
8. Functional-reactive Groups of Bioregulators	70
<i>B. A. Kurchii</i>	
9. The Summarizing Model of Action of Growth Retardants on Crops to Prevent Lodging	81
<i>B. A. Kurchii</i>	
10. On the Possible Antioxidative Mode of Action of Stress Proteins ...	82
<i>B. A. Kurchii</i>	

11. Preference in the Metabolism of D- or L-Chiral Molecules is Caused by the Selection of Chemical Reactions with the low Activation Energy.	83
<i>B. A. Kurchii</i>	
12. Chemical Structure of Descriptors with an Active Hydrogen Atom in Certain Bioregulators	87
<i>B. A. Kurchii</i>	
13. Using of Descriptors to Design of Novel Drugs and Pesticides, and to Predict the Biological Activity from the Structure of Chemicals which have not been Bioassayed	96
<i>B. A. Kurchii</i>	
14. Lipids as Possible Source of Stress Ethylene Formation and its Mode of Action	176
<i>B. A. Kurchii</i>	
15. Theoretical Investigation of Relationships Between the Chemical Structure of some Blue-Green Algae Metabolites and their Biological Activity	178
<i>B. A. Kurchii, P. D. Klochenko</i>	
Conclusions and Perspectives	186

ПРЕДИСЛОВИЕ

Рациональное конструирование новых пестицидов и лекарств базируется на данных исследований связи между химической структурой вещества и его биологической активностью. Точное знание такой связи могло бы быть успешно использовано при создании новых веществ специфической биологической активности. Конечно, компьютерные базы данных для создания новых биорегуляторов, получившие распространение не так давно, могут быть использованы, но и они требуют как предварительных тестов, так и последующих лабораторных, клинических или полевых испытаний.

Название этой книги выбрано не случайно. “Что регулируют регуляторы роста” – это не просто обобщение имеющегося фактического материала о биорегуляторах, о достижениях имеющихся в этой области, бурно развивающейся в последние десятилетия. Моей задачей было разобраться в огромной массе информации, выделить общие принципы, которые можно было бы использовать при конструировании новых биологически активных веществ.

В последние годы были достигнуты значительные успехи в конструировании новых биорегуляторов. В клинической практике и сельском хозяйстве внедрены новые препараты, многие из которых по активности значительно превышают действие ранее известных. Разумеется, усилия химиков были бы более значительны, если бы были известны точные молекулярные механизмы действия биологически активных веществ, их специфика в отношении различных клеток и тканей как одного, так и различных организмов.

В предлагаемой читателю книге изложен собственный взгляд автора на данную проблему. Наличие функционально активных групп (дескрипторов) является решающим фактором, определяющим биологическую активность данного вещества. В проявлении биологической активности соединений важная роль принадлежит также конформационному фактору, т.е. относительному расположению заместителей в пространстве, что и определяет возможность контакта или сближения групп (частей) взаимодействующих молекул. По важности этот фактор является вторым после наличия функционально активных групп. Наличие объемных заместителей, так же как и перекрывание заместителями активного атома водорода или ненасыщенных связей, могут сделать вещество мало активным или инертным, несмотря на присутствие функционально активных групп. Характерным примером могут служить стереоизомеры хиральных соединений. Если у этих соединений активный атом водорода экранирован соседними радикалами, и это затрудняет приближение к нему свободных радикалов, то D-аминокислоты и L-моносахара будут менее биологически активны в сравнении с их соответствующими L- и D-изомерами. Этой теме посвящена значительная часть книги. Третьим по значимости фактором является наличие боковых заместителей, которые в сущности и определяют липофильность или гидрофильность данного соединения.

Я не рассматриваю в данной книге такие, получившие распространение в последнее время методы как генная терапия (gene therapy) и высоко эффективный скрининг (high through put screening). Высоко эффективный скрининг, показывая наличие тех или иных функционально активных групп, в конечном итоге, требует подтверждения биотестами. Однако он может быть использован при исследовании веществ с неизвестной химической структурой. Для определения возможной биологической активности соединений с известной структурой, т.е. с известными функционально активными группами и боковыми радикалами, необходимость привлечения этого метода отпадает.

В предлагаемой читателю книге не рассматриваются вопросы конструирования конкретных классов лекарств или пестицидов. Здесь изложены общие принципы, зная которые, специалист может создать вещество с желаемым возможным физиологическим эффектом. Знание функционально активных групп, их типов и боковых заместителей вполне достаточно для успешного конструирования новых биорегуляторов. Все наиболее важные места текстов я попытался проиллюстрировать схемами с изложением взаимосвязи и соотношения происходящих процессов. Надеюсь, что материалы, изложенные здесь, будут полезны биохимикам, фармакологам, агрономам, токсикологам, медикам и биологам в их работе.

Б. Курчий

ЧТО РЕГУЛИРУЮТ РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА *Б. А. Курчий¹, Г. Н. Койдан²¹Институт физиологии растений АН УССР, Киев²Институт органической химии АН УССР, Киев

Любой живой организм в больших или меньших количествах синтезирует вещества, регулирующие его рост. У животных они называются гормонами, у растений – фитогормонами. Гормоны – сложные белковые соединения, фитогормоны относительно просты, о чем свидетельствует их небольшая молекулярная масса – от 28 (этилена) до 346 (гибберелловая кислота).

Возможность с помощью фитогормонов направленно влиять на рост растений, ускорять или тормозить его, увеличивать урожаи зерна, клубней, плодов и ягод всегда казалось привлекательной. Поэтому изучением регуляторов роста занимались многие исследователи; поиск новых веществ и соединений, обладающих этим действием шел непрерывно.

Сейчас известны десятки природных фитогормонов, сотни их синтетических аналогов, тысячи органических соединений, влияющих на физиологическую активность растений. Наконец, регулировать рост можно некоторыми простыми неорганическими соединениями, различными видами излучений – ультрафиолетовым, рентгеновским, а также электрическим и магнитным полями.

В сельском хозяйстве регуляторы роста применяют давно и в огромных количествах. Либо для усиления роста растений (так называемые стимуляторы роста), либо для торможения роста (эти вещества называют ретардантами), либо для полного уничтожения каких-либо растений (это всем известные гербициды).

Стимуляторами роста сейчас обрабатывают цветущие деревья, кустарники и лозы – после этого урожаи яблок, груш, сливы, вишни, винограда и других плодов увеличиваются. Веществами, стимулирующими рост растений – ауксинами, обрабатывают черенки растений, размножающихся вегетативным путем, например, цветов, декоративных растений. В результате этого они лучше приживаются после посадки. Раньше считалось невозможным прививать черенок одного хвойного дерева на другое, сейчас подобран стимулятор роста (β -индолилуксусная кислота), позволяющая проводить подобные операции. Это имеет большое практическое значение: кедр – дерево, дающее ценные орехи, очень привередлив к почвенно-климатическим условиям, выращивать его там, где хотелось бы, не удается, а привив его черенки на деревьях ели и сосны местных популяций, можно получать кедровые шишки практически везде, где растут хвойные деревья.

Дефолианты (вещества, вызывающие опадание листьев) намного облегчают уборку урожая машинами. Например, при уборке хлопка вместе с коробочками срывают и листья. Чтобы не тратить силы на сортировку, посеы перед уборкой обрабатывают дефолиантами. Или другая проблема: у многих продуктивных сортов пшеницы и ржи стебли высокие и тонкие, они часто полегают под тяжестью колосьев из-за дождя и т. п. Если посеы злаков обработать ретардантами, размеры колосьев и вес зерна практически не изменяются, а стебли станут короче и толще, посеы не будут полегать. Еще одна область применения ретардантов – овощеводство и плодоводство. Яблоки или, к примеру, помидоры созревают не одновременно. Раньше приходилось начинать уборку, когда поспевала большая часть урожая, при этом часть оказывалась перезревшей, а часть – недозревшей. Теперь перед уборкой урожая сад или поле обрабатывают гидрелом, кампозаном или хлорхолинхлоридом, в результате плоды созревают одновременно. А посеы, гибнущие из-за засухи, удастся спасти, обработав абсцизовой кислотой: развитие растений приостанавливается и они, находясь в состоянии покоя, доживают до дождя.

О гербицидах сказать что-либо новое трудно, это название давно примелькалось. Гербицидами сплошного действия (уничтожают всю растительность на месте обработки) и избирательного (уничтожают только определенные виды растений) пользуются сейчас повсюду. Объем применения регуляторов роста в сельском хозяйстве постоянно растет. Но сказать, что эти вещества представляют

* Опубликовано в: Курчий Б. А., Койдан Г. Н. (1985) Что регулируют регуляторы роста. Химия и жизнь (Москва) № 2: 36–39.

сейчас только практический интерес, было бы ошибкой. Дело в том, что до сих пор непонятно, что же регулируют регуляторы роста. Рост? Но ведь это самый сложный физиологический процесс, он складывается из множества отдельных реакций, протекающих в клетке; не могут же фитогормоны воздействовать сразу на все.

Сейчас известны фитогормоны пяти типов: ауксины, гиббереллины, цитокинины, этилен и абсцизины. Вещества первых трех типов действуют на растения одинаково: в малых количествах стимулируют рост, в средних тормозят, в больших убивают растение. Точно так же действуют на организмы рентгеновские и другие излучения, электрические и магнитные поля. Абсцизины только тормозят рост растений, причем устраняют действие других регуляторов.

Считается, что фитогормоны должны обладать такими основными признаками: присутствовать в тканях в очень малых концентрациях (от 10^{-10} до 10^{-5} молей на литр); обладать подвижностью, чтобы независимо от места образования попадать в любую часть растения; влиять на проницаемость мембран, включать и регулировать обширные программы жизнедеятельности растения.

Если вещества с различной химической структурой вызывают у растений однотипные ответные реакции, можно предположить, что либо действие их однотипно, либо первичное действие их различно, но образовавшиеся вторичные продукты обладают сходным действием.

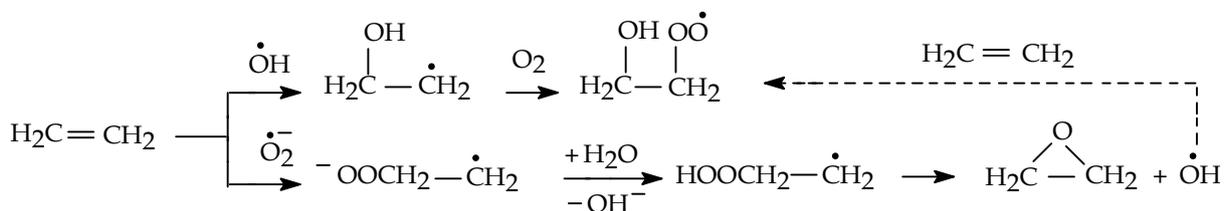
В любом случае все контролируемые организмом процессы обмена веществ осуществляются через клеточные мембраны. Это сложные самоорганизующиеся системы, состоящие из двух слоев подвижных молекул липидов, включающих фрагменты полиненасыщенных карбоновых кислот. Мембраны изнутри и снаружи облеплены и пронизаны белковыми структурами с функциями датчиков, клапанов, помп или фильтров. Согласованные биохимические и электрические процессы этих живых устройств объединены общим понятием – “полупроницаемость мембран”.

По нашему предположению, все регуляторы роста влияют на образование в клетках растений свободных радикалов, которые инициируют цепные реакции окисления полиненасыщенных карбоновых кислот, входящих в состав липидов мембранных структур.

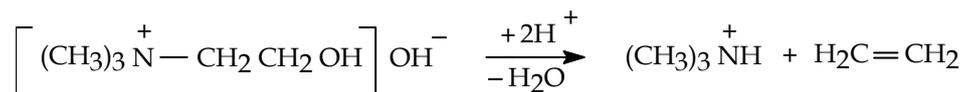
Современным представлением биологии это не противоречит. Теория цепных процессов свободнорадикального окисления в среде тканевых липидов живых организмов была создана (в нашей стране) еще в пятидесятых годах Б. Н. Тарусовым и Н. М. Эмануэлем. Правда, эксперименты велись с клетками животных.

На аналогичных растительных образцах этот процесс удается наблюдать далеко не всегда, сказываются существенные отличия клеток. Например, растения в отличие от животных приспособлены к фотосинтезу; в их тканях относительно много фенольных соединений; химический состав и свойства самих липидов отличаются. Все же публикации последних лет свидетельствуют, что открытые закономерности распространяются и на растения. Сейчас считается, что свободнорадикальное окисление непрерывно протекает во всех тканях живых организмов, а свободнорадикальные процессы определенной интенсивности – один из типов нормальных метаболических процессов.

Косвенное доказательство справедливости гипотезы – то, что при многократном сравнении скорости изменения роста растений под действием обычного этилена (C_2H_4) и этилена с тяжелым изотопом водорода (C_2D_4) оказывалось, что действие их одинаково – растения развивались с одинаковой скоростью. До сих пор удовлетворительного объяснения этому не было. Если же допустить, что под действием регуляторов роста (и этилена в том числе) в растениях происходят не обычные ионные реакции, а свободнорадикальные, то все вполне объяснимо: эти химические реакции в отличие от всех прочих протекают со скоростью, не зависящей от изотопного состава веществ.



При основных биохимических процессах в клетке возникают крайне активные частицы: гидроксил радикал ($\text{OH}\cdot$), супероксидный анион радикал ($\text{O}_2\cdot^-$) и синглетный кислород (O^\cdot). Несмотря на короткое время их жизни, молекула этилена вступает с ними во взаимодействие, образуя алкильные радикалы. Соединяясь с кислородом, они дают умеренно активные пероксильные радикалы – специфические инициаторы свободнорадикального окисления липидов.



Так в растениях из холина клеточных мембран образуется простейший фитогормон – этилен.

Конечно, не все свободные радикалы могут быть регуляторами роста. Эту функцию могут выполнять лишь те из них, активность которых не слишком велика или мала, то есть те, что успевают прореагировать только с полиненасыщенными карбоновыми кислотами липидов клеточных мембран.

Тем не менее источников свободных радикалов много; если рост растений зависит только от них, то почему липиды клеточных мембран не окисляются полностью до гибели организма?

Развитие цепных реакций перекисного окисления липидов клеток в нормальном состоянии регулируется веществами противоположного действия – антиоксидантами (антиокислителями), которые тормозят перекисное окисление и нейтрализуют свободные радикалы в клетке.

Важнейшим антиоксидантом, пожалуй, можно считать абсцизовую кислоту, давшую название одному из типов регуляторов роста – абсцидинам. Это вещество хорошо растворяется в воде и липидах, а следовательно, может быстро проникать в любое место растительного организма.

Механизм действия регуляторов роста представляется следующим. При нормальном росте растений происходит ферментативное и неферментативное перекисное окисление полиненасыщенных карбоновых кислот липидов клеточных мембран. При искусственном увеличении уровня свободных радикалов скорость перекисного окисления липидов возрастает, а концентрация антиоксидантов снижается. Это ведет к изменению физико-химических свойств мембран, увеличению их проницаемости, а следовательно, к интенсификации процессов внутриклеточного синтеза. Клетки начинают расти и делиться быстрее. Такое действие характерно для стимуляторов роста.

При дальнейшем возрастании количества свободных радикалов концентрация антиоксидантов снижается настолько, что липиды окисляются. Из-за этого структура мембран меняется, она теряет главное свое свойство – полупроницаемость. Это становится причиной истощения энергетических запасов клетки, в результате прекращается синтез нуклеиновых кислот, деление и рост клеток. Такое действие характерно для ретардантов.

При полном израсходовании антиоксидантов на нейтрализацию свободных радикалов наступает дисбаланс метаболических процессов и в конечном итоге гибель отдельных клеток, а затем и всего организма. Такое действие характерно для гербицидов.

Торможение внутриклеточных процессов и остановка роста могут происходить и по другой причине – из-за превышения в растении оптимальной концентрации антиоксидантов. Это можно наблюдать в природе: известно, например, что во второй половине лета, когда рост растений замедляется, в них увеличивается количество абсцизовой кислоты и веществ полифенольного типа.

Таким образом, на вопрос, что регулируют регуляторы роста, можно, видимо, ответить: они регулируют цепные реакции окисления полиненасыщенных карбоновых кислот липидов мембран.

SUMMARY

Kurchii BA, Koydan GN (1985) What regulate the growth regulators? *Khimiya i Zhizn (Chemistry and Life, Moscow)* **2**: 36–39 (In Russian).

The relationships between the chemical structure and biological activity of several herbicides, pesticides and natural plant and animal growth regulators were described. It is proposed that biologically active substances regulate first of all the oxidation of unsaturated fatty acids of membraneous lipids.

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА *

Б. А. Курчий¹, Г. Н. Койдан²¹Институт физиологии растений АН УССР, Киев²Институт органической химии АН УССР, Киев

Первостепенное условие существования живых клеток – избирательная проницаемость биологических мембран. Это свойство мембран определяется их строением. Биологические мембраны состоят из трех слоев: двух белковых и расположенного между ними липидного. Липиды, состоящие из полиненасыщенных карбоновых кислот, легко подвергаются окислению – в результате проницаемость мембран и активность связанных с ними ферментов резко изменяются, что сразу сказывается на жизнедеятельности клеток, вызывая усиление синтеза или распада биополимеров, ингибирование или стимулирование роста.

Основная причина перекисного окисления ненасыщенных карбоновых кислот в мембранах – образование в клетках свободных радикалов. По нашему мнению, все биорегуляторы небелковой природы и представляют собой вещества, способные в живых клетках (под действием кислорода, ферментов или других факторов) превращаться в свободные радикалы либо антиоксиданты, нейтрализующие действие радикалов.

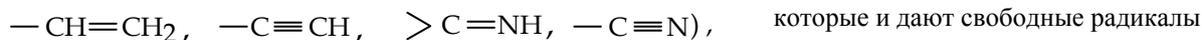
К биорегуляторам первого типа можно отнести:

во-первых, вещества, легко распадающиеся в клетке с образованием свободных радикалов (например



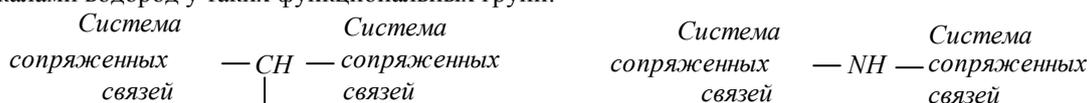
а также галогениды, например хлориды;

во-вторых, вещества, содержащие концевые ненасыщенные группы (например,

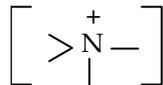


перекисного типа; к этой категории веществ относится, в частности, этилен;

в-третьих, вещества, содержащие легко отщепляемый ферментами или другими свободными радикалами водород у таких функциональных групп:

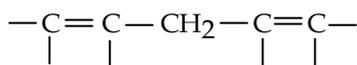


а также вещества, содержащие четвертичный атом азота в гетероцикле

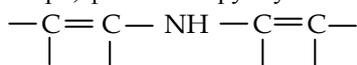


Введение же в молекулы электроноакцепторных заместителей (галогенов или NO_2) резко увеличивает радикалообразующую способность биорегуляторов.

Различные по структуре биорегуляторы могут иметь одинаковые функциональные группы, дающие свободные радикалы, чем и объясняется сходство их действия. Например, ауксины, гиббереллины, саркомицин, димедрол, гиосциамин, полиненасыщенные карбоновые кислоты имеют в своем составе группу

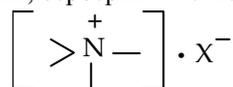


производные мочевины, фталазол, диакарб, фенасал – группу

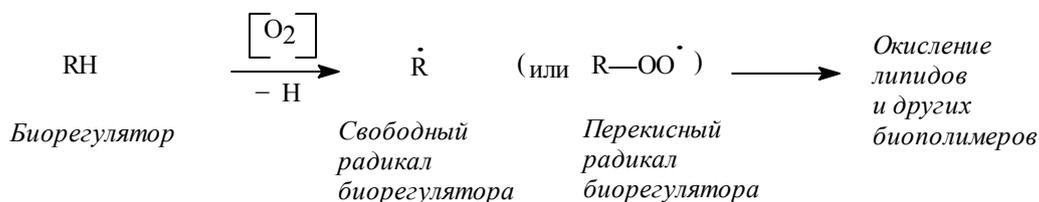


* Опубликовано в: Курчий Б. А., Койдан Г. Н. (1985) Что регулируют регуляторы роста. Химия и жизнь (Москва) № 10: 68–69.

дикват, бриллиантовый зеленый, прозерпин, берберин – четвертичный атом азота:



Свободнорадикальные процессы в клетке не ограничиваются только окислением мембранных липидов и при больших концентрациях радикалов распространяются на другие полимеры, в том числе нуклеиновые кислоты и белки. В общем виде первичный механизм действия биорегуляторов можно представить себе так:



Противоположное действие оказывают биорегуляторы второго типа, которые представляют собой антиоксиданты – вещества, легко отдающие два атома водорода, не превращаясь при этом в свободные радикалы. К ним относятся, например, гидрохиноны.

Следует отметить, что свободнорадикальные механизмы регуляции ростовых процессов, по-видимому, носят общебиологический характер и могут быть вызваны и у животных, и у растений как химическими веществами (источники свободных радикалов), так и физическими воздействиями (светом, радиацией, магнитным полем и т.д.), которые также индуцируют образование биологически активных свободных радикалов.

SUMMARY

Kurchii BA, Koydan GN (1985) The mechanisms of action of growth regulators. *Khimiya i Zhizn* (Chemistry and Life, Moscow) **10**: 68–69 (In Russian).

The functional reactive groups of bioregulators that have an active hydrogen atoms and the separate unsaturated bonds are described. The primary free radical mechanisms of action of physical and chemical factors on the living organisms are schematically presented. It is proposed that the chemical and physical factors initiate free radical formation and lipid peroxidation of the essential cellular substances.

ВОЗМОЖНЫЙ АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПУТЬ ОБРАЗОВАНИЯ ЭТИЛЕНА ИЗ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ *

Б. А. Курчий

Институт физиологии растений и генетики АН УССР, ул. Васильковская 31/17, Киев

ВВЕДЕНИЕ

Механизм синтеза этилена *in vivo*, который может осуществляться как ферментативным, так и неферментативным путями, изложен в ряде обзоров [10, 17]. Однако разложение этиленпродуктов в зависимости от рН среды, ее буферности и природы буферной смеси исследованы недостаточно. Известно, что в водных растворах фосфоновая кислота устойчива при рН ниже 2.5, а при его повышении распадается с выделением этилена [14, 15]. Существует зависимость между количеством выделенного этилена и величиной рН среды [14]. Интенсивность образования этилена также определяется буферностью среды: из не забуференного раствора этилен выделяется быстрее, чем из забуференного [14, 15]. В работе Ракитина с соавт. [9] показано, что, если количество выделяемого этилена при рН 2.83 из 2-хлорэтилфосфоновой кислоты (ХЭФК) принять за единицу, то при рН 7.85 его выделялось в 1295 раз больше.

Зависимостью распада ХЭФК от рН среды в цитоплазме клеток растений, по-видимому, и можно объяснить ее физиологический эффект. Такое предположение следует из опытов с *Bryophyllum cruetrum* [20]. Эти растения, выращенные на длинном дне в течение 10 дней, имели рН клеточного сока 4.6, а выращенные на коротком – 4.0. Обработанные затем одинаковой дозой этрела, ткани *Bryophyllum* длинного дня выделяли значительно больше этилена, чем ткани *Bryophyllum* короткого дня. Таким образом, величина рН клеточного сока, влияя на скорость распада ХЭФК, определяет выраженность физиологического действия данного регулятора роста. Влияние рН среды на образование этилена исследовано также *in vivo* [16], где авторы наблюдали увеличение выделения этилена изолированными вакуолями листьев вики при увеличении рН от 5 до 8.

В связи с вышеизложенным в предлагаемой работе изучена динамика выделения этилена *in vitro* различными этиленпродуктами в зависимости от рН раствора и природы буферной смеси.

Методика

В работе использовали: чистую ХЭФК, кампозан М, дигидрел, хлористый холин, 2-хлорэтилтриметиламмоний хлорид (ССС) и холин. Буферные растворы готовили по общепринятой методике. Этилен определяли на газовом хроматографе “Хроматограф-504”. Колонка длиной 1 м заполнялась Порапаком-Т, температура колонки – 70 °С, температура детектора – 100 °С, температура испарителя – 150 °С. Расход водорода – 40 мл/мин, азота – 40 мл/мин и воздуха – 300 мл/мин.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что существует прямая зависимость разложения изученных веществ от величины рН раствора, тогда как природа буферной смеси (табл. 1) на эти процессы не влияла. Выделение этилена резко увеличивалось в щелочной среде. Выделение этилена из СССР было также значительно меньшим, чем из кампозана М. Таким образом, кроме хорошо известного этиленпродукта ХЭФК, нами установлено выделение этилена четвертичными аммониевыми основаниями (ССС, хлористый холин и холин).

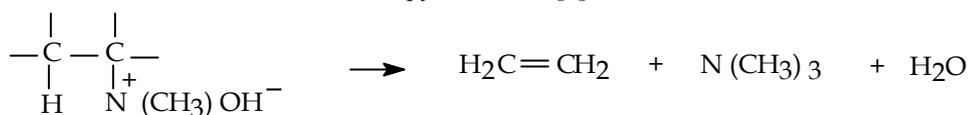
* Опубликовано в: **Курчий Б. А.** (1990) Возможный альтернативный путь образования этилена из четвертичных аммониевых солей. Препринт Института физиологии растений и генетики АН УССР № 9Р, с. 1–19, а также **Курчий Б. А.** (1991) Образование этилена из четвертичных аммониевых солей в реакции расщепления по Гофману. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) **23**:17–23.

Таблица 1. Динамика выделения этилена (в усл. ед. измерения) из различных веществ в зависимости от pH среды

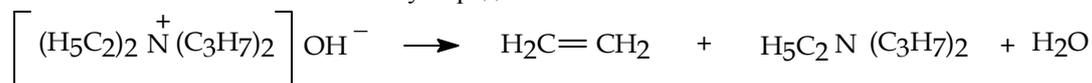
Варианты опыта	0,1 М NaOH	0,1 М фосфатный буфер, pH			0,1 М Na-ацетатный буфер, pH		0,1 М цитратный буфер, pH		0,1 М трис-HCl буфер, pH
		5,8	6,8	8,0	4,6	5,8	4,6	6,2	
ХЭФК	$\frac{70}{100}$	$\frac{4}{5}$	$\frac{6}{8}$	$\frac{50}{90}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{4}{5}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{5}{7}$	$\frac{60}{95}$
Дигидрел	$\frac{40}{46}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{3}{5}$	$\frac{15}{40}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{2}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{20}{44}$
Кампозан М	$\frac{35}{42}$	$\frac{2}{4}$	$\frac{3}{5}$	$\frac{10}{40}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{2}{4}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{20}{40}$
Холинхлорид	$\frac{20}{25}$	$\frac{0,3}{0,6}$	$\frac{0,5}{0,9}$	$\frac{2}{8}$	$\frac{0,1}{0,4}$	$\frac{0,2}{0,6}$	$\frac{0,1}{0,3}$	$\frac{0,2}{0,5}$	$\frac{5}{12}$
ССС	$\frac{8}{15}$	$\frac{0,2}{0,5}$	$\frac{0,3}{0,7}$	$\frac{0,6}{2}$	$\frac{0,1}{0,3}$	$\frac{0,2}{0,4}$	$\frac{0,1}{0,2}$	$\frac{0,2}{0,4}$	$\frac{1}{4}$
Холин	$\frac{25}{40}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{2}{4}$	$\frac{8}{40}$	$\frac{0,5}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{0,5}{1}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{10}{40}$

Примечание. Данные над чертой – количество этилена, выделенное через 4 ч, под чертой – то же через 24 ч после добавления к препаратам воды. Препараты брали из расчета 0,1 г по действующему веществу на 10 г раствора.

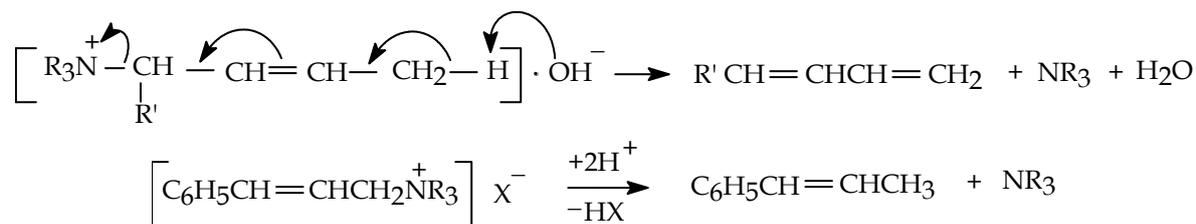
Разложение четвертичных аммониевых солей с образованием олефина (этилена) известно под названием правила Гофмана (исчерпывающее метилирование по Гофману (Hofmann A.W.), которое можно выразить следующим образом: “В реакциях отщепления аммониевые соединения ведут себя так, что β -водородный атом отщепляется наиболее легко, если он находится в CH_3 -группе, далее в группе RCH_2 и наименее легко, если он находится в группе R_2CH [6]:



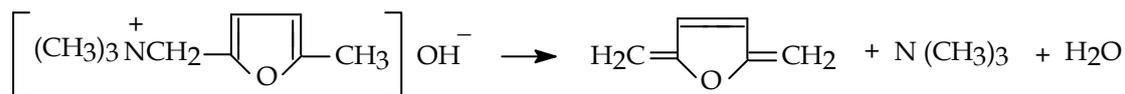
Если атом азота связан с различными алкильными заместителями, то олефин (этилен) образуется из радикала с наименьшим числом атомов углерода:



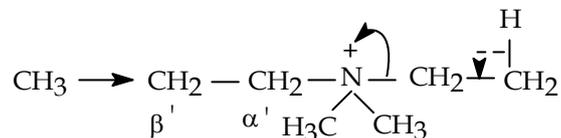
При наличии кратной связи в β, γ -положении отщепляется δ -атом водорода и происходит 1,4-элиминирование:



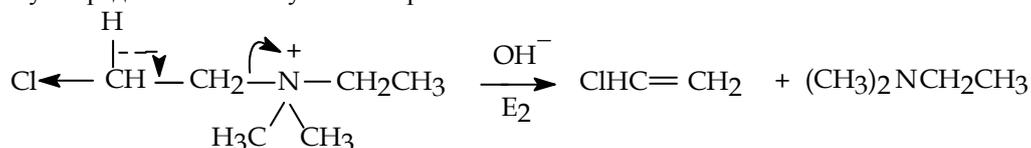
Наличие двух сопряженных связей в β, δ -положении приводит к 1,6-элиминированию с образованием триена:



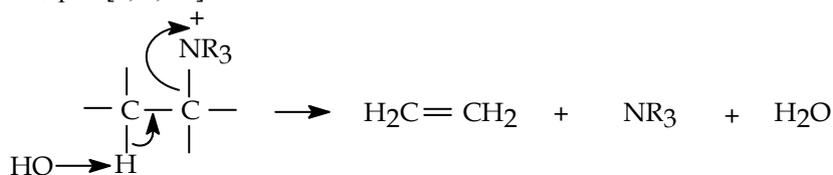
Если в n -пропильной группе β -метильный заместитель является электроноотталкивающим и, следовательно, препятствует влиянию азота, то эта группа остается связанной с азотом, а отщепляется этильная группа [12]:



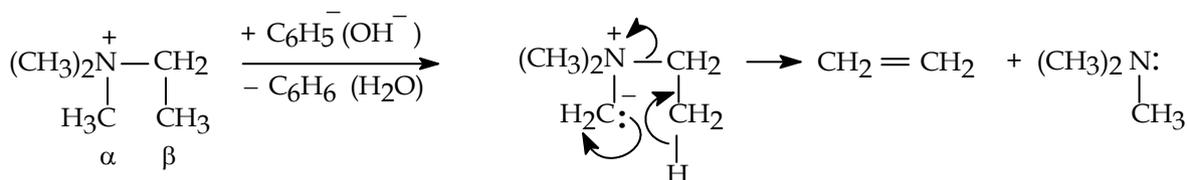
Гофмановское отщепление – реакция бимолекулярна и относится к типу E_2 [6, 12]. На образование олефина значительно влияние оказывают заместители в углеводородной цепи. Так, если β' -заместитель является электронопритягивающим, например, галоидом, то он усиливает влияние азотного полюса и способствует предпочтительному элиминированию:



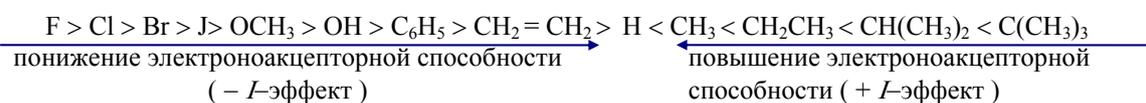
Если β -заместитель водород, то атака слабого основания OH^- осуществляется на этот самый легко протонируемый водород [4, 6, 12]:



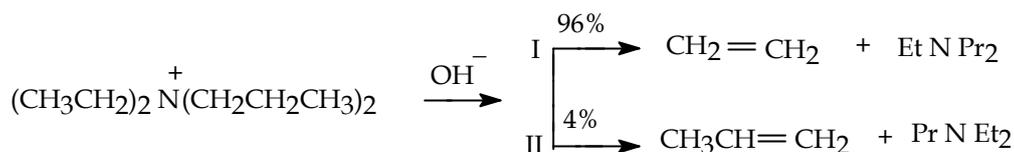
При этом основание сначала отрывает протон от метильной группы (α') и β -элимирование протекает через квазициклическое переходное состояние с восстановлением строения метильной группы:



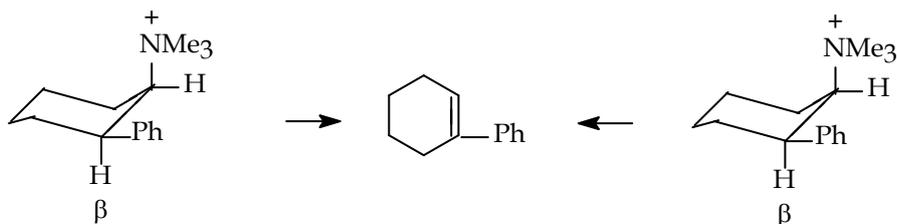
Выше было отмечено, что на расщепление четвертичных аммониевых солей сильное влияние оказывают индукционные эффекты заместителей, которые могут быть представлены следующим рядом [3, 4, 6, 12]:



Заместители при β -углеродном атоме, способные к сопряжению, а также конформационные факторы влияют на регио- и стереоспецифичность элиминирования [7]:



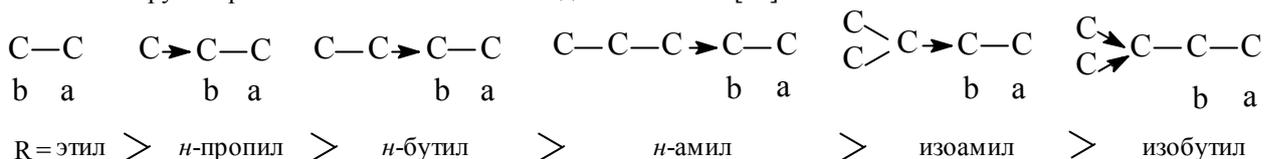
Наличие фенильной группы придает β -водородному атому более кислый характер и способствует образованию более устойчивой двойной связи в образующемся веществе:



По относительной легкости образования олефинов, определенной при изучении кинетики

ионов типов $RS^+(CH_3)_2$, $RN^+(CH_3)_3$,

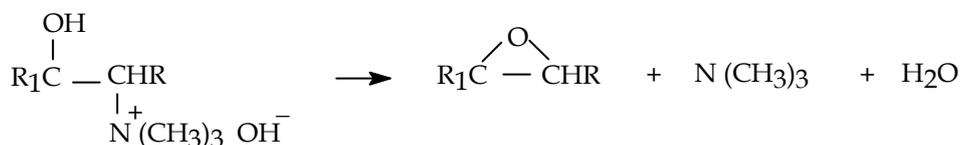
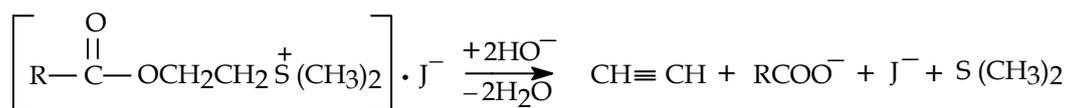
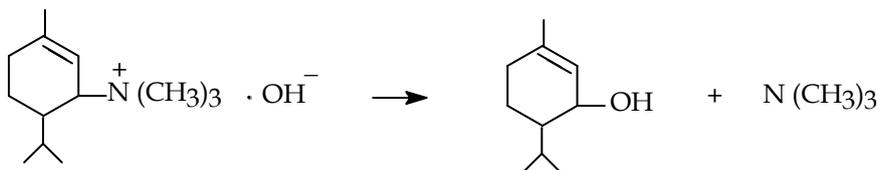
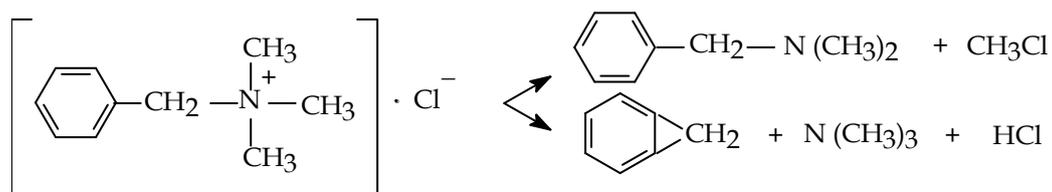
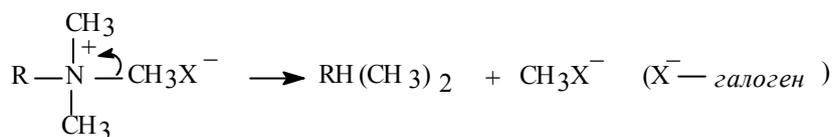
алкильные группы располагаются в такой последовательности [12]:

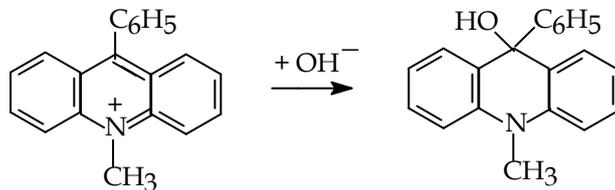
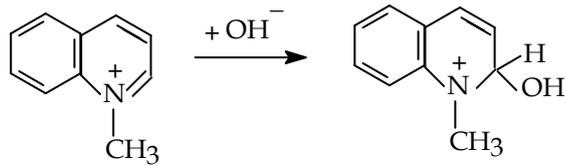


Таким образом, наиболее трудно образуется этилен из изобутильного радикала. Различные биорегуляторы, которые могут образовывать *in vivo* олефины, согласно правилу Гофмана, приведены в таблице 2.

Индуктивный эффект прослеживается еще и для γ -углеродного атома, тогда как первый и второй δ -углеродные атомы оказывают слабый эффект. Однако первичный эффект не ослабляется. Так, введение третьего δ -углеродного атома (неогексильная группа) оказывает более сильный эффект, чем два δ -углеродных атома (изоамильная группа) [3] на образование этилена (табл. 3).

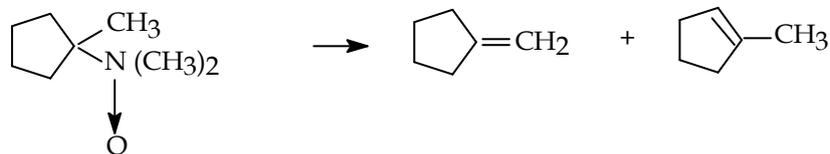
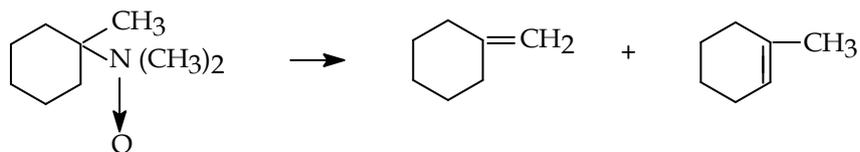
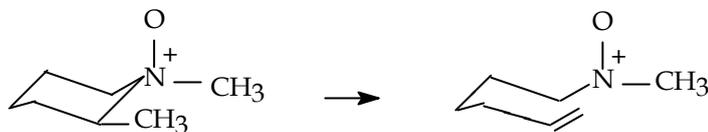
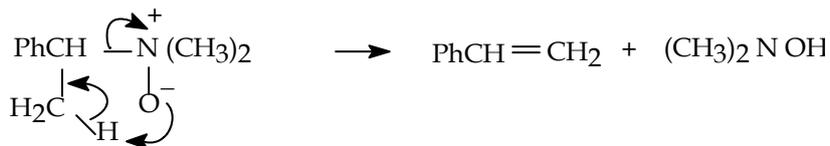
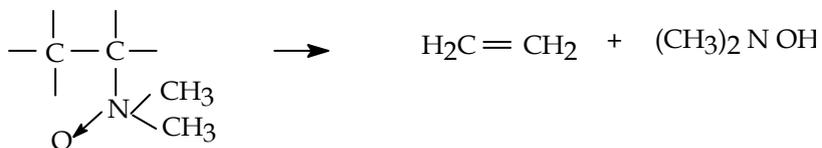
Следует отметить, что когда имеются факторы, препятствующие атаке по β -водородному атому, или, когда подлежащие отщеплению группы с большим трудом занимают копланарное расположение, олефин может и не образоваться [4, 6, 8, 12]:





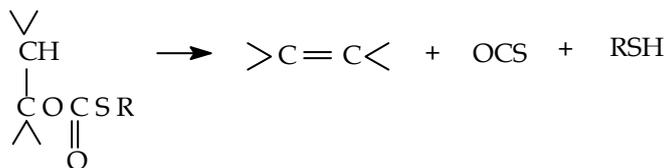
Образование олефинов возможно также и в следующих реакциях [4, 6, 12]:

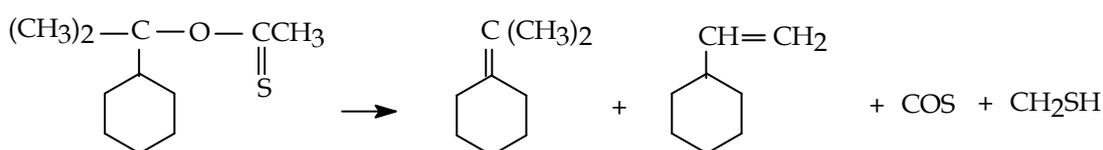
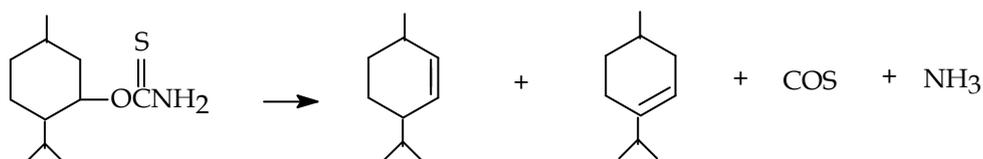
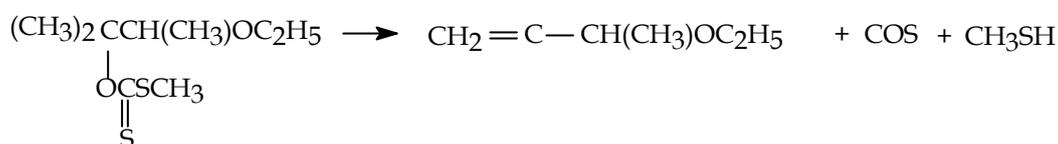
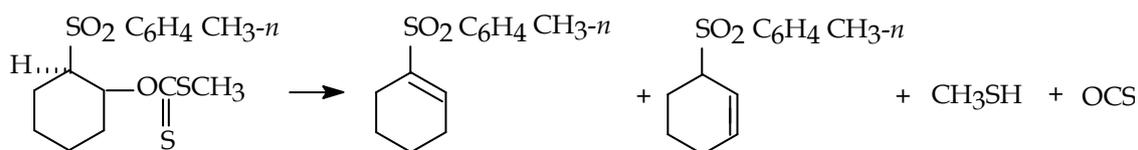
а) элиминирования N-оксидов



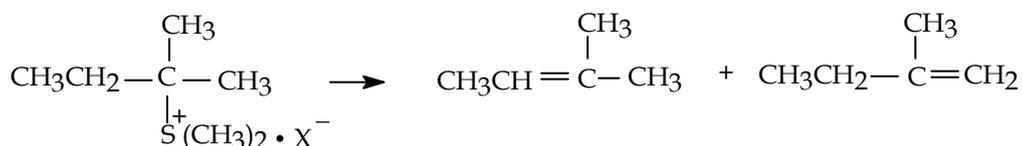
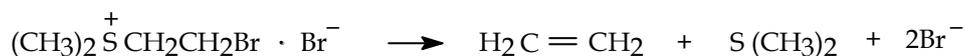
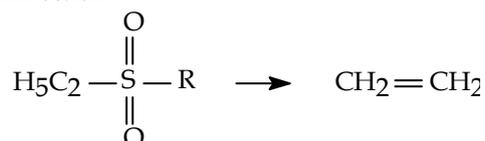
б) дезаминирования (табл. 4);

в) Чугуева:

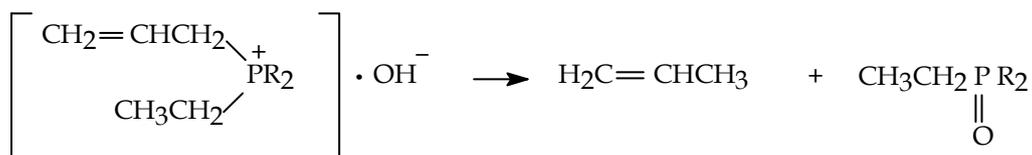




г) элиминирования сульфониевых солей



д) элиминирования фосфониевых соединений



е) бимолекулярного отщепления от этилатов



Биологическое действие CCC хорошо изучено. Показано, что его активность обусловлена наличием триметиламмония, так как замещение хотя бы одной метильной групп на любой другой радикал приводит к резкому снижению биологической активности [18]. Замещение атома азота на атом фосфора или мышьяка [1, 21] приводит к потере или резкому снижению биологической активности. Так,

Таблица 2. Биорегуляторы, возможный первичный механизм действия которых, обусловлен образованием олефинов (этилена)

Биорегуляторы	Предполагаемый олефин
	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$
	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$

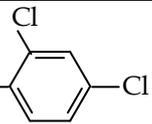
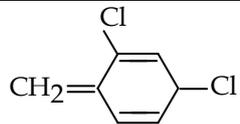
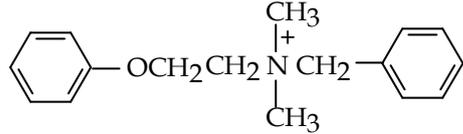
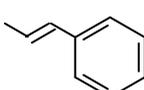
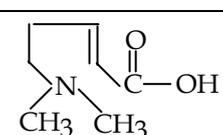
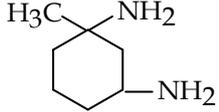
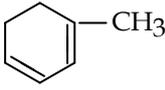
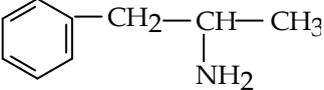
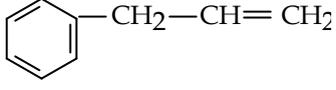
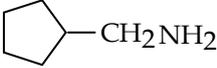
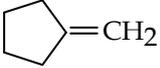
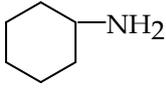
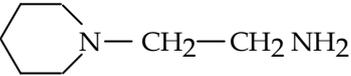
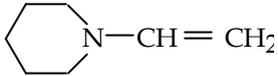
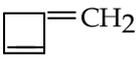
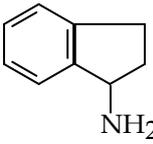
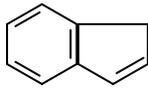
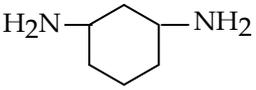
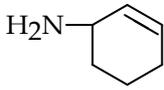
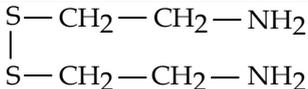
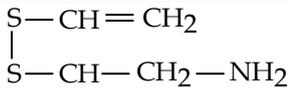
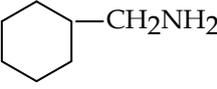
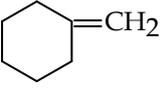
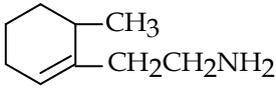
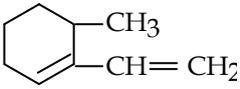
Биорегуляторы	Предполагаемый олефин
$\left[(\text{CH}_3)_3 \text{As}^+ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} \right] \cdot \text{OH}^-$	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$
$(\text{H}_9\text{C}_4)_3 \text{P}^+ \text{CH}_2$ — 	
	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$
$\text{H}_2\text{N}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{Br}^-$	$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}_2$
$(\text{CH}_3)_3 \text{N}^+$ —  · J^-	
$\left[(\text{CH}_3)_3 \text{P}^+ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} \right] \cdot \text{OH}^-$	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$
$\left[\text{N}^+(\text{CH}_3)_2 \text{CH}_2 \text{COO} \text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \right] \cdot 2\text{J}^-$	$\text{CH}_2=\text{CH}_2$ + 

Таблица 3. Выход (%) олефинов из гидроокисей тетраалкиламмония [3]

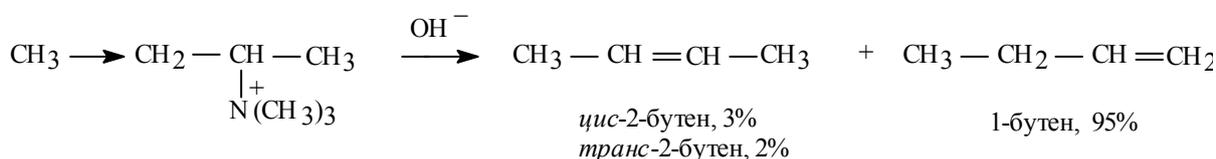
Алкильная группа в R_4N^+	Алкильная цепь после C_β		Количество олефина	
	δ_γ	δ_γ	Низший	Высший
$(\text{C}_2\text{H}_5)_2, (\text{n}-\text{C}_3\text{H}_7)_2$	δ_γ	$\text{C}-$	96	4
$(\text{n}-\text{C}_3\text{H}_7)_2, (\text{n}-\text{C}_4\text{H}_9)_2$	$\text{C}-$	$\text{C}-\text{C}-$	62	38
$(\text{n}-\text{C}_3\text{H}_7), (\text{n}-\text{C}_4\text{H}_9)_3$	$\text{C}-$	$\text{C}-\text{C}-$	83	17
$(\text{n}-\text{C}_3\text{H}_7)_3, \text{n}-\text{C}_4\text{H}_9$	$\text{C}-$	$\text{C}-\text{C}-$	36	64
$(\text{n}-\text{C}_4\text{H}_9)_2, (\text{изо}-\text{C}_5\text{H}_{11})_2$	$\text{C}-\text{C}-$	$\begin{matrix} \text{C} \\ \text{C} \end{matrix} > \text{C}-$	67	33
$\text{n}-\text{C}_4\text{H}_9, \text{изо}-\text{C}_5\text{H}_{11}, (\text{CH}_3)_2$	$\text{C}-\text{C}-$	$\begin{matrix} \text{C} \\ \text{C} \end{matrix} > \text{C}-$	66	34
$\text{изо}-\text{C}_5\text{H}_{11}, (\text{CH}_3)_2, \text{нео}-\text{C}_6\text{H}_{13}$	$\begin{matrix} \text{C} \\ \text{C} \end{matrix} > \text{C}-$	$\begin{matrix} \text{C} \\ \text{C} \end{matrix} > \text{C}-$	91	9

Таблица 4. Биорегуляторы амины, возможный первичный механизм действия которых обусловлен образованием *in vivo* олефинов

Амин	Предполагаемый олефин
$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_3$	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$
$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$ + $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$
	
	
	
	
	
$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$
	
	
	
	
	
	
	

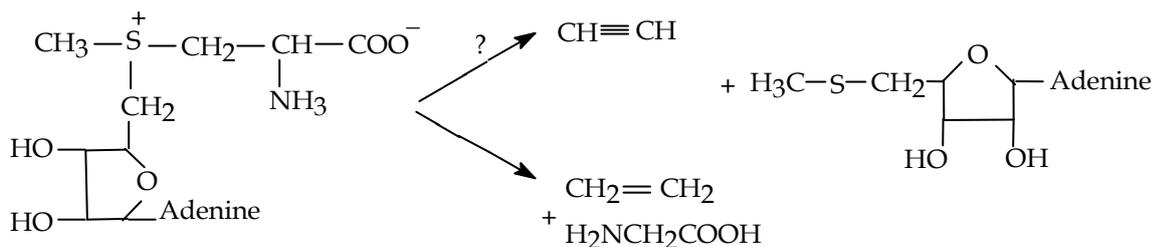
например, активность фосфохолина и арсенохолина составляла соответственно 77% и 3,5% активности холина [1]. Такая же закономерность характерна и для ацетилпроизводных холина: активность ацетилфосфохолина равнялась 8%, а ацетиларсенохолина – 1% активности ацетилхолина [1]. Замена углерода цепи с хлорэтила на хлорпропил снижала активность препаратов. Соединения 2-хлорэтилтрибутиламмоний хлорид и 2-хлорэтилтриэтиламмоний хлорид полностью неактивны на проростках пшеницы [19], диметил-2-хлорэтилсульфоний почти в 3 раза менее активен, чем ССС [7]. Таким образом, теоретические предсказания хорошо согласуются с практикой. Следует подчеркнуть, что *in vitro* под воздействием щелочи при разложении ССС этилен образуется в небольшом количестве. Однако *in vivo*, где метаболизация ССС идет через образование холина, разложение последнего происходит с выделением этилена. Следовательно биологическое действие ССС, по-видимому, обусловлено образованием этилена. Однако подтвердить *in vivo* это предположение мы не можем ввиду отсутствия меченого (по С или Н в этильной группе) ССС.

Отметим также, что замещение в ряде регуляторов роста двухуглеродной цепочки на более длинную может приводить к образованию соответствующего олефина вместо этилена. Например, хорошо изученная реакция отщепления изобутилового радикала с образованием бетенов, происходит по этому пути [4, 6].



Биологическая активность этих олефинов по сравнению с этиленом, как показано в работе Бург и Бург [13] значительно ниже. Снижение биологической активности этих соединений, возможно, также обусловлено большими молекулярными размерами.

Таким образом, эндогенным кандидатом на образование этилена в клетках по неферментативному пути, особенно в стрессовых состояниях, могут быть легко окисляемые производные холина, а также S-аденозилметионин. Последний может разлагаться с образованием этилена, минуя стадию 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты:



О влиянии ССС на образование этилена сообщила Романовская с соавт. [11]. Авторами обнаружено увеличение выделения этилена под влиянием ССС только в начальный период после обработки проростков озимой пшеницы и фасоли. Однако эти данные, как нам представляется, не отрицают принципиальную возможность образования этилена из ССС. Дело в том, что ССС в растениях разлагается примерно через два месяца [2]. Промежуточная стадия метаболизации ССС – образование холина. ХЭФК, в отличие от ССС, метаболизируется примерно в течение месяца [5]. Более медленным разложением (ровно как и образованием этилена) ССС, можно, по-видимому, и объяснить его более слабое биологическое действие по сравнению с эквивалентным количеством ХЭФК. В заключение приводим схему (рисунок) взаимной зависимости выделения этилена и действия стрессов (физических и химических):

СТРЕСС:



Рисунок. Механизм образования этилена и его участие в эндогенной регуляции метаболических процессов в стрессовых состояниях.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Jenkins GL, Hartung WH** (1945) The chemistry of organic medicinal products. John Wiley and Sons, Inc. and Chapman and Hall Ltd., London – New York
2. **Zadoncev A, Pikus GR, Grinchenko AL** (1977) Chlorocholinochlorid in der pflanzenproduction. Veb Deutscher Landwirtschaftsverlag Publ., Berlin
3. **Ingold CK** (1969) Structure and mechanism in organic chemistry. Cornell Univ Press, Ithaca – London
4. **Cram DJ, Hammond GS** (1964) Organic chemistry. McGraw-Hill Book Company. New York – Toronto – London
5. **Крейцберг ОЭ, Романовская ОИ, Павулия ДА и др** (1982) Определение и динамика содержания остаточных количеств 2-хлорэтилфосфоновой кислоты в растениях озимой ржи. Агрехимия (Москва) **№ 3**: 119–123
6. **Cope AK**, ed. (1960) Organic reactions. Volume 11. John Wiley and Sons, Inc. New York – London
7. **Мельников НН, Тутурин НИ** (1975) Синтетические регуляторы роста растений. Химия в сельском хозяйстве (Москва) **№ 11**: 41–48
8. **Nenitescu CD** (1960) Chimie organica. Editura Technica, Bucuresti
9. **Ракитин ЮВ, Ракитин ВЮ** (1979) Природа действия 2-хлорэтилфосфоновой кислоты и других этиленвыделяющих регуляторов роста и развития растений. Агрехимия (Москва) **№ 5**: 126–149
10. **Романовская ОИ** (1985) Биосинтез этилена и его гормональная регуляция. Известия АН Латвийской ССР (Рига) **№ 3**: 82–92
11. **Романовская ОИ, Ильин ВВ, Крейцберг ОЭ** (1988) Биосинтез этилена при торможении роста озимой пшеницы и фасоли хлорхолинхлоридом. Физиология растений (Москва) **35**: 893–898
12. **Fiser F, Fiser M** (1964) Advanced organic chemistry. Reinold Publishing Corporation and Chapman and Hill Ltd., New York – London
13. **Burg SP, Burg SE** (1967) Molecular requirement for the biological activity of ethylene. Plant Physiol **42**: 144–152
14. **Cooks AR, Rondall DJ** (1968) 2-Haloethanophosphonic acid as ethylene releasing agent for the induction of flowering in pine apples. Nature **218**: 974–975
15. **Edgerton LJ, Blanpied GD** (1968) Regulation of growth and fruit maturation with 2-chloroethylphosphonic acid. Nature **219**: 1064–1065
16. **Mayne RG, Kende H** (1986) Ethylene biosynthesis in isolated vacuoles of *Vicia faba* L. – requirement for membrane integrity. Planta **167**: 159–165
17. **McKeon TA, Yang SF** (1988) Biosynthesis and metabolism of ethylene. In PG Davies, ed, Plant hormones and their role in plant growth and development. Kluger Academic Publisher, Dordrecht – Boston – London, pp 94–112
18. **Tanaka K, Tolbert NE** (1966) Effect of cycocel derivatives and gibberellin on choline kinase and choline metabolism. Plant Physiol **41**: 313–318
19. **Tolbert NE** (1960) 2-chloroethyltrimethylammonium chloride and related compounds as plant growth substances, I Chemical structure and bioassay. J Biol Chem **235**: 475–479
20. **Warner HL, Leopold AC** (1969) Ethylene evolution from 2-chloroethylphosphonic acid. Plant Physiol **44**: 156–158
21. **Zeech B, Konig KH, Jung J** (1974) Development of new plant growth regulators with biological activity related to CCC. Kemia – Kemi **1**: 621–623

SUMMARY

Kurchii BA (1990) Possible alternative way of ethylene formation from quaternary ammonium salts. In The Preprint of the Institute of Plant Physiology and Genetics (Kiev), N9R, pp 1–19 (In Russian).

The possible alternative mechanism of ethylene formation from quaternary ammonium salts in the Gofmann's splitting reaction is proposed. Decomposition dynamic of 2-chloroethylsulphonic acid (ethephon), dihydrel (ethylene releasing factor), camposan M (ethylene releasing factor), chloric choline, 2-chloroethyltrimethylammonium chloride (CCC), and choline in water solution has been studied. It was found that the rate of decomposition of these substances with elimination of ethylene depends on the buffer mixture and does not depend on nature of the latter.

ВОЗМОЖНЫЕ РЕАКЦИИ ОКИСЛЕНИЯ И ОБРАЗОВАНИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ ЭТИЛЕНА *

Б. А. Курчий

Институт физиологии растений и генетики АН УССР, Киев

Изложены современные данные о молекулярных механизмах действия этилена. Высказано предположение, что этилен образует с ионами серебра малоподвижные неактивные комплексы, тогда как с углекислым газом – высокорекционный этиленкарбонат. Предложены и описаны возможные механизмы окисления и образования свободных радикалов этилена.

В настоящее время несмотря на наличие многочисленных экспериментальных данных [7, 12, 20, 33, 34, 43, 48] молекулярные механизмы действия этилена и его производных не раскрыты. Связь между строением и биологической активностью этилена и других олефинов изучена работе Бург и Бург [24], которые установили следующие закономерности:

– активны только ненасыщенные алифатические соединения: этилен более активный, чем ацетилен, тогда как этан в сравнимых концентрациях – неактивный;

– биологическая активность определяется стерическими размерами молекул: максимальная биологическая активность свойственна этилену, другие же соединения менее активны. Так, одинаковый биологический эффект для этилена, пропилена и 1–бутена достигался при соотношении 1: 130: 140;

– факторы, увеличивающие делокализацию электронов, снижали биологическую активность. У изученных соединений это происходило в следующей последовательности: фтористый винил > хлористый винил \cong пропилен > бромистый винил. Следовательно, индуктивный эффект галогенов на выраженность биологического действия этих веществ расположен так: F > Cl > Br;

– ненасыщенная связь для достижения наибольшего биологического эффекта должна быть у концевых атомов углерода: 1–бутен был более активен, чем *цис*- или *транс*-2–бутен.

Изучена также биологическая активность таких гомологов этилена, как 2,5–норборнадиен, циклопентадиен, дициклопентадиен, метилциклопентадиен, ацетилен, аллен, 1,3–бутадиен, фуран, пиррол, тиофен, 1–метилпиррол, 2–фуронитрил и циклопентадиен [38]. Наибольшей биологической активностью после этилена в отношении ингибирования старения плодов банана обладал 2,5–норборнадиен, циклопентадиен, ацетилен и аллен, т.е. соединения имеющие небольшие стерические размеры. Авторы пришли к выводу, что ацетилен, аллен и 1,3–бутадиен конкурировали с этиленом за место связывания, поскольку предполагается, что этилен, прежде чем оказать биологическое действие в клетке, должен сначала связаться с рецепторами [6, 23, 24]. Как известно, под рецептором понимают компоненты соответствующих тканей мишеней, содержащие специфические места для связывания биорегуляторов, в результате чего происходит инициация биохимических реакций, необходимых для проявления их конечного эффекта [4].

Связывание этилена с биополимерами клетки обнаружено в ряде работ [12, 22]. Так, Биглер с соавт. [22] выявили ^{14}C –этилен в кислой фракции тканей авокадо и гороха. Симокава и Казаи [41] наблюдали включение ^{14}C –этилена в ДНК, РНК и белки. Однако, как отмечают Сислер и Горен [36], нет прямых доказательств того, что такая связь образована посредством физиологически активного рецептора.

Связывание этилена носит обратимый характер [35]. Показано, что не только этилен, но и другие олефины конкурируют за место связывания *in vivo* в тканях гороха [39] и бобов вигны [11]. По-видимому, некоторые циклические олефины и *цис*-2–бутен могут связываться с рецепторами, но активации других звеньев системы реализации действия этилена не происходит.

По мнению Сислер и Янг [40], существует, по крайней мере, три невыясненных аспекта механизма действия этилена. Каким образом и с каким соединением связывается этилен? Какая первичная биохимическая реакция и как она реализуется в многообразии ответных реакций на действие этилена?

* Опубликовано в: Курчий Б. А. (1990) Возможные реакции окисления и образования свободных радикалов этилена. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) 22:445–454.

Бейером [16] изучены первичные этапы метаболизма этилена. Используя ^{14}C -этилен, он показал, что небольшое его количество включается в ткани, а часть превращается в CO_2 . Автор предположил, что метаболизация этилена является интегральной частью механизма его действия, что подтверждается обнаруженной прямой зависимостью между этими процессами. Гипотетический механизм действия этилена автор изложил в виде схемы [20], предполагая, что обнаруженная окись этилена действует аналогично самому этилену (рис. 1). Были обнаружены также и другие метаболиты этилена – этиленгликоль и CO_2 [14]. У разных растений эти продукты образуются в неодинаковых количествах, т.е. существует видовая специфичность метаболизма этилена [18, 20]. После 24 ч обработки проростков

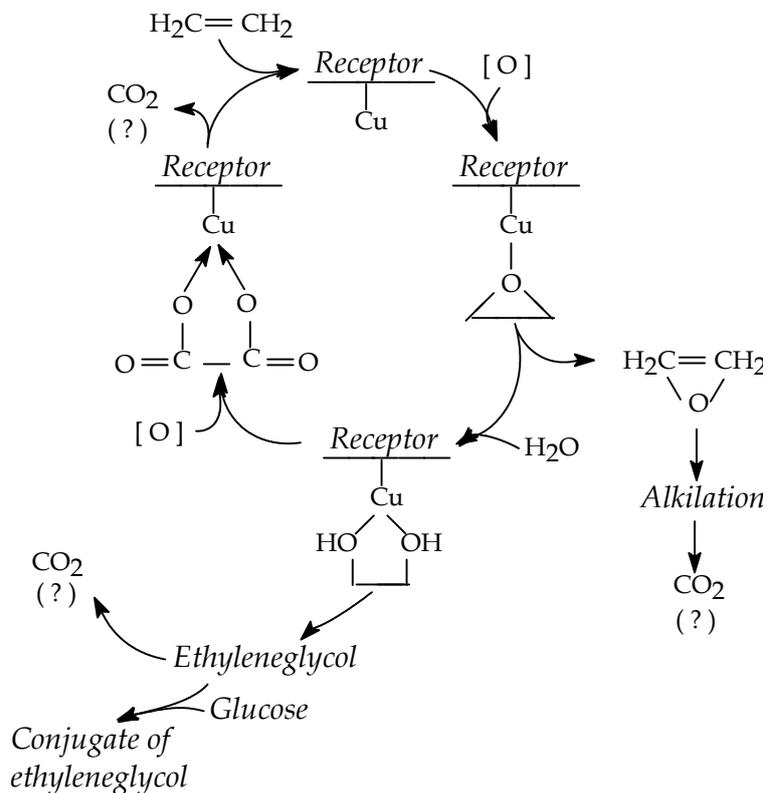


Рис. 1. Гипотетический путь начальных этапов метаболизации и действия этилена [20].

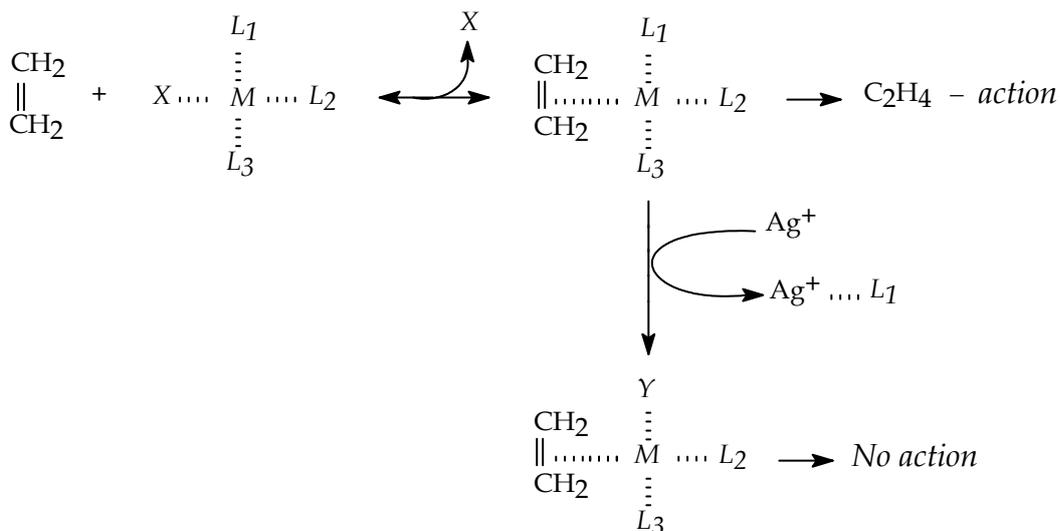


Рис. 2. Возможный первичный механизм действия этилена [40]: L_1, L_2 и L_3 – лиганды в месте связывания M , которое может быть металлом; химическая природа лигандов и металла неизвестны.

гороха 60–70% метаболитов этилена обнаружено в водорастворимой фракции, 10–15% – в белковой, около 1% – в липидной и 1–2% в нерастворимой. Соотношение содержания ^{14}C -метаболитов в основной, нейтральной и кислой фракциях – 50:40:10 [29]. В семядолях вики, где этилен метаболизируется быстрее, чем в проростках гороха, преобладающим продуктом является окись этилена [32]. При извлечении 90% от общей радиоактивности 65–75% представлено в основной, 15–25% – в нейтральной и 5–10% – в кислой фракциях [18, 26]. Нейтральные фракции содержали преимущественно этиленгликоль, основная – этанол-амин, а кислая – оксалат и гликолат.

Окисление этилена в окись этилена происходит с участием монооксигеназы [18, 25, 27, 32, 47]. На основании того, что ткани вики и актиномицеты чувствительны к таким хелаторам металлов, как 8-гидроксихолин, диэтилтиокарбоновая кислота, сделан вывод, что ионы меди или железа могут быть компонентами системы окисления этилена в тканях [8]. Однако Додс с соавт. [27] сообщили, что Cu^{2+} не является кофактором этиленмонооксигеназы, изолированной из семядолей вики. В настоящее время многие исследователи придерживаются мнения о том, что ионы меди участвуют в связывании этилена с биополимерами клетки [18, 20, 45].

Бург и Бург [23] рассматривают этилен как диссоциированный активатор, связывающийся с металлом или металлоферментом. Способность последнего связываться с этиленом прямо или опосредовано зависит от взаимодействия с кислородом. По-видимому, связь этилена с ферментами необходима для его активации и запуска цепи последовательных биохимических реакций. Идеи образования комплекса этилена с металлом придерживается и Абелес [6]. Эта идея базируется на данных об образовании комплексов металлов с олефинами [5]. Абелес [6] и Бейер [13] изучили взаимодействие металлорецептора с меченым и немеченым этиленом. Проростки гороха обрабатывали в течение нескольких дней *cis*-дейтерированным этиленом, а затем анализировали появление его *транс*-изомеров в газовой среде. В аналогичной системе исследован и *тетра*-дейтерированный этилен (C_2D_4). В этих опытах не выявлено изомеризации или замены ионов водорода, а биологическая активность C_2H_2 была сравнима с таковой C_2D_4 .

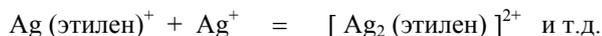
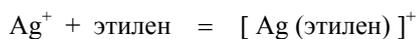
На метаболизм этилена и его биохимическое действие сильное влияние оказывают ионы Ag^+ , CO_2 в концентрации более 7% и кислород в концентрации менее 5% [16]. В опытах с проростками гороха установлено, что ионы Ag^+ блокировали включение ^{14}C -этилена в ткани, но незначительно влияли на окисление его до CO_2 . Напротив, в присутствии CO_2 (7%) ингибировалось окисление $^{14}\text{C}_2\text{H}_4$ до CO_2 , включение $^{14}\text{C}_2\text{H}_4$ в ткани не изменилось [16].

В работе Вина [46] показано, что предобработка пестиков гвоздики в течение 3 ч в растворе тиосульфата серебра, а затем выдерживание в течение 24 ч в растворе 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК) с последующим помещением в раствор 3%-ной сахарозы снижали ростстимулирующее действие самой АЦК. Выдерживание почек в растворе АЦК с содержанием в воздухе 2,5-норборнадиена (циклический олефин) не оказало стимулирующего действия. Автор полагает, что действие ионов серебра носит конкурентный с этиленом характер. Аналогичного мнения придерживается Сислер с соавт. [39], в то же время ряд исследователей не подтвердили это предположение [15, 16, 28].

Сислер и Янг [40] полагают, что ионы серебра, взаимодействуя с этиленрецепторным комплексом, образуют неактивный лиганд, не способный связываться с этиленом (рис. 2). Однако такое предположение, как нам представляется, не согласуется с данными опытов Бейера [16], который показал, что количество метаболизированного в тканях этилена в определенном диапазоне концентраций совпадало с его биологическим эффектом. Ионы серебра снижали ингибирующее действие этилена (0,2 мкл/л) на 48%. При увеличении концентрации этилена до 20 мкл/л действие их не проявлялось.

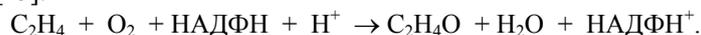
Предложенный механизм взаимодействия этилена с ионами серебра не дает ответа на ряд вопросов. Так, если ионы серебра инактивируют рецептор этилена или делают неактивным комплекс этилен-рецептор, то что происходит с рецепторами, если дополнительно увеличить количество этилена в опыте? Согласно механизму, предложенному на рис. 2, участие рецепторов этилена в проявлении его действия заблокировано. Это означает, что этилен может присутствовать в клетке в любом количестве (равном или намного большем числу рецепторов), но не взаимодействует с биополимерами клетки, т.е. отсутствует биологическое действие. Проявление же действия этилена при дополнительном его введении, т.е. при увеличении его количества в клетке, с нашей точки зрения, означает появление (или же освобождение из связанного состояния) новых рецепторов, способных образовывать активные комплексы с этиленом. Из литературы нам неизвестны случаи такого быстрого образования (синтеза) новых рецепторов этилена. Поэтому мы допускаем возможность прямого действия этилена на биополимеры клетки, т.е. без предварительного связывания с этиленрецепторным комплексом. В связи

с вышеизложенным мы предлагаем следующий механизм взаимодействия этилена с ионами серебра. Ионы серебра взаимодействуют не с рецепторным комплексом этилена, а собственно с самим этиленом. Реакция между сольватированным ионом серебра и этиленом в общем виде записывается следующим образом:



Поэтому когда молярная концентрация этилена меньше, чем серебра (или же концентрации обоих веществ эквимольные), образуются неактивные малоподвижные комплексы, т.е. наблюдается связывание этилена и блокирование его передвижения и действия. При дополнительном поступлении этилена ионы серебра полностью связываются, а избыток этилена (несвязанный этилен) проявляет биологическое действие (торможение ростовых процессов). Таким образом, согласно нашему предположению, ионы серебра не взаимодействуют с рецепторами этилена, не конкурируют за место связывания на рецепторе, а нейтрализуют собственно этилен. Это подтверждается опытами с меченым этиленом. Так, не было обнаружено различий между меченым (дейтерированным) и немеченым этиленом по способности ингибировать рост стебля гороха [6, 9]. По мнению авторов этих работ, взаимодействие этилена с биополимерами протоплазмы происходит без участия карбон-карбонных либо водород-водородных связей. Следовательно, на наш взгляд, эти эксперименты не подтверждают идею о том, что действие этилена опосредовано образованием комплекса металл-этилен. Если бы комплекс металл-этилен являлся частью механизма действия этилена, то дейтерированный этилен и немеченый должны по-разному вести себя в биохимических реакциях (так называемый изотопный эффект). К тому же сродство серебра к дейтерированному этилену возрастает [10], а это значит, что при одинаковых количествах меченого и немеченого этилена в обычных ионных реакциях будут наблюдаться существенные различия.

Показано, что скорость метаболизации этилена коррелирует с созреванием и старением тканей, а ионы серебра снимают как действие этилена, так и его превращение в CO_2 . Однако ионы серебра (как и CO_2) не ингибировали окисление этилена в окись этилена [8]. Аналогичные данные приводят и Смит с соавт. [42], которые показали, что ионы серебра действовали как ингибитор включения ^{14}C -этилена в ткани. Процесс окисления этилена требует наличия НАДФ и схематически может быть представлен следующим образом [43]:



Хотя, как показано в работе Абелеса [8], CO_2 не ингибировал окисление этилена в окись этилена, он оказывал противоположное действие на опадание бобов [31], созревание плодов [7] и увядание цветов [44]. Бург и Бург [24] предложили, что CO_2 конкурирует с этиленом за место связывания. Однако проведенные исследования *in vitro* это не подтвердили [35]. Возможный молекулярный механизм взаимодействия этилена и CO_2 предложен в работе Сислера и Вуда [37] (рис.3). Хотя он и отражает некоторые стороны действия CO_2 , все же, как отмечают Бург и Бург [24], невероятно, чтобы CO_2 так часто выполнял функции природного регулятора роста в концентрациях, превышающих физиологические для этих тканей, так как в концентрации более 5% он аккумулируется преимущественно в межклеточном пространстве.

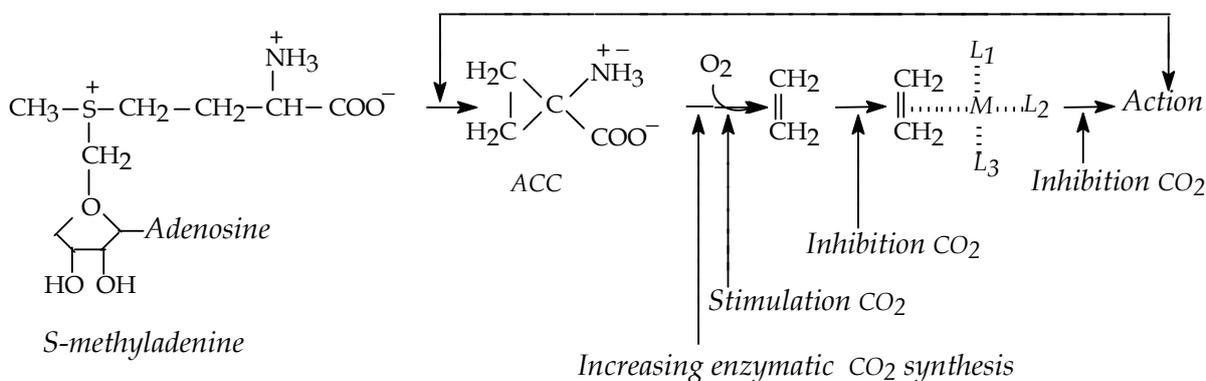
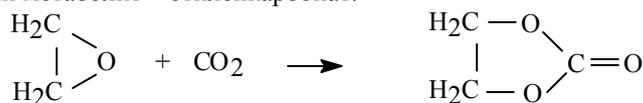


Рис. 3. Возможные точки взаимодействия этилена и CO_2 [37].

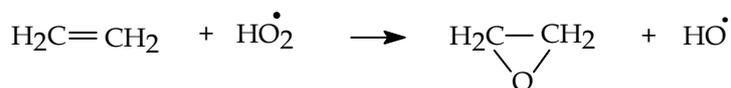
Ответ на эти вопросы, по-нашему мнению, может быть следующий. Окись этилена взаимодействует с CO₂ и образует активный метаболит – этиленкарбонат.



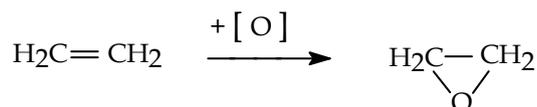
Этиленкарбонат

Последний легко вступает в реакции присоединения, т.е. быстро метаболизируется и включается в клеточные биополимеры, практически не влияя на ростовые процессы. Таким образом, образующийся в процессе метаболизма этилена оксид является не артефактом, а продуктом его взаимодействия с биополимерами клетки [32] и имеет непосредственное отношение к физиологическим эффектам этилена [17, 18]. Процессы окисления этилена с участием монооксигеназы известны как для низших [25, 47], так и для высших [18, 27, 32] растений.

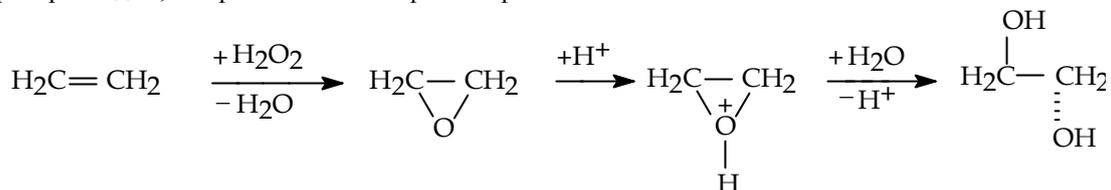
Однако кроме ферментативного мы предполагаем существование и альтернативного неферментативного пути [3] окисления этилена в стрессовых состояниях, тогда в клетке резко уменьшается содержание НАДФ и ингибируется активность ферментов, в том числе монооксигеназ. На фоне резкого снижения количества восстанавливающих агентов и активности ферментов усиление деструктивных процессов, вызываемых этиленом, особенно в больших концентрациях, обусловлено неферментативным окислением, которое может происходить при взаимодействии с:



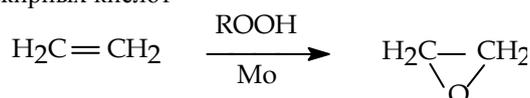
атомарным кислородом



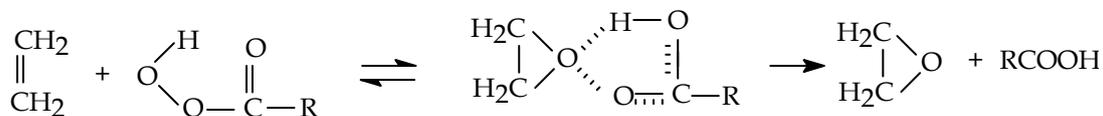
гидропероксидом, с образованием оксирана и трансгликоля



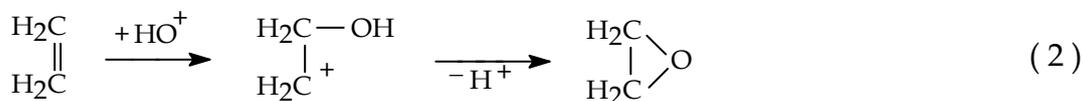
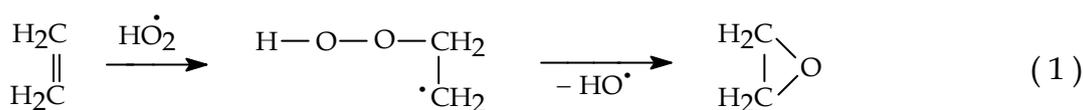
гидроперекисью, например, жирных кислот



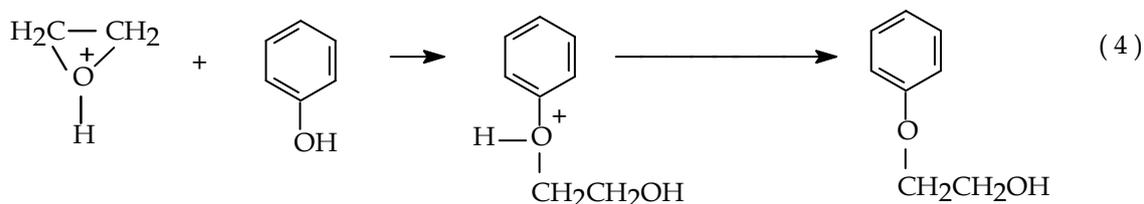
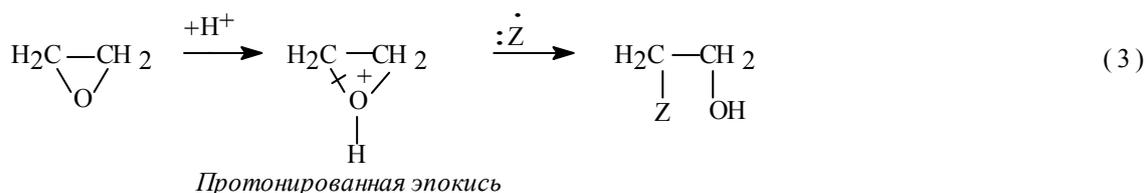
надкислотами



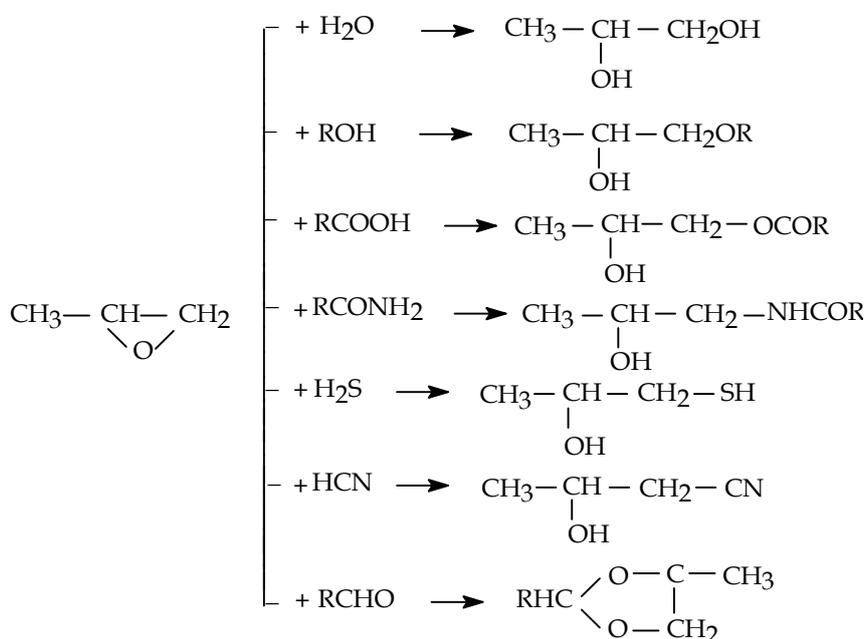
Оксиран этилена образуется вследствие внутримолекулярного распада (1) или при отщеплении протона (2)



По химическим свойствам оксираны – активные соединения, вступающие в реакцию с последующим раскрытием кольца, которая катализируется кислотами (3) или основаниями (4)



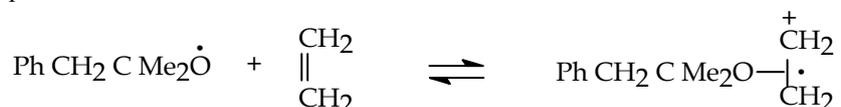
При раскрытии эпиксидного кольца [21], чаще всего вследствие взаимодействия с биополимерами, возможно образование следующих соединений:



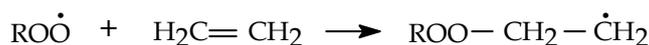
В связи с высокой реакционной способностью окись этилена связывается с макромолекулами клетки, образуя конъюгаты. Поэтому уменьшение выделения эндогенного этилена тканями (после достижения максимального уровня) под действием как физических, так и химических стрессов [6, 20, 33, 40, 43, 48], по-нашему мнению, является следствием не снижения скорости образования, а окисления и связывания окиси этилена с биополимерами. К тому же в растениях пик выделения тканями эндогенного этилена не совпадает с пиком его метаболизации в тканях [19].

Раскрытие эпиксидного кольца может осуществляться и ферментативным путем с участием эпоксигидратазы [30]. При этом снижается содержание высокореакционной окиси этилена, что предотвращает ее взаимодействие с белками, липидами, углеводами и нуклеиновыми кислотами.

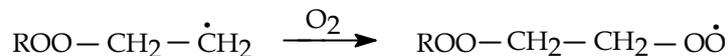
Молекулярный механизм действия этилена точно не известен, хотя многие первичные реакции уже изучены [6, 20, 33, 40, 43, 48]. Ранее мы предположили, что он может заключаться в образовании *in vivo* свободнорадикальных продуктов [1–3]. Ниже приводим теоретически возможные механизмы перехода этилена в свободнорадикальное состояние при взаимодействии с: алкоксильными радикалами



пероксильными радикалами



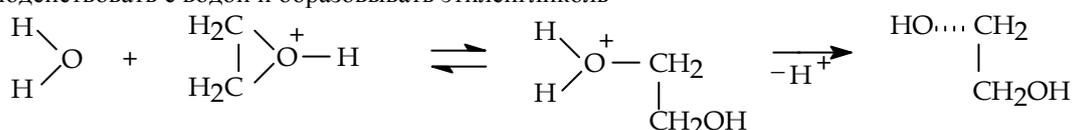
В результате присоединения пероксильного радикала по двойной связи образующийся новый радикал может далее реагировать с кислородом



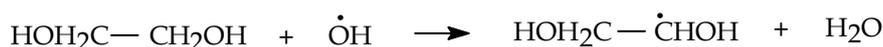
или разлагаться с образованием окиси этилена и алкоксильного радикала



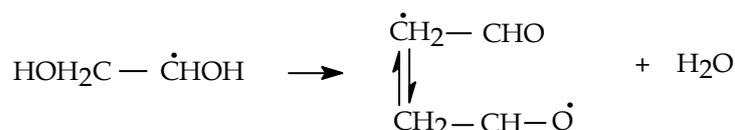
При этом чем стабильнее такой β-пероксильный радикал, тем он более склонен реагировать с кислородом, чем разлагаться. Таким образом, уже при прохождении этилена через липидный слой мембран возможно неферментативное образование оксирана. В дальнейшем оксиран этилена может взаимодействовать с водой и образовывать этиленгликоль



который также может взаимодействовать с гидроксильным



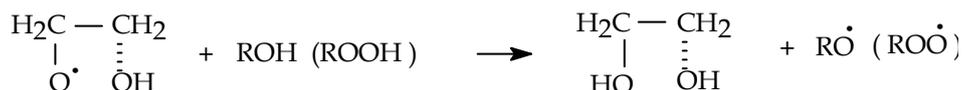
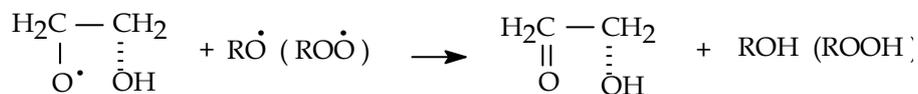
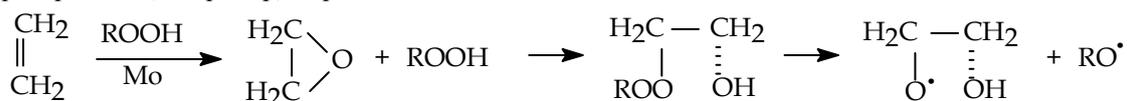
Вследствие кислотокатализируемой фрагментации может образовываться новый свободный радикал



Кроме того, свободные радикалы этилена могут образовываться при взаимодействии с гидроксильным радикалом



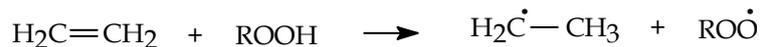
гидроперекисью, например, жирных кислот



Обладая низкой молекулярной массой и малыми стерическими размерами, этилен очень подвижен в клетке. Проходя через мембрану, он может легко переходить в свободнорадикальное состояние уже в самой ее липидной фазе, содержащей гидроперекиси липидов. Такой переход возможен либо путем переноса протона



либо путем атаки на кислород



Таким образом, молекулярные реакции этилена *in vivo* обусловлены переходом его в свободнорадикальное состояние. Свободные радикалы этилена – высокореакционные частицы, которые и запускают цепь ферментативно неконтролируемых окислительно-восстановительных реакций сначала в липидах мембран, а затем и в цитоплазме клетки. В противоположность этилену этан не образует в клетке свободных радикалов и, по-видимому, включается в общий метаболизм, что и выражается в отсутствии свойств биорегулятора в сравнимых концентрациях.

1. **Курчий БА, Койдан ГН** (1985) Что регулируют регуляторы роста. Химия и жизнь (Москва) № 2: 36–39
2. **Курчий БА, Койдан ГН** (1985) Механизмы действия регуляторов роста. Химия и жизнь (Москва) № 10: 68–69
3. **Курчий БА** (1988) Мембранные аспекты механизма действия биорегуляторов небелковой природы. Препринт Института физиологии растений и генетики АН УССР № 5P: 1–43
4. **Levey GS** (1976) Hormone-receptor interaction: Molecular aspects. Marcel Dekker, Inc, New York – Basel
5. **Herberhold M** (1972) Metal π -complexes. Volume II. Complexes with mono-olefinic ligands. Part 1. General survey. Elsevier Publ. Company, Amsterdam – London – New York
6. **Abeles FB** (1972) Biosynthesis and mechanism of action of ethylene. Annu Rev Plant Physiol 23: 259–292
7. **Abeles FB** (1973) Ethylene in plant biology. Acad Press, New York
8. **Abeles FB** (1984) A comparative study of ethylene oxidation in *Vicia faba* and *Mycobacterium paraffinicum*. J Plant Growth Regul 3: 85–95
9. **Abeles FB, Ruth JM, Forrence LL, Leather GR** (1971) Mechanism of hormone action. Use of deuterated ethylene to measure isotopic exchange with plant material and the biological effect of deuterated ethylene. Plant Physiol 49: 669–71
10. **Atkinson JG, Russel AA, Stuart RS** (1967) Gas chromatographic studies of isotopically labeled ethylene. Can J Chem 45: 1963–1969
11. **Beggs MJ, Sisler ES** (1986) Binding of ethylene analogs and cyclic olefins to a triton X-100 extract from plant: Comparison with *in vivo* activities. Plant Growth Regul 4: 13–21
12. **Bengochea T, Dodds JH, Evans DE et al** (1980) Studies on ethylene binding by cell free preparation from cotyledons of *Phaseolus vulgaris*. 1. Separation and characterization. Planta 148: 397–406
13. **Beyer EM** (1972) Mechanism of ethylene action. Biological activity of deuterated ethylene and evidence against isotopic exchange and *cis-trans*-isomerisation. Plant Physiol 49: 672–675
14. **Beyer EM** (1975) ^{14}C -ethylene incorporation and metabolism in pea seedlings. Nature 255: 144–147
15. **Beyer EM** (1976) A potent inhibitor of ethylene action in plant. Plant Physiol 58: 268–271
16. **Beyer EM** (1979) Effect of silver ion, carbon dioxide, and oxygen on ethylene action and metabolism. Plant Physiol 63: 169–173
17. **Beyer EM** (1979) ^{14}C -ethylene metabolism during leaf abscission in cotton. Plant Physiol 64: 971–974
18. **Beyer EM** (1980) Recent advance in ethylene metabolism: Aspect and prospects of plant growth regulators. In B Jeffcoat, ed, Brit Plant Growth Regul Group, Monograph 6, pp 27–38
19. **Beyer EM, Sundin O** (1978) $^{14}\text{C}_2\text{H}_4$ metabolism in morning glory flowers. Plant Physiol 61: 896–899
20. **Beyer EM** (1981) Ethylene action and metabolism: Resent advance in biochemistry of fruits and vegetables. In J Friend J, MJC Rhodes, eds, Acad Press, New York, pp 107–121
21. **Boelhoumer C, Mol JC** (1985) Metathesis reaction of fatty acid ether. Progr Lipid Res 24: 243–267
22. **Buhler DR, Hansen E, Wang CH** (1957) Incorporation of ethylene into fruit. Nature 179: 48–49
23. **Burg SP, Burg EA** (1965) Ethylene action and the ripening of fruits. Science 148: 1190–1196
24. **Burg SP, Burg EA** (1967) Molecular requirement for the biological activity of ethylene. Plant Physiol 42: 144–152
25. **De Bont JAM** (1975) Oxidation of ethylene by bacteria. Ann Appl Biol 81: 119–121
26. **Dodds JH, Hall MA** (1982) Metabolism of ethylene by plants. Int Rev Cytol 76: 299–325
27. **Dodds JH, Musa SK, Jerie PH, Hall MA** (1979) Metabolism of ethylene to ethylene oxide by cell free preparation from *Vicia faba* L. Plant Sci Lett 17: 109–114
28. **Evans DE** (1984) Ethylene metabolism in *Pisum sativum* L.: Kinetic parameters, the effect of propylene, silver and carbon dioxide and comparison with other systems. Plant Growth Regul 2: 187–195

29. **Giaquinta RT, Beyer EM** (1977) $^{14}\text{C}_2\text{H}_4$: Distribution of ^{14}C -labeled tissue metabolism in seedlings. *Plant Cell Physiol* **18**: 141–148
30. **Gill SS, Hammock BD** (1979) Hydration of *cis*- and *trans*-epoxymethylstearates by the cytosolic epoxide hydrase of mouse liver. *Biochem Biophys Res Commun* **89**: 965–971
31. **Holm RE, Abeles FB** (1967) Abscission: the role of RNA synthesis. *Plant Physiol* **42**: 1094–1102
32. **Jerie PH, Hall MA** (1978) The identification of ethylene oxide as a major metabolite of ethylene in *Vicia faba* L. *Proc Roy Soc London* **200B**: 87–94
33. **Liberman M** (1979) Biosynthesis and action of ethylene. *Annu Rev Plant Physiol* **30**: 353–391
34. **Sisler EC** (1977) Ethylene activity of some π -acceptor compounds. *Tobacco Sci* **21**: 43–45
35. **Sisler EC** (1982) Properties of a triton X-100 extract from mung bean sprouts. *Plant Growth Regul* **1**: 211–218
36. **Sisler EC, Goren R** (1981) Ethylene binding – the basis for hormone action in plant. What's new in *Plant Physiol* **12**:37–40
37. **Sisler EC, Wood C** (1988) Interaction of ethylene and CO_2 . *Plant Physiol* **73**:440–444
38. **Sisler EC, Wood C** (1988) Competition of unsaturated compounds with ethylene for binding and action in plants. *Plant Growth Regul* **7**:181–191
39. **Sisler EC, Yang SF** (1984) Anti-ethylene effect of *cis*-2-butene and cyclic olefins. *Phytochemistry* **23**: 2765–2768
40. **Sisler EC, Yang SF** (1984) Ethylene, the gaseous plant hormone. *BioScience* **34**: 234–238
41. **Shimokawa K, Kazai Z** (1968) A possible incorporation of ethylene into RNA in Japanese morning glory seedlings. *Agr Biol Chem* **32**:680–682
42. **Smith AR, Evans DE, Smith PG, Hall MA** (1985) Ethylene metabolism in *Pisum sativum* L. and *Vicia faba* L. In JA Roberts, GA Tucker, eds, *Ethylene and plant development*. Butterworths, London e.a., pp 139–145
43. **Smith AR, Hall MA** (1984) Mechanism of ethylene action. *Plant Growth Regul* **2**:151–165
44. **Smith VH, Parker JC, Freeman WW** (1966) Exposure of cut flowers to ethylene in the presence and absence of carbon dioxide. *Nature* **211**: 99–100
45. **Thompson JS, Harlow RL, Whitney JF** (1983) Copper (I) olefin complexes. Support for the proposed role of copper in ethylene effect in plants. *J Amer Chem Soc* **105**:3522–3527
46. **Veen H** (1985) Antagonistic effect of silver thiosulphate or 2,5-norbornadiene on 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid-stimulated growth of pistils in carnation buds. *Plant Physiol* **65**:2–8
47. **Wiegant WW, De Bont JAM** (1980) A new route for ethylene glycol metabolism in *Mycobacterium* E44. *J Gen Microbiol* **120**: 325–331
48. **Yang SF, Hoffman NE** (1984) Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol* **35**:155–189

Получено 15.09.89

SUMMARY

Kurchii BA (1990) Possible reactions of ethylene oxidation and formation of its free radicals. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii* (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev) **22**: 445–454 (In Russian).

The contemporary data on the molecular mechanisms of ethylene action are presented. It is proposed that ethylene forms inactive and low mobile complexes with silver ions while with CO_2 it forms ethylene carbonate. Possible mechanisms of ethylene oxidation and its free radical formation are suggested and described.

СНИЖЕНИЕ ЭНДОГЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ИНГИБИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ НЕКОТОРЫХ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ НА РОСТ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ РЖИ *

Б. А. Курчий

Институт физиологии растений и генетики АН Украины, Киев

Абсцизовая кислота (АБК) – природный регулятор роста – широко известна как ингибитор ростовых процессов у растений. Она контролирует различные физиологические процессы: от прорастания семян до созревания плодов и опадания листьев. Однако, несмотря на большое количество исследований, первичные механизмы действия АБК неизвестны.

Изучено эндогенное содержание АБК в проростках озимой ржи под влиянием ингибирующего действия следующих веществ: β -индолилуксусной кислоты (ИУК, 10^{-2} М), зеатина (10^{-2} М), гибберелловой кислоты (ГК, 10^{-2} М), пиклорама (10^{-2} М), 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д, 10^{-2} М), 2-хлорэтилфосфоновой кислоты (ХЭФК, 10^{-2} М), диквата (10^{-5} М) и АБК (10^{-3} М).

Семена озимой ржи проращивали в термостате при 24 °С. Проростки с длиной колеоптиля 10–15 мм замачивали в водных растворах указанных регуляторов в течение 15–30 минут и использовали для анализа. Содержание АБК определяли методом газожидкостной хроматографии [1].

По результатам анализа сухая масса проростков снижалась почти сразу же после обработки биорегуляторами (рис. 1, А). Через 6 ч у всех вариантов отмечалось увеличение эндогенного содержания свободной (рис.1, Б) и связанной (рис.1, В) АБК. Общее количество АБК увеличивалось в течение 12–18 ч после обработки, а затем снижалось. У проростков, обработанных растворами АБК (10^{-3} М), наблюдалось увеличение ее уровня в начальный период. Таким образом, в ответ на действие регуляторов роста увеличивалось содержание эндогенной АБК, которое в последующем резко снижалось, при этом накопление проростками сухой массы и роста их в длину не наблюдалось. Поэтому сделан вывод, что АБК не могла быть причиной ингибирования роста проростков.

Ранее нами предложено, что молекулярный механизм действия АБК может быть обусловлен ее антиоксидантными свойствами [2]. В связи с этим провели обработку проростков растворами АБК.

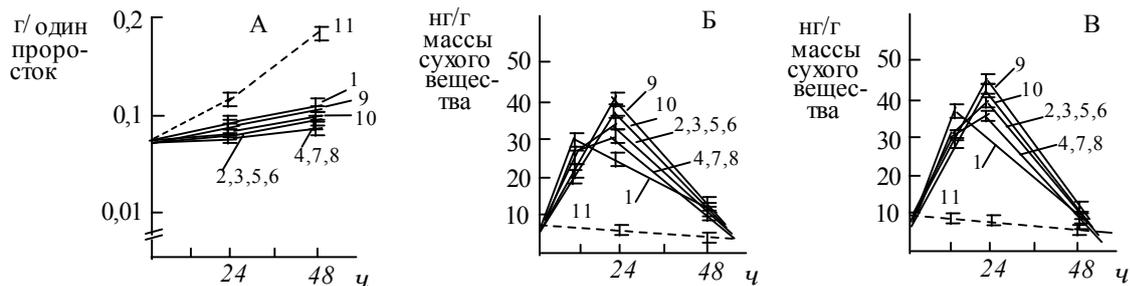
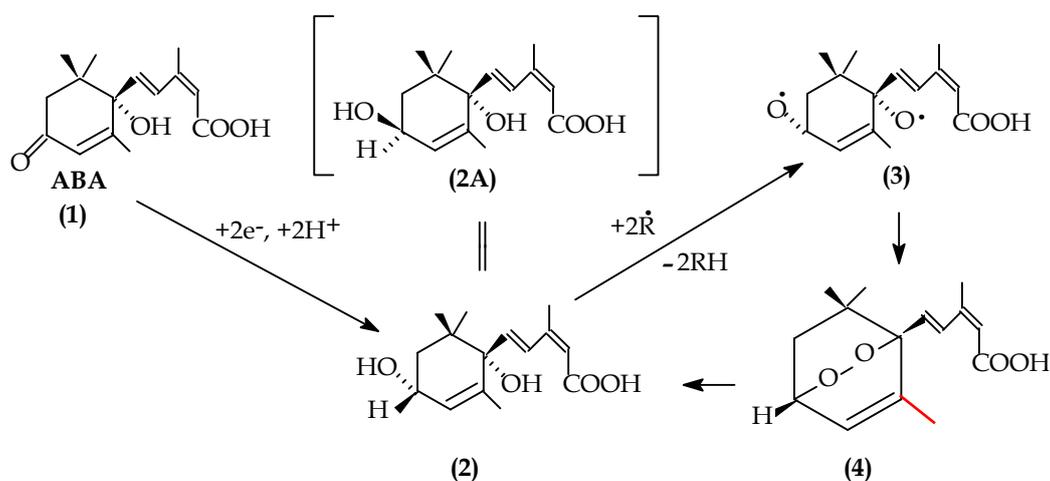


Рис. 1. Масса сухого вещества (А) проростков озимой ржи и содержание в них свободной (Б) и связанной (В) АБК после обработки растворами: 1 – АБК (10^{-3} М); 2 – зеатина (10^{-2} М); 3 – ГК (10^{-2} М); 4 – ХЭФК (10^{-2} М); 5 – ИУК (10^{-2} М); 6 – 2,4-Д (10^{-2} М); 7 – пиклорама (10^{-2} М); 8 – диквата (10^{-5} М); 9 – АБК (10^{-3} М в течение 1 ч за 4 ч до обработки растворами диквата, 2,4-Д, ИУК и ХЭФК); 10 – АБК (10^{-5} М в течение 30 мин за 4 ч до обработки растворами диквата, 2,4-Д, ИУК и ХЭФК); 11 – контроль (обработка водой).

* Опубликовано в: Курчий Б. А. (1992) Снижение эндогенного содержания абсцизовой кислоты при ингибирующем действии некоторых природных и синтетических биорегуляторов на рост проростков озимой ржи. В кн.: В.В. Моргун, Б.А. Курчий, А.В. Рубан, ред, Регуляторные механизмы в физиологии растений и генетике. Издательство Наукова думка, Киев, с. 136–142.

Выдерживание корней озимой ржи в течение 24 ч в растворе АБК (10^{-5} М или 10^{-3} М) в течение одного часа за 2–4 ч до обработки растворами диквата, 2,4-Д, ИУК и ХЭФК приводило к тому, что действие последних ослаблялось. Обработка проростков в растворе АБК (10^{-3} М) за 1 ч, одновременно или через 2 ч после обработки дикватом, 2,4-Д, ИУК и ХЭФК не изменяла ростингибирующее действие этих регуляторов. Следовательно, чтобы АБК оказала защитное действие, она должна присутствовать в клетке до начала действия изученных биорегуляторов. Кроме того, необходимо еще некоторое время активирования ее в тканях. Таким образом, АБК препятствовала действию изученных регуляторов, но не влияла на ход восстановления изменившихся структур или биохимических процессов.

На основании литературных и наших данных мы полагаем, что антиоксидантными свойствами может обладать 1',4'-цис-диол-АБК (2). При взаимодействии последней со свободными радикалами (R^\bullet , RO^\bullet , ROO^\bullet), количество их резко увеличивается вследствие перехода биорегуляторов в свободнорадикальное состояние и инициирования ими перекисного окисления липидов. При отдаче двух атомов водорода на нейтрализацию свободных радикалов АБК образует окисленную форму (3), которая вследствие внутримолекулярной миграции водорода превращается в исходную форму (1) или 1',4'-эпидиоксид (4):



Таким образом, в ответ на увеличение количества свободных радикалов в клетке (например, в опыте с дикватом) происходило увеличение количества антиоксидантов, в т.ч. АБК. Однако количество свободных радикалов было большим, чем антиоксидантов, свободнорадикальные процессы остановить не удалось, что и привело к прекращению ростовых процессов и расходованию АБК. Таким образом, проявление действия стресса – это результат взаимодействия активных свободных радикалов с биополимерами клетки и антиоксидантами, которое может выражаться по-разному (рис. 2):

1. Незначительное повышение естественного уровня свободных радикалов (контролируемое повышение). Суммарное действие свободных радикалов на биополимеры клетки нейтрализуется преимущественно ферментативно или антиоксидантами – активация роста.
2. Значительное повышение свободных радикалов в клетке (частично контролируемый уровень). Если суммарное действие свободных радикалов только частично нейтрализуется ферментативно или антиоксидантами, то наблюдается ингибирование ростовых процессов: уменьшение количества эндогенных биорегуляторов; снижение синтетических процессов и количества АТФ; нарушение активного и пассивного транспорта через мембраны; сшивки мембранных белков, уменьшение их вращательной и латеральной подвижности; увеличение порядка фосфолипидных цепей; уменьшение электрического сопротивления; увеличение вязкости липидного слоя.
3. Высокое содержание свободных радикалов в сравнении с естественным уровнем (неконтролируемое повышение). Свободнорадикальные реакции – неконтролируемые. Количество антиоксидантов значительно ниже свободных радикалов (или отсутствие антиоксидантов) – гибель клеток: окисление липидов, белков, углеводов и нуклеиновых кислот; полная потеря полупроницаемых свойств биомембран, передачи информации от наружных к внутренним компартментам клетки.

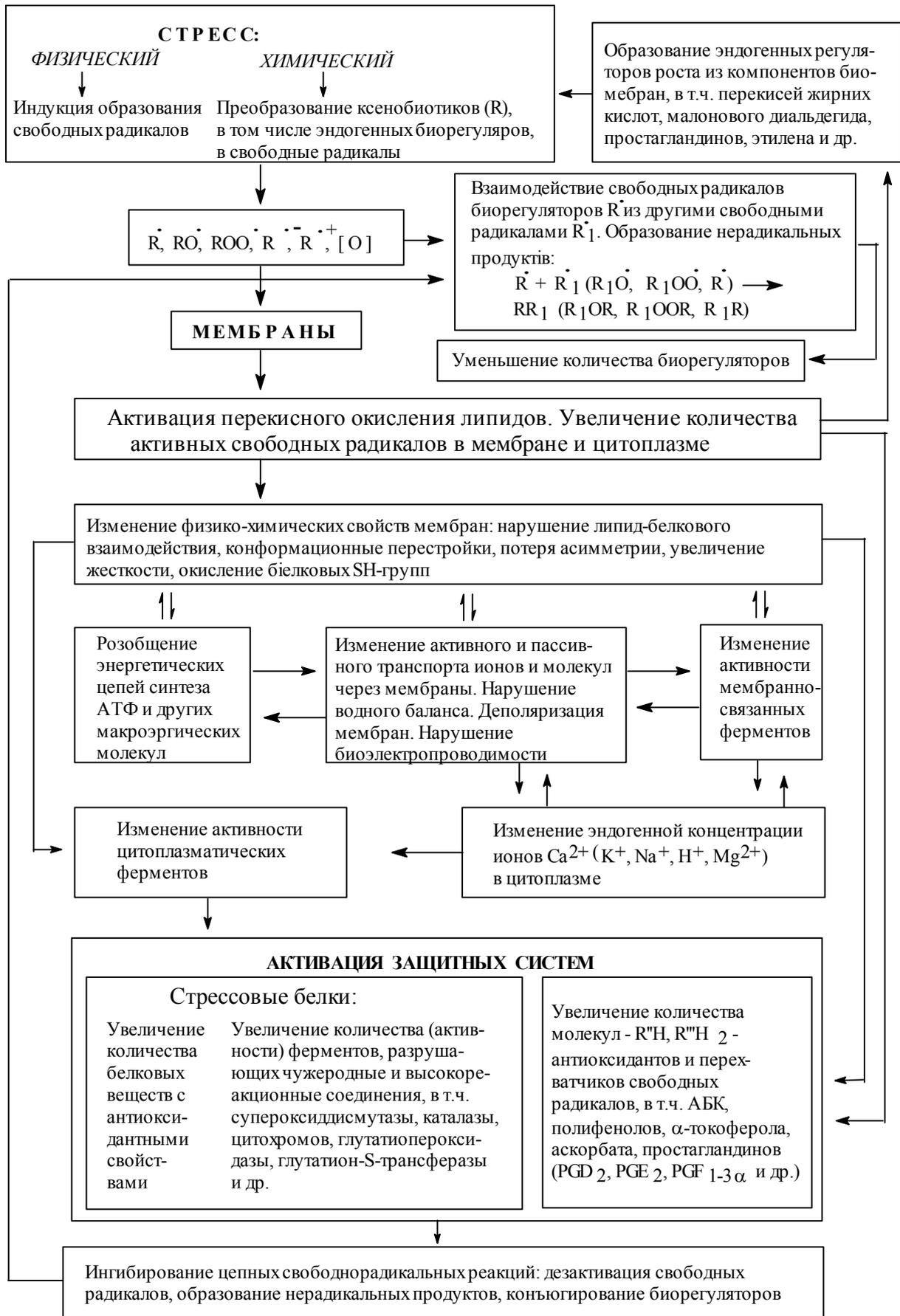


Рис. 2. Участие АБК в защитных механизмах клетки в ответ на воздействие стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Калинин Ф.Л., Курчий БА** (1986) Влияние этифона на содержание эндогенных фитогормонов в растениях озимой ржи. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) **18**: 182–186
2. **Курчий БА, Койдан ГН** (1985) Что регулируют регуляторы роста. Химия и жизнь (Москва) N **2**: 36–39

SUMMARY

Kurchii BA (1992) Decreasing of endogenous content of abscisic acid in the winter rye seedlings influenced by some natural and synthetic bioregulators. *In* VV Morgun, BA Kurchii, AV Ruban, eds, The Regulative Mechanisms in the Plant Physiology and Genetics. Naukova Dumka Publ., Kiev, pp.136–142.

The effects of zeatin, gibberellic acid, 2-chloroethylphosphonic acid, indolylacetic acid, 2,4-D, tordon and diquat on the accumulation of dry weight and the content of free and conjugated abscisic acid in the seedlings of winter rye were studied. It was found that the dry weight of seedlings after the treatment by these substances was decreased. The endogenous concentration of abscisic acid increased in the beginning of action of these substances and then decreased.

On the Possible Antioxidative Mode of Action of Plant Stress Growth Regulator Abscisic Acid *

B. Kurchii

Institute of Plant Physiology and Genetics, Vasylykivska 31/17, 252022 Kiev, Ukraine

The possible molecular mechanism action of a plant stress growth regulator abscisic acid (ABA) as a natural antioxidant is described. It is proposed that (+)-(S)-ABA obviously received from experiments may act as an antioxidant or an oxidative agent.

Plant growth regulator ABA has long been accepted as an important factor in large number of environmental biotic and abiotic stresses, but its precise function in these processes is still a matter of debate. It has been reported that endogenous levels of ABA increase dramatically when plants are subjected to: (1) stressful temperature [1, 2, 3, 4]; (2) salinity [5, 6] and (3) water stress [7, 8, 9, 10, 11].

Also ABA decreased or retarded the inhibitory action of naphthyl acetic acid [12], ozone (O₃) [13], gibberellic acid, kinetins and auxins [14, 15, 16] and herbicide endothal [17, 18]. It was found that *Solanum tuberosum* was able to increase its cold hardiness when ABA was added to the culture medium [19].

Application of exogenous ABA prevented the chilling injuries in cotton seedlings [17, 18]. Our data also suggest on the protective effect of ABA against inhibitory action of ethylene on the growth of winter rye coleoptiles. The treatment of 15 mm winter rye coleoptiles with 10⁻³ M ABA decreased inhibitory effect of ethephon. In ethephon treated coleoptiles the levels of saturated carboxylic acids were higher. In contrast in ABA pretreated specimens the concentration of polyunsaturated carboxylic acids was higher in comparison to the concentration in the non-pretreated specimens [20].

The lipid composition in ABA-treated seedlings of winter wheat was substantially different from that of non-ABA-pretreated seedlings. In particular ABA-pretreated seedlings were characterized by high proportion of linolenic acid (18:3) and linoleic acid (18:2) and relatively low proportion of palmitic acid (16:0) and oleic acid (18:0) [21].

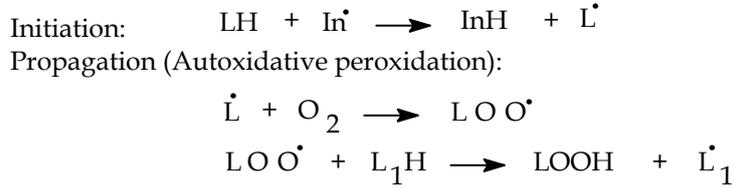
At the same time it has been previously observed that the phytotoxic effect of chilling [22] and O₃ [10, 11, 23, 24, 25, 26] on plants may result from oxidative destruction of lipids and proteins or through the formation of free radicals and other reactive intermediates. Oxidative damage of lipids and proteins and the decreasing in the activities of catalase, ascorbate peroxidase, dehydroascorbate reductase, glutathione reductase and superoxide dismutase were determined in drought-stressed nodules of pea [27]. Evidence showing that chilling induces oxidative stress in maize mitochondria has been also reported [28].

In our communication we describe the possible molecular mechanism of ABA action as natural antioxidant of plants. This mechanism implies that exposure to diverse stresses can stimulate plants to enhance their scavenging and antioxidative systems including ABA which protects against oxidative damage of cellular substances.

Formed free radicals and peroxides during oxidative stress can react with essential cellular constituents, for instance, such as lipids. Free radicals as chemically reactive metabolites have in common the ability to react nonenzymatically with biological molecules. Indeed, a free radical is an atom or a molecule having an unpaired electron in the valence shell. This unpaired electron gives the molecule special properties: chemically the free valence often makes the molecule extremely reactive [29, 30].

* Published in: **Kurchii B.** (1997) On the possible antioxidative mode of action of plant stress growth regulator abscisic acid. *In* Environment Protection: Modern Studies in Ecology and Microbiology, Proceedings of the International Regional Seminar, May 13–16, 1997, Uzhgorod (Ukraine), Volume 1, pp. 379–385.

In vivo oxidized chemicals can act as initiators (In^\bullet) of free radical chain reactions of membraneous lipids. Polyunsaturated fatty acids (LH) presented in cellular membranes are easily oxidized by the following mechanism [29, 30]:



The deprived molecule L_1^\bullet then becomes a radical itself and in turn disrupts another adjacent molecule. Thus, a chain reaction has been set in motion. If the process of lipid peroxidation is uncontrolled, cellular membranes are susceptible to damage. This would be followed the changes in the permeability of membranes, and the eventual loss of function, the destruction and inactivation of proteins, enzymes, nucleic acids, and other constituents of normal cellular function. This is only the primary reaction in the oxidizing cycle. However, it is not necessary to discuss all aspects of the free radical mechanism of action in the biological objects in this report because they are very well documented by other authors [30, 31].

The development of a chain reaction of peroxidative oxidation of cellular lipids normally is regulated by substances with antagonistic effects antioxidants, which depress peroxidative oxidation and neutralize free radicals in the cell. Indeed, in living organisms the defense systems are able to detoxify inorganic and organic free radicals and peroxides. These systems include superoxide dismutase, ascorbic acid, glutathione, glutathione reductase, ascorbate peroxidase, catalase, the GSH–peroxidase–GSSG reductase couple, α -tocopherol, β -carotene, reduced glutathione, flavonoids, phenols, carotenoids and vitamin E [27, 32, 33]. Thus, the increase in activity of these detoxicative systems may be essential in the resistance of plants to biotic and abiotic stresses.

Examinations of the steric structure of classical antioxidants show that they possess the appropriate two functional OH–groups, which serve as donors of hydrogen atoms to free radicals [29, 30]. Among natural antioxidants of plants, the plant growth regulator ABA appears to be particularly interesting in view of the possible protection against free radicals. With regard to the possibility that ABA can act as an effective antioxidant, it is necessary to remark that it preliminary must be reduced by other reductive agents. We have suggested a hypothetical pathway for the reduction/oxidation of ABA. These findings are consistent with the potential role of two OH–groups in the mode of action of antioxidants. Simplified general mechanism for the reduction/oxidation for abscisic acid is proposed below (Fig. 1).

The first step involves generation of active species by reduction of (+)–(S)–ABA (form A) that we named as prooxidant. The activated chemical (form B) named as antioxidant is effective as free radical scavenger and then can react with metabolic free radicals. Newly formed free radicals (form C) are stable and by the rearrangement mechanism they transform into stable products (forms A and D). It is important to state that a potentially an antioxidative substance (+)–(S)–ABA can act as an oxidative agent *in vivo* in the case of deficiency of reductive agents in cells, for example, such as thiol-containing compounds. Indeed, the oxidation OH–group of (+)–(S)–ABA (Fig. 2) yields the free radical of this substance that can act as an oxidative agent.

Although the general structure of ABA–(OH)₂ (Fig. 1) and ABA–(OH) (Fig. 2) is similar, there appear to be differences in their spectrum of activity. Indeed, the reduction potential of the ABA–(OH)₂ having two hydroxyl groups is higher than for ABA–(OH) that has one hydroxyl group. This difference in reductive potential could be responsible for the difference in the biological activity of (+)–(S)–ABA (form A) *in vitro* and *in vivo*.

As follows from cited above literature the endogenous concentration of ABA changes in plants during all period of chemical or physical stresses. In this regard it is especially interesting to note that the endogenous concentration of ABA depends on the endogenous concentration of oxidative substances. Proposed mechanism also implies that higher levels of ABA at the beginning of stress treatment can be associated with lower levels of oxidative chemicals. During induced stress conditions ABA can detoxify free radicals (including lipid peroxides) by forming (1) longer-living adducts with them or (2) chemically inert substances and as consequence its concentration will be decrease at the end of the oxidative stress.

Some of the details of this hypothetical mode of ABA action may not be correct, but the essential feature is that ABA-(OH)₂ may play a primordial role in the resistance of plants to chemical and physical stresses. Summarizing this observation we can conclude: the scavenging systems of plants including ABA are an important component of the stress protective mechanism and the increasing in ABA activity in plants exposed to stressful conditions generally correlates with increased stress tolerance.

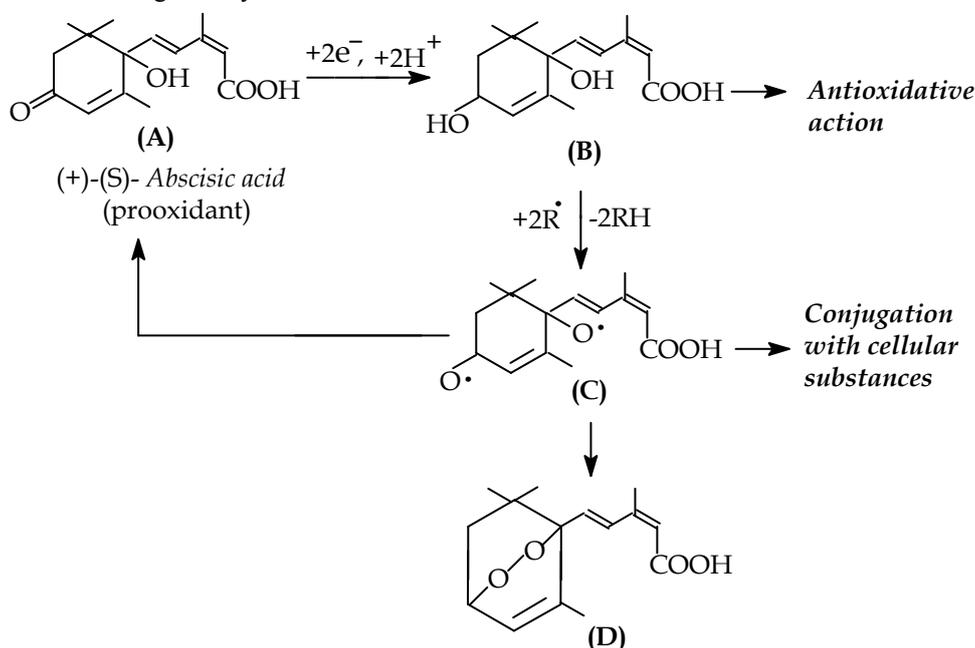


Fig. 1. Proposed pathway for oxidation-reduction of ABA.

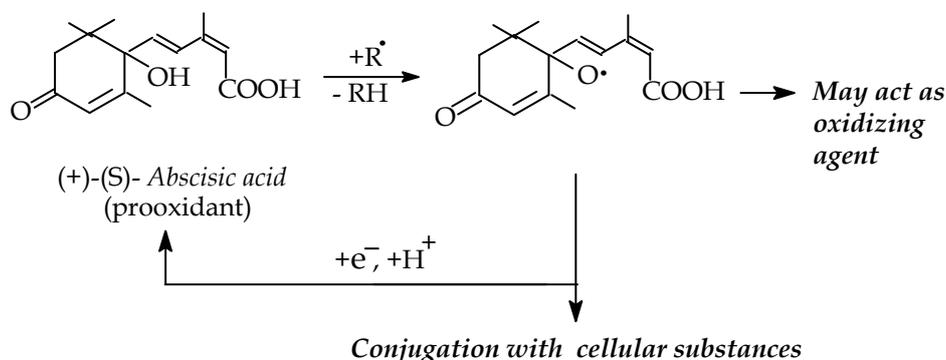


Fig 2. Proposed pathway for one-step oxidation of ABA.

REFERENCES

1. **Chen HH, Li PH, Brenner ML** (1983) Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation. *Plant Physiol* **71**: 367–365
2. **Daie J, Cambel WF** (1981) Response of tomato plants to stressful temperature. Increase in abscisic acid concentration. *Plant Physiol* **67**: 26–29
3. **Ryu SB, Li PH** (1994) Potato cold hardiness development and abscisic acid. I. Conjugated abscisic acid is not the source of the increase in free abscisic acid during potato (*Solanum commersonii*) cold acclimation. *Plant Physiol* **90**: 15–20
4. **Vernieri P, Pardossi A, Serra G et al** (1994) Changes in abscisic acid and its glucose ester in *Phaseolus vulgaris* L. during chilling and water stress. *Plant Growth Regul* **15**: 57–163
5. **Moons A, Bauw G, Prinsen E et al** (1995) Molecular and physiological responses to abscisic acid and salts in roots of salt-sensitive and salt-tolerant Indica rice varieties. *Plant Physiol* **107**: 177–186

6. **Zeevaart JAD, Creelman RA** (1988) Metabolism and physiology of abscisic acid. *Annu Rev Plant Physiol* **39**: 439–473
7. **Lang V, Mantyla E, Welin B et al** (1994) Alteration in water status, endogenous abscisic acid content and expression of rab 18 in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* **104**: 1341–1349
8. **Lopez-Carbonell M, H van Onckelen** (1994) Effect of water stress on cellular ultrastructure and concentrations of endogenous abscisic acid and indole-3-acetic acid in *Fatsia japonica* leaves. *Plant Growth Regul* **14**: 29–35
9. **Lopez-Carbonell M, Alegre L, H van Onckelen** (1994) Changes in cell ultrastructure and endogenous abscisic acid and indole-3-acetic acid concentration in *Fatsia japonica* leaves under polyethylene glycol-induced water stress. *Plant Growth Regul* **15**: 165–174
10. **Mehlhorn H, O'Shea JM, Wellburn AR** (1990) Electron spin resonance evidence for the formation of free radicals in plants exposed to ozone. *Plant Physiol* **79**: 377–383
11. **Mehlman MA, Bore K** (1987) Toxicity and biochemical mechanism of ozone. *Environ Res* **42**: 36–53
12. **Minoch SC, Dibona S** (1979) Effect of auxin and abscisic acid on RNA and protein synthesis prior to the first cell division in Jerusalem artichoke tube tissue *in vitro*. *Z Pflanzenphysiol* **92**: 367–374
13. **Fletcher RA, Adedipe NO, Ormrod DPP** (1972) Abscisic acid protect bean leaves from ozone-induced phytotoxicity. *Can J Bot* **50**: 2389–2391
14. **Pilet PE, Barlow PW** (1978) The role of abscisic acid in root growth and gravireaction: A critical review. *Plant Growth Regul* **6**: 217–265
15. **Rogler CE, Hackett WP** (1975) Phase changes in *Hedera helix*, stabilization of the mature form with abscisic acid and growth retardants. *Plant Physiol* **34**: 148–152
16. **Wareing PF** (1978) Abscisic acid as natural growth regulators. *Trans Roy Soc London* **284**: 483–498
17. **Rikin A, Atsmon D, Gitler C** (1979) Chilling injury in cotton (*Gossipium hirsutum* L.): Prevention by abscisic acid. *Plant Cell Physiol* **20**: 1537–1540
18. **Rikin A, Rubin B** (1983) Increase of cotton cotyledon resistance to herbicide endotal by abscisic acid. *Physiol Plant* **59**: 161–164
19. **Costa A, Ryu SB, Li PH** (1993) Abscisic acid and metfluidine in the regulation of cold hardiness development in *Solanum tuberosum* L. potato. *Plant Growth Regul* **13**: 303–308
20. **Kurchii BA** (1989) Study of the antioxidative effect of abscisic acid. *In Study protection and rational using of natural resources. Proceeding of the Conference, Ufa (Russia)*, p 53
21. **Kurchii BA** (1996) A study of the antioxidative activity of abscisic acid. *In From Molecular Mechanism to the Plant. An Integrated Approach, Plant Physiology and Biochemistry. Special Issue: 10th FESPP Congress, Florens, Italy, September 9–13, 1996*, S20–01
22. **Wise RR, Naylor AW** (1987) Chilling-enhanced photooxidation. The peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure. *Plant Physiol* **83**: 272–277
23. **Mudd JB, Freeman BA** (1977) Reaction of ozone with biological membranes. *In SD Lee, ed, Biochemical effects of environmental pollutants. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI*, pp 97–103
24. **Mustafa MG** (1990) Biochemical basis of ozone toxicity. *Free Radical Biol Med* **9**: 245–265
25. **Pino ME, Mudd JB, Bailey-Serres J** (1995) Ozone-induced alterations in the accumulation of newly synthesized proteins in leaves of maize. *Plant Physiol* **108**: 777–785
26. **Pryor WA, Church DF** (1991) Aldehydes, hydrogen peroxide, and organic radicals as mediator of ozone toxicity. *Free Radical Biol Med* **1**: 41–46
27. **Gogorcena Y, Iturbe-Ormaetxe I, Escuredo PR et al** (1995) Antioxidant defenses against activated oxygen in pea nodules subjected to water stress. *Plant Physiol* **108**: 753–759
28. **Prasad TK, Anderson MD, Stewart CR** (1994) Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. *Plant Physiol* **105**: 619–627
29. **Ingold CK** (1969) Structure and metabolism in organic chemistry. Cornell University Press, Ithaca and London
30. **Nonhebel DC, Walton JC** (1974) Free-radical chemistry. University Press, Cambridge
31. **Lazar M, Ruchly J, Klimo V et al** (1989) Free radicals in chemistry and biology. CRC Press Inc, Boca Raton and Florida
32. **Larson RA** (1988) The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* **27**: 969–978
33. **Sies H, Cadenas E** (1983) Biological basis of detoxification of oxygen free radicals. *In J Caidwell, WB Jacoby, eds, Biological basis of detoxification. Academic Press, New York*, pp 181–123

МЕМБРАННЫЕ АСПЕКТЫ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ БИОРЕГУЛЯТОРОВ НЕБЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ *

Б. А. Курчий

Институт физиологии растений и генетики АН УССР, ул. Васильковская 31/17, Киев

ВВЕДЕНИЕ

Любой живой организм в больших или меньших количествах синтезирует вещества, регулирующие его рост. У животных организмов такие вещества называются гормонами, у растений – фитогормонами. Гормоны – обычно сложные белковые соединения, фитогормоны относительно просты, о чем свидетельствует их небольшая молекулярная масса – от 28 (у этилена) до 346 (у гибберелловой кислоты).

Сейчас известно огромное количество природных регуляторов роста и их синтетических неорганических и органических аналогов [40, 41, 42, 71], которые могут оказывать влияние на физиологические функции живых организмов. Наконец, регулировать рост можно различными физическими факторами: видимым светом [66], ультрафиолетовым [81] и рентгеновским излучениями [18, 49], физическими полями (магнитными и электрическими) и др. [4, 99].

Хорошо известные регуляторы роста растений β -индолилуксусная кислота (ИУК), гибберелловая кислота (ГК), кинетин (ЦК) и др. в малых количествах являются стимуляторами, тогда как в больших – ингибиторами ростовых процессов у растений [21, 61, 90, 103, 117, 128, 135]. Такие ингибиторы ростовых процессов как фенольные соединения [101], абсцизовая кислота (АБК) [101], этилен [75] в очень малых количествах стимулируют ростовые процессы [28, 80, 105]. Стимулирующее действие установлено также и для гербицидов [24, 32, 70, 142]. Стимулирующим [23, 114] или ингибиторным [44] действием на растения обладают антибиотики. Ряд веществ (рутин, кверцетин, дикумарин и др.), известных как ингибиторы роста растений, являются химиотерапевтическими препаратами [40, 41]. Целый класс производных мочевины используется и как гербициды на растениях, и как противоопухолевые препараты на животных [73].

Имеется огромный экспериментальный материал о взаимодействии стимуляторов и ингибиторов роста. Так, пропилгаллат снимал ростингибирующее действие бензиладенина, зеатина, 2,4-Д и этилена в опытах с корнями пшеницы, огурца и льна [136]. АБК снимала или ослабляла ростингибирующее действие нафтилуксусной кислоты (НУК) [111], озона [98], ГК [123] и гербицида эндотала [121]. Ингибирующее действие АБК устранялось салициловой кислотой [79], кинетином [120, 137] и фузикоцином [45]. Вообще природные регуляторы роста растений обладают уникальной способностью снимать или ослаблять ростингибирующее действие различных ингибиторов, в том числе и АБК, на прорастание семян [65]. Бензойная кислота, известная как ингибитор роста микроорганизмов [40, 41], в малых концентрациях стимулирует, а в больших ингибирует рост растений [76]. Стимулирующее действие кинетина на образование антоцианов снижалось веществами фенольной природы [89, 96].

Таким образом, если вещества с различной химической структурой, а также различные физические факторы, вызывают у живых организмов однотипные ответные реакции, можно предположить, что либо первичное действие их однотипно, либо различно, но образовавшиеся вторичные продукты метаболизма обладают сходным действием. В любом случае, все контролируемые организмом процессы обмена веществ осуществляются через клеточные мембраны – сложные самоорганизующиеся системы,

* Опубликовано в: **Курчий Б. А.** (1988) Мембранные аспекты механизма действия биорегуляторов небелковой природы. Препринт Института физиологии растений и генетики АН УССР, № 5Р, с. 1–43.

согласованные биохимические процессы которых объединены общим понятием – “полупроницаемость мембран”.

В данном обзоре рассмотрены вопросы действия регуляторов роста небелковой природы на мембранные системы клеток и мембраносвязанные ферменты.

КРАТКАЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАННЫХ СТРУКТУР КЛЕТОК

Мембраны являются важнейшими биологическими элементами живых организмов. Им присуща избирательная проницаемость и они окружают клетку, ее органеллы (митохондрии, хлоропласты, лизосомы и др.), образуя специализированные компартменты. Биологические мембраны выполняют важнейшие функции: барьерные, транспортные, осмотические, электрические, энергетические, структурные, биосинтетические, секреторные, пищеварительные и др.

Являясь высокоорганизованными и специализированными образованиями, мембраны функционируют как комплексы с ферментами и обеспечивают нормальную жизнедеятельность клетки. В клетках животных сейчас известны ряд мембраносвязанных ферментов: Na, K⁺-АТФаза [97], Mg²⁺-АТФаза [118], Ca²⁺- АТФаза [109], моноаминоксидаза [84], аденилатциклаза [119], цитохромоксидаза [87], липаза [129], НАДН-дегидрогеназа [43] и др.

Свойства мембраносвязанных ферментов зависят от липопротеинового окружения, т.е. определяются физико-химическими свойствами мембран. Состояние липидной фазы определяется степенью насыщенности и положением двойных связей, длиной углеводородных цепей. Фосфолипиды, являясь структурным элементом мембраны, могут способствовать прикреплению к мембране и участвовать в стерических модификациях ферментов, изменяя таким образом активность последних [6, 16, 39]. Углеводородная часть липидов создает неполярное окружение, необходимое для укладки и пространственной ориентации пептидных цепей в мембранах. Функционирование ядерных мембран, через которые осуществляется связь между генетическим аппаратом и цитоплазмой, по-видимому, также определяется физико-химическим состоянием как мембран, так и мембраносвязанных ферментов. АТФазная активность обнаружена в мембранах ядер большинства клеток [6, 16, 17, 39, 59]. При этом нарушение целостности мембран, например, вследствие частичного удаления холестерина, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина сопровождается снижением АТФазной активности.

Функциональная активность мембранных белков определяется их высокой конформационной лабильностью [16, 39]. Мембранные белки выполняют различные функции: белки-рецепторы, белки-антитела, определяющие иммунную реакцию, а также структурные белки. Структурные белки могут объединяться в ансамбли, образуя микротрубочки и микрофиламенты. Установлено, что нарушение контакта белок-фосфолипид, модификация тиоловых групп и липидов приводит к нарушению полупроницаемости мембран [122].

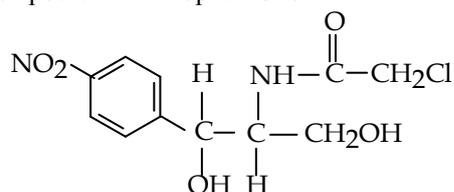
Таким образом, мембраны – это универсальный способ регуляции активности белковых ферментов, функционирующий как единый механизм регуляции физиологических процессов в клетке. Этот механизм связан с изменением микровязкости мембраны и ее способности к изменению объема. Модификация мембран, а следовательно и их функций, происходит под воздействием различных химических и физических факторов. Однако функция мембран – ограничивать живое от неживого (поддерживать химический гомеостаз) должна оставаться постоянной.

СВЯЗЬ МЕЖДУ СТРУКТУРОЙ И АКТИВНОСТЬЮ БИОРЕГУЛЯТОРОВ

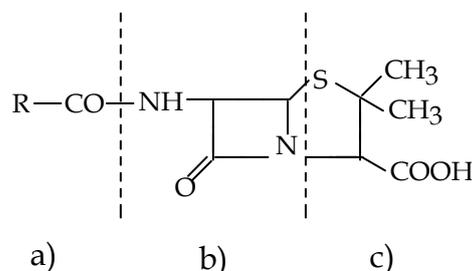
Функции эндогенных регуляторов роста в живом организме тесно связаны с ростовыми процессами. Между тем, первичные реакции ростовых процессов с участием биорегуляторов исследованы фрагментарно и не дают полного представления о конкретной роли того или иного регулятора роста и о связи его структуры с биологической активностью. Известно несколько методов исследования связи между молекулярной структурой и биологической активностью химических соединений [60]. И хотя с помощью этих методов нельзя получить прямых сведений о механизме взаимодействия, обуславливающего активность, однако они позволяют решать важные задачи: конструирование химиотерапевтических препаратов, эффективных и безопасных гербицидов и пестицидов. Следует

отметить, что количество регуляторов роста для которых установлена связь между химическим строением и биологическим действием невелико. Ниже мы рассмотрим закономерности, установленные для биологической активности некоторых регуляторов роста живых организмов.

Хлорамфеникол. Любые изменения в алифатической части молекул ведут к снижению или исчезновению активности, тогда как изменения в ароматической – не влияют на активность антибиотика [30].

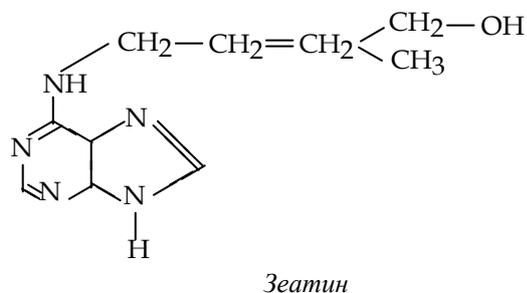
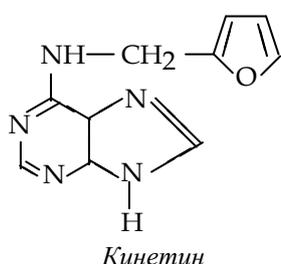


Бета-лактамы антибиотика. В структурной формуле этих антибиотиков выделяют три части: а) боковая часть, б) β-лактамное кольцо и в) тиазолидиновое кольцо [37]. Чтобы антибиотики сохраняли активность, β-лактамное кольцо должно быть неразомкнутым.



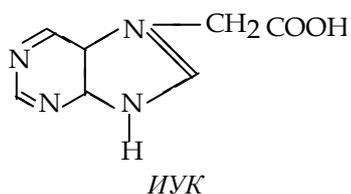
Цитокинины. Активность цитокининов зависит от длины алифатического радикала. По данным Скуга [132] и Кураиси [106] наибольшей активностью обладали вещества с длиной радикала в 4–6 атомов углерода, активность цитокининов исчезала при 10–12 атомах углерода в цепи радикала [131]. Биологическое действие цитокининовых соединений увеличивалось при наличии в радикале ненасыщенных двойных связей или при введении заместителя в положении–2 [31, 106]. Активность цитокининов снижается [31, 106, 131, 132, 133]:

- 1) При удалении метиленового мостика между аминогруппой 6-аминопурина и бензильным кольцом радикала;
- 2) При введении заместителей в *мета*- или *пара*-положение бензольного кольца;
- 3) При насыщении двойной связи в радикале;
- 4) При замещении аминогруппы у шестого атома углерода пуринового кольца на тиогруппу;
- 5) При насыщении двойных связей в гетероцикле.



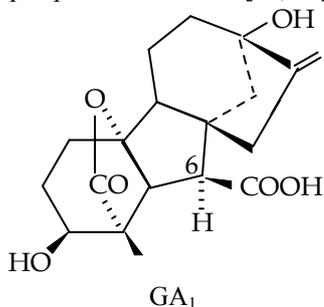
Важное значение для проявления цитокининовой активности, например 1-метил-6-бензиламинопурина, имеет первое положение пуринового кольца, т.к. введение сюда радикала приводит к снижению биологической активности этого соединения [132]. В принципе любые модификации пуринового кольца ведут к изменению биологической активности цитокининов [82, 124, 132].

Ауксины. Анализ структуры этих веществ показывает, что всех их объединяет наличие метиленового мостика, который связан с двумя углеродами (или кислородом) с сопряженными связями. Наличие этих структур, а главное, хотя бы одного атома водорода у метиленового мостика, связанного с сопряженной системой, является необходимым условием для проявления биологической активности, т.к. замена двух



атомов водорода другими более объемными радикалами делает вещества инертными (или слабо активными) [12, 126]. Хлорирование ауксинов приводит к возрастанию их активности [126].

Гиббереллины. Для проявления биологической активности гиббереллинов необходимо, чтобы у третичного C₆-атома углерода водород занимал α-положение, один заместитель был карбоксильной группой, а другой углерод связан с мостиковой (или сопряженной) системой [136]. Замена водорода у C₆-атома углерода на другой более объемный радикал ведет к потере биологической активности соединения [83]. Стерическое положение гидроксильных групп также важно для активности гиббереллинов. На примере GA₁ показано, что 3-гидроксил должен занимать β-положение, ибо ее α-эпимер теряет активность [86, 91].



По видимому, эффект β-стерического положения гидроксильных групп вызван тем, что α-положение затрудняет как переход гиббереллинов в свободнорадикальное состояние (отрыв атома водорода от C₆-атома углерода), так и взаимодействие этого свободного радикала с другими молекулами.

Таким образом, все рассмотренные выше биорегуляторы характеризуются обязательным наличием активного атома водорода: для хлорамфеникола, β-лактамовых антибиотиков, кинетина, зеатина и ИУК при атоме азота >N-H и для GA₁ – при атоме углерода >C-H.

МЕХАНИЗМЫ ТРАНСФОРМАЦИИ БИОРЕГУЛЯТОРОВ В СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

В настоящее время свободнорадикальные механизмы действия известны для большого количества регуляторов роста: антибиотиков, противоопухолевых препаратов [48], гербицидов [112] и др. По определению свободные радикалы (СР) – частицы, несущие неспаренный электрон [46, 53, 54, 56, 63]. Они могут быть положительно заряженными, отрицательно заряженными и нейтральными. Как реакционно-способные частицы, они играют важную роль в биологических процессах [2, 3, 57, 58]. Поэтому мы не будем останавливаться на механизме действия свободных радикалов, а кратко рассмотрим основные причины и условия образования свободных радикалов из биологически активных веществ.

В общем виде образование свободных радикалов представляет собой процесс:

а) распада молекулы, например, галогена



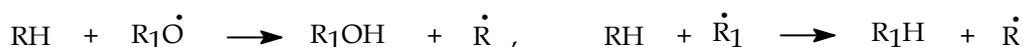
б) одноэлектронного восстановления соединения, например, металлами



в) одноэлектронного окисления соединения, например, окисными солями меди, железа, кобальта и др.



г) отщепления атомов водорода (или других атомов, групп атомов) от молекулы при атаке другим радикалом



Скорость образования СР зависит от замещения у С-атома (или другого атома), образующего радикал. При этом, чем сильнее замещен такой атом, тем большую роль играет понижение напряжения, связанное с переходом от тетраэдрической к плоской конфигурации. Атомы водорода легче отщепляются от третичного углерода, чем от вторичного, а от вторичного углерода – легче, чем от

первичного [13, 26, 27, 46, 53, 54, 56, 63]. Это хорошо видно на примере отщепления водорода радикалом от $-\text{CH}_3$ и $-\text{CF}_3$ [46, 56]. В этих реакциях наибольшая реакционная способность третичного углерода $-\text{CF}_3$ объясняется тем, что третичная связь $\text{C}-\text{H}$ наименее прочная, а скорость реакции определяется прочностью разрывающейся связи.

Установлено также, что скорость отрыва водорода метильными радикалами от азота больше, чем от углерода. Более того, скорость реакции увеличивается при переходе от первичного к вторичному амину. Например, относительные скорости отщепления водорода от NH_3 , CH_3NH_2 и $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$ равнялись 1, 11 и 168 соответственно [46]. При этом соотношение между реакционными способностями первичных, вторичных и третичных связей $\text{C}-\text{H}$, а также первичных и вторичных связей $\text{N}-\text{H}$ остается неизменным в реакциях отщепления водорода независимо от природы атакующего радикала. Отсюда ясно, что прочность разрывающейся водородной связи играет главную роль при переходе ростовых веществ в свободнорадикальное состояние (СРС).

Реакционная способность СР определяется следующими факторами [46, 53, 54, 56, 63]:

- 1) Чем выше степень делокализации неспаренного электрона, тем меньше спиновая плотность в радикальном центре, а значит реакционная способность радикала;
- 2) Наличие объемистых групп у радикального центра может сильно понизить реакционную способность радикала, поскольку затрудняется подход к нему других молекул.

Реакционная способность СР взаимодействовать с другими радикалами зависит от полярности переходного состояния, доступности реакционного центра, сопряжения связи, индуктивного эффекта, стерического и температурного факторов [46, 53, 54, 56, 63].

Если атом водорода связан с атомом углерода (связь $\text{C}-\text{H}$), то он с большим трудом отрывается и замещается на металл. Атом водорода, связанный с кислородом (связь $\text{O}-\text{H}$) более подвижен и относительно легко отщепляется металлами. Если же атом водорода связан с атомом галогена, то разрыв связи происходит даже под влиянием воды. Такое различие в прочности связей обусловлено различной полярностью и поляризуемостью межатомных связей. Полярность связи определяется способностью атомов в молекуле притягивать к себе электроны, т.е. электроотрицательностью. При этом атом тем сильнее притягивает электроны, чем больше его электроотрицательность. По относительной величине электроотрицательности наиболее важные в биохимии элементы приведены в табл. 1 [52].

Таблица 1
Относительные величины электроотрицательности атомов

Химический элемент	Относительная величина электроотрицательности
F	4,0
O	3,5
Cl	3,0
N	3,0
Br	2,3
S	2,5
C	2,5
J	2,4
P	2,1
H	2,1

Из данных таблицы следует, что чем меньше электроотрицательность атома, тем труднее оторвать от него электроны и, таким образом, деформировать его электронную оболочку, т.е. поляризовать ее. Рассмотрим это на следующем примере. Если X электроотрицательный атом или электроотрицательная группа атомов, то связь $\text{C}-\text{X}$ поляризована так, что X является отрицательным концом диполя, а углерод положительным. Ввиду того, что углерод несет положительный заряд, то электронная пара, связывающая его с соседним атомом углерода смещается по направлению к первому C-атому, что в свою очередь вызывает оттягивание электронной пары от атома (или группы атомов) водорода:



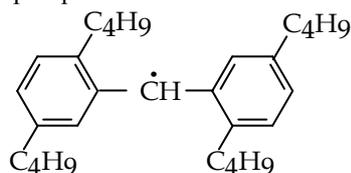
Полярные эффекты оказывают существенное влияние на реакции радикалов вследствие разделения зарядов в переходном состоянии. Если заряды делокализуются соседними заместителями, то энергия переходного состояния понижается и реакция протекает легче [13, 26, 27, 46, 53, 54, 55, 56, 63, 64].

В свободнорадикальных реакциях не менее важным фактором является также доступность реакционного центра, которая зависит от размера и числа объемных заместителей вблизи него и от

конформации молекулы. Стерические факторы играют существенную роль в стабилизации радикалов. В частности для триарилметильных радикалов установлено [46] что:

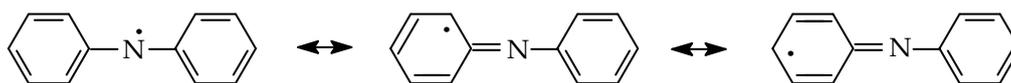
- 1) Стабильность радикала повышается в большей степени при введении заместителя в *орто*-, чем в *пара*- и *мета*-положения;
- 2) Стабильность радикала повышается с ростом количества и размеров *орто*-заместителей;
- 3) Стабильность радикала очень высока, если во всех трех фенильных кольцах в *пара*-положении имеются объемные заместители.

Объяснение этому может быть то, что возрастание числа *орто*-заместителей усиливает экранирование радикального центра и тем самым предотвращает возможность быть атакованным другим радикалом. В то же время замещение во всех трех *пара*-положениях трифенилметильного радикала на объемистые группы делает атаку соседнего радикала на этот радикал невозможной. Такая же закономерность характерна и для диарилметильных радикалов, например, для бис-2,5-дитретбутилфенилметильного радикала [46]. Таким образом, для стабильности триарилметильных

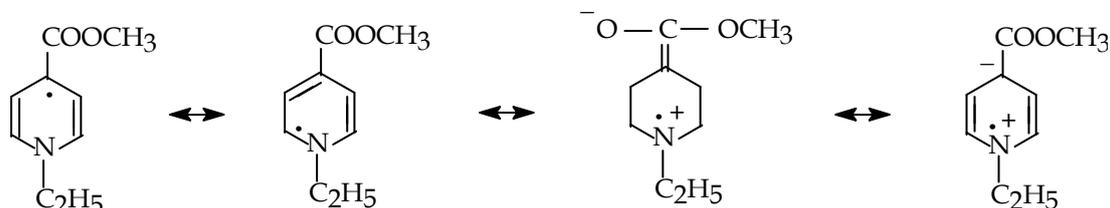


радикалов главная роль принадлежит стерическим факторам. Делокализация неспаренного электрона для этих радикалов менее важна. В то же время стабильность диариламино радикалов определяется локализацией неспаренного электрона по ароматическим кольцам.

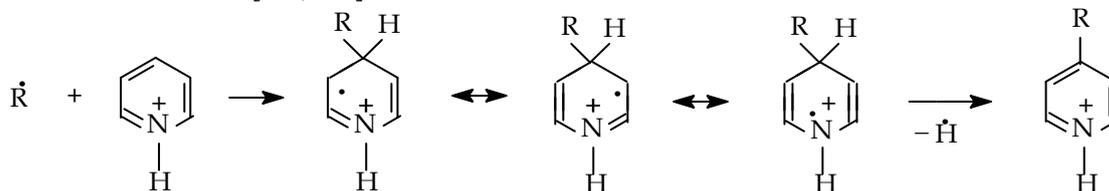
Она повышается при введении электронных заместителей и снижается при наличии электроноакцепторных заместителей [46, 53, 54, 56, 63], тогда как стабильность триарилметильных радикалов растет в присутствии заместителей любого типа:



Стабильность соединений, содержащих четвертичный атом азота в гетероцикле (например, пиридолов), объясняется резонансом большого числа энергетически близких валентных структур [46, 53, 54, 56, 63]:



Кроме того, электроноакцепторный заместитель в положении 4 пиридила, понижая плотность в гетероцикле, стабилизирует радикал. Аналогичное влияние оказывают электроноакцепторные группы в положении 2 и 6. Взаимодействие нуклеофильных радикалов с протонированными гетероциклическими основаниями приводит к продуктам гомолитического замещения. Биологическая активность такого типа радикалов очень высока [112, 131].



Следовательно, как электронодонорные, так и электроноакцепторные заместители играют важную роль в стабилизации свободных радикалов. Эти две группы заместителей, или как принято называть заместители первого рода и заместители второго рода, приведены ниже:

- 1) Заместители первого рода (электронодонорные): галогены, алкильные группы, OH, NH₂, NHR, NR₂, OR, O⁻ – группы со свободными парами электронов;
- 2) Заместители второго рода (электроноакцепторные):



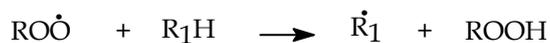
Заместители первого рода содержат атомы, имеющие неподельные пары электронов, облака которых легко смещаются в сторону бензольного кольца, увеличивая на нем электронную плотность в *орто*- и *пара*-положениях по отношению к первому заместителю. При наличии заместителей первого рода энергия активации для реакции замещения в *орто*- и *пара*-положениях оказывается ниже, чем в *мета*-положении.

Заместители второго рода понижают электронную плотность в *орто*- и *пара*-положениях и увеличивают в *мета*-положениях атомов углерода бензольного кольца. Эти заместители представляют собой группы с дробными или целочисленными положительными зарядами, оттягивающие электроны из кольца. Для таких заместителей энергия активации замещения в *мета*-положении меньше, чем в *орто*- и *пара*-положениях. Следовательно, водородные атомы в *мета*-положении наиболее подвижны.

Для наличия эффекта сопряжения необходимо, чтобы в положении 2 была двойная связь или ароматическое кольцо. Стерический эффект сопряжения проявляется только в α - и β -положениях.

Индуктивный эффект наблюдается по σ -связям и быстро затухает на α - и β -углеродных атомах.

Такие заместители в α -положении как фенил, $\text{CH}=\text{CH}_2$, MeS , Me_2N резко увеличивают скорость отрыва водорода [13, 26, 27, 46, 53, 54, 56, 63]. Циклопропильные группы также резко повышают стабильность радикала вследствие резонансного взаимодействия между циклопропильной группой и радикальным центром. Зависимость влияния электростатических и стерических факторов на скорость отрыва водорода показана на примере соединений в таблице 2. При этом реакция



протекает тем быстрее, чем стабильнее образующийся радикал $\dot{\text{R}}_1$ [46]. Как видно из таблицы 2 наиболее реакционный водород у стерически незатрудненных молекул, например, у дивинилметановой структуры. Эффект сопряжения у таких соединений наиболее сильный.

Таким образом, по-видимому, переход биорегуляторов в свободнорадикальное состояние *in vivo* происходит за счет отрыва водорода (очень редко других атомов). Легкость реакции отрыва водорода зависит от реакционной способности участвующего радикала и химического окружения водорода. Ослабление связи C–H в переходном состоянии и снижение энергии переходного состояния происходит за счет любых факторов, стабилизирующих первоначальный радикал. Скорость отрыва водорода также сильно зависит от α -заместителей: она тем больше, чем большей способностью к стабилизации радикала обладает α -заместитель.

Таблица 2. Относительная реакционная способность углеводородов в реакциях отщепления водорода перекисными радикалами при 30 °С [46].

Углеводород	Относительная реакционная способность
PhCH ₃	1,0
PhCH ₂ Ph	30
PhCH ₂ CH=CH ₂	63,0
PhCHMe ₂	2,3
PhCH ₂ CH ₂ Ph	2,0
CH ₂ =CHCH ₂ CH=CH ₂	88,0

ФУНКЦИОНАЛЬНО-АКТИВНЫЕ ГРУППЫ (ДЕСКРИПТОРЫ) БИОРЕГУЛЯТОРОВ

В ранее опубликованной нами гипотезе [35, 36] рассмотрены свободнорадикальные механизмы действия регуляторов роста небелковой природы. Все биорегуляторы небелковой природы можно разделить на две большие группы:

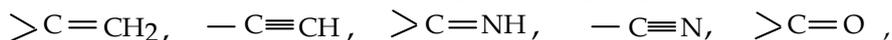
А. Источники свободных радикалов в клетке,

Б. Антиоксиданты.

К биорегуляторам первого типа относятся:

1. Вещества, легко распадающиеся в клетке с образованием CP, например, H₂O₂, галогены и галогениды;

2. Вещества, содержащие концевые ненасыщенные группы, например,

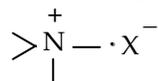


которые в результате реакций присоединения могут давать СР аналогично этилену;

3. Вещества, содержащие легко отщепляемый водород (табл. 3) у таких фрагментов молекулы (названные нами как функционально активные группы, дескрипторы):



4. Вещества, содержащие четвертичный атом азота в гетероцикле



5. Вещества с концевой аллильной группой, содержащей водород у третичного атома углерода.

К биорегуляторам второго типа относятся: токоферолы, фенольные вещества, абсцизовая кислота, простагландины, аскорбиновая кислота, вещества хиноидной природы и многие другие.

Таблица 3. Функционально-активные группы (дескрипторы) биорегуляторов

Функционально-активные группы (Дескрипторы)	Регуляторы роста растений	Химиотерапевтические препараты	Другие пестициды
$\begin{array}{c} =C-CH-C= \\ \quad \quad \end{array}$	ИУК	Тифен, димедрол	Атропин
$\begin{array}{c} =C-CH-O-C= \\ \quad \quad \end{array}$	Феноксикислоты	НА	НА
$\begin{array}{c} =C-CH-C-O- \\ \quad \quad \end{array}$	Эндотал	НА	НА
$\begin{array}{c} =C-NH-C= \\ \quad \end{array}$	Монурон	Фталазол	Мебенил
$\begin{array}{c} =C-N-CH-C= \\ \quad \quad \end{array}$	Карахол	Асалин	Металаксил
$\begin{array}{c} =C-NH-N= \\ \end{array}$	Триазолы	Фтивазид	Дразоксолон
$\begin{array}{c} >N-CH-N< \\ \end{array}$	Милон	Метазид	Тиабендазол
$\begin{array}{c} \text{Heterocycle} \\ \square \\ \text{NH} \end{array}$	Алкалоиды	Алкалоиды	НА
$=N-NH-N=$	Гербицид - 5175	НА	НА
$\begin{array}{c} >N-CH-C-O- \\ \quad \end{array}$	Дуал	Апрофен	Прохлораз
$-S-CH-N<$ 	НА	НА	Супрацид
$\begin{array}{c} =C-CH-S-P= \\ \quad \quad \wedge \end{array}$	Гербицид С - 19490	НА	Ометоат

Функционально-активные группы (Дескрипторы)	Регуляторы роста растений	Химиотерапевтические препараты	Другие пестициды
$\begin{array}{c} \text{—N=C— NH—S—} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \quad \quad \end{array}$	НА	Норсульфазол	Сульгин
$\begin{array}{c} =\text{C—S—CH—S—P=} \\ \quad \quad \quad \quad \quad \wedge \end{array}$	НА	НА	Фенкаптон
$\begin{array}{c} =\text{C—NH—C—C}\equiv \\ \quad \quad \end{array}$	Керб	НА	НА
$\begin{array}{c} =\text{C—NH—P=O} \\ \quad \quad \quad \wedge \end{array}$	НА	Бензотеф	Авенин
$\begin{array}{c} \text{—S—O—CH—C}\equiv \\ \quad \quad \end{array}$	НА	НА	Омит
$\begin{array}{c} =\text{C—S—CH—S—N}< \\ \quad \quad \end{array}$	НА	НА	Фенилтиометан-сульфамид
$\begin{array}{c} =\text{C—CH—S—C=} \\ \quad \quad \quad \end{array}$	НА	НА	Фторбензид
$\begin{array}{c} =\text{C—NH—C} \\ \quad \quad \quad \quad \begin{array}{l} \swarrow \text{CH}_2 \\ \searrow \text{CH}_2 \end{array} \end{array}$	Уротрокс	НА	НА
$\begin{array}{c} >\text{C—NH—C=} \\ \quad \quad \end{array}$	Геркулес - 7175	НА	НА
$\begin{array}{c} =\text{C—N—CH—C}\equiv \\ \quad \quad \end{array}$	НА	НА	Виандат В -24
$\begin{array}{c} =\text{C—CH—S—P=} \\ \quad \quad \quad \end{array}$	НА	Перхлораты	Китазин
$\begin{array}{c} \text{—S—CH—S—} \\ \end{array}$	НА	НА	Тимет
$\begin{array}{c} =\text{C—NH—C}< \\ \quad \quad \end{array}$	НА	β -лактамы антибиотики	НА
$\begin{array}{c} \Rightarrow\text{CH} \\ \text{концевая группа с} \\ \text{третичным атомом углерода} \end{array}$	Атразин	Тимол, ментол	НА

Примечание. НА – соединения с данной функциональной группой автору неизвестны.

БИОРЕГУЛЯТОРЫ – ИНИЦИАТОРЫ ПЕРЕКИСНОГО СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МЕМБРАН И ДРУГИХ БИОПОЛИМЕРОВ КЛЕТКИ

В последние годы накоплены обширные сведения о важной роли процесса свободнорадикального окисления липидов в различных биологических мембранах при возникновении и развитии многих патологических процессов [2, 3, 57, 58, 94,141]. Поэтому рассмотрение механизма действия СР на мембраны и другие биополимеры клетки в задачу данного обзора не входит. Остановимся на причинах инициации перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран.

Прямая зависимость между скоростью ростовых процессов в организме и содержанием регуляторов роста прослеживается до определенной концентрации (насыщенности) последних, дальнейшее увеличение которых сначала не сопровождается усилением ростовых процессов, а затем наступает торможение роста или гибель. Этот факт попытались объяснить рецепторно-конформационным принципом регуляции [38, 51, 95, 138]. Однако совершенно очевидно, что такая трактовка действия регуляторов роста не дает ответа на ряд вопросов. Почему, например, один и тот же биорегулятор действует и как стимулятор, и как ингибитор ростовых процессов [9, 25, 62]? Как известно, под рецептором понимают химические структуры соответствующих тканей мишеней, содержащие специфические места для связывания биорегуляторов, в результате чего происходит инициация биохимических реакций, необходимых для проявления конечного эффекта биорегулятора [38].

Если рецепторы действительно являются посредниками между регуляторами роста и биохимическими процессами, то их должно быть бесконечно много. Но это бессмысленно, ибо клетке пришлось бы непрерывно синтезировать несколько десятков тысяч белков. При попадании в клетку экзогенного биорегулятора только один из десятков тысяч белков должен бы связаться с ним и вызвать биологическое действие. Клетка бесцельно израсходовала бы огромное количество энергии и вещества. В действительности же этого не наблюдается.

По нашему мнению рецепторов регуляторов роста небелковой природы с такими свойствами, по-видимому, не существует. Однако те белки, которые активируют биорегуляторы, могут быть ферментными системами. Определенная роль в этих процессах может принадлежать цитохромам. Ферменты, захватывая чужеродные вещества (ксенобиотики), т.е. в нашем понимании регуляторы роста, при определенных условиях могут переводить их в свободнорадикальное состояние [35, 36]. Образовавшиеся свободные радикалы далее действуют самостоятельно и являются инициаторами перекисного окисления липидов клеточных мембран. Таким образом, биорегуляторы запускают цепные реакции окисления полиненасыщенных карбоновых кислот, а в дальнейшем при непрерывном увеличении СР в клетке происходит окисление белков, нуклеиновых кислот и полисахаридов, т.е. наблюдается результат действия регуляторов роста.

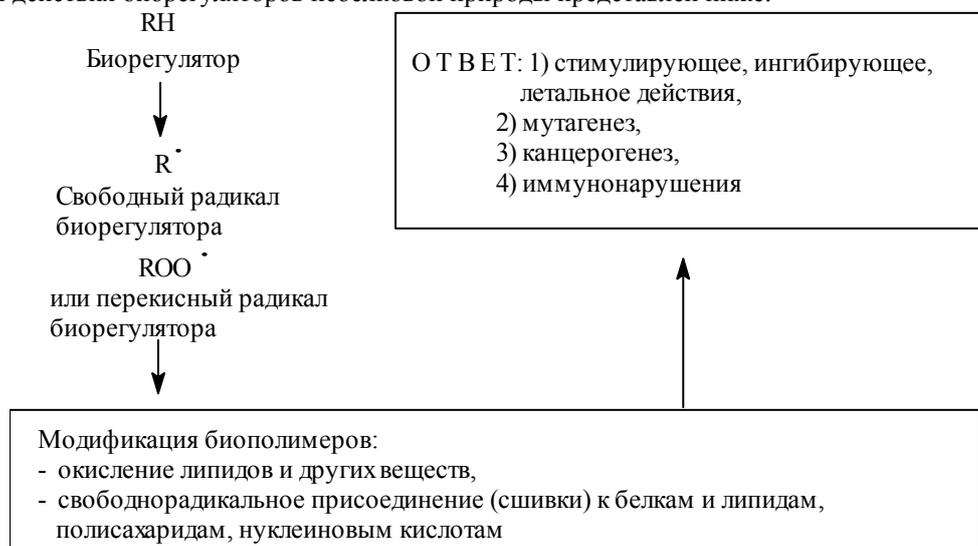
Ранее высказано предположение [29], что в активации биорегуляторов важная роль принадлежит цитохрому Р-450. Согласно предложенному механизму, в клетке с помощью цитохрома Р-450 образуются активные метаболиты: эпоксиды, СР, хиноны и др. В свою очередь, увеличение в клетке активных метаболитов ведет к повреждению самого Р-450. В этой связи неизвестно как все же образуются реакционно способные метаболиты после разрушения цитохрома Р-450.

Ковалентное связывание ксенобиотиков, ровно как и эндогенных биорегуляторов, с другими биополимерами является одним из путей их метаболизации в клетке. Как известно, реакции СР с другими веществами протекают без энергии активации [46, 53, 54, 56, 63]. И пожалуй, самое важное: не всякое чужеродное вещество (ксенобиотик) является регулятором роста. Биологической активностью обладают только те вещества, которые в структурной формуле имеют совершенно определенные функциональные группы (дескрипторы, табл. 3) [36]. Другие же вещества, не имеющие таких групп, также могут действовать токсически *in vivo*, но при одном принципиальном различии: для достижения аналогичного эффекта их потребуется взять в количестве намного большим, чем тех, которые обычно называются регуляторами роста.

Мы предполагаем, что универсальной для всех клеток системой является система клеточных мембран с встроенными в нее ферментами. С точки зрения принципа биологической универсальности мембраны являются компартаментами, разделяющими органеллы и одновременно обеспечивающие химический гомеостаз. Центральным звеном в этой системе является липидный слой, перекисное окисление ненасыщенных карбоновых кислот которого протекает непрерывно и является самым чувствительным звеном на любые изменения среды по обе стороны мембраны. Таким образом, липид-белковый комплекс выполняет хемоанализаторную и иммунорегулирующую функции. Изменением активности встроенных ферментов (оксидазных, АТФазных и других систем) мембраны поддерживают химический гомеостаз в клетке.

Разумеется, образование СР из ксенобиотиков и эндогенных биорегуляторов возможно еще до встречи с ферментами оксидазных систем. Поэтому роль последних в генерации активных СР еще предстоит выяснить. Нам представляется, что активация биорегуляторов при взаимодействии с другими свободными радикалами более предпочтительна. К тому же конъюгация биорегулятора с ферментами оксигеназной системы еще не доказательство, что именно после этого он становится активным. Мы полагаем, что клетка не разделяет вещества на “свои” и “чужие”, а жестко контролирует окислительно-восстановительные реакции ферментативно, по принципу обратной связи. Действие же биорегуляторов состоит в том, что они запускают неферментативные окислительно-восстановительные реакции, которые могут переходить в цепные реакции окисления [35, 36]. Разумеется, в этом случае клетке

нужно время для наработки веществ дезактиваторов (тушителей СР) или, наоборот, активаторов (разрушителей антиоксидантов). Поэтому деструктивный токсический эффект ксенобиотиков зависит от того как скоро клетка сумеет нейтрализовать действие последних. В самом общем виде первичный механизм действия биорегуляторов небелковой природы представлен ниже:



После инициации цепных реакций окисления дальнейшие события определяются только развитием свободнорадикальных реакций в клетке. Если удастся снизить уровень СР до исходного, клетка возвратится к прежнему физиологическому состоянию. В случае непрерывного увеличения количества СР в клетке происходит снижение количества антиоксидантов. Синтетические возможности клетки также резко падают и свободнорадикальные реакции принимают характер неконтролируемого процесса, что ведет к летальному исходу. Схематически эти процессы представлены на рис. 1 и 2.

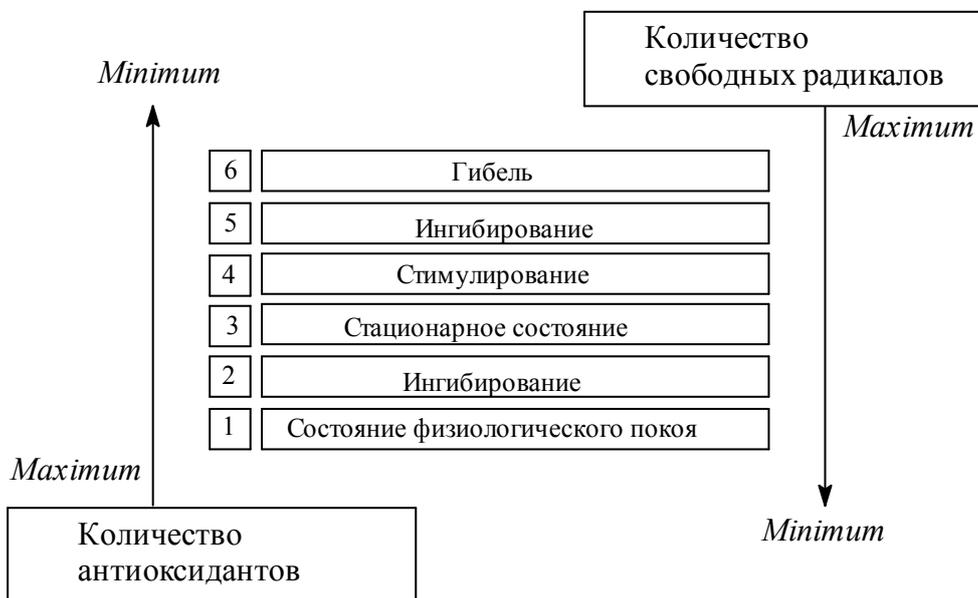
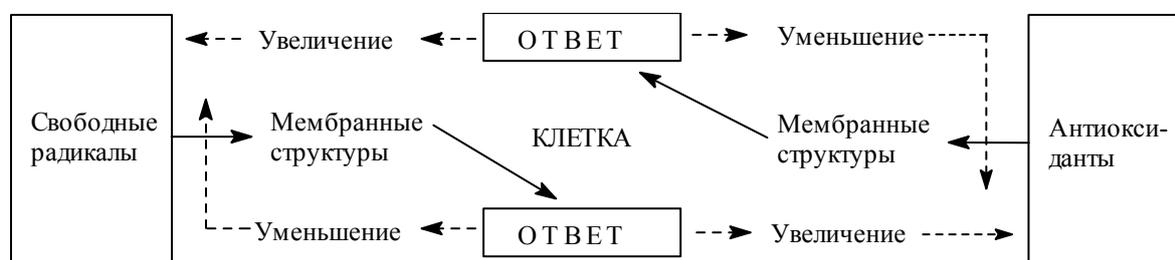


Рис. 1. Диаграмма взаимодействия свободных радикалов (СР) и антиоксидантов (АО) *in vivo*. Ингибирование ростовых процессов осуществляется: (1) увеличением количества СР (состояние 5) при неизменном уровне АО; (2) увеличением количества АО (состояние 2) при неизменном уровне СР.

Следует отметить, что биологическое действие СР отличается от такового АО: при снижении концентрации АО в клетке (состояние 1) до оптимальной (состояние 3) ростовые процессы возобновляются, тогда как неконтролируемое клеткой увеличение количества СР (состояние 6) ведет к необратимым изменениям. Этим и объясняется тот факт, что в зависимости от концентрации

биорегуляторов и физиологического состояния клетки одним и тем же регулятором роста можно вызвать как стимулирование, так и ингибирование ростовых процессов. Например, если клетка (организм) находится в состоянии 1, то введение веществ – источников свободных радикалов, приведет к стимулированию ростовых процессов, тогда как дальнейшее увеличение количества АО не изменит установившегося физиологического состояния. Однако введение АО в клетку (организм) в состоянии 5, снимает ингибирующее действие СР, что внешне и выражается в возобновлении ростовых процессов. Рассмотренный выше механизм действия биорегуляторов очень упрощен, но он отражает ход событий близкий к наблюдаемым в эксперименте.

Предложенный нами механизм действия биорегуляторов позволяет объяснить ряд экспериментальных данных, например, возобновление ростовых процессов после отмывки семян от АБК [140]. В другой работе показано, что АБК ингибировала рост клеток растений и образование растворимых форм фенольных соединений [1]. В этом случае и АБК, и фенольные соединения являются АО. При введении экзогенной АБК нарушается физиологическое равновесие между окислителями и восстановителями в сторону увеличения последних, что и ведет к торможению роста клеток и синтеза фенолов. В присутствии последних клетка уже не нуждается ибо имеется излишнее количество другого антиокислителя, т.е. АБК. Схематически изложенное выше можно представить так:



Тот факт, что относительно небольшие концентрации биорегуляторов действуют как активаторы синтетических процессов свидетельствует о том, что метаболические процессы в “норме” протекают в клетке не на самом высоком уровне и имеется возможность как для его усиления, так и снижения. В стимулирующих дозах биорегуляторы увеличивают пропускную способность многих метаболических путей, но только до определенного уровня.

Следует подчеркнуть, что регуляторы роста действуют одинаково как в делящихся (растущих), так и в дифференцированных клетках. Однако в случае растущих клеток инициация биорегуляторами неферментативных свободнорадикальных процессов резко увеличивает количество ошибок в синтезе биополимеров. Одновременно вследствие прямой атаки СР (перекисями) биополимеров происходит модификация последних: присоединение и удаление радикалов, окисление функциональных групп, образование сшивок и др. Неконтролируемое ферментами увеличение перекисей и СР приведет к необратимым нарушениям процессов транскрипции и трансляции, а в период митоза – разрушению митотического аппарата. К тому же биорегуляторы (в свободнорадикальном состоянии) влияют, прежде всего, на пассивный и активный транспорт электролитов через мембрану. На этих механизмах действия и базируется применение химиотерапевтических препаратов и пестицидов.

В работе Буадзе с соавт. [7] установлено, что витамины группы В уменьшали ингибирующее действие гербицида 2,4-Д на рост и развитие проростков кукурузы. По-видимому, в этом случае происходила рекомбинация СР, образующихся из регуляторов роста, результатом которой и является снижение общего уровня свободнорадикальных инициаторов ПОЛ в клетке как это показано на рис.3.

Не исключено также, что вследствие взаимодействия СР биорегулятора–1 с биорегулятором–2 образуется свободный радикал биорегулятора–2, но он может оказаться менее подвижным или менее активным. Кроме того, в клетке под воздействием биорегулятора–1 возрастает общее количество СР, которые при атаке биорегулятора–2 могут давать биологически мало эффективные свободнорадикальные продукты: $R_n^\circ + R_2H \rightarrow R_n-R_2^\circ H$. Следствием этих реакций является то, что суммарный биологический эффект смеси меньше, чем использование биорегуляторов в отдельности.

АНТИОКСИДАНТЫ И ПЕРЕХВАТЧИКИ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ

Анализ литературы [2, 3, 5, 35, 57, 58] показывает, что в организме животных и растений существуют носители избирательной информации о неблагоприятных процессах, происходящих в клетке. К ним относятся: токоферолы, глутатион, АБК, простагландины, стрессовые белки, а также ферменты супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза, пероксидаза и др. Всех их объединяет одна

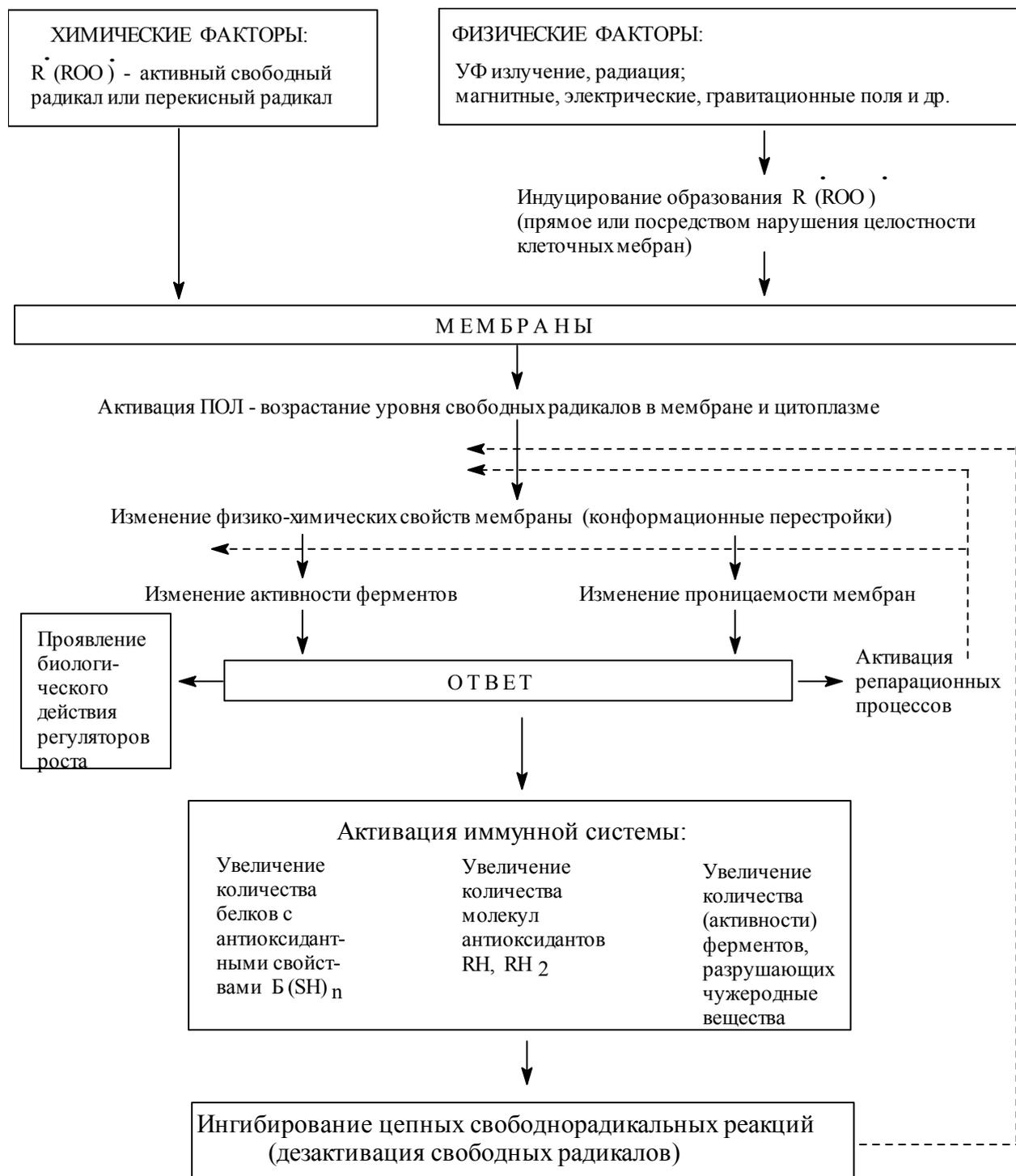


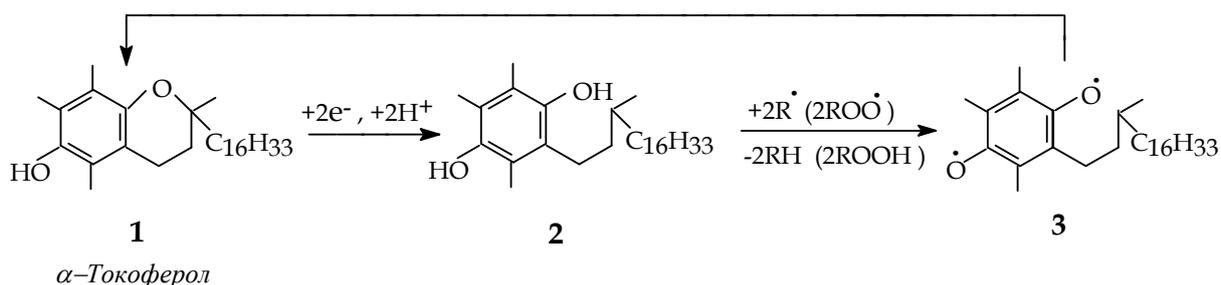
Рис. 2. Первичные биохимические пути действия биорегуляторов (химических и физических факторов).

характерная особенность: количество их в клетке резко возрастает под действием различных химических и физических факторов. Механизм, посредством которого осуществляется такой мощный синтез *de novo* (а возможно освобождение из связанных форм) неизвестный. Мы предполагаем, что АБК, простагландины и стрессовые белки являются антиоксидантами – перехватчиками свободных радикалов в клетке.



Рис. 3. Механизм радикал–радикального взаимодействия биорегуляторов.

Механизм действия α -токоферола. *In vivo* α -токоферол [17] восстанавливается (ферментативно) с образованием двух гидроксильных групп (2). При атаке свободными радикалами происходит отрыв двух атомов водорода и образование бирадикала (3). Вследствие внутримолекулярной перегруппировки с миграцией атома водорода образуется исходное соединение (1).



Такой механизм предполагает длительное функционирование α -токоферола как антиоксиданта только при наличии в клетке восстанавливающих агентов. Из-за отсутствия последних *in vivo* α -токоферол будет поочередно то окисляться, то восстанавливаться, окисляя другие вещества. Внешне это проявляется как отсутствие действия тушителя СР, или инициация цепных реакций автоокисления.

Простагландины – антиоксиданты липидного происхождения. Простагландины – биологически активные соединения, по химической природе – производные полиеновых карбоновых кислот [20, 47, 134]. Под воздействием различных химических и физических факторов количество простагландинов

резко увеличивается. Нам представляется, что образование простагландинов является ответной реакцией клетки на увеличение окислителей и гидроперекисей. В этом случае деятельность защитных аутоиммунных систем сводится к нейтрализации липоперекисей и СР путем их удаления из мембраны и превращения ферментативным путем в АО, т.е. простагландины. Механизм трансформации и действия простагландинов представлен на рис. 4 и 5.



Рис. 4. Механизм действия простагландинов группы $PGF_{2\alpha}$.

Абсцизовая кислота – антиоксидант растительного происхождения. Ранее нами высказано предположение, что биологическая активность АБК [110, 136] обусловлена ее антиоксидантными свойствами [34, 35, 36]. Для проявления биологического действия АБК (рис. 6, 1) должна превратиться в клетке в 1',4'-диол-АБК (2). При атаке последней свободными радикалами происходит отщепление двух атомов водорода (3), а затем вследствие внутримолекулярной перегруппировки и миграции атома водорода, преобразование ее в исходную форму (1). При наличии восстановителей в клетке функционирование АБК в режиме окисление-восстановление может быть длительным процессом.

При отсутствии в клетке достаточного количества восстанавливающих агентов, окисленная АБК превращается в другие формы и теряет биологическую активность. Этим и объясняется отсутствие антиоксидантных свойств АБК *in vitro*.

Стрессовые белки – возможные антиоксиданты. Стрессовые белки обнаруживаются в ответ на различные химические и физические воздействия [5, 11, 92, 77, 102, 104, 108, 115, 116, 125, 130, 139]. Мы предполагаем, что стрессовые белки являются белками (возможно ферментами) с

восстанавливающими свойствами (содержащие, например, сульфгидрильные группы) и выполняют роль дезактиваторов свободных радикалов).

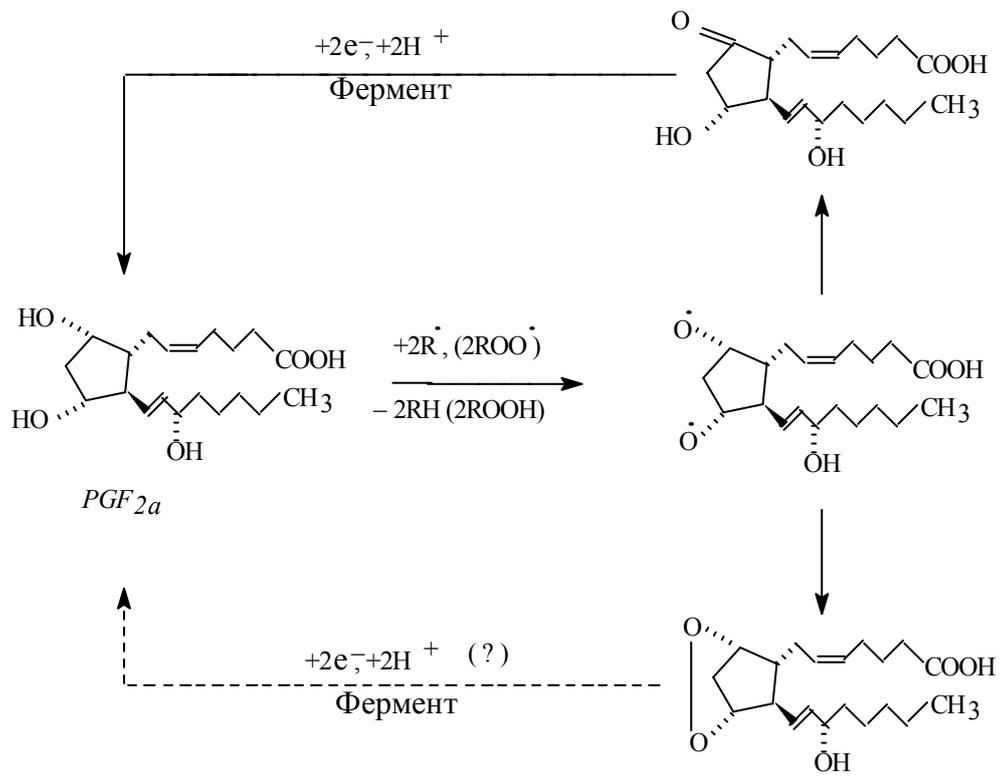


Рис. 5. Биохимические пути трансформации простагландинов *in vivo*.

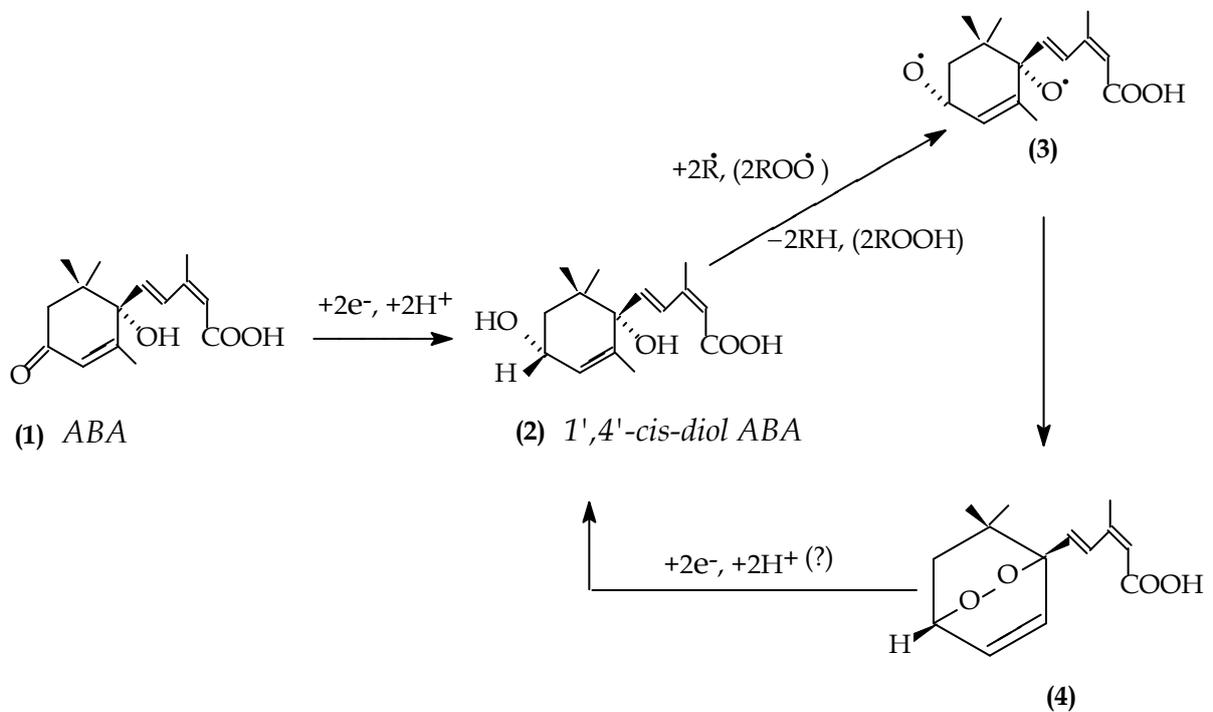
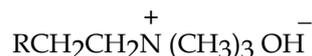


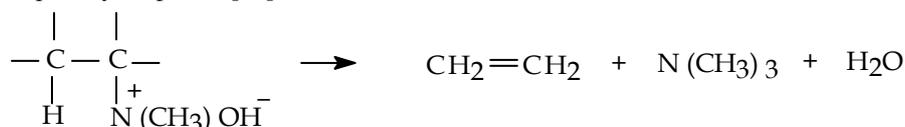
Рис. 6. Биохимические пути трансформации АБК *in vivo*.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ЭТИЛЕНА

Из всех ретардантов роста растений наиболее известный этилен [136], который использовался также и в медицине [19]. Ранее нами высказано предположение, что образование этилена наблюдается при разложении холина мембран [33, 35]. Холин, как и аминокислота, по химической природе являются четвертичными аммониевыми соединениями. Механизм реакции отщепления “ониевых” соединений в ряду четвертичных гидроокисей типа



происходит по правилу Гофмана [10].

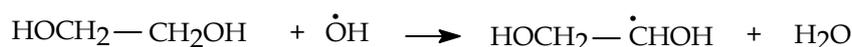


Аналогично распадается и хлорхолинхлорид (ССС) [33], который *in vivo* превращается в холин [22].

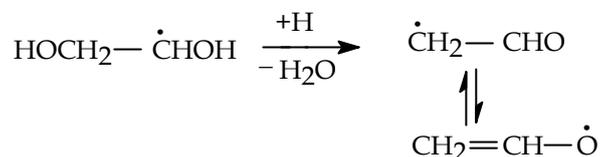
Установлено, что выделение из тканей этилена стимулируется ИУК [107, 143], озоном, кадмием, кобальтом и циклогексимином [100], а ингибируется большими концентрациями озона [100] и аминами [78, 113, 127]. Мы предполагаем, что ингибирование выделения этилена является не следствием ингибирования его образования, а следствием свободнорадикального связывания его с биополимерами клетки.

Ранее нами высказано предположение, что молекулярный механизм действия этилена обусловлен образованием *in vivo* свободнорадикальных продуктов [35, 36]. Ниже представляем возможные механизмы перехода этилена в свободнорадикальное состояние:

- 1) Образование свободнорадикального комплекса с алкоксирадикалами;
- 2) Присоединение атакуемого радикала по двойной связи. Образующийся радикал в результате присоединения перекисного радикала по двойной связи, может реагировать далее с кислородом или разлагаться с образованием оксирана и алкоксильного радикала. При этом окись этилена при взаимодействии с водой даст *транс*-гликоль.
- 3) Взаимодействие с гидропероксидом с образованием оксирана и гликоля;
- 4) Взаимодействие с атомарным кислородом;
- 5) Взаимодействие этиленгликоля с гидроксидом



В дальнейшем в результате кислотокатализируемой фрагментации может образоваться новый радикал

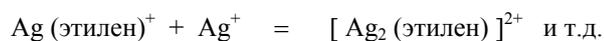
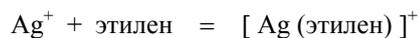


- 6) Взаимодействие с гидроксильными радикалами.

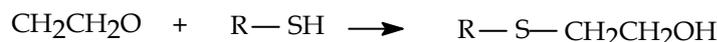
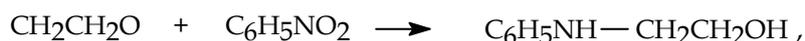
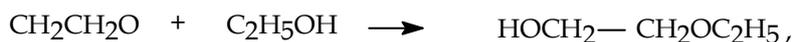
Для проявления биологического действия этилена необходимо наличие в среде кислорода [75]. При сравнении биологического действия меченого и не меченого (C_2D_4 и C_2H_4) этилена различий не было обнаружено [74]. Таким образом, необходимость в кислороде и отсутствие протонного эффекта указывают на то, что первичные реакции этилена на молекулярном уровне осуществляются по свободнорадикальному механизму.

Бейер [85] показал, ионы серебра ингибируют включение ^{14}C -этилена в ткани, но не влияют на его окисление до $^{14}\text{CO}_2$ и это хорошо совпадало с биологическим действием: чем меньше включение, тем меньше ингибирующее влияние на рост растений. Наоборот, CO_2 ингибировал окисление ^{14}C -этилена, но не влиял на его включение в ткани. Мы предполагаем, что в первом случае этилен мог образовывать

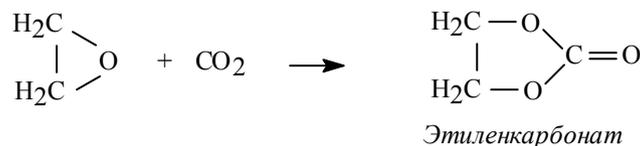
малоактивные (неподвижные) комплексы с ионами серебра. При этом реакция идет через образование промежуточного комплекса, который может распадаться с выделением этилена [67, 68].



Отсутствие выделения этилена во втором случае может быть обусловлено образованием комплекса оксирана этилена с окси- или сульфгидрильными группами других веществ.



Возможно также и прямое взаимодействие окиси оксирана этилена [50] с CO_2 . При этом образуется этиленкарбонат – активный метаболит, легко вступающий в реакции присоединения.

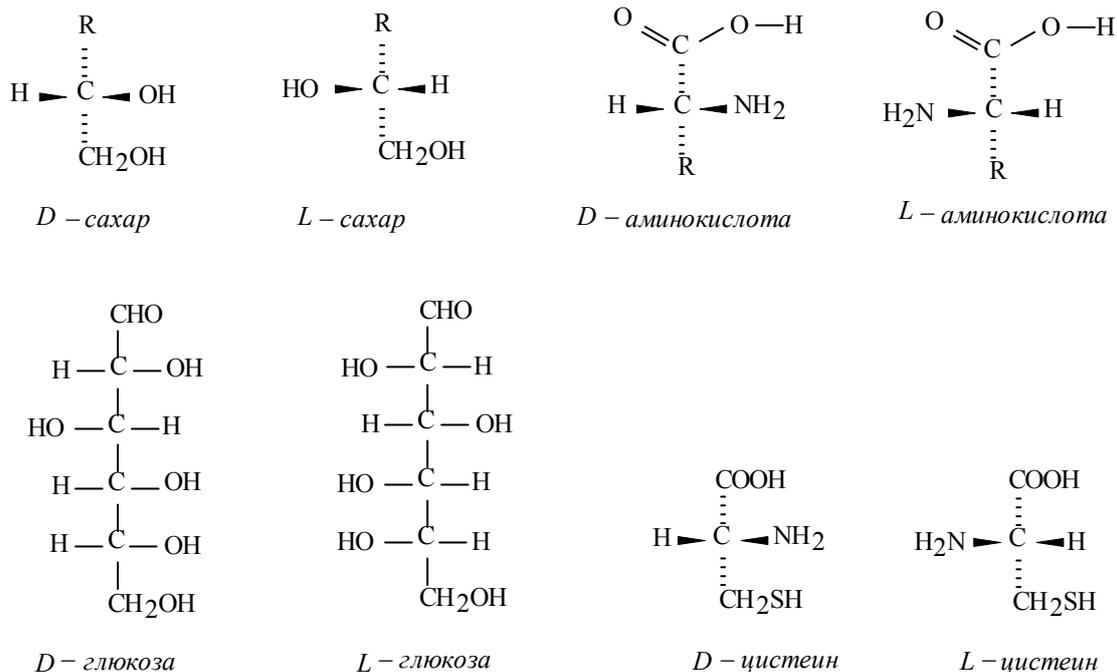


Механизм действия этилена аналогичен механизму действия других биорегуляторов. Из всех событий, происходящих в клетке под действием этилена наиболее важны, с точки зрения его способности повышать устойчивость злаков к полеганию, процессы лигнификации клеточных оболочек. Лигнификация у растений очень важный биологический процесс: он позволяет удалять феноксильные СР в виде нерадикальных полимеров фенолов без дополнительных энергетических затрат. Как известно взаимодействие СР происходит без энергии активации или при минимальной ее величине [13, 26, 27, 46, 56].

ХИРАЛЬНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ – ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ПРЕДПОЧТЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ С МЕНЬШЕЙ ЭНЕРГИЕЙ АКТИВАЦИИ

Известно, что когда в молекуле органического соединения атом углерода связан с четырьмя разными атомами или функциональными группами, то его называют асимметричным. Такой атом может существовать в двух изомерных формах, различающихся пространственной конфигурацией. Такие вещества называют энантиомерами. Энантиомеры (или стереоизомеры) различаются по способности вращать плоскость поляризации, но в химических реакциях ведут себя одинаково. Соединения с асимметричным атомом углерода получили также название хиральных [13, 17, 26, 27, 64].

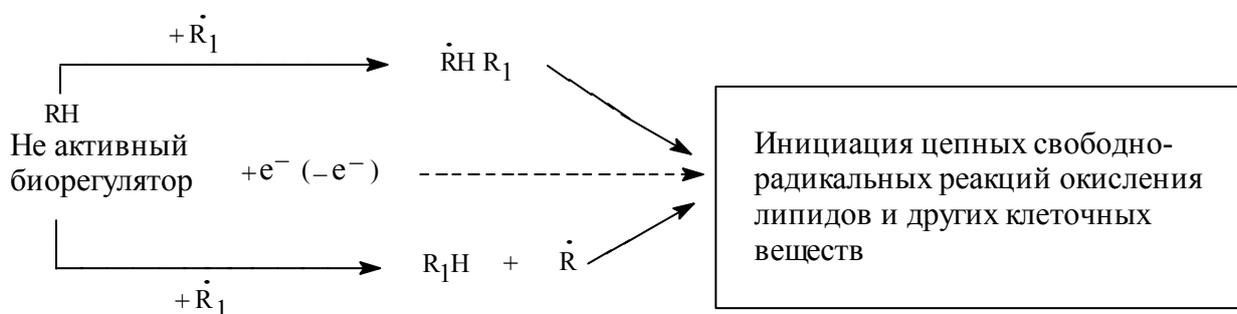
В живых организмах хиральные молекулы синтезируются таким образом, что отдается предпочтение только одной из двух возможных структур. Хиральность свойственна многим биомолекулам и играет важную роль в жизнедеятельности организмов. В первую очередь это характерно для аминокислот и моносахаров. Стереоизомеры хиральных соединений, соответствующие по конфигурации D–глицеральдегиду, обозначаются буквой D, а стереоизомеры, соответствующие L–глицеральдегиду, – буквой L. *In vitro* природные соединения, содержащие хиральный атом углерода, метаболизируются только в какой-нибудь одной стереоизомерной форме D или L. Например, белки синтезируются из L–стереоизомеров аминокислот, полисахариды – из моносахаров D–изомеров [47, 64].



Проанализировав формулы этих соединений, мы пришли к выводу, что в биологических системах при наличии в реакционной среде двух изомерных форм, предпочтение отдается той, у которой отрыв атома водорода (или другого радикала) требует меньшей энергии активации. Следовательно, работа фермента сводится к переводу двух этих веществ, участвующих в биохимической реакции, в свободнорадикальное состояние. Молекулы (атомы) в свободнорадикальном состоянии реагируют друг с другом без энергии активации. Однако, кроме энергии активации не менее важен и стерический фактор. У молекул L-аминокислот и D-моносахаров стерическое положение водорода не затруднено соседними радикалами в отличие от их соответствующих изомеров D-аминокислот и L-моносахаров.

ВОЗМОЖНЫЕ СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ БИОРЕГУЛЯТРОВ

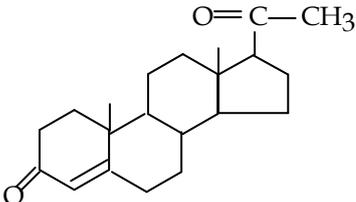
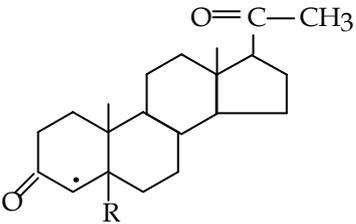
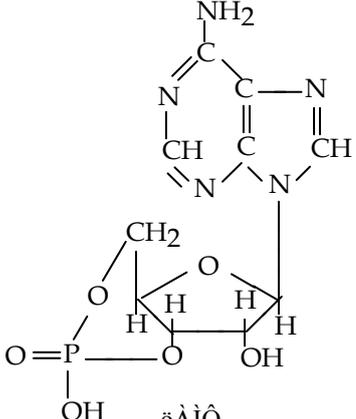
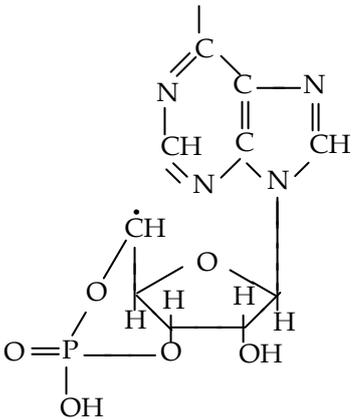
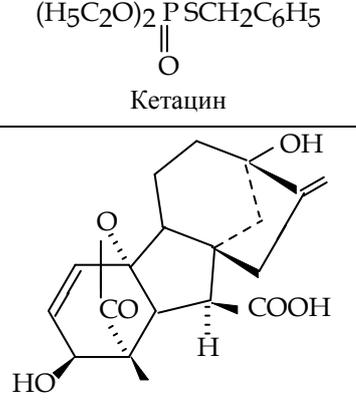
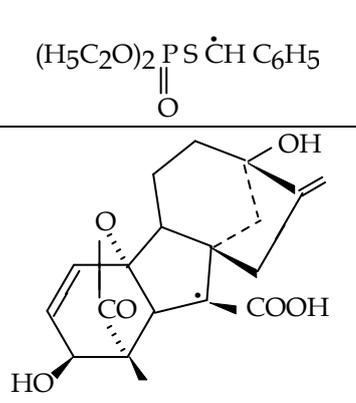
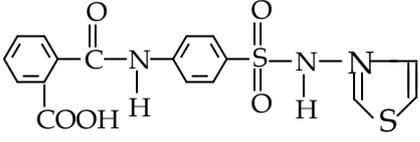
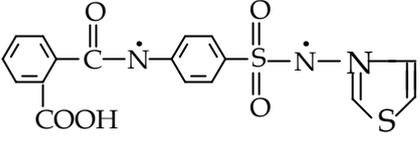
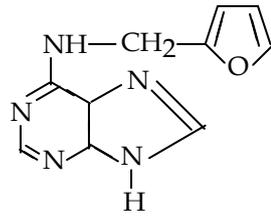
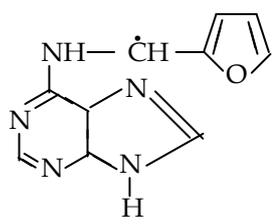
Вопрос об образовании свободных радикалов в биологических системах чрезвычайно важный. Четкое знание конкретной формы биорегулятора в свободнорадикальном состоянии позволило бы расшифровать их первичные механизмы действия на молекулярном уровне. Выше нами рассмотрены общие пути образования свободных радикалов из регуляторов роста, которые в общем виде можно записать:

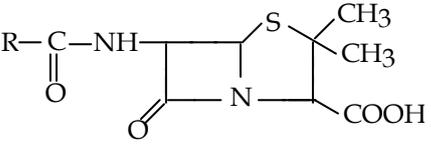
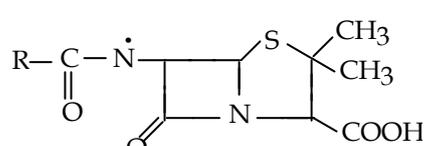
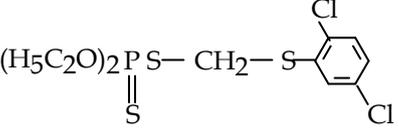
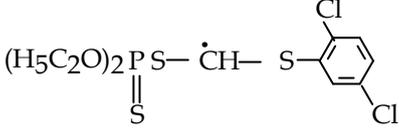
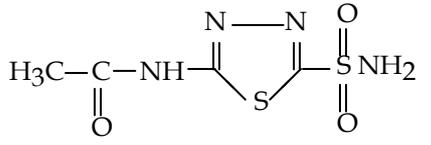
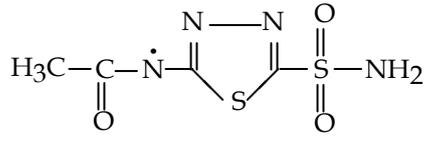
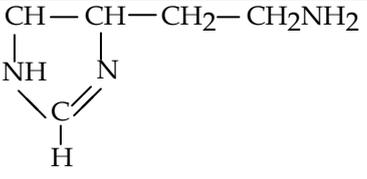
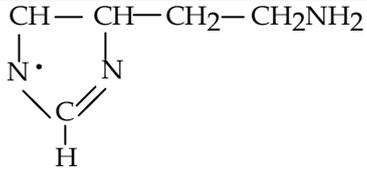
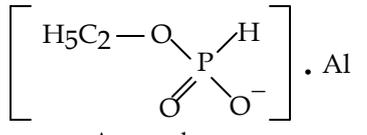
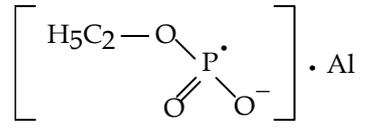
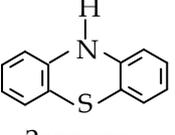
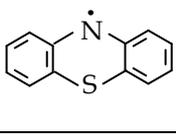
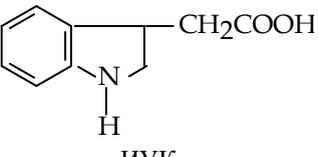
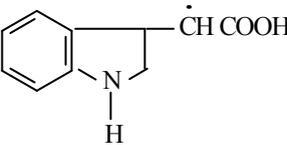
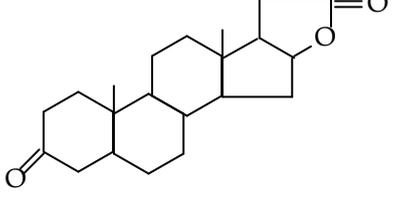
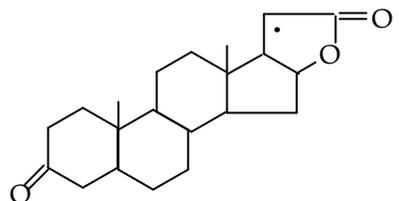
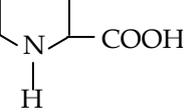
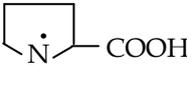


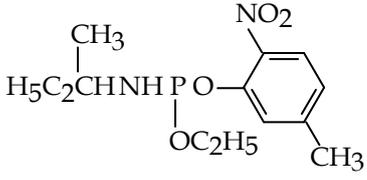
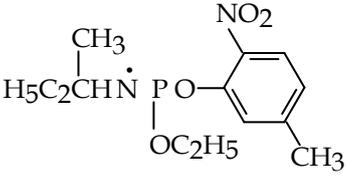
Возможные свободные радикалы различных биорегуляторов [8, 14, 15, 42, 69, 71, 72, 88, 93] представлены в таблице 4.

Таблица 4. Возможные свободные радикалы биорегуляторов

Исходный биорегулятор	Возможный свободный радикал биорегулятора
$\text{H}_5\text{C}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{C}_6\text{H}_3(\text{Cl})_2$ <p>Пропанил</p>	$\text{H}_5\text{C}_2-\text{C}(=\text{O})-\dot{\text{N}}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{Cl})_2$
$\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{H}_3)-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{C}_6\text{H}_3(\text{Cl})_2$ <p>Дикрил</p>	$\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{H}_3)-\text{C}(=\text{O})-\dot{\text{N}}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{Cl})_2, \quad \text{R}-\dot{\text{C}}(\text{H}_2)-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{C}_6\text{H}_3(\text{Cl})_2$
$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{J})_2-\text{C}\equiv\text{N}$ <p>Иоксинил</p>	$\dot{\text{O}}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{J})_2-\text{C}\equiv\text{N}$
$\text{O}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ <p>2,4-Д</p>	$\text{O}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{COOH}$
$\text{H}_7\text{C}_3-\text{N}(\text{H})-\text{C}_4\text{N}_2(\text{Cl})-\text{N}(\text{H})-\text{C}_2\text{H}_5$ <p>Атразин</p>	$\text{H}_7\text{C}_3-\dot{\text{N}}-\text{C}_4\text{N}_2(\text{Cl})-\text{N}(\text{H})-\text{C}_2\text{H}_5$
$\text{Cl}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{Cl})-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ <p>Диурон</p>	$\text{Cl}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{Cl})-\dot{\text{N}}-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{CH}_3)_2$
$\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})_2$ <p>Эндотал</p>	$\dot{\text{O}}-\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})_2$
$\text{H}_3\text{C}-\text{N}(\text{CH}_3)_2-\text{S}-\text{C}=\text{S}$ <p>Милон</p>	$\text{H}_3\text{C}-\text{N}(\text{CH}_3)_2-\dot{\text{S}}-\text{C}=\text{S}, \quad \text{H}_3\text{C}-\text{N}(\text{CH}_3)_2-\text{S}-\dot{\text{C}}=\text{S}$
$\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2=\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$ <p>ГМК</p>	$\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2=\text{CH}_2-\dot{\text{C}}=\text{O}, \quad \text{O}=\text{C}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{CH}=\text{C}=\text{O}$
$\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})(\text{OH})$ <p>Салициловая кислота</p>	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})(\text{O}\cdot)$

Исходный биорегулятор	Возможный свободный радикал биорегулятора
 <p>Прогестерон</p>	
 <p>$(\text{CH}_3\text{O})_2\text{PNHCOO}(\text{CH}_3)_2$</p> <p>Авенин</p>	 <p>$(\text{CH}_3\text{O})_2\text{P}\dot{\text{N}}\text{COO}(\text{CH}_3)_2$</p>
<p>$(\text{H}_5\text{C}_2\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$</p> <p>Кетацин</p>	<p>$(\text{H}_5\text{C}_2\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{S}\dot{\text{C}}\text{H}\text{C}_6\text{H}_5$</p>
 <p>ГК₃</p>	
 <p>Фталазол</p>	
 <p>Кинетин</p>	

Исходный биорегулятор	Возможный свободный радикал биорегулятора
 <p>β-лактамы антибиотики</p>	
 <p>Фенкаптон</p>	
 <p>Диакарб</p>	
 <p>Гистамин</p>	
 <p>Алюмофозетил</p>	
 <p>Зоотиазин</p>	
 <p>ИУК</p>	
 <p>Спиrolактин</p>	
 <p>Пролин</p>	

Исходный биорегулятор	Возможный свободный радикал биорегулятора
 <p style="text-align: center;">Бутамифос</p>	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные в обзоре данные свидетельствуют о лабильности структурной организации биологических мембран под воздействием эндогенных и экзогенных факторов. Эта организация определяется способностью чувствовать даже незначительные изменения физико-химического состояния, что позволяет вовремя вносить коррективы в функциональную деятельность как самой мембраны, так и тех компартментов, которые она образует. В таких мультикомпонентных системах локальные конформационные изменения мембран передаются на весь комплекс, определяя функциональную деятельность клетки, тканей и всего организма. Следовательно, динамическая структура неразрывно связана с биохимическим процессом так, что модификация биорегуляторами структуры мембран ведет к изменению каталитической активности сначала отдельных молекул, а затем субмолекулярных ансамблей, являющихся компонентами ее же структуры.

Учитывая тот факт, что цепные реакции окисления полиненасыщенных карбоновых кислот липидов идут в мембране непрерывно и как уменьшение, так и увеличение скорости окисления влияет на функциональную активность мембран, мы полагаем, что именно липиды и являются объектом первичной атаки биорегуляторами. Таким образом, любое вещество, которое превращается в клетке в активные свободные радикалы, будет изменять скорость течения свободнорадикальных процессов в мембране, а затем и в цитоплазме. В нормальном состоянии цепные реакции окисления липидов находятся под строгим ферментативным контролем. Когда же в мембране (цитоплазме) ксенобиотик запускает каскад неконтролируемых неферментативных реакций окисления липидов, то это незамедлительно сказывается на скорости ростовых процессов.

Таким образом, свободнорадикальные механизмы регуляции ростовых процессов, по-видимому, носят общебиологический характер и могут быть вызваны у животных и растений как химическими веществами (источники свободных радикалов), так и физическими факторами (свет, радиация, электромагнитные поля и др.), которые также индуцируют образование биологически активных свободных радикалов.

Многие наши предположения пока не имеют экспериментального подтверждения и базируются на отдельных фактах. Однако имеющиеся данные уже позволяют сделать выводы, что свободнорадикальные механизмы действия биорегуляторов и повреждения мембран должны занимать центральное место в мембранологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Багратишвили ДГ, Запрометов МН, Бутенко РГ (1984) Влияние абсцизовой кислоты на рост культуры клеток чайного листа и синтез в ней фенольных соединений. Физиология растений (Москва) **31**: 980–982
2. Биоантиокислители (1975). Труды Московского общества испытателей природы. Том LII. Издательство Наука, Москва
3. Журавлев АИ, ред. (1982) Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. Издательство Наука, Москва
4. Биологические механизмы и феномены действия низкочастотных и статических электромагнитных полей на живые системы (1984). Издательство Томского университета, Томск
5. Блехман ГИ (1987) Синтез белка в условиях стресса. Успехи современной биологии (Москва) **103**: 340–353
6. Болдырев АА (1986) Введение в биохимию мембран. Издательство Высшая школа, Москва

7. **Будзе ОА, Кахая МД, Кацитадзе КП, Заалишвили ГВ** (1987) Защитный эффект витаминов группы В при действии гербицида 2,4-Д на ультраструктурную организацию клеток растительного организма. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) **19**: 602–606
8. **Булкина ЗП** (1978) Противоопухолевые препараты. Справочник. Издательство Наукова думка, Киев
9. **Бурханова ЭА, Федина АБ, Кулаева ОН** (1985) Влияние цитокининов на синтез РНК в ядрах проростков тывквы. Доклады АН СССР (Москва) **283**: 243–246
10. **Вацуро КВ, Мищенко ГЛ** (1976) Именные реакции в органической химии. Издательство Химия, Москва
11. **Войников ВК, Иванова ГГ, Рудиковский АВ** (1984) Белки теплового шока растений. Физиология растений (Москва) **31**: 970–979
12. **Гамбург КЗ** (1976) Биохимия ауксина и его действие на клетки растений. Издательство Наука, Новосибирск
13. **Гауптман З, Грезе Ю, Ремане Х** (1979) Органическая химия. Издательство Химия, Москва
14. Государственная Фармакопея Союза Советских Социалистических Республик. Издание X. Издательство Медицина, Москва
15. **Грин МБ, Хартли ГС, Вест ТФ** (1979) Пестициды и защита растений. Издательство Колос, Москва
16. **Goodwin TW, Mercer EI** (1983) Introduction to plant biochemistry. Volume 1. 2nd edition. Pergamon Press, Oxford e.a.
17. **Goodwin TW, Mercer EI** (1983) Introduction to plant biochemistry. Volume 2. 2nd edition. Pergamon Press, Oxford e.a.
18. Действие ионизирующего излучения на целостный растительный организм (1981). Энергоиздат, Москва
19. **Jenkins GL, Hartung WH** (1945) The chemistry of organic medicinal products. John Wiley and Sons Inc and Chapman and Hall Ltd, London – New York
20. **Евстигнеева РП, Мягкова ГИ** (1986) Лейкотриены – природные биологически активные метаболиты полиненасыщенных кислот. Успехи химии (Москва) **60**: 843–848
21. **Загоскина НВ, Запретов МН** (1983) Влияние кинетина на образование фенольных соединений в длительно пассируемой культуре чайного листа растения. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) **15**: 558–561
22. **Zadoncev A, Pikus GR, Grinchenko AL** (1977) Chlorocholinchlorid in der pflanzenproduction. Veb Deutscher Landwirtschaftsverlag Publ., Berlin
23. **Зеленева ИВ, Севастьянова ЕВ** (1983) Влияние хлорамфеникола на активность ферментов в корне проростка кукурузы. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) **15**: 561–568
24. **Шев ЛК** (1983) On the cytokinin activity of atrazine. Plant Physiology (Bulgaria) **9**: 27–35
25. **Караваев ВА, Шагурина ТЛ, Кукушкин АК, Солнцев МК** (1985) Индукционные изменения флуоресценции листьев бобов в присутствии антиоксидантов. Физиология растений (Москва) **32**: 884–893
26. **Carey FA, Sundberg RJ** (1977) Advanced organic chemistry. Part A: Structure and Mechanisms. Plenum Press, New York – London
27. **Carey FA, Sundberg RJ** (1977) Advanced organic chemistry. Part B: Reactions and synthesis. Plenum Press, New York – London
28. **Кефели ВИ, Турецкая РХ** (1977) Природные ингибиторы роста – основные физиологические аспекты действия. *В кн.*: ВИ Кефели, ред, Рост растений и природные регуляторы. Издательство Наука, Москва, с. 234–245
29. **Ковалев ИЕ, Полевая ОЮ** (1985) Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным химическим соединениям. Издательство Наука, Москва
30. **Korzybski T, Koszyk-Gindifer Z, Kurylowicz W** (1969) Antybiotyki: Pochodzenie, rodzajcie I wlasciwosci. Tom 1 and 2. Panstwowy zaklad wydawnictw lekarskich, Warszawa
31. **Кулаева ОН** (1974) Цитокинины, их структура и функция. Издательство Наука, Москва
32. **Кулаева ОН, Баскаков ЮА, Борисов НН и др** (1982) Исследование цитокининовых свойств дефолианта дропп и гербицида ДРХ–4189. Физиология растений (Москва) **29**: 266–273
33. **Курчий БА** (1985) Влияние 2–хлорэтилфосфоновой кислоты на рост, развитие, устойчивость против полегания и урожай озимой ржи в условиях Полесья Украины. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, Киев
34. **Курчий БА** (1987) Исследование биологической активности абсцизовой кислоты в проростках озимой ржи. *В кн.*: Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов. Издание Института биологии, Рига, с. 92–93
35. **Курчий БА, Койдан ГН** (1985) Что регулируют регуляторы роста. Химия и жизнь (Москва) **2**: 36–39
36. **Курчий БА, Койдан ГН** (1985) Механизмы действия регуляторов роста. Химия и жизнь (Москва) **10**: 68–69
37. **Lancini G, Parenti F** (1982) Antibiotics: An integrated view. Springer Verlag, New York – Heidelberg – Berlin
38. **Levey GS** (1976) Hormone-receptor interaction: Molecular aspects. Marcel Dekker, Inc, New York – Basel
39. **Leninger AL** (1975) Biochemistry. The molecular bases of cell structure and function. Worth publishers Inc., New York
40. **Машковский МД** (1977) Лекарственные средства. Издание 8-е. Часть 1. Издательство Медицина, Москва
41. **Машковский МД** (1977) Лекарственные средства. Издание 8-е. Часть 2. Издательство Медицина, Москва
42. **Мельников НН, Новожилов КВ, Белан СР, Пылова ТН** (1975) Справочник по пестицидам. Издательство Химия, Москва

43. **Микельсаар Х, Северина ИИ, Скулачев АП** (1974) Фосфолипиды и окислительное фосфорилирование. Успехи современной биологии (Москва) **78**: 348–385
44. **Misato T** (1967) Blasticidine. In D Gottlieb, PD Shaw, eds, Antibiotics. Volume 1. Mechanism of action. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg – New York, pp 409–413
45. **Минкоев АК** (1982) Роль абсцизовой кислоты в регуляции синтеза белка в изолированных зародышах куколя. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, Москва
46. **Nonhebel DC, Walton JC** (1974) Free-radical chemistry: structure and mechanism. Cambridge Univ Press, Cambridge
47. **Овчинников ЮА** (1987) Биоорганическая химия. Издательство Просвещение, Москва
48. **Орлов ВС, Олсурьева ЕИ, Исаева НН** (1980) Полусинтетические производные противораковых антибиотиков из группы антрациклинов. В кн.: Актуальные проблемы экспериментальной химиотерапии опухолей. Часть 1. Черногоровка (Россия), с. 188–192
49. **Подлящук ЛД** (1962) Рентгенотерапия злокачественных опухолей. Руководство для врачей. Медгиз, Москва
50. **Покровский ВА** (1956) Каталитическое окисление этилена в окись этилена. Успехи химии (Москва) **25**: 1446–1473
51. **Полевой ВВ** (1982) Фитогормоны. Издательство Ленинградского госуниверситета, Ленинград
52. **Pauling L, Pauling P** (1976) Chemistry. WH Freeman and Company, San Francisco
53. **Полумбрик ОМ** (1984) Химия вердазильных радикалов. Издательство Наукова думка, Киев
54. **Походенко ВД, Дегтярев ЛС, Кошечко ВГ, Куц ВС** (1984) Проблемы химии свободных радикалов. Издательство Наукова думка, Киев
55. **Несмеянов АН**, ред, (1960) Пространственные эффекты в органической химии. Издательство иностранной литературы, Москва
56. **Розанцев ЭГ, Шоле ВД** (1979) Органическая химия свободных радикалов. Издательство Химия, Москва
57. **WA Pryor**, ed, (1976) Free radical in biology. Volume 1. Acad Press, New York – San Francisco – London
58. **WA Pryor**, ed, (1976) Free radical in biology. Volume 2. Acad Press, New York – San Francisco – London
59. **Jakubke HD, Jeschkeit H** (1983) Concise encyclopedia of biochemistry. Walter de Gruyter, Berlin – New York
60. **Stuper AJ, Brugger WE, Jurs PC** (1979) Computer assisted studies of chemical structure and biological function. John Wiley and Sons, New York – Chichester – Brisbane – Toronto
61. **Tam CM** (1983) Possibilities for using the preparation M–1 in storing seed potatoes in Vietnam. Plant Physiology (Bulgaria) **9**: 60–64
62. **Татаринцев НИ, Лебедева АИ, Макаров АД** (1986) Влияние диурона на процесс фосфорилирования в хлоропластах и биосинтез белка в семенах гороха. Физиология растений (Москва) **33**: 484–489
63. **Walling C** (1960) Free radical in solution. John Wiley and Sons, Inc., New York and Chapman and Hall, Ltd., London
64. **Fieser F, Fieser M** (1986) Advanced organic chemistry. Reinold Publishing Corporation, Chapman and Hill Ltd., New York – London
65. **Khan AA**, ed, (1977) The physiology and biochemistry seed dormancy and germination. North Holland Publ Co, Amsterdam – New York – Oxford
66. **Курсанов АА, Воскресенская НЛ**, ред, (1984) Фоторегуляция метаболизма и морфогенеза растений. Издательство Наука, Москва
67. **Helberhold M** (1972) Metal π -complexes. Volume II. Complexes with mono-olefinic ligands. Part 1. General survey. Elsevier Publ. Company, Amsterdam – London – New York
68. **Keune H**, ed, (1972) Chimica ein wissensspeicher. Veb Deutscher Verlag fur Gundstoffindustrie, Leipzig
69. **Чернавская ЛН, Холодова ЛН, Благородов СГ, Дмитриева НА** (1984) Синтез и противомикробная активность перхлоратов пиридо–1,2– α –хиноксалинин. Химико-фармацевтический журнал (Москва) **6**: 700–703
70. **Чернядьев ИИ, Фридрих А, Вольфова АИ и др** (1984) Влияние соединений с цитокининовой активностью на фотосинтез сельскохозяйственных культур. Прикладная биохимия и микробиология (Москва) **20**: 107–114
71. **Шамшурин АА, Криммер МЗ** (1976) Физико-химические свойства пестицидов. Справочник. Издание второе. Издательство Химия, Москва
72. **Шрадер Г** (1965) Новые фосфорорганические инсектициды. Издательство Мир, Москва
73. **Эмануэль МН, Корман ДБ, Островская Л и др** (1978) Нитрозоалкилмочевины новый класс противоопухолевых препаратов. Издательство Наука, Москва
74. **Abeles FB, Ruth JM, Leather GR** (1972) Mechanism of hormone action. Plant Physiol **49**: 669–671
75. **Abeles FB** (1973) Ethylene in plant physiology. Academic Press, New York – London
76. **Aberg B** (1984) Plant growth regulators: Monosubstituted benzoic acids. Swed J Agr Res **11**: 93–105
77. **Altschuler M, Mascurenhos JP** (1982) Heat shock proteins and effects of heat shock in plants. Plant Mol Biol **1**: 103–106
78. **Apelbaum A, Burgon AC, Anderson JD et al** (1981) Polyamine inhibited biosynthesis of ethylene in higher plant tissue and fruit protoplasts. Plant Physiol **68**: 453–456
79. **Apte PV, Lolorayan MM** (1982) Inhibitory action of phenolic compounds on abscission. J Expt Bot **33**: 826-830
80. **Ashton FM, Crafts AS** (1973) Mode of action of herbicides. A Wiley Interscience Publication, New York e.a.
81. **Barcelo J, Torres M, Baztan J** (1981) Effects of the irradiation con uv cercano sorbe el erecimiento en conpuestos fenolicos an fase vegetativage *Petroselinum crispum*. An Edaf Agrobiol **40**: 337–345
82. **Beauchesne G, Goutarel R** (1963) Activite de certaine purine substitués sur le development des culture de tissue moelle de tabac en presence d'acide indolyl acetique. Physiol Plant **16**: 630–635

83. **Bergner C, Lischewski M, Adam G, Sembdner G** (1982) Biological activity of gibberellin analogs. *Planta* **155**: 231–237
84. **Berhsohn J, Spitz FJ** (1972) Linolenic and linolic acid dependency of some brain membrane-bound enzymes after lipid deprivation in rat. *Biochem Biophys Res Commun* **57**: 293–298
85. **Beyer EM Jr** (1979) Effect of silver ion, carbon dioxide and oxygen on ethylene action and metabolism. *Plant Physiol* **63**: 169–173
86. **Brian PV, Grove JE, Milholland TPC** (1967) Relationships between structure and growth-promoting activity of the gibberellins and some allied compound in four test systems. *Phytochemistry* **6**: 1475–1499
87. **Brierley GP, Marla A** (1962) Studies of the electron-transfer system. XLVIII. Phospholipid requirements in cytochrome oxidase. *J Neurochem* **64**: 205–217
88. **Buchnauer H** (1983) Wirkungsweise moderner fungizide in Pilzen and Kulturpflanzen. *Ber Deutsch Ges (DDR)* **99**: 427–457
89. **Challis JS** (1977) Inhibition by phenolic compounds of cytokinin stimulated betacyanin synthesis in *Amarantus caudatus*. *Biol Plant* **19**: 212–218
90. **Constabel F, Shyluk JP, Gamborg OL** (1971) The effect of hormones on anthocyanin accumulation in cell culture of *Haplopappus gracilis*. *Planta* **96**: 306–316
91. **Cross BE, Crove JF, Morrison A** (1961) Gibberellic acid. Part XLVIII. Some rearrangements of ring A. *J Chem Soc* **6**: 2498–2515
92. **Dasgupta J, Bewley JD** (1984) Variation of protein synthesis in different regions of greening leaves of barley seedlings and effects of imposed water stress. *J Exp Bot* **35**: 1450–1459
93. **Davides LC** (1987) Biochemical aspects of benzimidazol fungicides action and resistance. *In* H Lyr, ed, *Moderne selective fungicides: Properties, application, mechanism action*. Longmdn Gr. UK Ltd and VEB Gustaw Fisher Verlag, London – Jena, pp 224–257
94. **D'Incalci M** (1987) Metabolism of triazine anticancer agents. *Pharm Ther* **35**: 291–300
95. **Dogler KD** (1987) Development of hormone receptors: conclusion. *In* G Csaba, ed, *Development of hormone receptors*. Birkhauser Verlag, Basel – Boston, pp 181–192
96. **Elliot DC** (1979) Differential effects of fusicoccin and cytokinin stimulated betacyanin synthesis by ATPase inhibitors and uncouplers. *Plant Sci Lett* **15**: 251–264
97. **Emmelot P, Bos CJ** (1968) Studies on plasma membranes. V. On the lipid dependence of some phosphohydrolases of isolated rate liver plasma membranes. *Biochim Biophys Acta* **150**: 341–353
98. **Fletcher RA, Adedipe NO, Ormrod DP** (1972) Abscisic acid protect bean leaves from ozone-induced phytotoxicity. *Can J Bot* **50**: 2389–2391
99. **Galagli RG, Khatti SD** (1980) Influence of nitrogen laser irradiation in plant growth. *Indian J Physiol* **54B**: 332–336
100. **Hogsett WE, Raba RN, Tingey DT** (1981) Biosynthesis of stress ethylene in soybean seedlings: similarities to endogenous ethylene biosynthesis. *Plant Physiol* **53**: 307–314
101. **Kefeli VI, Kadyrov CS** (1971) Natural growth inhibitors. Their chemical and physiological properties. *Annu Rev Plant Physiol* **22**: 185–196
102. **Key JL, Kimpel JA, Lin CY, Nagao RT et al** (1985) The heat shock response in soybean. *Cell and Mol Biol Plant Stress* **22**: 161–179
103. **Kidachi S, Shinozaki M, Takimoto A** (1983) Effect of some growth regulators and benzoic acid derivatives on flower initiation and root elongation of *Phorbitis nil*. *Plant Cell Physiol* **24**: 433–439
104. **Kimpel JA, Koy JL** (1985) Presence of heat shock mRNA in field grown soybeans. *Plant Physiol* **79**: 672–678
105. **Ku SH, Suge H, Rappaport L, Pratt K** (1970) Stimulation of rice coleoptile growth by ethylene. *Planta* **90**: 333–339
106. **Kuraishi F** (1959) Effect of kinetin analogs on leaf growth. *Sci Pap Coll Gen Educ Univ Tokio* **9**: 67–104
107. **Lieberman M** (1979) Biosynthesis and action of ethylene. *Annu Rev Plant Physiol* **30**: 533–591
108. **Lindquist S** (1986) The heat shock response. *Annu Rev Biochem* **55**: 1151–1159
109. **Martinosi A** (1968) Sarcoplasmic reticulum. IV. Solubilization of microsoma adenosine triphosphatase. *J Biol Chem* **243**: 71–81
110. **Milborrow BW** (1974) The chemistry and physiology of abscisic acid. *Annu Rev Plant Physiol* **25**: 259–307
111. **Minoch SC, Dibona S** (1979) Effect of auxin and abscisic acid on RNA and protein synthesis prior to the first cell division in Jerusalem artichoke tube *in vitro*. *Z Pflanzenphysiol* **92**: 367–374
112. **Moreland DE** (1980) Mechanism of action of herbicides. *Annu Rev Plant Physiol* **31**: 597–638
113. **Murr DP, Yang SF** (1975) Inhibition of *in vivo* conversion of methionin to ethylene by L-canaline and 2,4-dinitrophenol. *Plant Physiol* **55**: 79–82
114. **Narayana TS, Takur MS** (1981) Auxin like activity of some antibiotics on germination of seeds. *Proc Nat Acad Sci India* **51**: 38–40
115. **Nover L, Schrf KD** (1984) Synthesis, modification and structural binding of heat shock proteins in tomato cell culture. *Evol Biochem* **139**: 303–313
116. **Ohashi Yu, Matsuoka S** (1985) Synthesis of stress proteins in tobacco leaves. *Plant Cell Physiol* **26**: 473–480

117. **Oota Y, Tsudzuki T** (1971) Resemblance of growth substances to metal chelators with respect to their action on duckweed growth. *Plant Cell Physiol* **12**: 619–631
118. **Peter HW, Wiese F, Graszynski K** (1975) Phospholipid and ATPase activities in the developing chick brain. *J Dev Biol* **46**: 439–445
119. **Rathy A, Tomasi V, Trevisani A** (1971) The role of lipids in the activity of adenylate cyclase of rat liver plasma membrane. *Pharmacol Rev* **147**: 36–40
120. **Ray SO, Curuprasad KN, Laboraya MM** (1983) Reversal of abscisic acid induced betacyanin synthesis by phenolic compounds in *Amaranthus caudatus* seedlings. *Plant Physiol* **58**: 175–178
121. **Rikin A, Rubin B** (1983) Increase of cotton cotyledon resistance to herbicide endotal by abscisic acid. *Physiol Plant* **59**: 161–164
122. **Robinson JD** (1965) Structural changes in microsomal suspensions. *Arch Biochem Biophys* **112**: 170–179
123. **Rogler CE, Hackett WP** (1975) Phase changes in *Hedera helix*, stabilization of the mature form with abscisic acid and growth retardants. *Plant Physiol* **34**: 148–152
124. **Rogozinska JH, Helgeson JP, Skoog F** (1964) Tests for kinetin-like growth promoting activities of triacanthine and its isomer, 6-(γ,γ -dimethylallylamino)-purine. *Physiol Plant* **17**: 165–176
125. **Schlesinger MJ, Ashburner M, Tissieres A** (1982) Heat shock: from bacteria to man. Cold Spring Harbor Lab Press, New York
126. **Sembdner G, Gross D, Leibish HW, Schneider G** (1980) Biosynthesis and metabolism of plant hormones. *In* J MacMillan, ed, Hormonal regulation of development I. Springer Verlag, Berlin – Heidelberg – New York, pp 281–444
127. **Shih LM, Kaur-Saugney R, Fuhree J et al** (1982) Effect of exogenous 1,3-diaminopropan and spermidine on senescence on oat leave. *Plant Physiol* **70**: 1592–1596
128. **Shinozaki M, Takimoto A** (1983) Effect of some growth regulators and benzoic acid derivatives on flower initiation and root elongation of *Pharbitis nil*, strain Kidachi. *Plant Cell Physiol* **24**: 433–439
129. **Siguiira T, Ota Y, Minodu Y, Yamada K** (1972) Destruction of lipase-inhibiting substances in *Candida parapolitica* and inhibition by phospholipids of *Candida parapolitica* lipase. *J Biol Chem* **92**: 15–21
130. **Singh NK, Handa AK, Hasegawa PM, Bressan RA** (1985) Protein associated with adaptation of cultural tobacco cell to NaCl. *Plant Physiol* **79**: 126–137
131. **Skinner CG, Claybrook JR, Tolbert F, Shive V** (1957) Effect of 6-(substitute)thio- and amino-purines on germination of lettuce seeds. *Plant Physiol* **32**: 117–120
132. **Skoog F, Hamzi HQ, Sweykowska AU et al** (1967) Cytokinins: Structure-activity relationships. *Phytochemistry* **6**: 1169–1192
133. **Skoog F, Armstrong DG** (1970) Cytokinins. *Annu Rev Plant Physiol* **21**: 359–384
134. **Stanley-Samuels DW** (1987) Physiological roles of prostaglandins and other eicosanoids in invertebrates. *Ref Biol Bull* **173**: 92–109
135. **Steilid G** (1982) Cytokinins as inhibitors of root growth. *Physiol Plant* **56**: 500–506
136. **Stoddart JS, Venis MA** (1980) Molecular and subcellular aspects of hormone action. *In* J MacMillan, ed, Hormonal regulation of development I. Springer Verlag, Berlin – Heidelberg – New York, pp 445–510
137. **Sussex I, Clatter M, Walbot V** (1975) Benzyladenin reversal of abscisic acid inhibition of growth and RNA synthesis in germinating bean axes. *Plant Physiol* **56**: 575–578
138. **Szego CM** (1984) Mechanism of hormone action: parallels in receptor-mediated signal propagation for steroid and peptide effectors. *Life Sci* **35**: 2383–2396
139. **Theillet C, Delpeyroux F, Fiszman M et al** (1982) Influence of the excision and shock on the protein metabolism in *Vicia faba* L meristematic root cells. *Planta* **155**: 478–485
140. **Walbot V, Cluster M, Sussex J** (1975) Effect of abscisic acid on growth, RNA metabolism, and respiration in germinating bean axes. *Plant Physiology* **56**: 570–574
141. **Yagi K** (1987) Lipid peroxidases and human disease. *Chem Phys Lipid* **337**: 45–51
142. **Yonova PA, Vassilev GN** (1983) Synthesis and biological activity of some thiosemicarbazides of *m*- and *p*-aminosalicylic acids. *In* Plant Growth Regulators. Publ House Bulg Acad Sci, Sofia, pp 513–517
143. **Yoshii H, Imaseki H** (1981) Biosynthesis of auxin-induced ethylene. *Plant Cell Physiol* **22**: 369–379

SUMMARY

Kurchii BA (1988) The membrane aspects of non-protein bioregulator action. The Preprint of the Institute of Plant Physiology and Genetics, N **5P**, pp. 1–43.

The molecular mechanisms of growth regulator action on the biomembranes are observed. The causes and consequences of the membrane and enzyme injuries are considered. The free radical mechanisms of action of non-protein bioregulators are presented in schemes. For many biologically active substances the functional reactive groups (descriptors) that have active hydrogen atoms or unsaturated function are described.

ФУНКЦИОНАЛЬНО АКТИВНЫЕ ГРУППЫ БИОРЕГУЛЯТОРОВ *

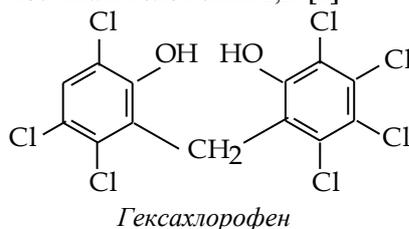
Б. А. Курчий

Институт физиологии растений и генетики АН УССР, ул. Васильковская 31/17, Киев

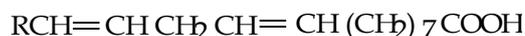
На основе анализа структуры и биологической активности различных регуляторов роста выделены общие фрагменты молекул, которые могут выполнять роль функционально активных групп. Показано значение заместителей первого и второго рода в усилении биологической активности регуляторов роста. Установлено, что биологическая активность соединений определяется наличием легко отщепляемого водорода. Эта закономерность может быть использована при конструировании и скрининге новых биорегуляторов

В настоящее время интенсивно выясняются молекулярные механизмы взаимодействия различных регуляторов роста (пестицидов, гербицидов, химиотерапевтических препаратов и др.) с биологическими системами и структурами. Знание таких механизмов позволило бы решить ряд проблем, в частности лечение специфических недугов, создание эффективных противовоспалительных и обезболивающих веществ, менее опасных пестицидов и замена их новыми, к которым еще не выработалась устойчивость, устранение их мутагенного, канцерогенного и побочного действий. Решение этих задач во многом сдерживается отсутствием данных о взаимосвязи структуры вещества с его биологической активностью. Существующие подходы к определению связи структура – активность (наличие галогенов, OH– или NO₂–групп, асимметричного атома углерода и т.п.), хотя и позволяет вести поиск соединений, обладающих необходимым физиологическим эффектом, который зависит также от передвижения, связывания и разрушения биорегуляторов в организме, не привели к созданию единой теории конструирования биорегуляторов. В литературе известны немногочисленные примеры, где связь между стерическим строением вещества и его биологической активностью четко установлена:

1. Противотуберкулезный препарат гексахлорофен оказывает сильное антибактериальное действие только при наличии метиленового мостика в положении 2,2' [1].

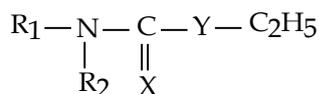


2. Жирные кислоты обладают биологической активностью только при наличии ненасыщенных связей [18].



Карбоновые кислоты

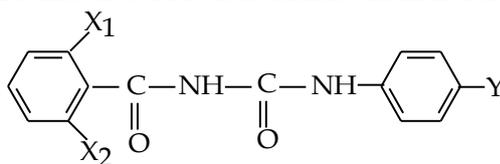
3. Наибольшая фунгицидная активность среди тиокарбаматов наблюдалась в соединениях с радикалами R₂=H. При замене водорода на метильную группу для достижения одинакового биологического эффекта потребовалось увеличение дозы препарата в 10 раз [23].



Тиокарбаматы

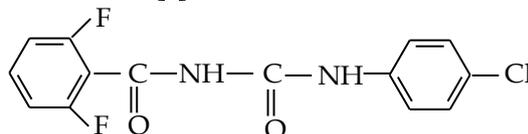
* Опубликовано в: Курчий Б. А. (1993) Функционально-активные группы биорегуляторов. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) **25**: 82–92.

4. Инсектицидное действие 2,6-дифтор ($X_1=X_2=F$) аминов на порядок больше 2,6-дихлораминов [24]. Обязательным для проявления биологической активности является наличие NH-группы.



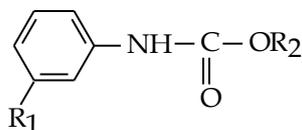
Галогенамины

5. При изучении инсектицидной активности галогенпроизводных бензоилмочевины установлено, что 1-(4-хлорфенил-3-)-2,6-дифторбензоилмочевина в 20 раз активнее 2,6-дихлорбензоильного аналога. Присоединение заместителей к любому из атомов азота значительно снижает инсектицидное действие этих соединений [4].



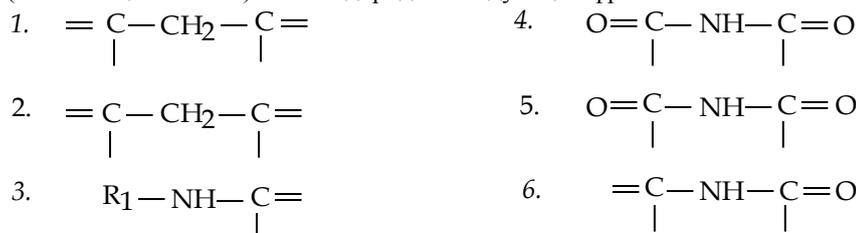
Бензоилмочевина

6. Среди соединений группы бискарбаматов, ингибирующих транспорт электронов фотосистемы II, наибольшей активностью обладали вещества, замещенные в положении 3 (радикал R_1). Для проявления биологической активности обязательно наличие водорода у атома азота [25].

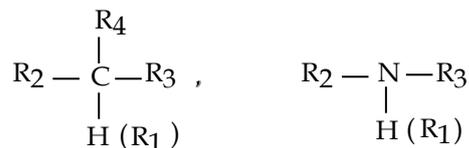


Бискарбаматы

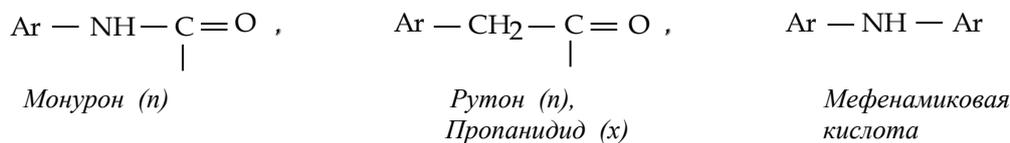
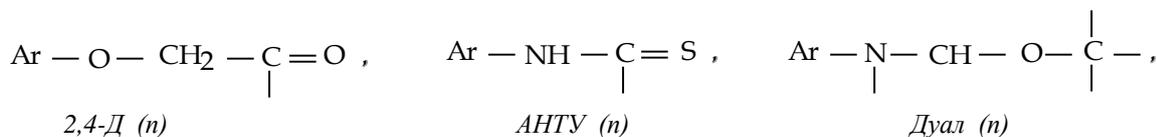
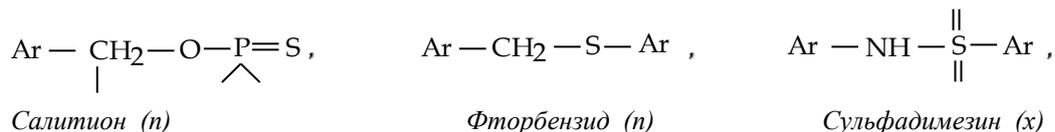
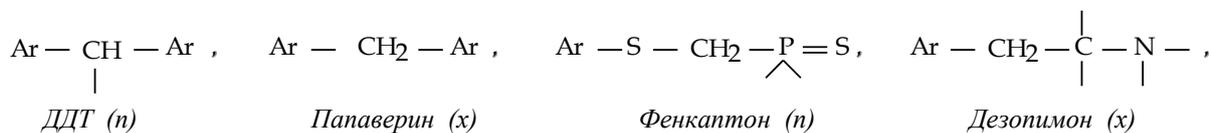
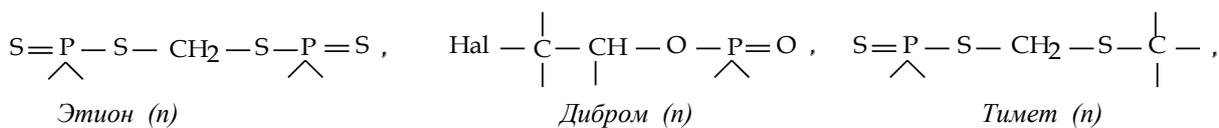
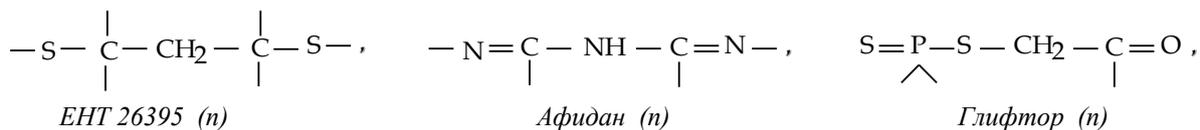
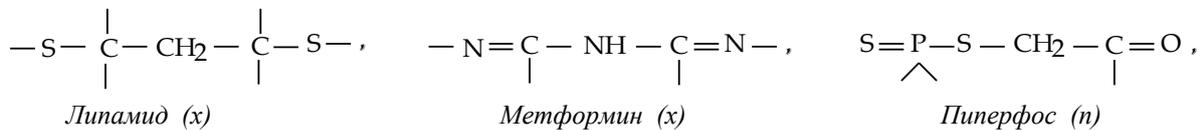
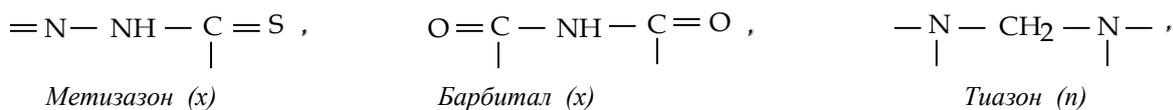
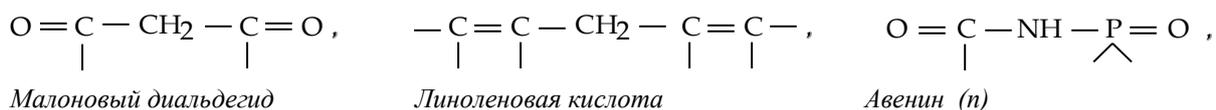
Таким образом, анализ структурных формул и биологической активности различающихся по строению веществ свидетельствует о том, что биологическая активность присуща тем, которые имеют активный (легко отщепляемый) атом водорода в следующих фрагментах:



Аналогичная закономерность описана нами ранее для ауксинов, гиббереллинов, цитокининов, хлорамфеникола и β -лактамных антибиотиков [7, 15]. Наиболее распространены биорегуляторы с активным атомом водорода, который связан с атомами углерода и азота, а в некоторых случаях – и с атомом серы:

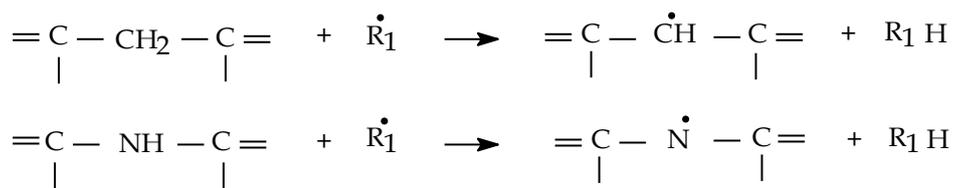


Здесь в радикалах R_2 и R_3 между атомами C, O, P, N и S, находящимися в α - и β - или в β - и γ -положениях, имеется π -связь. Для π -связи характерно то, что зоны с повышенной электронной плотностью расположены на большем расстоянии от ядер, чем при образовании σ -связи; π -связь выступает в роли мощного электроноакцептора для C- и N-атомов. Радикал R_4 у C-атома должен иметь малые стерические размеры. Наиболее часто встречающиеся в структурных формулах биорегуляторов радикалы R_2 и R_3 – это ароматические структуры (Ar), состоящие из пяти-, шести- или семичленных циклов и имеющие циклические системы делокализованных π -электронов. В известных в настоящее время биорегуляторах наиболее распространенными функционально активными группами являются следующие фрагменты молекул (здесь п – пестициды, х – химиотерапевтические средства):



Во всех приведенных выше фрагментах атом водорода наиболее активен и поэтому может быть легко отщеплен эндогенными радикалами.

Энергия разрыва связи водород – углерод или водород – азот снижается введением различных заместителей. Вследствие отрыва атома водорода от вещества последнее переходит в свободнорадикальное состояние и взаимодействует с окружающими соединениями без энергии активации (или при очень малой ее величине) [5, 6, 16, 17, 19, 20]. Относительно приведенных выше фрагментов это можно записать таким образом:

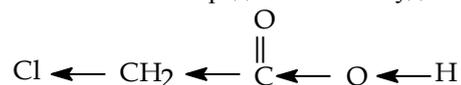


Легкость реакции отрыва водорода при действии различных радикалов, а также ферментов, коферменты которых находятся в окисленном состоянии (возможно в этой роли выступают и гормонсвязывающие белки), зависит от реакционной способности атакующего радикала и химического окружения водорода. При этом влияние заместителей (групп) у С- и N-атомов является комбинацией нескольких факторов, в частности индуктивного эффекта, эффекта поля и резонансного эффекта [2, 6, 13].

Взаимодействие в молекуле осуществляется двумя способами: через электронную структуру самой молекулы или через пространство вне молекулы. Передача через атомы и связи, называется внутренней передачей и зависит от электронной структуры самой молекулы. Передача влияния через пространство вне молекулы (внешняя передача) обуславливает взаимодействие молекул. Передача влияния от одной части молекулы к другой через внешнюю среду осуществляется [5] несколькими путями: 1) электростатическими силами дальнего действия, обусловленного наличием полей и диполей, так называемый эффект поля; 2) электростатическими силами, которые обусловлены взаимной корреляцией движения не обменивающихся электронных пар, так называемый электрокинетический эффект; 3) обменными взаимодействиями электронных пар на коротких расстояниях (такие эффекты названы пространственными).

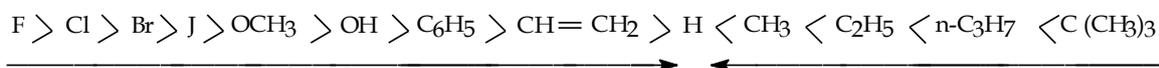
Индуктивное влияние на реакции отрыва атома водорода, т.е. влияние непосредственно несвязанных атомов, обусловлено электрической асимметрией. Например, в связи С-Cl хлор является отрицательным концом диполя.

Непосредственно связанный с атомом хлора углеродный атом несет небольшой положительный заряд; к нему смещается электронная пара от соседнего атома углерода, который, в свою очередь, приобретает некоторый положительный заряд и облегчает удаление водорода в виде протона [19]:



Если атом или группа атомов оттягивает электронную пару от соседнего атома, то они проявляют отрицательный индукционный эффект ($-I$).

Когда же атом или группа атомов отталкивает электронную пару, они проявляют положительный индукционный эффект ($+I$). По величине индукционного эффекта (индукционный эффект водорода считается равным нулю) различные заместители располагаются следующим образом [19]:



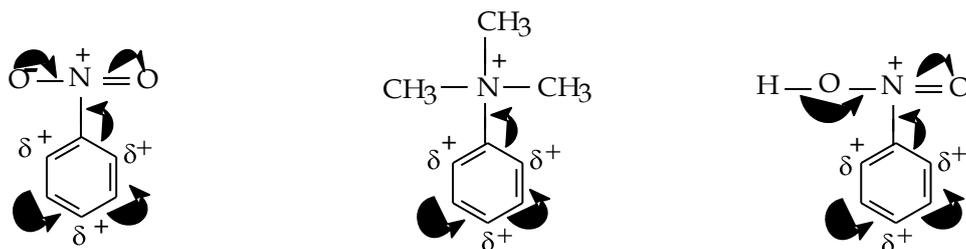
Как видно из приведенного выше ряда, наиболее отрицательный индукционный эффект имеет атом F. Он же наряду с атомами хлора и нитрогруппой наиболее часто встречается в структурных формулах биорегуляторов. Влияние фтора на свойства органических соединений обусловлено его двойственной природой: сильным электроноакцепторным индукционным эффектом и электронодонорным эффектом сопряжения.

Это вызвано тем, что атом фтора имеет наименьший среди галогенов ковалентный радиус, вследствие чего создаются условия для максимального перекрывания p -орбиталей. Другие атомы галогенов, связанные с ненасыщенным атомом или ароматическим ядром, также проявляют электроноакцепторный индукционный эффект ($\sigma_n > 0$) и электронодонорный эффект сопряжения ($\sigma_R > 0$), уменьшающийся в ряду: $\text{F} > \text{Cl} > \text{Br} > \text{J}$ [5].

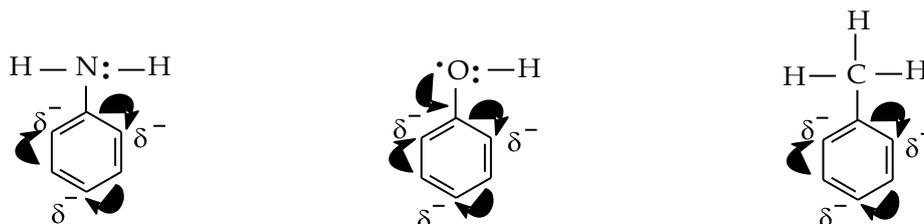
Электронная природа фторзаместителей изучена у трифторметильной группы. CF_3 -группа – сильный электроноакцепторный заместитель как по индукционному эффекту, так и по эффекту сопряжения [22].

Электроноакцепторный эффект сопряжения трифторметильной группы возможен вследствие отрицательной гиперконъюгации, которая является следствием перекрывания p -орбиталей соседнего атома углерода ароматического кольца и групповой орбитали CF_3 -группы, составленной из орбиталей

атомов фтора, образующих δ -связи. Результатом этого является уменьшение плотности π -электронов на ароматическом ядре и увеличение – на атомах фтора CF_3 -группы. Аналогично действуют и другие заместители II рода, такие как $-\text{NO}_2$, $-(\text{CH}_3)_3$ и $-\text{COOH}$:



В то же время заместители I рода (аминогруппы, гидроксил, метильная группа и др.) способствуют тому, что электронная плотность в бензольном кольце возрастает в целом и особенно в *орто*- и *пара*-положениях:

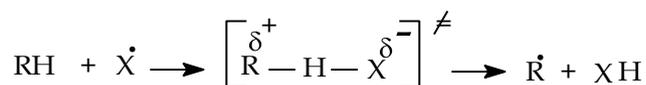


Сильный электроноакцепторный индукционный эффект трифторметильной группы на ароматическое кольцо передается как вдоль ближайших σ -связей, так и через пространство в виде эффекта поля. Последний приводит к поляризации не только σ , но и π -электронов, то есть к возникновению I_π – эффекта поля [22].

При замене трех атомов водорода в OCH_3 -группе на атомы фтора значительно увеличивается ее электроноакцепторный индукционный эффект и уменьшается электронодонорный эффект сопряжения. При этом по значению всех σ -констант OCH_3 -группа наиболее близка к атому хлора. В то же время электронодонорный эффект сопряжения заместителей OCH_3 -, OCH_2F -, OCHF_2 - и OCF_3 -групп зависит от того, находятся они в плоскости ароматического кольца или выведены из нее под влиянием стерического взаимодействия этих заместителей с атомами водорода в *орто*-положениях. Заместители $-\text{OCF}_2\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_2\text{CHF}_2$ и $-\text{OCF}_2\text{CHFCl}$ имеют σ -константы, близкие к σ -константам OCF_3 -группы. Трифторацетоксигруппа проявляет более сильный электроноакцепторный индукционный эффект, чем группа $-\text{OCOCH}_3$ и даже $-\text{OCF}_3$. Однако наиболее электроноакцепторной является OSO_2CF_3 -группа, которая имеет самое большое значение σ -константы. Электроноакцепторный индукционный эффект постепенно увеличивается при последовательном замещении атомов водорода SCH_3 -группы фтором, тогда как эффект сопряжения изменяется от электронодонорного у SCH_3 - и SCH_2F -групп до электроноакцепторного у SCHF_2 и SCF_3 -групп. Сильными электроноакцепторами являются также SO_2CF_3 -, $\text{SO}_2\text{CF}_2\text{CHF}_2$ -, $\text{SO}_2\text{CF}_2\text{CHF}_2\text{CF}_3$ - и $\text{CF}_3\text{S}(\text{O})=\text{NSO}_2\text{CF}_3$ -группы. Электроноакцепторными свойствами обладают и непредельные фторированные группировки. Так, группа $-\text{CH}=\text{CHSO}_2\text{CF}_3$ по электронному влиянию равноценна CF_3 -группе. Ацетилильная группа более электроноотрицательная, чем винильная. При замене водорода у последней на CF_3 -образуется более электроноотрицательная группа $-\text{C}\equiv\text{CCF}_3$, чем $-\text{CH}=\text{CHCF}_3$. Следовательно, замена атомов водорода в группе $-\text{CH}=\text{CHCF}_3$ атомами фтора равноценна превращению двойной связи в тройную. В свою очередь, заместители $-\text{CF}=\text{CFCF}_3$ по величине σ -констант очень близки к CF_3 -группе [22].

Полярные эффекты оказывают существенное влияние на реакции свободных радикалов вследствие разделения заряда в переходном состоянии. Например, в случае отрыва водородного радикала типа X,

$\dot{\text{C}}\text{I}$, $\dot{\text{C}}\text{F}$ и др.



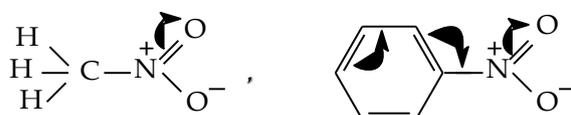
электроны сильнее сдвигаются в сторону X, что приводит к разделению зарядов. Следовательно, делокализация зарядов соседними заместителями понижает энергию переходного состояния и облегчает протекание реакции [21].

На скорость реакции отрыва водорода существенное влияние должна оказывать также энергия связи атомов. Ниже приведены константы связи атома водорода [5]. Из этих данных видно, что константа энергии связи N–H ниже, чем C–H, но выше чем S–H.

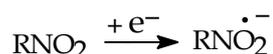
Связь	F, кал/моль	Факторы, стабилизирующие переходное состояние, снижают его энергию. Стабилизированные радикалы образуют более слабые связи с водородом и другими атомами, и реакции таких радикалов с молекулами субстрата термодинамически менее предпочтительны, чем аналогичные реакции нестабилизированных радикалов.
O–H	110,6	
C–H	98,8	
N–H	93,4	
S–H	81,1	

При этом устойчивость свободных радикалов, образующихся при отрыве водорода, определяется [21] следующими факторами: 1) степенью делокализации неспаренного электрона: чем она выше, тем меньше спиновая плотность в радикальном центре и ниже реакционная способность радикала; 2) пространственными эффектами: наличие объемных групп у радикального центра может сильно понижать реакционную способность радикала вследствие затруднения подхода к нему молекул реагентов или других радикалов; 3) формой частицы: любое искажение структуры, не дающее возможности радикалам принять плоскую конфигурацию, ведет к их дестабилизации.

Наиболее часто наряду с фтором и хлором в структурных формулах биорегуляторов встречается нитрогруппа. Она не только вызывает индуктивную поляризацию углеводного остатка, но и приводит либо к гиперконъюгации либо к дополнительному мезомерному сопряжению и таким образом увеличению дипольных моментов [5]:



Кроме того, нитроароматические соединения могут легко превращаться в анион-радикал вследствие высокой электроакцепторной способности нитрогруппы:



Все ненасыщенные группировки обладают $-I$ -эффектом, возрастающим с увеличением ненасыщенности в такой последовательности: изолированная двойная связь \rightarrow сопряженные связи \rightarrow тройная связь. В то же время индуктивный эффект заместителей сравнительно быстро убывает с расстоянием [5].

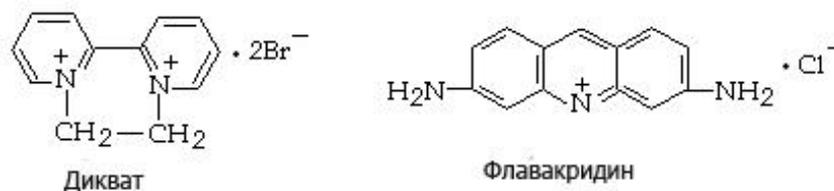
У ароматических соединений заместитель оказывает различное влияние на электронную плотность в разных местах ароматического ядра, при этом в местах с большей электронной плотностью реакции протекают быстрее. Заместители, которые могут действовать только индуктивно $\pm I$, изменяют плотность σ -электронов во всех положениях ароматического ядра, но вследствие зависимости индуктивного эффекта от расстояния она уменьшается в ряду *орто* \rightarrow *мета* \rightarrow *пара*-положениях. Так, в реакциях автоокисления кислород атакует прежде всего те положения в молекуле, электронная плотность которых повышается под влиянием заместителей ($+I, +M$).

На реакционную способность вещества (биорегуляторов) существенное влияние оказывают мезомерные эффекты заместителей. Как статическое явление мезомерия вносит свой вклад в статическую часть поляризации, который измеряется дипольным моментом. На последний влияет также индуктивный эффект, налагающийся на мезомерный. Однако следует подчеркнуть, что оба эффекта могут действовать как в одном и том же, так и в противоположных направлениях, т.е. могут векторно как суммироваться, так и вычитаться [2].

Мезомерный эффект ($\pm M$) заместителя считается положительным, если он приобретает положительный заряд, и наоборот. Например, анионы действуют как электронодонорные ($+M$), а катионы – электроакцепторные ($-M$) заместители. У ненасыщенных соединений по сравнению с соответствующими насыщенными мезомерный эффект направлен в ту же сторону, что и индуктивный. Для amino-, окси- и алкоксигрупп $+M$ -эффект сильно превышает их $-I$ -эффект [5].

Регуляторными свойствами обладают также следующие вещества:

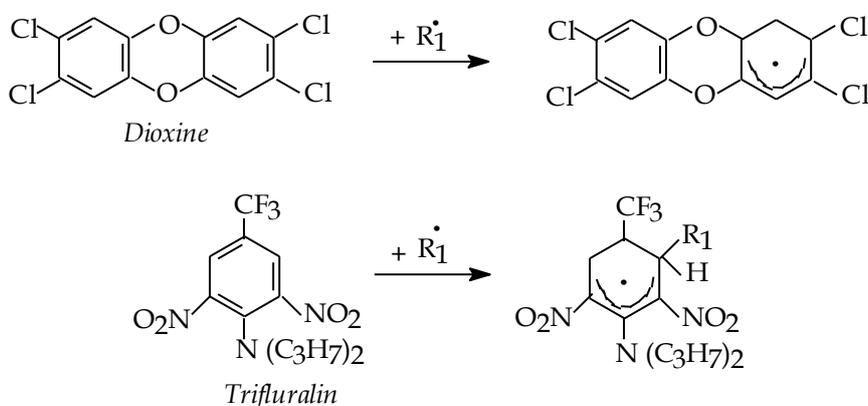
1. Соединения, содержащие четвертичный атом азота в ароматическом кольце. *In vivo* они легко переходят в свободнорадикальное состояние, инициируя цепные реакции окисления биополимеров [3, 18]. К ним относится, например, дикват и флавакридин:



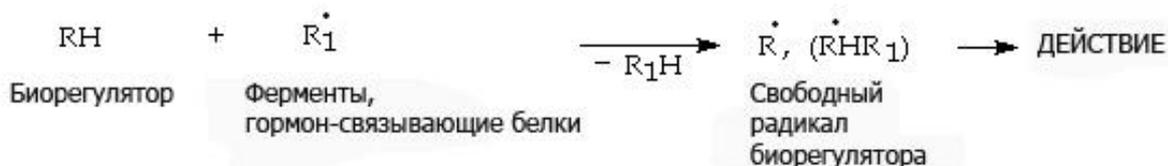
2. Циклопропан, циклобутан и соединения с ненасыщенными отдельными связями, например $>C=C<$, $-C\equiv C-$, $-C\equiv N-$, $>C=O$, $-N=N-$

Эти соединения становятся биологически активными после раскрытия кольца, присоединения других свободных радикалов или активного кислорода [9].

3. Соединения, содержащие четвертичный атом азота в неароматической структуре, расщепляющейся по Гофману с образованием олефина [7, 10,11].
4. Арены, содержащие несколько электроноакцепторных радикалов, например галогены или нитрогруппы. Поэтому у замещенных бензолов в переходном состоянии такие заместители участвуют в распределении облака неспаренного электрона и радикальная реакция замещения (отрыв атома водорода) по сравнению с незамещенным бензолом протекает с меньшей энергией активации [19]. При этом может образоваться несколько свободнорадикальных центров (явление резонанса) в одной молекуле:

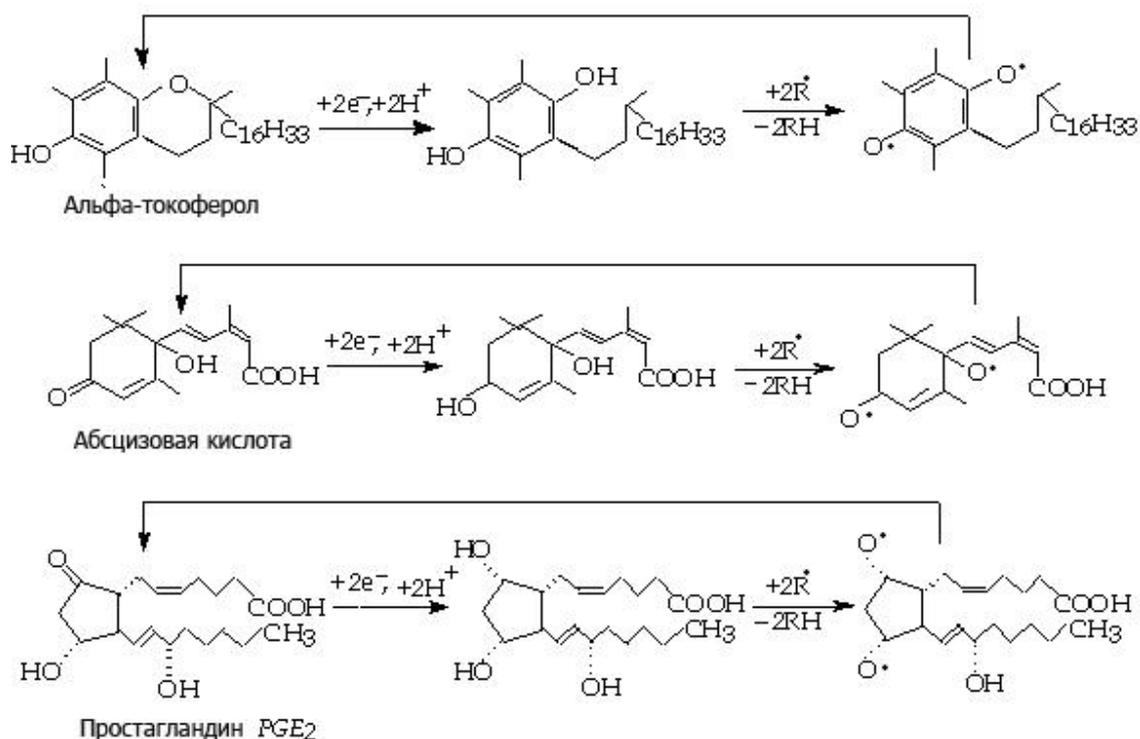


Как следует из изложенного, наличие заместителей ослабляет соседние связи у атомов С–Н или N–Н и повышает реакционную способность водорода (по отношению к радикалам, атакующим биорегулятор). Вещества при наличии легко отщепляемого водорода или отдельных ненасыщенных связей, переходя в свободнорадикальное состояние, могут инициировать цепные реакции окисления липидов, белков, углеводов, нуклеиновых кислот и других биополимеров клетки:



Однако спектр влияния биорегуляторов не ограничивается только их окислительным действием. Существует и другой их тип – антиоксиданты (АО); например α -токоферол, абсцизовая кислота, каротиноиды, фенольные соединения, простагландины PGD_2 , PGE_{1-3} , $\text{PGF}_{1-3\alpha}$, антоцианы и др. АО – это соединения, которые также содержат активный атом водорода (оксигруппы), но при удалении последнего превращаются не в свободные радикалы, а, вследствие внутримолекулярной перегруппировки, в инертные вещества. Поэтому АО выполняют роль тушителей и перехватчиков

свободных радикалов, предотвращая окислительное действие последних. Для всех них характерно наличие нескольких функционально активных групп. У классических АО имеется две оксигруппы (заместители в кольце). Если же АО содержат одну оксигруппу, то для эффективного его действия необходимо предварительное восстановление второй. Схематически механизм действия АО показан на примере α -токоферола, абсцизовой кислоты и простагландинов [3, 7, 8, 12, 14].



В последнее время возрастает количество публикаций, посвященных изучению антиоксидантного действия различных веществ. Особое внимание уделяется их антимуtagenному и антиканцерогенному действию. Исследования по раскрытию защитного механизма действия АО показывают перспективность более интенсивного изучения этого класса веществ, особенно как антиканцерогенов и тушителей реакционноспособных радикалов, количество которых в клетке резко увеличивается при действии различных стрессов. Для подтверждения участия АО в иммунной системе защиты у растений и животных необходимы всесторонние и комплексные исследования.

Таким образом, анализируя строение различных биологически активных веществ и их биологическое действие, мы обнаружили, что у рассматриваемых здесь молекул есть фрагменты, т. е. функционально активные группы, ответственные за проявление биологической активности *in vivo*. При этом биологическая активность соединений определяется наличием легко отщепляемого водорода (реже метильной или другой группы) и π -донорных групп. Оба эти условия имеют существенное значение для понимания первичного механизма действия биорегуляторов, что может быть использовано при конструировании и скрининге новых биорегуляторов.

1. **Albert A** (1968) Selective toxicity and related topics. Forth edition. Methuen and Co Ltd, London
2. **Becker H** (1964) Einführung in die electrontheorie organisch-chemischer reaction. Veb Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin
3. **Журавлев А**, ред. (1982) Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. Издательство Наука, Москва
4. **Грапов АФ, Пушина МЯ** (1988) Регуляторы роста и развития насекомых в качестве инсектицидов. Журнал Всесоюзного химического общества им. Д. И. Менделеева (Москва) **33**: 661–671
5. **Ingold CK** (1973) Structure and mechanism in organic chemistry. Cornell Univ Press, Ithaca and London
6. **Carey FA, Sundberg RJ** (1977) Advanced organic chemistry. Part A: Structure and mechanisms. Plenum Press, New York – London
7. **Курчий БА** (1988) Мембранные аспекты механизма действия биорегуляторов небелковой природы. Препринт Института физиологии растений и генетики АН УССР, N **5P**, с. 1–43

8. **Курчий БА** (1989) Исследование антиоксидантных свойств абсцизовой кислоты. *В кн.: Изучение, охрана и рациональное использование природных ресурсов (Тезисы научной конференции, Уфа), Часть 2, с. 53*
9. **Курчий БА** (1990) Возможные реакции окисления и образования свободных радикалов этилена. *Физиология и биохимия культурных растений (Киев) 22: 445–454*
10. **Курчий БА** (1990) Возможный альтернативный путь образования этилена из четвертичных аммониевых солей. Препринт Института физиологии растений и генетики АН УССР, N 9P, с. 1–19
11. **Курчий БА** (1991) Образование этилена из четвертичных аммониевых солей в реакции расщепления по Гоффману. *Физиология и биохимия культурных растений (Киев) 23: 17–23*
12. **Курчий БА** (1991) Абсцизовая кислота – возможный природный антиоксидант растений. *Физиология и биохимия культурных растений (Киев) 23: 414–415*
13. **Курчий БА** (1992) Дескрипторы биорегуляторов. *В кн.: Перспективы создания экологически безопасных регуляторов роста растений, средств защиты и технологий их применения в производстве сельскохозяйственной продукции (Сборник материалов конференции, Киев, март 1992 г.). Издательство Знание, Киев, с. 8*
14. **Курчий БА** (1992) О биологическом действии простагландинов как антиоксидантов. *В кн.: Актуальные проблемы физиологии растений и генетики. Материалы научной конференции, Киев, с. 74*
15. **Курчий БА** (1992) Как синтезировать регуляторы роста. *В кн.: Актуальные проблемы физиологии растений и генетики. Материалы научной конференции, Киев, с. 75*
16. **Metzler DE** (1978) *Biochemistry. The chemical reactions of living cells.* Academic Press, New York – San Francisco – London
17. **Morrison RT, Boyd RN** (1970) *Organic chemistry. Second edition.* Allyn and Bacon Inc, Boston
18. **Prayor WA**, ed, (1976) *Free radicals in biology. Volume 1.* Academic Press, New York – San Francisco – London
19. **Реутов ОА** (1964) *Теоретические основы органической химии.* Издательство Московского университета, Москва
20. **Slabaugh WH, Parson TD** (1976) *General chemistry. Third edition.* John Wiley and Sons Inc, New York – London – Sydney – Toronto
21. **Шарп ДТ** (1981) Радикалы, карбены, амины. *In JF Stoddart, ed, Comprehensive organic chemistry. Volume 1. Stereochemistry, hydrocarbons, halo compounds.* Pergamon Press, Oxford - New York - Toronto - Sydney - Paris - Frankfurt, pp 568-621
22. **Ягупольский ЛМ** (1980) *Ароматические и гетероциклические соединения с фторсодержащими заместителями.* Издательство Наукова Думка, Киев
23. **Kirino O, Takayama C, Yochida V et al** (1988) Quantitative structure-activity relationships of the fungicidal and herbicidal biocarbamates. *Agr Biol Chem 52: 561–568*
24. **Nakagawa Y, Sotomatsu T, Irie K et al** (1987) Quantitative structure-activity studies of benzoylphenylurea larvicides. III. Effect of substituents at the benzoyl moiety. *Pest Biochem Physiol 27: 143–155*
25. **Tissut V, Narit F, Ravanel P et al** (1986) Herbicidal modes of action depending on substitution in phenylcarbamate series. *Physiol Veg 24: 523–535*

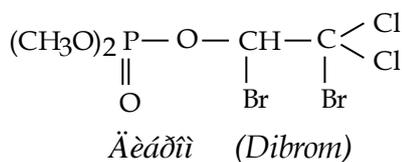
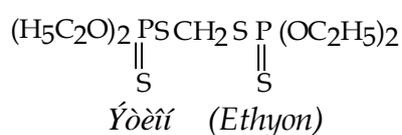
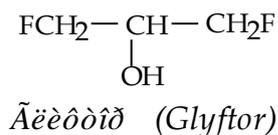
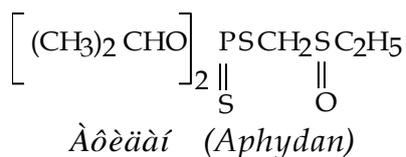
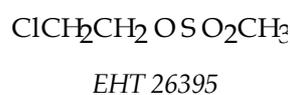
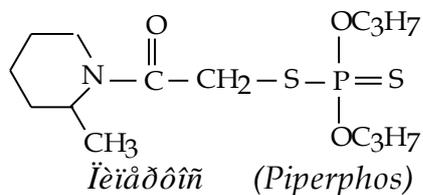
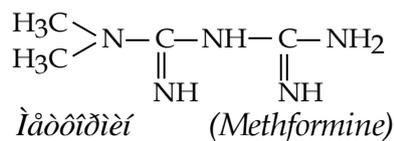
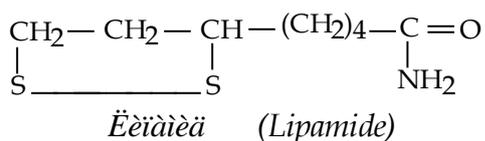
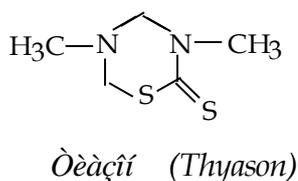
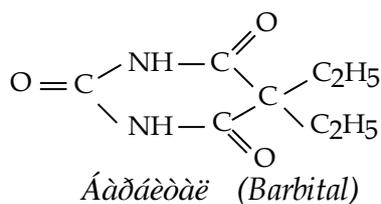
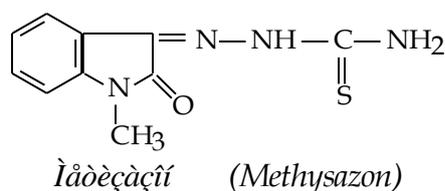
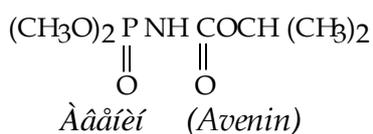
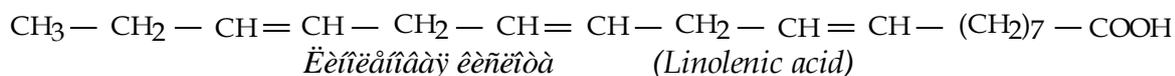
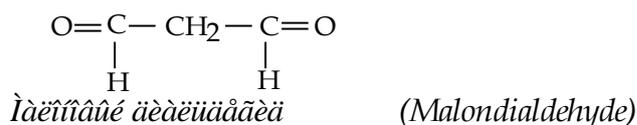
Получено 26.03.92

SUMMARY

Kurchii BA (1993) Functional reactive groups of bioregulators. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev) 25: 82–92 (In Russian).*

Based on a study of the relationships between a chemical structure and its biological activity for various growth regulators the common fragments of the molecules have been determined. These fragments are supposed to play a part of functional reactive groups of bioregulators. The role of the substituents in the biological activity of growth regulators is described. It is found that biological activity of chemicals depends on availability of an active hydrogen atom. This regularity may be used in the designing and screening of novel bioregulators.

APPENDIX to: Kurchii B. A. (1993) Functional reactive groups of bioregulators. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii* (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev) **25**: 82–92 (In Russian).



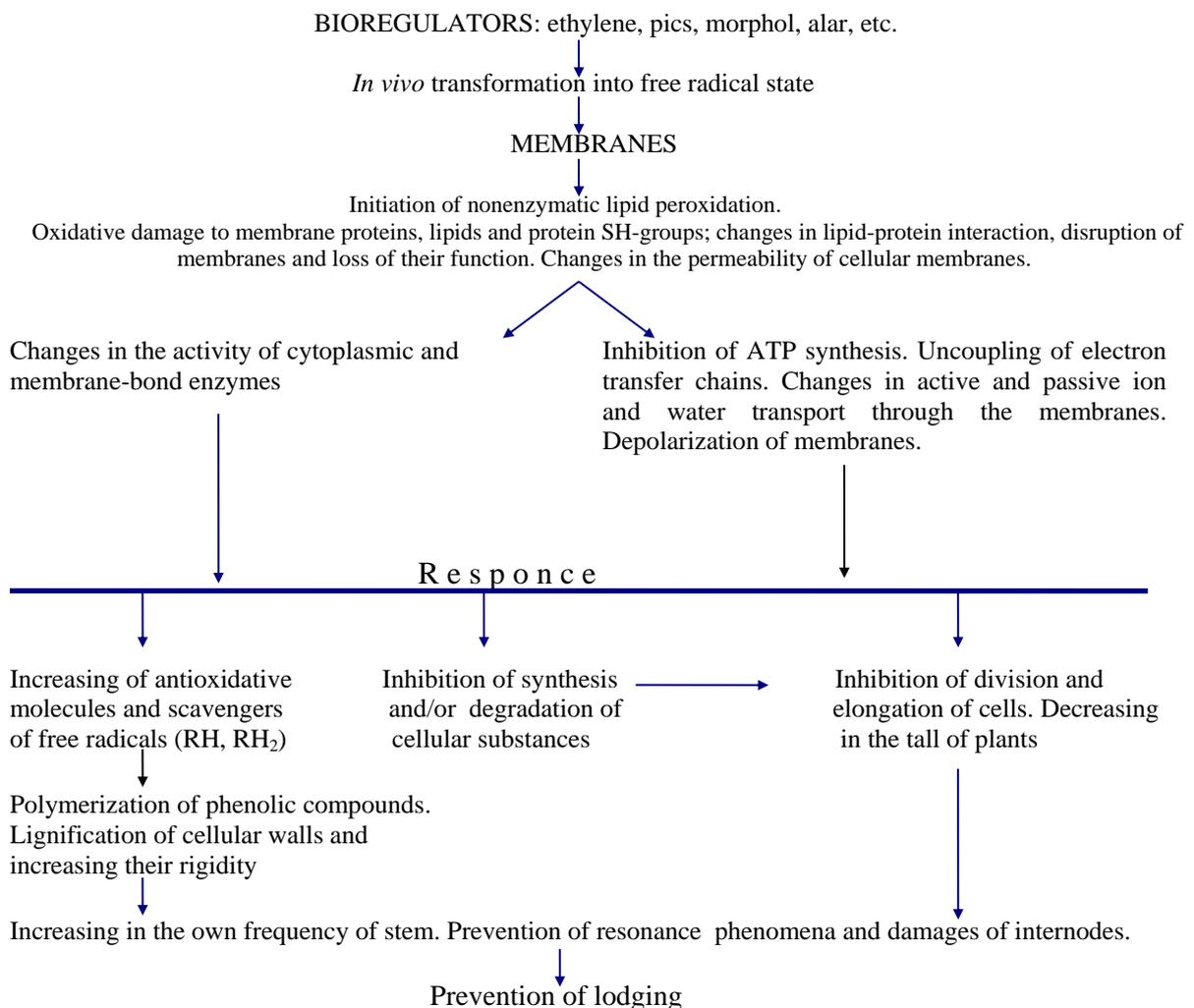
The Summarizing Model of Action of Growth Retardants on Crops to Prevent Lodging *

B. A. Kurchii

Institute of Plant Physiology and Genetics, Vasylkivska 31/17, 252022 Kiev

SUMMARY

The molecular mechanisms of action of retardants to prevent lodging of crops in the vegetative period is described in review. It is proposed that retardants *in vivo* are transformed into free radical that initiate the free radical chain reactions of lipid peroxidation. Schematically prevention of lodging of crops by retardants is presented below:



* Translated from: Курчий Б. А. (1993) Обобщенная модель действия ретардантов по предотвращению полегания злаков. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) **25**: 518.

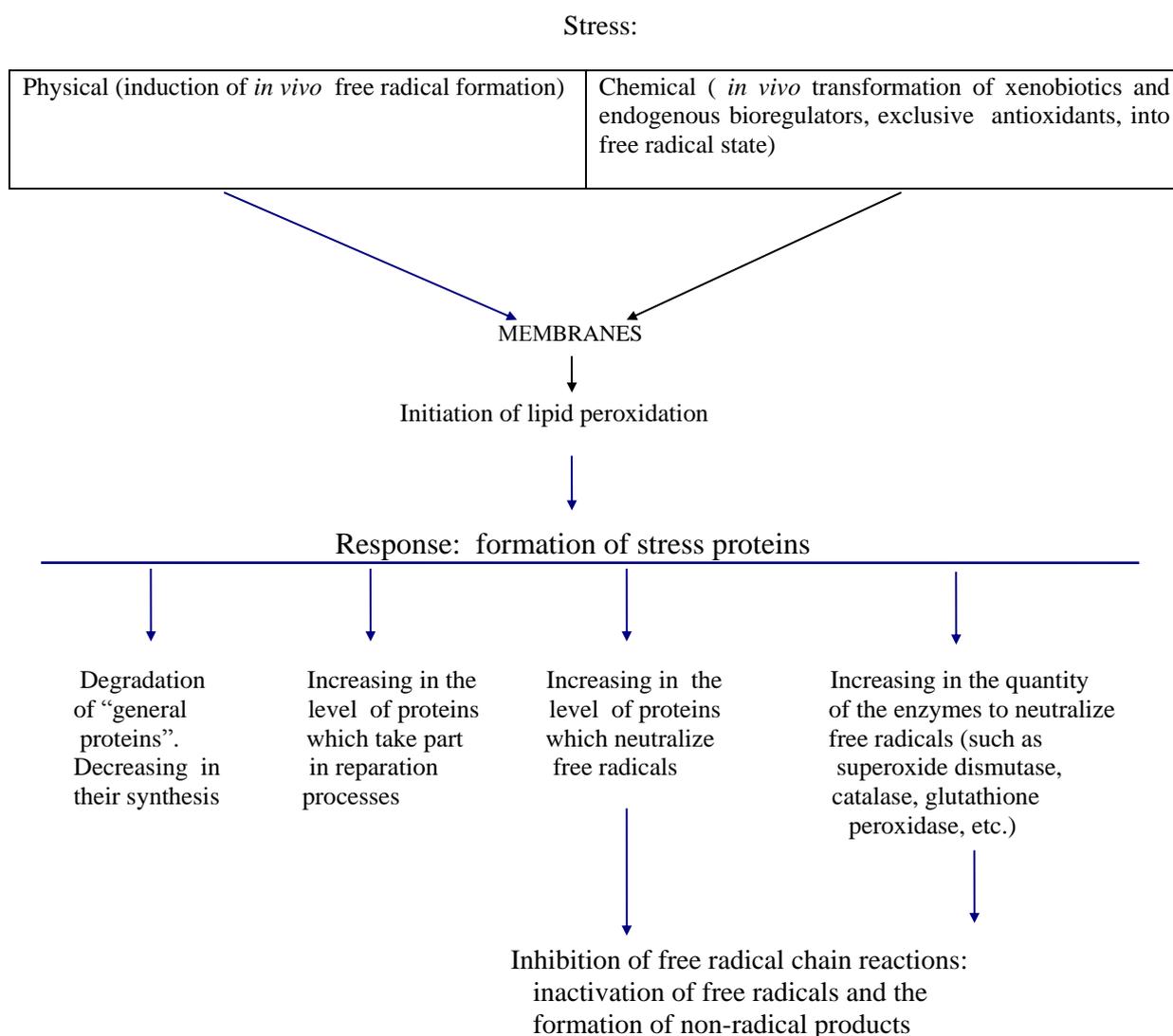
On the Possible Antioxidative Mode of Action of Stress Proteins^{*}

B. A. Kurchii

Institute of Plant Physiology and genetics, Vasykivska 31/17, 252022 Kiev

SUMMARY

The molecular mechanisms of resistance of plant and animal organisms to stressful conditions and also of action of diverse physical and chemical factors are described in review. It is proposed that the activation of antioxidative defense systems including stress proteins can occur in accordance to the following scheme:



^{*} Translated from: Курчий Б. А. (1993) Стрессовые белки как возможные антиоксиданты. Физиология и биохимия культурных растений (Киев) 25: 519.

ХИРАЛЬНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ – ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ПРЕДПОЧТЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ С МЕНЬШЕЙ ЭНЕРГИЕЙ АКТИВАЦИИ *

Б. А. Курчий

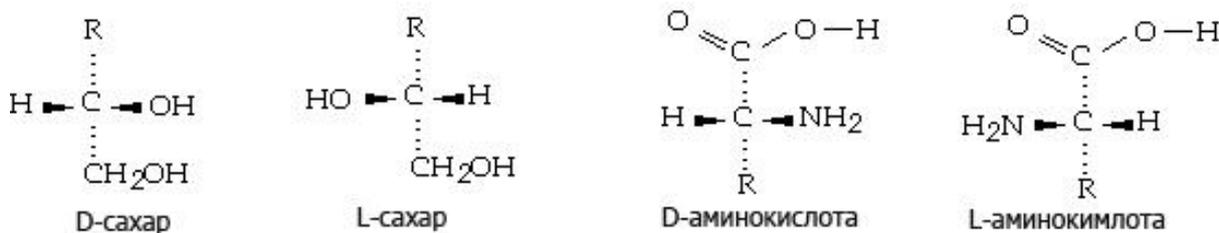
Институт физиологии растений и генетики АН Украины, Киев

Известно, что когда в молекуле органического соединения атом углерода связан с четырьмя разными атомами или функциональными группами, то его называют асимметричным. Такой атом может существовать в двух изомерных формах, различающихся пространственной конфигурацией. Энантиомеры (или стереоизомеры) отличаются способностью вращать плоскость поляризации, но в химических реакциях *in vitro* ведут себя одинаково. Соединения с асимметричным атомом углерода называют еще хиральными [1, 2, 4–6].

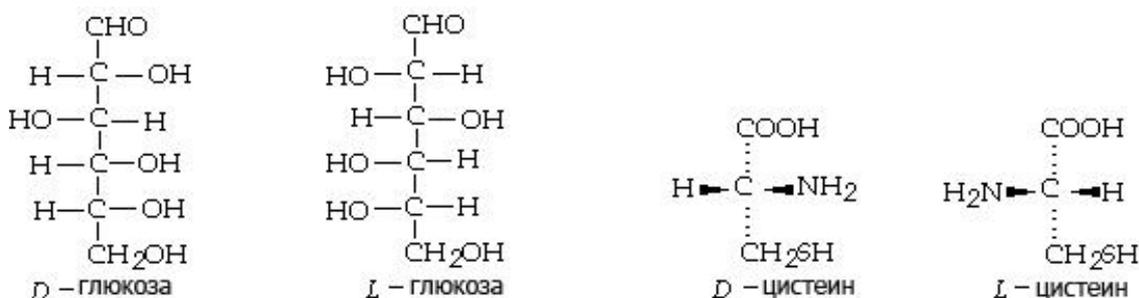
В живых организмах хиральные молекулы синтезируются ферментативно таким образом, что отдается предпочтение только одной из двух возможных структур. Хиральность свойственна многим биомолекулам и играет важную роль в жизнедеятельности организмов. В первую очередь это характерно для аминокислот и моносахаров.

Сtereoизомеры хиральных соединений, соответствующие по конфигурации D–глицеральдегиду, обозначаются буквой D, а стереоизомеры, соответствующие L–глицеральдегиду, – буквой L. *In vitro* природные соединения, содержащие хиральный атом углерода, метаболизируются только в какой-нибудь одной стереоизомерной форме D или L. Например, белки синтезируются из L–стереоизомеров аминокислот, полисахариды – из моносахаров D–изомеров [1, 2, 4–6].

На основании анализа литературных данных [1–6] мы пришли к выводу, что в биологических системах при наличии в реакционной среде двух изомерных форм предпочтение отдается той D или L, у которой отрыв водорода (или другого радикала) требует меньшей энергии активации, то есть меньше энергетических затрат. Как известно, атом водорода легче отщепляется от третичного углерода, чем от вторичного, а от вторичного углерода – легче, чем от первичного [1–6]:



* Опубликовано в: Курчий Б. А. (1992) Хиральность биологических молекул – ферментативное предпочтение химических реакций с меньшей энергией активации. В кн.: В. В. Моргун, Б. А. Курчий, А. В. Рубан, ред. Регуляторные механизмы в физиологии растений и генетике. Издательство Наукова думка, Киев, с. 57–61.



Таким образом, биологическое предпочтение в метаболизации хиральных соединений определяется наличием активного водорода у последних и не зависит от химических свойств этих веществ *in vitro*. Следовательно, работа фермента (ферментов) заключается в переводе двух (или одного) веществ, участвующих в биохимической реакции, в свободнорадикальное состояние через стадию переходного. А все молекулы (атомы) в свободнорадикальном состоянии реагируют без энергии активации (или при очень малой ее величине) [1–6]. Однако, кроме энергии активации, не менее важен и стерический фактор. У молекул L-аминокислот и D-моносахаров стерическое положение водорода при третичном атоме углерода не затруднено соседними радикалами в отличие от их соответствующих изомеров. Стерическими факторами как мы полагаем, и обусловлено предпочтение *in vivo* той или иной (D или L) формы соединений, участвующих в биохимических реакциях. Обусловлено это прежде всего тем, что атом водорода у D-моносахаров или L-аминокислот легче доступен (приближается) к активному центру фермента.

Рассмотрим это на примере синтеза белка. Известно, что на рибосоме имеется два участка: P-участок (пептидный или донорный) и A-участок (акцепторный) для связывания тРНК. К P-участку присоединяется тРНК, несущая растущую полипептидную цепь, а к A-участку тРНК, несущая следующую аминокислоту, которая должна присоединяться к растущей цепи. Как только P- и A-участки на рибосоме будут заняты тРНК, начинается процесс образования пептидной связи. Эта реакция катализируется пептидилтрансферазой (см. рисунок). После отрыва атома водорода ферментом пептидилтрансферазой от третичного атома углерода присоединяемой аминокислоты происходит миграция водорода от атома азота на третичный углерод и свободнорадикальный центр смещается на атом азота. Впоследствии образуется ковалентная связь с атомом углерода карбоксильной группы предыдущей аминокислоты, т.е. ранее включенной в белковую цепь. Одновременно вследствие фрагментации этой ранее включенной аминокислоты образуется алкоксильный радикал P-участка. В таком фермент-субстратном комплексе происходит геометрическая деформация отдельных валентных связей, т.е. поляризация связей (изменение распределения электронной плотности). Поляризация связей субстрата (возможно одновременно и фермента) способствует преодолению активационного барьера переходного состояния. В дальнейшем в результате транслокации освобождается A-участок рибосомы и завершается цикл образования пептидной связи.

Таким образом, мы предполагаем, что все (или почти все) биохимические реакции *in vivo* протекают через стадию свободнорадикального состояния.

В эволюционном плане нарушение механизма зеркальной симметрии биоорганического мира может быть обусловлено именно этими свойствами хиральных молекул. Поэтому фактор преимущества более низкого энергетического барьера D-изомеров сахаров и L-изомеров аминокислот в биохимических реакциях и обусловил гомохиральность ключевых биополимеров живых существ. При переходе от протобиологических структур к организменному уровню биоорганического мира спонтанное нарушение зеркальной симметрии и было обусловлено именно энергетическими процессами метаболизации этих структур. В этом случае хиральная чистота появляется вследствие действия фактора преимущества экономии энергетических затрат. Поэтому предпочтение в метаболизации *in vivo* именно левых аминокислот и правых сахаров не является случайным, так как фактор энергетического преимущества (отбора реакций с меньшей энергией активации) влияет на процесс утилизационного формирования асимметрии в ходе спонтанного нарушения симметрии протобиологических структур. Это значит, что процессы формирования биологических структур протекают с наименьшими из возможных в природе энергетическими затратами. Следовательно, биологическая целесообразность жестко детерминирована энергетическими возможностями живых систем и не определяется виталистическими силами, т.е. изначальной целесообразностью. Поэтому из нескольких адекватных биохимических путей образования биополимеров предпочтение отдается тому, который требует менее всего энергетических затрат.

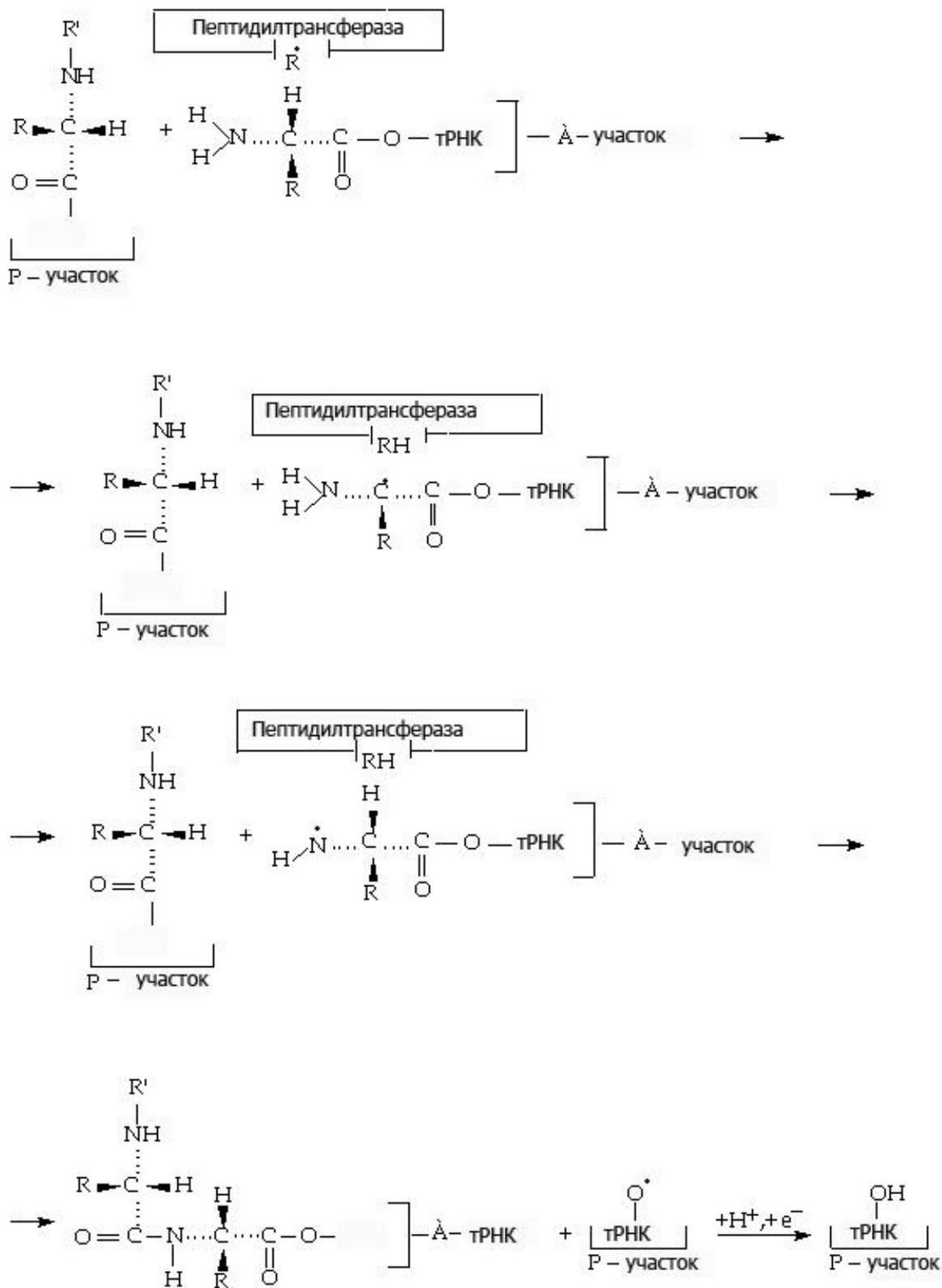


Схема предполагаемого механизма стерического взаимодействия фермента пептидилтрансферазы с хиральными молекулами L-аминокислот при образовании пептидной связи.

1. **Goodwin TW, Mercer EI** (1983) Introduction to plant biochemistry. Volume 1. 2nd edition. Pergamon Press, Oxford e.a.
2. **Goodwin TW, Mercer EI** (1983) Introduction to plant biochemistry. Volume 2. 2nd edition. Pergamon Press, Oxford e.a.
3. **Nonhebel DC, Walton JC** (1974) Free-radical chemistry: structure and mechanism. Cambridge Univ Press, Cambridge
4. **Pauling L, Pauling P** (1976) Chemistry. WH Freeman and Company, San Francisco
5. Пространственные реакции в органической химии (1960). Издательство иностранной литературы, Москва
6. **Fieser F, Fieser M** (1986) Advanced organic chemistry. Reinold Publishing Corporation, Chapman and Hill Ltd., New York – London

SUMMARY

Kurchii BA (1992) Preference in the metabolism of *D*- or *L*-chiral molecules is caused by the selection of chemical reactions with the low activation energy. In VV Morgun, BA Kurchii, AV Ruban, eds, The Regulative Mechanisms in the Plant Physiology and Genetics. Naukova Dumka Publ, Kiev, pp 57–61.

It is proposed that in living organisms the selection of *L*-amino acids and *D*-sucrose to be used in the organic synthesizes is caused by availability of an active hydrogen atom. In these structures an hydrogen atom is not hindered by neighboring substituents in contrast to their parental structures, i.e., *D*-amino acids and *L*-sucrose.

Chemical Structure of Descriptors With an Active Hydrogen Atom in Certain Bioregulators *

B. A. Kurchii

Institute of Plant Physiology and Genetics, Vasylykivska 31/17, 252022 Kiev

The chemical structure of descriptors (D) for some plant growth regulators (PGR), herbicides, pesticides and drugs is described. The presence of an active hydrogen atom in molecules is an essential factor determining biological activity of chemicals. The results obtained from the study of dependence existing between the structure of a certain substance and its biological activity may be used in designing of new compounds which possess biological activity.

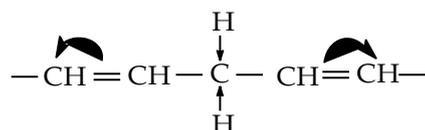
The role of bioregulators in agriculture and medicine attracts an ever growing interest at present. Many investigators have intensively studied molecular mechanisms of action of various bioregulators: herbicides, pesticides, drugs, hormones and plant growth substances, their interaction with biological systems and structures as well as relationships between the structure of chemicals and their biological activity [1–3]. The approaches to the study of the structure-activity relationships described in literature [4–9] (e.g., the presence of halogens, OH– or NO₂–groups, asymmetric carbon, etc.), are not satisfactory for purposeful construction of drugs, pesticides and herbicides with selective activity. Indeed, on the basis of structural features it is often impossible for chemists to select compounds which already possess final therapeutic, herbicidal, fungicidal or insecticidal effects. Unfortunately there is no universal method of prediction of biological activity based on the molecular structure of chemicals.

The objective of this study is to determine the size and chemical structure of functional-reactive groups, i.e., descriptors (D) for some well-known bioregulators.

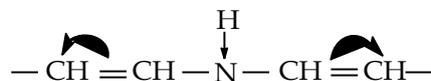
Some relationships between the structure and biological activity can be revealed from the following considerations. According to the theoretical criteria used in our study [10–13] the relationship between the molecular structure of the chemical and its effect on biological systems is based on the molecular properties encoded in its structure.

It is known that the chemical behavior of unsaturated fatty acids is determined by the presence of the double bond, especially by the spatial direction of the σ - and π -bonds. The electron density of σ -bond is concentrated along the line which connects atomic nuclei, while that of the π -bond is beyond these limits forming a larger region of a negative charge. A characteristic feature of π -electrons is their mobility; also the π -bond is polarized more readily [14].

It is found [14, 15] that when a π -bond forms between atoms of different electronegativity, it is polarized, that the π -electrons forming it are shifted in the direction of the more electronegative atom. In turn, the shift causes a far greater displacement of mobile π -electron of the double bond in the direction indicated by the curved arrow:



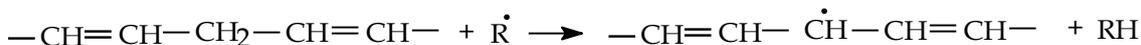
Thus, the electron shift $\text{H} \rightarrow \text{C}$ causes a great shift in the electrons of the double bond, e.g., they cause polarization with a shift in the electron density toward the carbon atom which is not linked with the alkyl group. The π -bonds are common in organic compounds being capable of linking not only carbon atoms but also atoms of oxygen, nitrogen, sulfur, phosphorus, etc. The similar effects can be described for the substances which contain NH-groups:



* Published in : **Kurchii B. A.** (1996) Chemical structure of descriptors with an active hydrogen atom in certain bioregulators. *Ukrainskii Biokhimičeskii Zhurnal* (The Ukrainian Biochemical Journal, Kiev) **68**: 3–13.

From the above we see that a fragment of molecule $-\text{CH}=\text{CH}-$ is an electron-attracting group. Such an electron-attracting group may be formed also by a triple bond, bonds between P, O, S, N, halogen and Aryl (Ar).

In previous publications [10–12] we have advanced the hypothesis that a hydrogen atom is easily abstracted from these fragments and bioregulators (xenobiotics) are transformed into the free radical. It is known, that the essential property of atoms or molecules that are free radicals is the presence of one unpaired electron in their external orbit. These molecules react very energetically and mainly nonspecifically to remove an electron, typically in the form of a hydrogen atom, from adjacent molecules[14–16]. In the example with the unsaturated fatty acid the formation of free radical may be presented by the following mechanism:

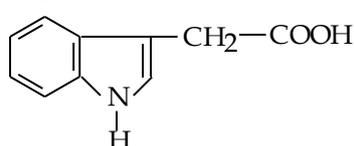


A similar mechanism may be described for substances with -NH-group:

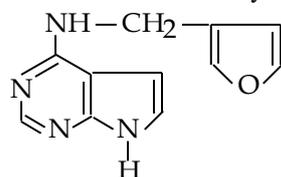


The methylene group is particularly sensitive to radical reagents when situated between two double bonds because the radical formed in the first stage of the reaction is stabilized by the conjugation of the odd electron with the π -electrons of two double bonds. The π -bond is a readily polarized center under the influence of the attacking reagent. The polarity of bond is determined by the electronegativity of the linked atoms, i.e., by the ability of the atoms in a molecule to attract electrons. The more electronegative an atom is the stronger its attraction for electrons.

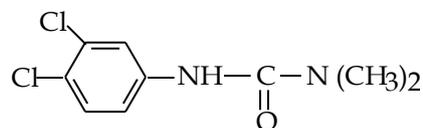
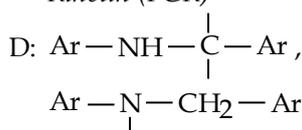
Proceeding from the above results we have selected descriptors or functional-reactive groups with a mobile hydrogen atom for various PGR, pesticides and herbicides. They are following:



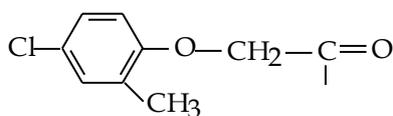
IAA (PGR)



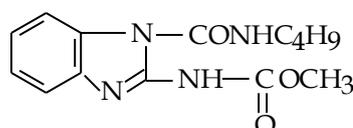
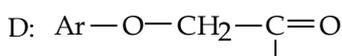
Kinetin (PGR)



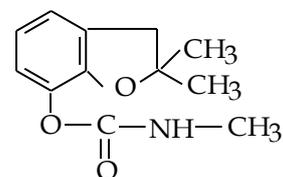
Diuron (Herbicide)



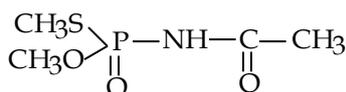
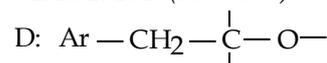
MCPA (Herbicide)



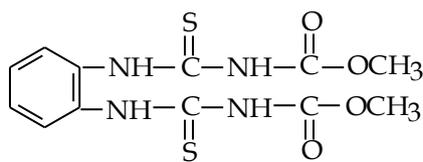
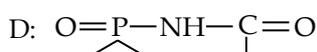
Fundazol (Fungicide)



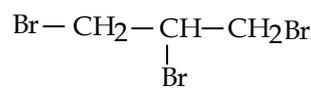
EHT 27164 (Acaricide)



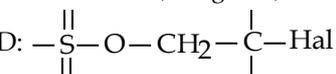
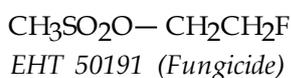
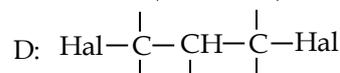
Orten (Insecticide)



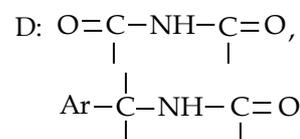
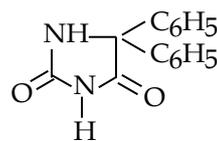
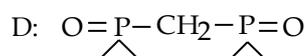
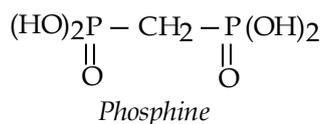
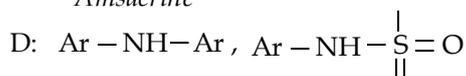
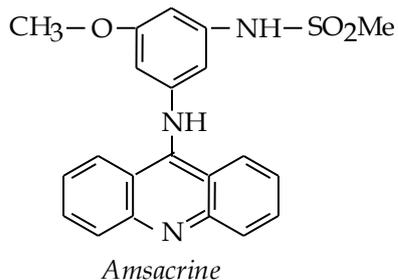
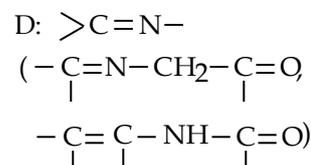
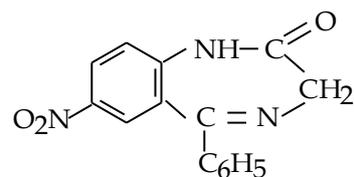
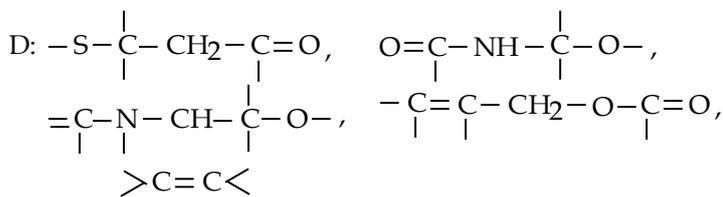
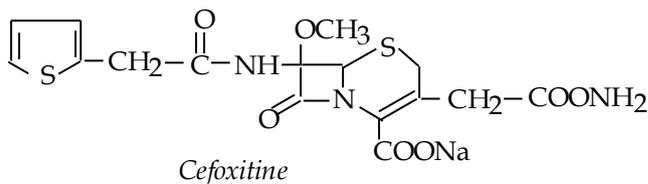
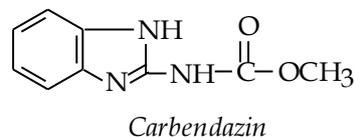
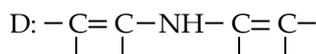
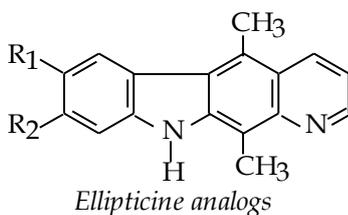
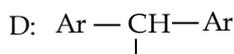
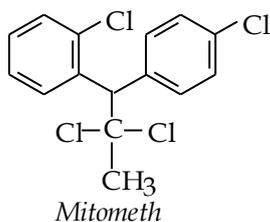
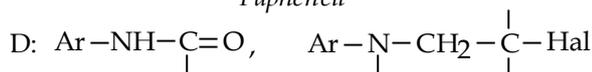
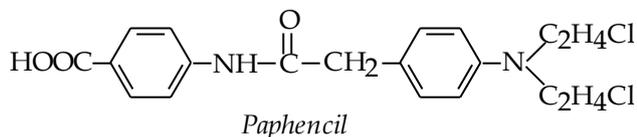
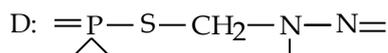
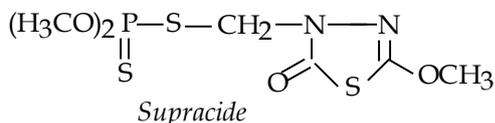
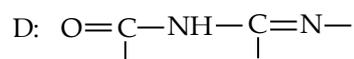
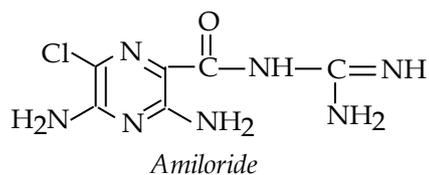
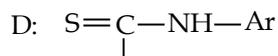
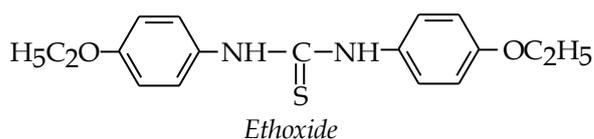
Topsin M (Fungicide)



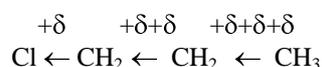
0-1897 (Insecticide)



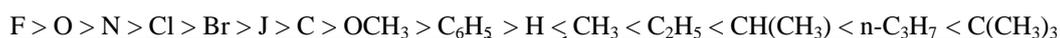
Similar descriptors with an active hydrogen atom we have also found in some groups of drugs:



An important factor determining biological activity of bioregulators is the presence of atoms of halogens (F, Cl), NO₂-group and other substituents in their structural formulae. In this connection rather important is the phenomenon of interaction between the atoms which are not directly linked with each other. The influence of a halogen atom on a carboxyl group not directly linked with it is due to the following: the C→Cl linked possesses electrical asymmetry which manifests itself in a definite dipole moment, Cl being the negative end of the dipole. The carbon atom linked with chlorine carries a small positive charge. This makes an electron pair from the neighboring carbon atom shift in its direction. That carbon atom then acquires a certain positive charge, and so forth. Such an effect of atoms not directly linked with each other is called an inductive effect (I) [14–16]:



Data obtained in the study of the strengths of various substituted acids, and other experimental evidence give ground to arrange substituents in the following order depending on their inductive effects [14–16]:



Here the inductive effect of hydrogen is taken as zero.

The data presented above clearly demonstrate that the greater biological activity for bioregulators is strongly correlated with the presence of electronegative groups.

As you can see from above, the fluorine atom is the most electronegative chemical element. The fluorine atom also forms a fluorocarbon chain of chemicals which are present in the formulae of growth substances.

Thus, the presence of a heteroatom adjacent to the carbon or nitrogen from which a hydrogen atom is abstracted and also at the atom in α - or in β -position rarely has a dramatic effect on reactivity of bioregulators.

The influence of the substituents on the rate of hydrogen atom abstraction in the benzene ring is manifested mainly as a change in the value of the activation energy E. Radical substitutions of benzene should be more difficult than those of substituted benzenes, regardless of the nature of the substituent. Abstraction of a hydrogen atom as a radical substituent must be easier for substituted benzenes, because in the transition state substituents participate in delocalization of unpaired electron cloud. For this reason such reactions must involve a lower activation energy than radical reaction with unsubstituted benzene. Thus, in accordance with theoretical considerations [14–17] radical substitution in the benzene ring is enhanced by substituents of both the electron releasing or electron donating groups. Moreover, the substituents at the *ortho*-positions may further delocalize the unpaired electron by electron donation, by electron withdrawal or hyperconjugation. The nature of the orientation of substituents remains the same for the naphthalene, anthracene, etc., rings.

Of great interest in designing of bioregulators is the change in the chemical nature of a hydrogen atom depending on what other atom it is linked with. Thus, if an atom of hydrogen is linked with a carbon atom (C–H bond), it can be removed only with great difficulty as a proton. A hydrogen atom linked with oxygen (O–H bond) is considerably more 'mobile'. If hydrogen atom is linked to a nitrogen atom it is the most active. The different chemical character of a hydrogen atom in the C–H, O–H, and N–H bonds is due to the different polarity and polarizability of these linkages. At the same time the rate of hydrogen atom abstraction by the radical initiators depends partly on the standard of bond-dissociation energy of the X–H bond attacked. The variation in bond-dissociation energies of variant X–H bond is shown in Table 1 [14, 15, 18].

From the above examples it will be seen that the biologically active substances contain in all cases an active hydrogen atom at the C- or N-atoms. These chemicals form carbon-centered or nitrogen-centered free radicals. Oxygen-centered free radicals are also important in living organism, but sulfur-centered free radicals are less stable and their role in living organisms is insignificant. Hydrogen is also highly reactive in organo-metallic compounds which possess in biological activity [14, 17].

Thus, from the data reported above you can see that the nature of biological activity of different chemicals is determined by two conditions: (1) the presence of a reactive hydrogen atom at the functional-reactive group and (2) introduction of substituents to their structural formulae which stabilized formed free radicals. The above considerations provide a satisfactory basis for the chemists who design novel bioregulators. It is also clear that an estimate of the performance of theoretical methods may be given by biologists, pharmacologists and toxicologists. It should be important also to link these theoretical predictions with experimental verification by chemists.

Hence, the functional-reactive groups (or Descriptors), and substituents are essential structural factors which affect the transfer reaction. Indeed, the hydrogen abstraction from chemicals may be enhanced greatly by introduction of the substituents to their structural formulae. On the other hand, these substituents influence the stability of free radicals formed from bioregulators (xenobiotics) by electron delocalization.

The reactivity of bioregulators depends not only on a number of atoms and/or substituents in a formed radicals but also on their mutual configuration, especially on the extent of interaction of the unpaired spin with neighboring atoms and the sterical shields of the semioccupied orbital. The radicals which have minimum inner interaction of unpaired electron will be reactive [17, 19].

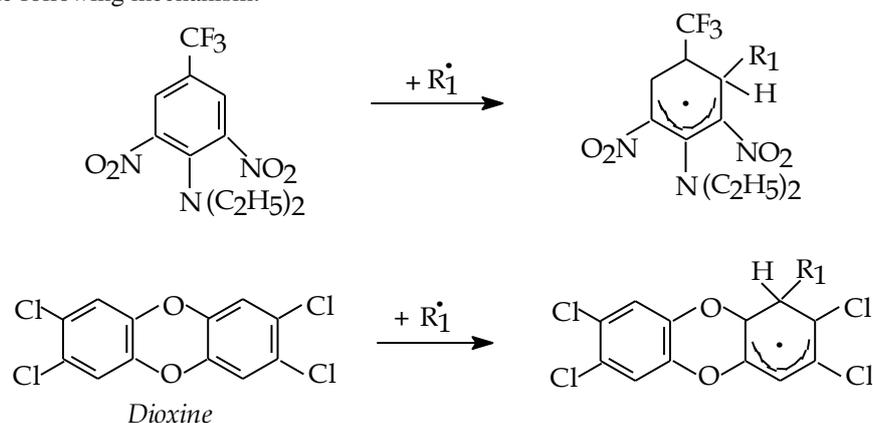
Conformational factors have an important effect on the position of attack in the intramolecular hydrogen atom abstraction as well as on the abilities of formed radicals to oxidize biological molecules.

It was found that radical substitution is easier for substituted benzenes, because in the transition state of both the *ortho*-, *para*- and *meta*-substituents participate in delocalization of the unpaired electron cloud [14–17, 19]. Hence, the presence of nitro group especially enhances radical substitution in the derivatives of benzenes.

Table 1. Standard bond energies and approximate temperature of thermolysis at which half of original chemical bonds dissociates per 1 HR [18]

Type of X–H bond	D, kj/kal	T° C
O – H	464	980
C – H	414	850
N – H	393	780
S – H	343	650

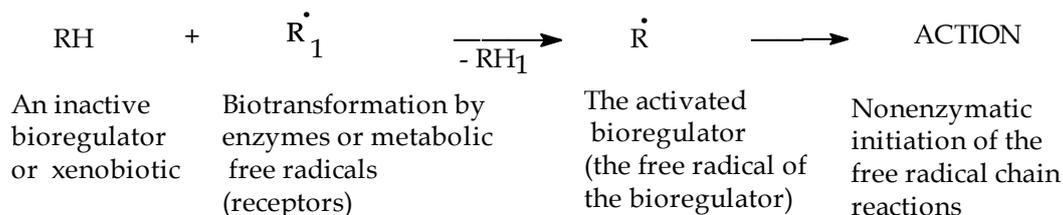
A hypothetical mechanism of free radical formation for such bioregulators as nitrophenore and dioxine may be presented by the following mechanism:



It should be pointed out that biological activity of aromatic molecules also depends on the coplanarity and consequently parallelism of its π -electrons. Steric hindrances which destroy coplanarity may change this activity substantially because in hydrogen abstraction, for instance, the hydrogen must be removed from a derivative of benzenes in a direction perpendicular to the plane of the aromatic ring. The substituents which are ousted from the plane of the benzene ring by the neighboring groups exert no influence on the mobility of the hydrogen atom and also prevent the contact of the attacking free radical with the hydrogen atom.

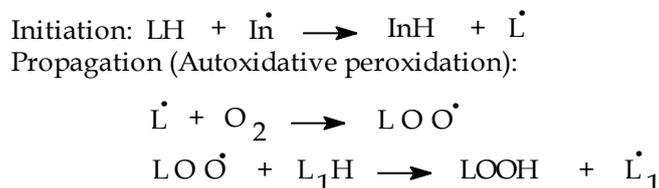
The other factors which contribute to the reactivity of chemicals are the resonance, mesomeric and steric effects. It is not necessary to consider in detail these effects because they are very well documented [14–17].

In all cases discussed above we saw that bioregulators in free radical state are carbon-, nitrogen- and oxygen-centered radicals. The sulfur-, phosphorus-, silicon-, selenium-centered radicals, etc., are only scarcely presented in literature.



Therefore, the inactive bioregulator requires *in vivo* transformation by enzymes into reactive agent or free radicals. The metabolic radical or coenzymes (in oxidized form) abstract a hydrogen to give the carbon- or nitrogen-centered radical. Bioregulators in free radical state can react with essential cellular constituents such as lipids, DNA, RNA, protein, etc. Hence, in spite of their chemical diversity bioregulators in free radical state as chemically reactive metabolites are able to react nonenzymatically with biological molecules. Indeed, a free radical is an atom or a molecule having an unpaired electron in the valence shell. This unpaired electron gives the molecule special properties: chemically the free valence often makes the molecule extremely reactive [14, 23, 24].

It should be noted that not all free radicals can be growth regulators. The function may be carried out only by those whose activity is neither too high nor too low; that is, those which have time to react only with polyunsaturated carboxylic acids of cellular membrane lipids and other biological molecules. Hence, *in vivo* bioactive chemicals act as initiators (In°) of free radical chain reactions. Polyunsaturated fatty acids (LH) presented in cellular membranes are easily oxidized by the following mechanism [17, 23, 24]:



The deprived molecule L_1 then becomes a radical itself and in turn disrupts another adjacent molecule. Thus, a chain reaction has been set in motion. This is only the primary reaction in the oxidation cycle. However, it is not necessary to discuss all aspects of free radical mechanism action on the biological objects in this report because they are very well documented by other authors [17–24].

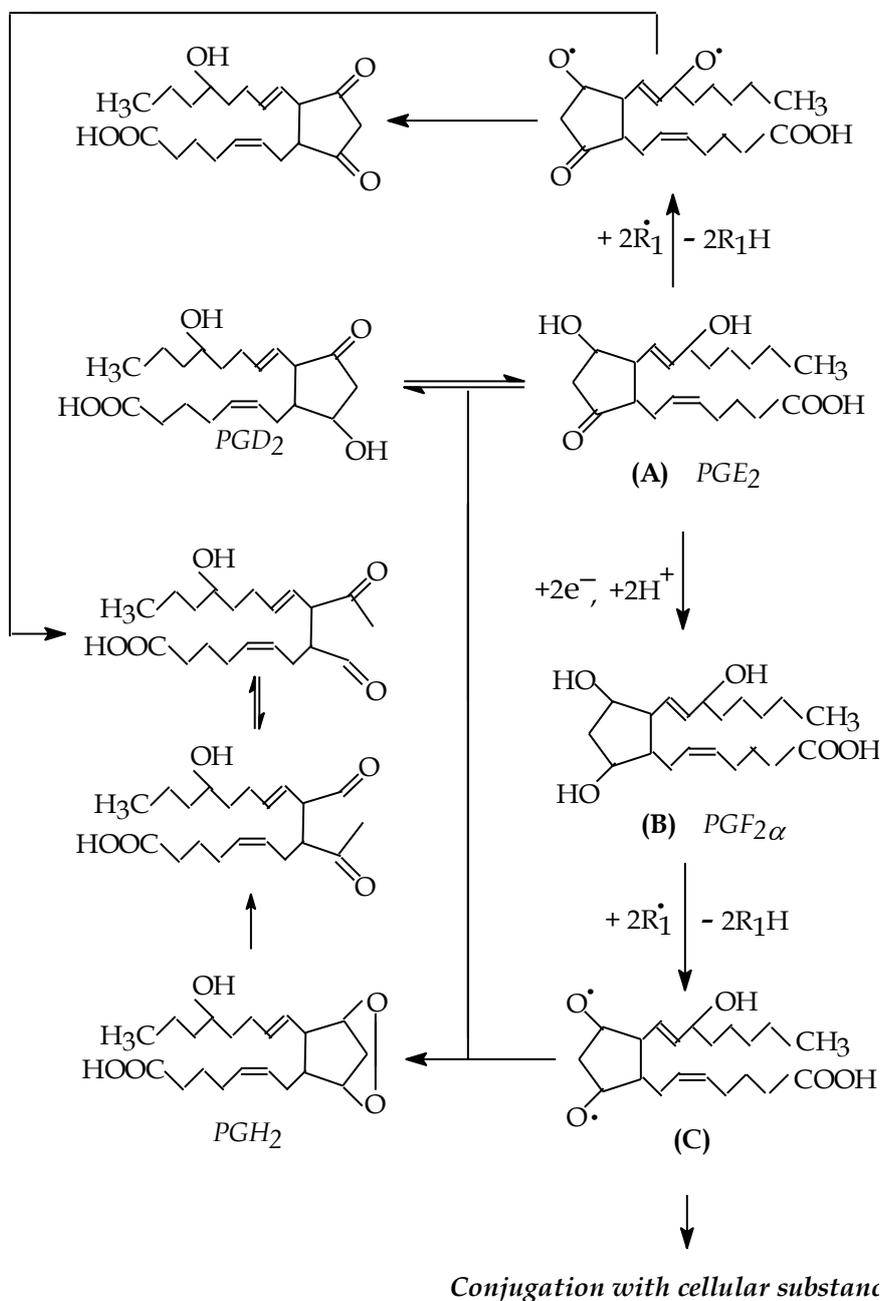
The development of a chain reaction of peroxide oxidation of cellular lipids normally is regulated by substances with antagonistic effects, antioxidants, which depress peroxide oxidation and neutralize radicals in the cell. Indeed, in living organisms the defense systems are able to detoxify inorganic and organic free radicals and peroxides. These systems include superoxide dismutase, catalase, the GSH–peroxidase–GSSG reductase couple, α -tocopherol, β -carotene, ascorbic acid, reduced glutathione [25], and also some prostaglandins such as PGD_2 , $PGF_{1-3\alpha}$, some stress proteins and abscisic acid [10, 11, 26, 27].

Among natural antioxidants, the plant hormone abscisic acid and some prostaglandins seem to be particularly interesting in view of the possible protection against free radicals. Prostaglandins are widely distributed in nature, in both plant and animal systems. These substances are generated from oxidation-reduction of membrane lipids by a variety of pathways, including autoxidation, chemical oxidation, and enzymatic oxidation [28]. It is noted that lipid peroxidation [17–19, 23, 24] is a highly destructive process which induces alteration in the structural integrity of biological membranes, and gives rise to a wide range of potency of biologically active products, including prostaglandins which refer to various ring structures, e.g., PGD_2 , PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$, and PGH_2 . To study these processes in molecular detail to understand mechanism of biological action of prostaglandins, it is important to identify biologically active structures among this class of bioregulators. Interest of the structural basis for the action of prostaglandins can be focused on the formation of such structures as, for instance, $PGF_{2\alpha}$, that can act as antioxidative agent. Schematically the processes of reduction and oxidation of PGE_2 are presented in Scheme 1.

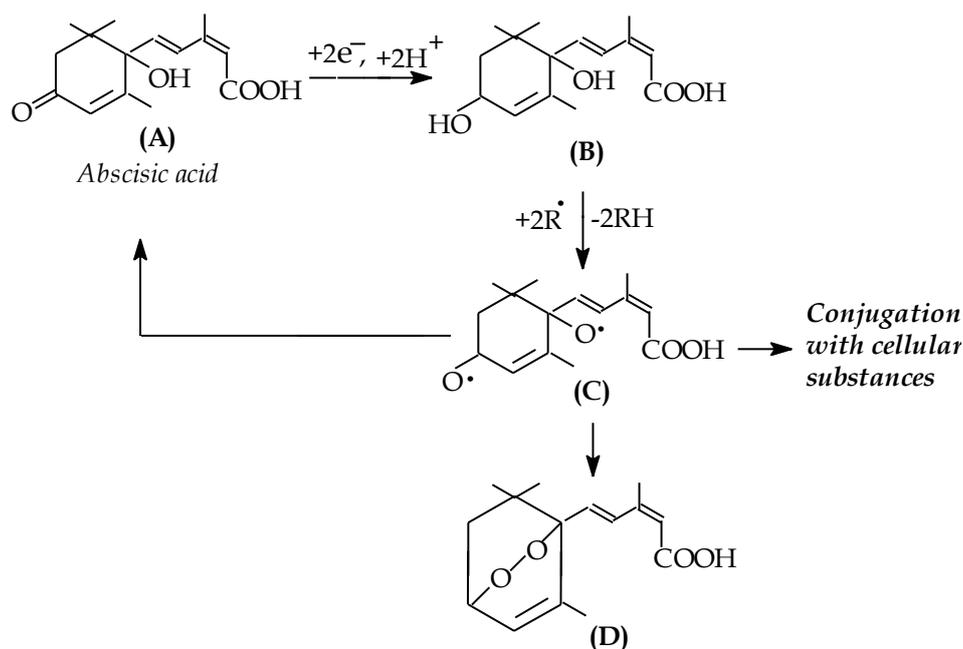
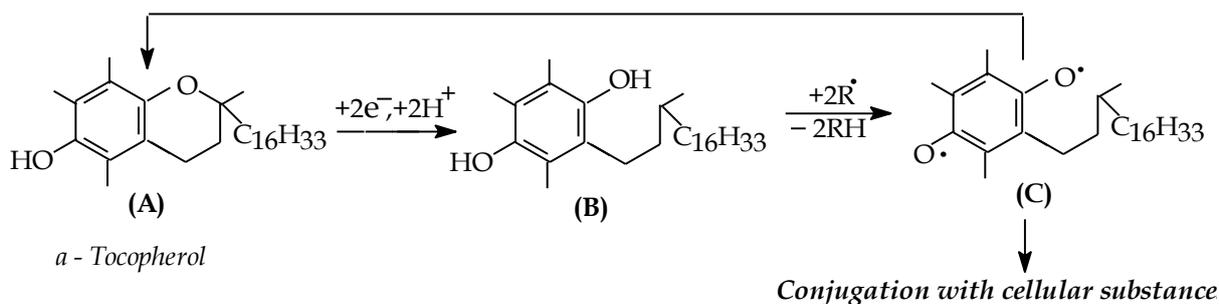
Examinations of compounds with antioxidative activity show that they possess the appropriate functional OH-groups. Apart from obvious structural similarity between the phenol-like substances (prooxidants) on the one hand and the antioxidants on the other, these two groups of bioregulators are different in their biochemical behavior.

With regard to the possibility that ABA, ascorbic acid, α -tocopherol and some prostaglandins can act as effective antioxidants, it is interesting to note that these substances preliminary must be reduced by other reducing agents [13, 26, 29].

Based upon the information on the primary mechanism of action of quinones as antioxidative agents [17, 23, 24] we have suggested a hypothetical pathway for reduction/oxidation of some natural antioxidants. These findings are consistent with the potential role of two OH-groups in the mechanism of action of antioxidants. Simplified general mechanism for the reduction/oxidation for α -tocopherol, abscisic acid and prostaglandin PGE_2 is shown in Scheme 1 and 2 [10, 11, 13, 26, 29].



Scheme 1. Schematic representation of possible steps in the metabolism of PGE_2 .



Scheme 2. Proposed pathway for oxidation-reduction of antioxidants α -tocopherol and abscisic acid.

The first step involves generation of an active species by reduction of forms A. The activated chemicals (forms B) are effective as antioxidants and free radicals scavengers and then react with metabolic free radicals. Newly formed free radicals (forms C) are stable and by the rearrangement mechanism they are transformed into stable products (forms A).

The results presented here have updated and expanded knowledge concerning the relationship between the chemical structure and biological activity. Using our approach it is possible to evaluate growth activity of any chemical. We hope that these results will help to design novel pesticides, herbicides, and drugs. Besides we believe that these findings may have a general implication and form the basis for understanding the toxicity of various pollutants. This is the main advantage of the survey proposed. We should also like to hope that we have given rise to a wider and more intensive research of new biologically active agents in accordance with the principles proposed. It is a worthy goal for scientists in this field for the nearest future.

These theoretical considerations have primarily concerned pure design of new bioregulators. Furthermore, taking into consideration both the strong relationships between the structure of agents and the biological activity it is supposed that the theoretical methods used in this study can help to develop illustrative ideas about the primary mechanism of action of phytohormones, hormones, and xenobiotics.

1. **Comporti M** (1985) *Biology of disease. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. Laboratory Investigation* **53**: 599–623

2. **Davies PJ** (1988) Plant hormones and their role in plant growth and development. Kluwer Acad Publ, Dordrecht – Boston – London
3. **Langcake P, Kuhn PJ, Wade W** (1983) The mode of action of systemic fungicides. *In* H Hutson, TR Roberts, eds, Progress in pesticides biochemistry and toxicology. Volume 3, pp 1–109
4. **Ariens TG** (1984) Domestication of chemistry by design of safe chemicals: Structure-activity relationships. *Drug Metab Rev* **15**: 425–504
5. **Ariens TG** (1987) Stereochemistry in the analysis of drug action. Part 2. *Med Res Rev* **7**: 367–387
6. **Bodor N** (1984) Soft drugs: Principles and methods for the design of safe drugs. *Med Res Rev* **4**: 449–469
7. **Sabljić A** (1981) Quantitative structure-activity relationships: the role of topological indices. *Acta Pharm Jugosl* **31**: 189–214
8. **Tollenaere JP, Janssen PAJ** (1988) Conformational analysis and computer graphics in drug research. *Med Res Rev* **8**: 1–25
9. **Weinstein H, Rabinowitz J, Liebman MM, Osman R** (1985) Determination of molecular reactivity as criteria for predicting toxicity: problems and approaches. *Envir Health Persp* **61**: 147–162
10. **Kurchii BA, Koydan GN** (1985) What regulate the growth regulators. *Khimiya i Zhizn* (Chemistry and Life, Moscow) **2**: 36–39 (In Russian)
11. **Kurchii BA, Koydan GN** (1985) The mechanisms of action of growth regulators. *Khimiya i Zhizn* (Chemistry and Life, Moscow) **10**: 68–69 (In Russian)
12. **Kurchii BA** (1989) Structure-activity relationships in the free radical mechanism of action of plant growth regulators. *In* The Regulators of Growth and Development of Plants, Abstract of Conference, Kiev, 25–27 May 1988, p 247 (In Russian)
13. **Kurchii BA** (1993) Functional-reactive groups of bioregulators. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturuykh Rastanii* (Physiology and Biochemistry of Cultivate Plants, Kiev) **25**: 82–92 (In Russian)
14. **Ingold CK** (1969) Structure and metabolism in organic chemistry. Cornell University Press, Ithaca and London
15. **Kice JL, Marvell EN** (1974) Modern principles of organic chemistry: In introduction. New Macmillan Publishing Co Inc. and Collier Macmillan Publ, London – New York
16. **Heyes MA** (1960) An introduction to electronic theory of organic compounds. Georg. G. Harrap and Co Ltd, London – Toronto – Wellington – Sydney
17. **Nonhebel DC, Walton JC** (1974) Free-radical chemistry. University Press, Cambridge
18. **Lazar M, Ruchly J, Klimo V, Pelikan P, Valko V** (1989) Free radicals in chemistry and biology. CRC Press Inc, Boca Raton – Florida
19. **Kochi JJ** (1973) Free radicals. John Willey and Sons, New York – London – Sydney – Toronto
20. **Kurchii BA** (1990) Possible reactions of ethylene oxidation and formation of its free radicals. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturuykh Rastanii* (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev) **22**: 445–454 (In Russian)
21. **Kurchii BA** (1991) Ethylene formation from quaternary ammonium salts in the Gofmann's splitting reaction. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturuykh Rastanii* (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev) **23**: 17–23 (In Russian)
22. **Case JC** (1968) The action of paraquat and diquat on the respiration of liver fractions. *Biochem J* **109**: 757–761
23. **Pryor WA**, ed, (1976) Free radicals in biology. Part 1. Academic Press, New York – San Francisco – London
24. **Pryor WA**, ed, (1976) Free radicals in biology. Part 2. Academic Press, New York – San Francisco – London
25. **Sies H, Cadenas E** (1983) Biological basis of detoxification of oxygen free radicals. *In* J Caidwell, WB Jacoby, eds, Biological Basis of Detoxification. Academic Press, New York, pp 123–181
26. **Kurchii BA** (1992) On the biological action of prostaglandins as antioxidant. *In* Actual Problems of Plant Physiology and Genetics, Abstracts of Conference, Kiev 26–28 May 1992, p 75 (In Russian)
27. **Kurchii BA** (1993) On the possible antioxidative mode of action of stress proteins. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturuykh Rastanii* (Physiology and Biochemistry of Cultivate Plants, Kiev) **25**: 519 (In Russian)
28. **Leopold AC** (1964) Plant growth and development. McGraw Hill Book Company
29. **Kurchii BA** (1991) Abscisic acid as possible natural antioxidant of plants. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturuykh Rastanii* (Physiology and Biochemistry of Cultivate Plants, Kiev) **23**: 414–415 (In Russian)

Received 27.06.95

Using of Descriptors to Design of Novel Drugs and Pesticides, and to Predict the Biological Activity from the Structure of Chemicals which have not been Bioassayed

B. A. Kurchii

Institute of Plant Physiology and Genetics, Vasylykivska 31/17, 252022 Kiev, Ukraine

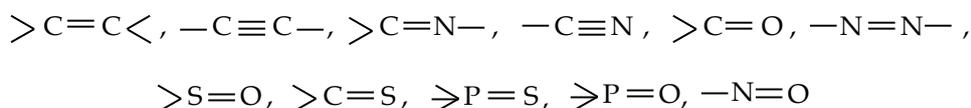
The results obtained from the study of dependence existing between the structure of a certain substance and its biological activity may be used in the designing of new compounds such as: (1) Synthetic analgesics (including opioid analgesics); (2) Synthetic antioxidants; (3) Antiviral and antibacterial substances, etc. Moreover our structure-activity relationship model can be useful for predicting the toxicity of industrial and environmental chemicals. The role of functional reactive groups, flanking radicals and sterical factors in the relationships between the chemical structure of any chemical and its biological activity is described.

Key words: bioregulators, descriptors, designing of novel bioregulators, drugs, free radicals, herbicides, pesticides, structure-activity relationships, toxicity.

First, let me say that the following are my own thoughts. In the present report attention will be concentrated on the study the relationship between the structure of a certain chemical and its biological activity. An attempt will be also made in the conclusion to forecast future research trends in this area. The relationship between the chemical structure and its biological activity is still far from clear. Nevertheless, some our conclusions from the structure/activity relationship studies of plant growth regulators, herbicides, pesticides, hormones and drugs we have published earlier (Kurchii, Koydan, 1985a, 1985b; Kurchii, 1993; Kurchii, 1996). The milestone of this report is to determine the functional reactive groups or descriptors (D) as unsuspected. We have proposed that the presence of an “active (mobile) hydrogen atom” in the special fragments of a molecule, termed as D is an essential factor determining biological activity of any given chemical. Several D of diverse substances are presented in Figure 1.

Another functional reactive groups (FRG) determining biological activity of chemicals are following:

- (1) The functional groups having doubly or triply bonded atoms and likewise cyclopropane:



- (2) The quaternary nitrogen atom in alkanes and cycloalkanes. *In vivo* these chemicals form olefins in accordance to the Hofmann's rule (Hofmann A.W.).
- (3) The quaternary nitrogen atom in aromatic compounds. The substances of this class are readily converted into free radicals *in vivo*.
- (4) The chemicals having active hydrogen atoms at two OH-groups in the non-aromatic cyclic structure. Abstraction of hydrogen atoms from these structures by another free radicals yield the inert substances. These substances are termed as antioxidants.
- (5) The chemicals having one or more OH-groups. Abstraction of a hydrogen atom from such group by free radicals yield an oxygen centered radical.

We will use primarily term the descriptor to refer to the fragment of molecules containing an active hydrogen atom. The term the functional reactive group will be used for other fragments of a molecule that contain unsaturated bonds. Nevertheless in general both these terms are equivalent.

Inspection of structural formulae of diverse chemicals shows that the only change which is related to the loss in activity is the loss of the “active hydrogen atom” in D or the loss of FRG with the exception of several aromatic compounds bearing electron withdrawing groups (see, for example, substances No 4, 6, 7 (Table 1) and No 11, 15, 17 (Table 2).

Presented model may be used to the preliminary evaluation of biological activity of non-protein substances: (-) inactive; (+) weak; (++) moderate; (+++) strong and/or very strong and likewise toxicity for mammals without performing experiments in accordance to proposed toxicity rating (LD₅₀ mg/kg body weight): (1) Very strong toxic: 0 to 49; (2) Strong toxic: 50 to 499; and (3) Moderately toxic: 500 and above.

Usually the term 'poisonous' is used in veterinary and pharmacological literature when a compound exerts its action and undesirable physiological effects are observed. The term 'toxic' is used in agricultural and medicinal literature. At the same time it is very known that a compound that is highly toxic to mammals may be harmless to plants. Thus, it is becoming clear that we may be seriously misled in trying to interpret the toxicity of xenobiotics if we fail to realize that the xenobiotics may play many diverse biochemical role in different organisms.

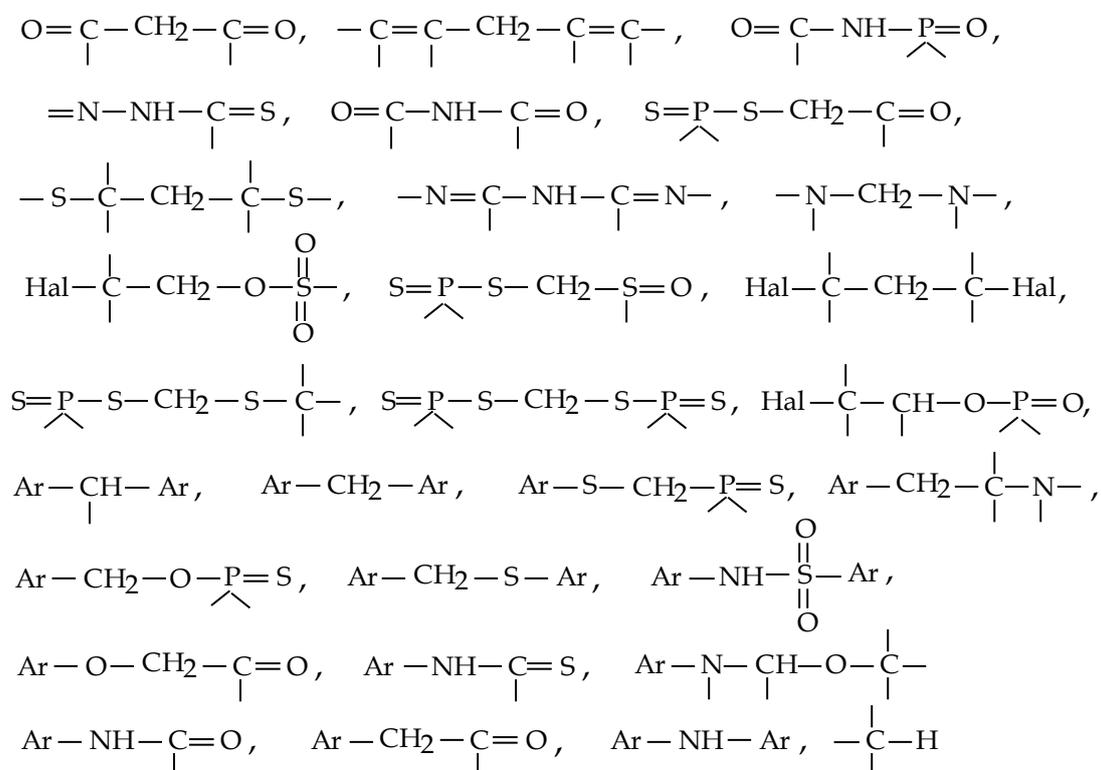
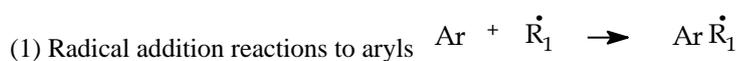


Figure 1. Chemical structure of descriptors for diverse biologically active substances.

Moreover, the toxicity of any given chemical is distinct not only for mammals and plants but also for different tissues of the living organism and ranges between very wide limits. For instance, diclofop, fluazifop and picloram (Table 1) possess strong herbicidal activity while their toxicity for rats is only moderate.

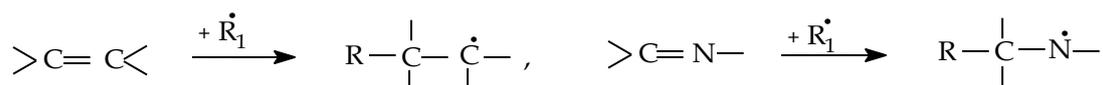
A biological or/and toxicological effects occur first of all after the absorption of the chemical. The substances given as drugs, herbicides or pesticides, strictly speaking, inactive or relatively active and the biological effects are produced by the active metabolites. Formation of active metabolites also called biotransformation may occur at least by three ways:



In this report the symbols R₁, R₂, R₃, R₄ are equivalent to R', R'', R''', R''''.



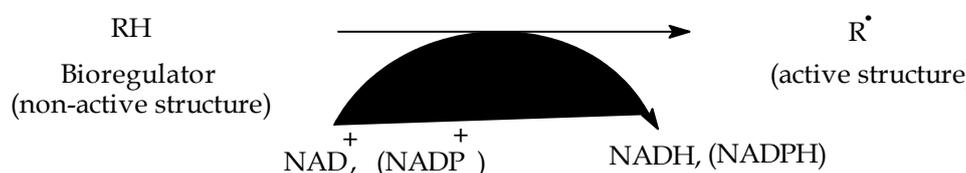
(3) Radical addition reactions to the unsaturated function



These radicals we consider to be responsible for the initiation of lipid peroxidation by abstracting the hydrogen atom from membraneous lipids.

It is recognized (Wallis et al., 1985; Guern, 1987) that the first step in the activation of plant growth regulators and animal hormones involves interaction between the hormone and the membrane bond receptor. The hormone-receptor complex initiates metabolic changes in the target cells. A numerous evidences indicate that the membranes are the location of hormone receptors. Studies of specificity of binding of receptor site can yield very important information about the hormone-receptor nature.

Nevertheless I believe cellular substances that are termed in literature as receptors can be oxido/reductive enzymes or cytochromes. Hence, the inactive bioregulator should be *in vivo* transformed into a reactive agent by enzymes or endogenous metabolic free radicals. Usually enzymes which catalyze free radical formation contain the transition metal ion(s), FMN, FAD, NAD or quinone(s) as cofactors. These enzymes can be divided into two contrasting types, one that catalyzes the formation of free radicals from a substrate and other that scavenges free radicals (i.e., reduce oxidized chemicals). Nicotinamide-adenine nucleotide (NAD) is the coenzyme of a large number of oxidoreductases, which are classified as pyridine nucleotide-dependent dehydrogenases. It can serve as the electron acceptor in the enzymatic removal of hydrogen atoms from bioregulators:



The metabolic free radicals and/or enzymes may abstract hydrogen from described above D to give carbon- or nitrogen-centered radicals or to form complex with single unsaturated bonds. Bioregulators being in free radical state in spite of their chemical diversity can react with vital intracellular molecules, such as lipids, DNA, RNA, proteins, enzymes, etc. A schematic representation of these events is shown in Figure 2. To be converted into a free radical the potentially active agent must react either with endogenous metabolic free radicals or enzyme-like substances obviously termed as receptors. The cofactors of these enzymes should be in the oxidized form. Such cofactor can abstract the hydrogen atom from the potentially biologically active agents to give a free radical. Formed free radical can undergo the variety reactions including interaction with oxygen. Thus, once initiated, the oxidation process can be self-propagating.

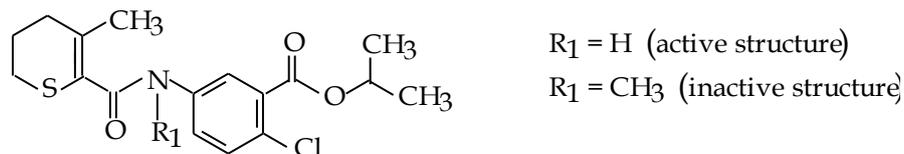
As is mentioned above most investigators believe the first step in the chain of molecular events that mediate the biological effects of bioregulators is their binding to a specific receptor at the membrane of target cells (Craig et al., 1987; Felig et al., 1987; Giorgi, 1980; Gotto and O'Maley, 1986; Lan et al., 1984). However, little is known about the biochemical structure of the receptors and their precise intracellular location.

It is great importance to stress that only the free bioregulator is biologically available for uptake by tissue *in vivo* and that the bonded bioregulators can be physiologically inert. At the same time bonded xenobiotics or endogenous growth regulators can be non-specific accidental binding of these agents with cellular substances (i.e., the consequences of the activation of potentially biologically active substances).

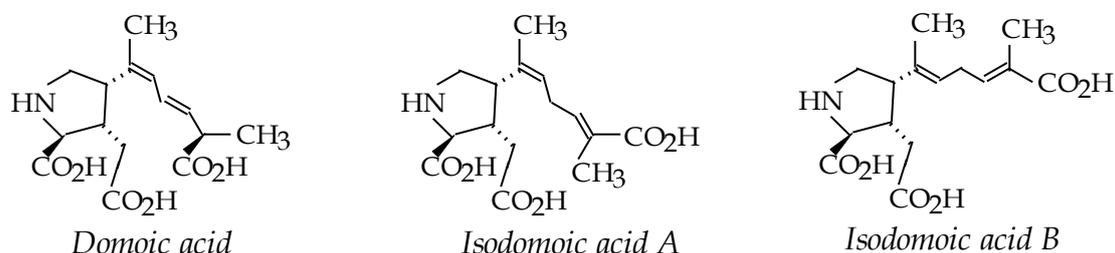
Interaction between a chemical and its receptor should occur by non-bonded contact (i.e., without formation of a covalent bond). Hence, there is some doubt that such complex can exist for long time to be extracted and detected as the unchanged structure. Additionally we should say on the impact that our model of bioregulator action has on the view that only unbonded substances can be biologically active. Variation in the bonded bioregulator will also effect bioregulator delivery to the target structures. Many substances including proteins and peptides may interact with the potent growth bioregulator, both before and after activation. Such interaction before its activation can decrease the quantity of the free bioregulator and thus minimize it biological effect. In the case if the bioregulator is transformed into the free radical the conjugation reaction may or not essentially influence the biological response. This depends first of all on a number of FRG.

The role of an active hydrogen atom has been demonstrated in a study with compounds against the human immunodeficiency virus (HIV). It was found (Buckheit et al., 1995) that only substances having the hydrogen

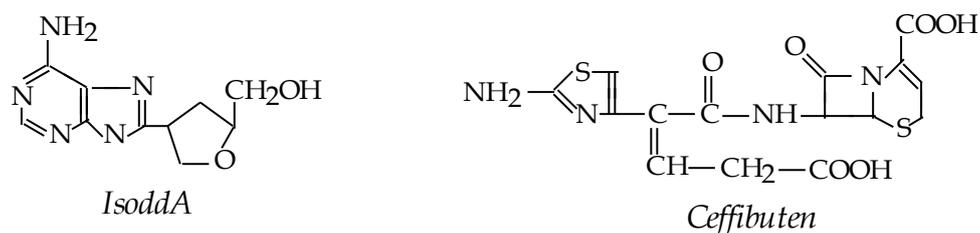
atoms at the R₁ site were active anti-HIV agents. Replacing the R₁ hydrogen at the nitrogen atom with either a methyl or a benzyl group decreased all anti-HIV activity. Hence, this study demonstrated that activation of anti-HIV compounds having active hydrogen atom can occur more easily in comparison with chemicals having methyl groups. Indeed, this is possible because the methyl group requires more energy to be abstracted from the nitrogen atom.



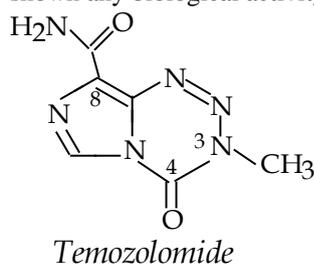
Obviously, chemicals having descriptors that contain the active hydrogen atom and/or separate unsaturated bonds possess higher biological activity in comparison to those without unsaturated bonds. Thus, as it was shown, for example, in work of Maeda et al. (1987) the relative activity of domoic acid was 14 fold the activity of DDT against the American cockroach. Domoic acid was the most active substances among studied chemicals. Relative activity of insecticides against the American cockroach was 1.2 for isodomoic acid A and B. Any mechanism to explain the differences in the toxicity of these substances needs to account of this observation. I believe that unsaturated bonds are the main factor determining insecticidal activity these substances. One of two >C=C< bonds in domoic acid is not hindered by neighboring substituents in contrast to isodomoic acid A and B where their two bonds are hindered by methyl groups. Formation of the free radical of domoic acid by the addition reaction to the unsaturated bond is most favored because it is not hindered by methyl groups and hence it is more accessible to the free radical attack.



Several antiviral (IsoddA) and antibacterial (Ceffibuten) agents that possess strong activity have separate unsaturated bonds (Nair et al., 1995; Lin et al., 1995).



The anticancer drug temozolomide possesses activity against glioma and malignant melanoma (Newlands et al., 1992; O'Reilly et al., 1993). Structure/activity relationship study among analogues of temozolomide has shown any biological activity if bulky alkyl substituents at N₃ were introduced (Lunt et al., 1987).



I believe that structure of temozolomide is so that addition reaction of the endogenous free radical to unsaturated bonds at >C₈=C₉< and -N₇=N₆- is hindered by the radical at C₈-atom. Introduction of bulky alkyl substituents at N₃-atom can also hinder the approaches of free radicals to the N₂-atom. Addition of the free radical to the N₁-atom can be also blocked by influence of the unsaturated bond at >C₈=C₉<.

A vast number of xenobiotics have atoms of halogens in their structure. The toxicity of these compounds (RX) may originate from their metabolism by cytochrom P-450 which leads to the formation of free radicals according (Brault et al., 1985) to the following scheme:



Free radicals, produced by oxidation reaction and/or one-electron reduction reaction, are normally generated in biological systems by both enzymatic and nonenzymatic pathways. Obviously, the model we have presented is based on the limited number of experimental data. Moreover, the hypothesis that free radicals are important in numerous pathological processes is not a new one. Nevertheless we would like to point out that xenobiotics or endogenous growth agents of living organisms exert their biological effects initiating nonenzymatic free radical chain reactions of oxidation of lipids and other cellular substances. A schematic representation of these events is given in Figure 2 and 3. The mechanisms of the free radical formation including the cation and anion radicals are not the aim of this report.

The oxidation reactions in the cell are chain reactions and can be prolonged by oxygen. Experimental data suggest that all biochemical reactions mediated by biologically active agents require the presence of oxygen. As result of such reactions is the formation of active free radical species. Definitive evidence of the proposed mechanism of mode of action of bioregulators has been difficult to obtain because of the elusive nature of free radicals. There are difficulties in accurately measuring a free radical of biologically active agents in living cells.

The exact mechanisms by which bioregulator damages occur in the newborn are not clear but peroxidation of membrane lipids could be an important mechanism. Lipid peroxidation (LPO) as a free radical-mediated process that results in the degradation of unsaturated fatty acids to complex variety of products seems to be a common consequence of the nonenzymatic free radical-mediated reactions that can occur *in vivo* after biotransformation of natural and synthetic bioregulators.

An increased level of free radical damages in the tissues would follow from either: (1) enhanced production of free radical species (they are carbon-, nitrogen-, or oxygen-centered radicals), or (2) a deficient component of the cellular antioxidant system. Hence, one biochemical response to free radical damage is an elevation of cellular antioxidants. Ascorbic acid, α -tocopherol, abscisic acid, some prostaglandins, etc. have also been shown to prevent the *in vivo* toxicities of enormous quantity of endogenous growth regulators (hormones) and xenobiotics.

Carbon radicals are σ -radicals, which are generally more reactive than π -radicals (Lazar et al., 1989; Nonhebel, Walton, 1974; Reusch, 1977) and hence using of D with NH-groups which form nitrogen-centered radicals more easily than CH-groups may be preferable in the designing of novel bioregulators with desirable prompt biological effects. In order to achieve prolonged and more strong biological effects using of D with CH-groups can be more suitable (see Table 1-4).

Chemicals having unsaturated cyclic non-substituted structures possess strong biological activity because they are stabilized by resonance. See, for example, narcotic and analgesic drugs, endotal (Table 1). Migrating free radical center increases a number of active (non-hindered) sites of molecule and hence can easily react with target molecules of cells.

The differences in the toxicity of pentachlorophenol and 2,4,5-trichlorophenol I can explain by the different nature of a benzene ring. For example, the migrating free radical center in the 2,4,5-trichlorophenol is hindered by chlorine atoms whereas in the pentachlorophenol it is not hindered because the hydrogen atom can not migrate from benzene ring of pentachlorophenol at oxygen (Figure 4).

It should be pointed out that not all conjugated bioregulators are inactive. The conjugated bioregulator will be active when FRG is not lost. This can be illustrated with conjugated morphine-6-glucuronide and minoxidil sulfate (Mulder, 1992; Bray and Quast, 1991). These substances being conjugated possess biological activity because having FRGs (D) they can be easily activated (Figure 5).

Conjugated substances in several cases are more active and specific than unconjugated (Yaksh and Harty, 1988). I believe that this is not caused by activation process because as you could saw, for example, from structures in Figure 5 conjugated substances have sufficiently FRGs to be activated. Nevertheless high activity of these substances can be caused by stabilization of formed free radicals and/or by differences in the penetration through the tissues.

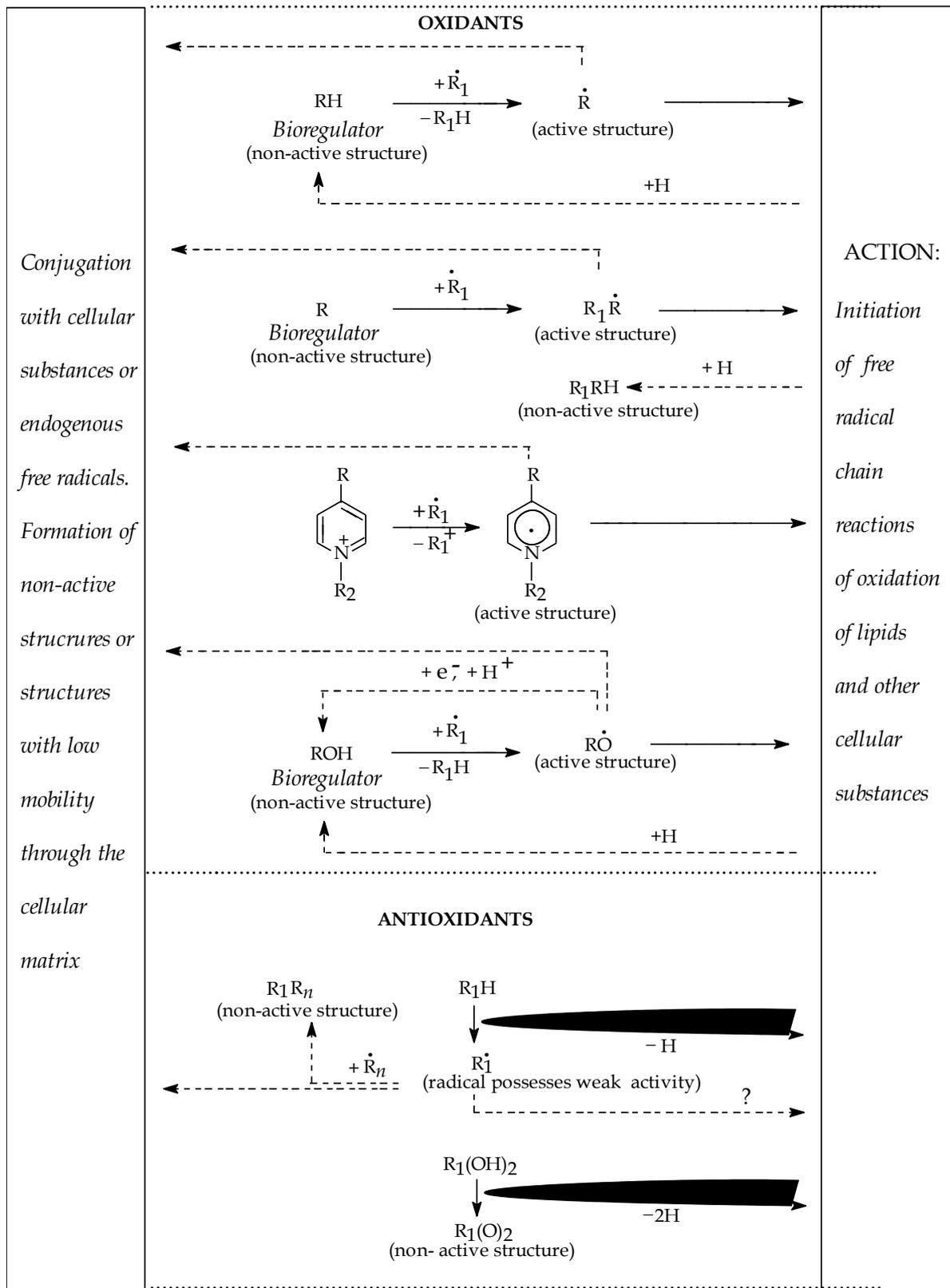


Figure 2. Schematic representation of the possible primary mechanisms of activation of chemicals which are potent bioregulators. All biologically active chemicals are classified into two distinct groups: (1) oxidants and (2) antioxidants. Oxidation of chemicals from the first group yield oxidative agents, while oxidation of chemicals from the second group yield non-active structures or substances with low chemical activity. Here and in next figures dotted (broken) characters and arrows mean possible reactions or events. A minor pathway leads to the conjugation with intracellular molecules.

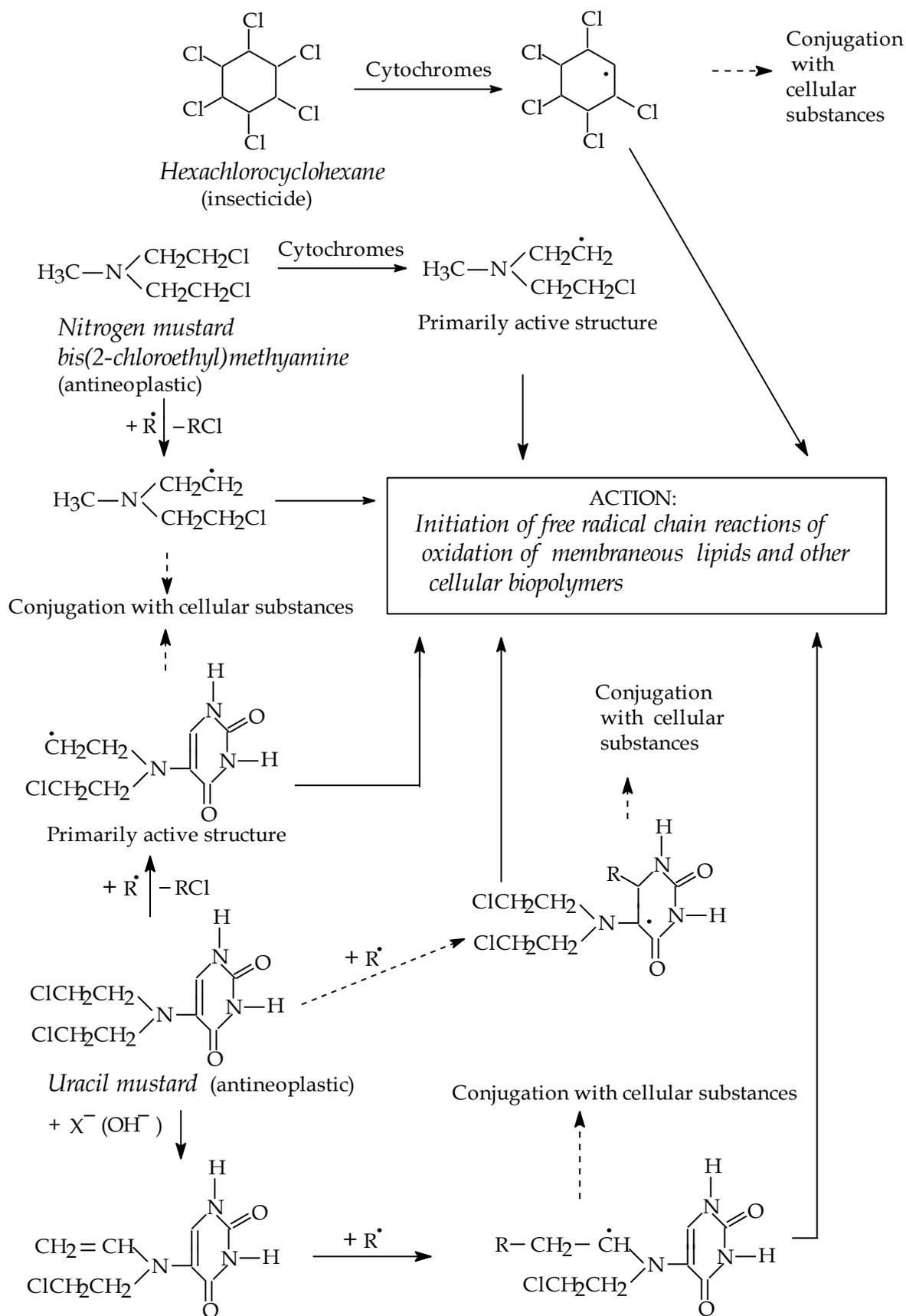


Figure 3. Possible ways for metabolic activation of halogenated compounds. Here and in the next figures conjugated forms of bioregulators can be detected and imaged as “hormone-receptor complexes”.

Table 1. Summary of the important herbicides

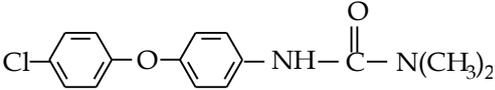
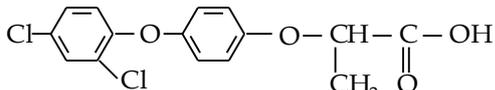
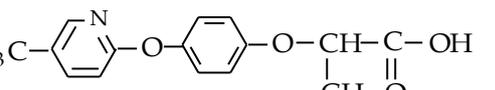
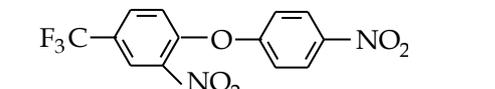
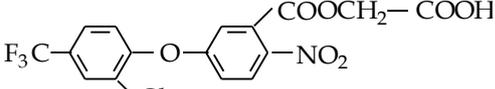
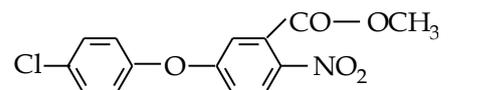
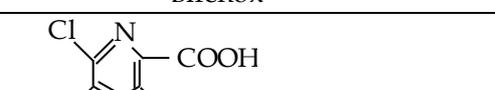
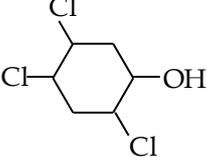
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED) kg a.i./ha	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	 <p>Chloroxuron</p>	$\text{Ar}-\text{NH}-\underset{\text{ }}{\text{C}}=\text{O}$	- CH ₃	3 - 6	3000
2	 <p>Diclofop</p>	$\text{Ar}-\text{O}-\underset{\text{ }}{\text{CH}}-\underset{\text{ }}{\text{C}}=\text{O}$	- COOH	0.7 - 1.1	563 -693
3	 <p>Fluazifop</p>	$\text{Ar}-\text{O}-\underset{\text{ }}{\text{CH}}-\underset{\text{ }}{\text{C}}=\text{O}$	- COOH	0.25 - 2.0	3330
4	 <p>Fluorodifen</p>	$-\underset{\text{ }}{\text{C}}-\text{Hal}$		3.0 - 4.0	9000
5	 <p>Fluoroglyphofen</p>	$\begin{array}{c} \parallel \\ \text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\underset{\text{ }}{\text{C}}=\text{O} \\ \text{Ar} \end{array}$	- COOH		1500
6	 <p>Bifenox</p>	$-\underset{\text{ }}{\text{C}}-\text{Hal}$	- CH ₃	1.2 - 3.4	6400
7	 <p>Picloram</p>	$-\underset{\text{ }}{\text{C}}-\text{Hal}$	- COOH - NH ₂	2.2 - 3.3	8200
8	 <p>Ametryn</p>	$\text{Ar}-\text{NH}-\underset{\text{ }}{\text{C}}-\underset{\text{ }}{\text{C}}-\underset{\text{ }}{\text{CH}}$	- CH ₃	1 - 5	1110
9	 <p>Asulam</p>	$\text{O}=\underset{\text{ }}{\text{S}}-\text{NH}-\underset{\text{ }}{\text{C}}=\text{O}$	- CH ₃ - NH ₂	3 - 7	4000

Table1. Summary of the important herbicides (continued)

No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED) kg a.i./ha	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
19	 2,4,5-Trichloropheno	- OH			3000

The author cannot guarantee the accuracy of any information about dosage contained in this report. In every individual case the reader can check such information by consulting the relevant literature.

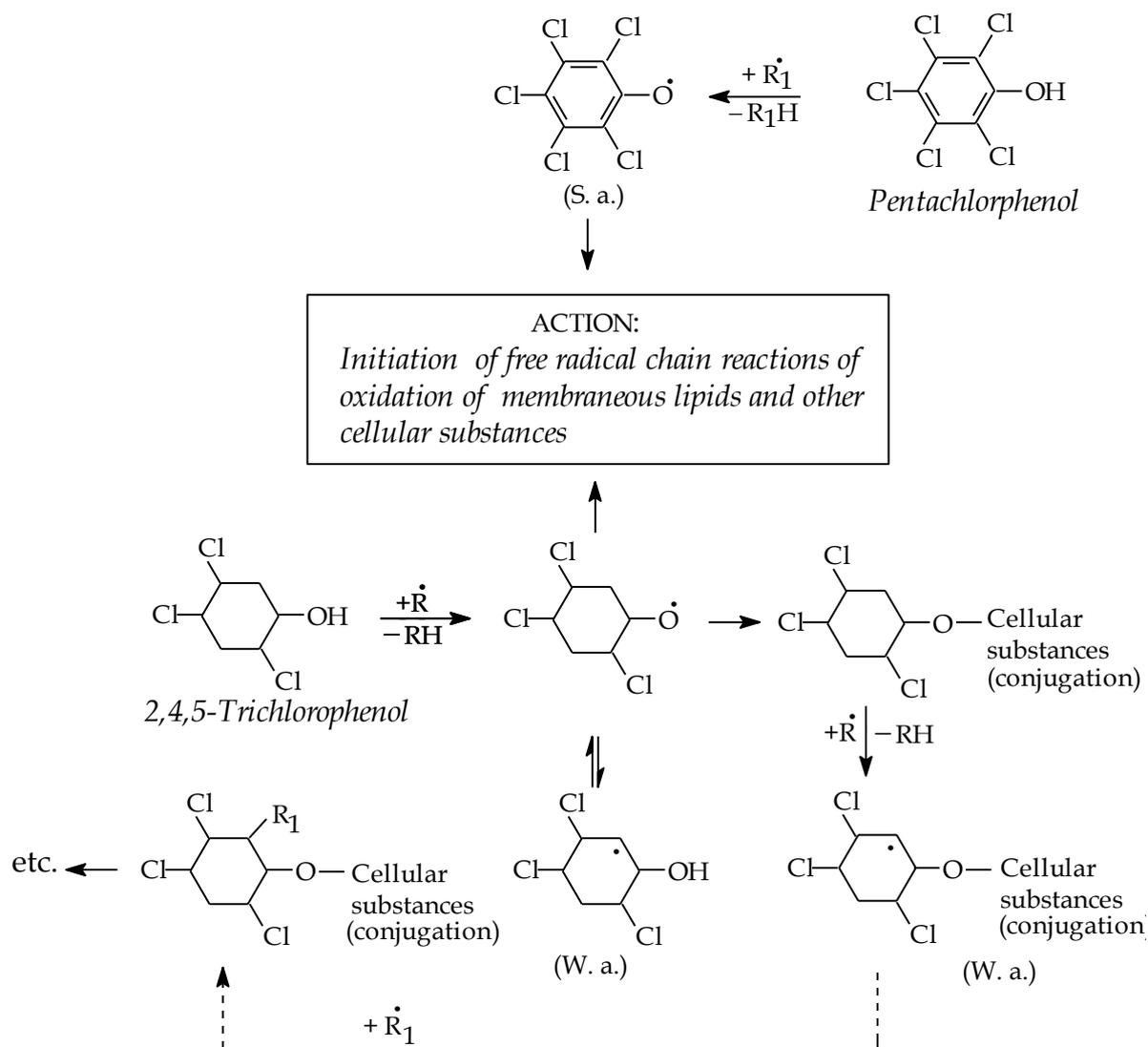


Figure 4. Hypothetical scheme to explain the differences in the toxicity of pentachlorophenol and 2,4,5-trichlorophenol. S.a. means strong and W.a. weak activity correspondingly.

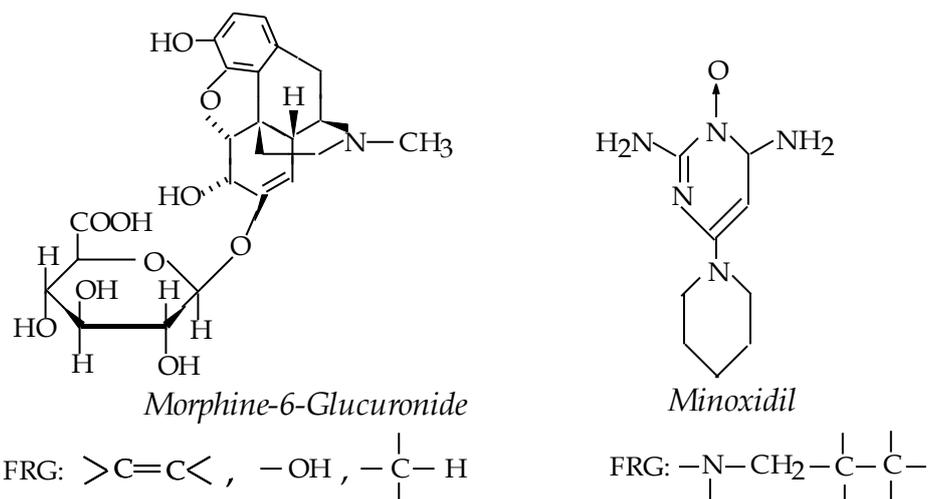


Figure 5. Structural formulae of morphine-6-glucuronide and minoxidil.

Table 2. Summary of the important insecticides

No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED) kg a.i./ha	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	$(H_5C_2O)_2P(S)CH_2SC(CH_3)$ AC 92100	$S=P-S-CH_2-S-C-$ $-C-CH_2-O-P=S$	$-CH_3$	0.1 – 1.0	1.6
2	$(H_5C_2O)_2P(S)O-C_6H_4-NO_2$ Thiophos	$-C-CH_2-O-P=S$	$-CH_3$	0.1 – 1.0	6.4
3	 Azinphos-ethyl	$Ar-CH_2-S-P=S$ $-C-CH_2-O-P=S$	$-CH_3$	0.5 – 0.75	12.5 – 17.5
4	 Azamethyphos	$Ar-CH_2-S-P=O$	$-CH_3$	0.15	1180
5	 Teflubenzuron	$Ar-NH-C=O$			5000

Table 2. Summary of the important insecticides (continued)

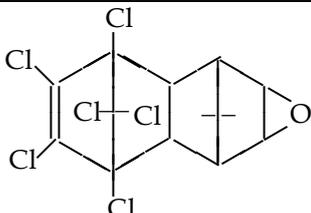
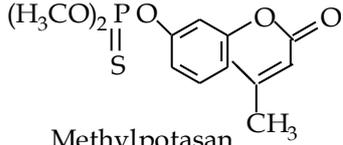
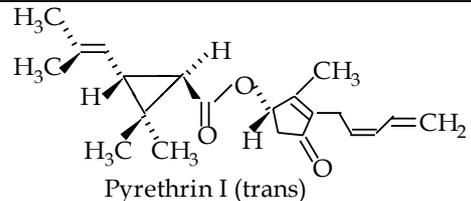
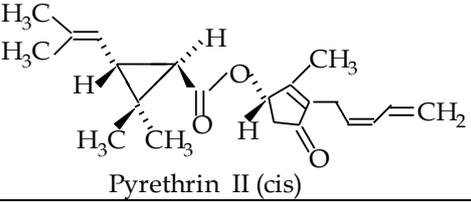
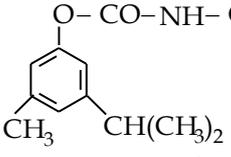
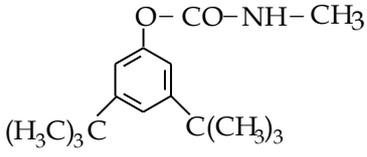
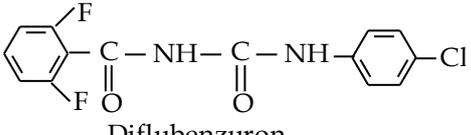
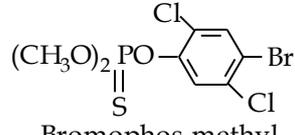
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED) kg a.i./ha	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
6	 <p>Endrin (endo- endo)</p>	$\begin{array}{c} \\ -C- H \\ \end{array}$		0.06 – 0.6	12
7	 <p>Methylpotasan</p>	$>C=C<$	- CH ₃		35
8	 <p>Pyrethrin I (trans)</p>	$\begin{array}{c} >C=C< \\ \\ -C- H \\ \end{array}$	- CH ₃	0.05 – 0.2	8000
9	 <p>Pyrethrin II (cis)</p>	$\begin{array}{c} >C=C< \\ \\ -C- H \\ \end{array}$	- CH ₃	0.05 – 0.2	100
10	 <p>Promecarb</p>	$\begin{array}{c} \\ -C- H \\ \end{array}$	- CH ₃	0.5 – 1.0	70 – 90
11	 <p>Butacarb</p>		- CH ₃	1.0 – 3.0	4000
12	 <p>Diflubenzuron</p>	$\begin{array}{c} O=C-NH-C=O \\ \quad \\ Ar-NH-C=O \\ \end{array}$		0.075	4640
13	 <p>Bromophos-methyl</p>		- CH ₃	0.4 – 2.4	2800

Table 2. Summary of the important insecticides (continued)

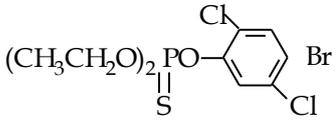
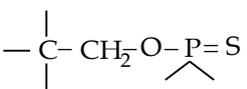
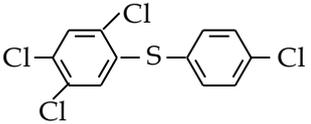
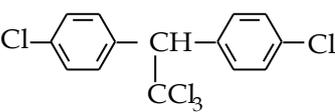
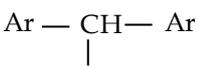
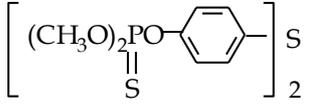
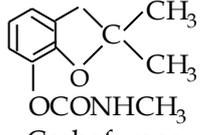
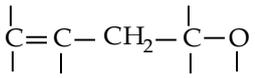
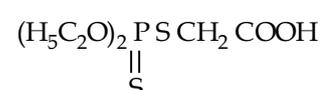
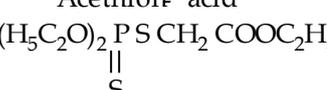
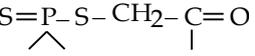
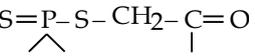
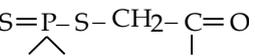
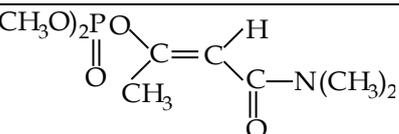
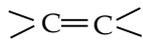
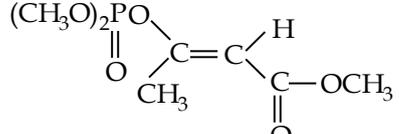
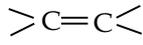
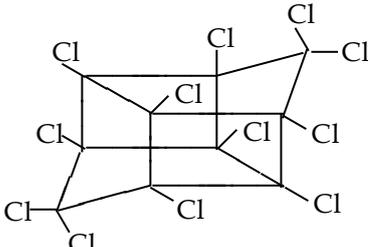
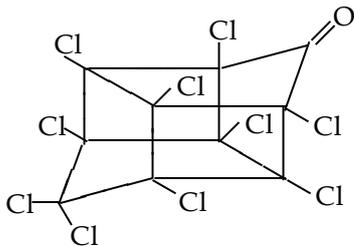
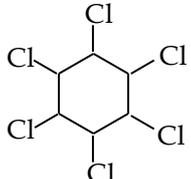
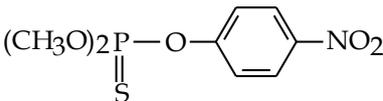
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED) kg a.i./ha	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
14	 Bromophos ethyl		- CH ₃	0.2 – 1.0	71
15	 Tetrasul			0.4 – 1.0	6810
16	 DDT			0.3 – 2.0	200 – 300
17	 Diphos		- CH ₃		2000
18	 Carbofuran		- CH ₃	0.25 – 1.0	8 – 14
19	 Phosthion  Acethion acid  Acethion	  	- NH ₂ - CH ₃ - COOH - CH ₃ - CH ₃		mouse 200 630 1100
20	 Dicrotophos		- CH ₃	0.3 – 0.6	17 – 22
21	 Mevinphos		- CH ₃	0.2 – 0.3	3 – 12

Table 2. Summary of the important insecticides (continued)

No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED) kg a.i./ha	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
30	 Chlordane	$\begin{array}{c} \\ -C-Cl \\ \end{array}$			335-430
31	 Chlordecone	$\begin{array}{c} >C=O \\ \\ -C-Cl \\ \end{array}$			125
32	 Hexachlorocyclohexane	$\begin{array}{c} \\ -C-H \\ \end{array}$			500-700
33	 Methylparathion				2.9-3.2

One of the main conclusion from Table 2 is that the most active compounds were, for instance, methylpotason, pyrethrin II, dicrotophos, mivenphos and methomyl. All these chemicals have unsaturated function. The possible ways of activation of these substances are presented together with the proposed mechanism for cytotoxicity of mivenphos and methomyl (Figure 6). It is not surprise that some chemicals having FRG, for instance, No 1, 9 (Table 1) and No 5, 12 (Table 2) possess strong biological activity for plants and insects, and low toxicity for rats. Here low toxicity for rats of these chemicals that have COOH groups can be caused by differences in the penetration through the cellular matrix.

A number of natural chemicals derived from plants and mammals are used as drugs. Among their are hormones, antibacterial, analgesic, and antineoplastic agents which in very low concentrations can produce large metabolic responses in mammals. For example, such substances derived from plants as morphine, scopolamine, and strichnine are medical the most important. Morphine acts as anaesthetic and it is the most powerful analgesic known. Structurally morphine has an unsaturated double bond, phenyl groups, and an active hydrogen atom at the tertiary carbon atom.

Among biologically active substances of mammals the neurotransmitters are the most known. These substances are released from the nerve terminal. The released transmitter diffuses across the synaptic gap and exerts it action on the postsynaptic neurone. The best-known neurotransmitters are acetylcholine, noradrenaline, dopamine, 5-hydroxytryptamine (5-HT), certain amino acids, for example, glutamic, aspartic, and γ -aminobutyric acids (GABA), glycine, and also many peptides. The action of the transmitters is to cause an increase in the permeability of the postsynaptic membranes to ions Na^+ , K^+ , and Ca^{2+} , which results in the decrease in the membraneous potential, i.e., an excitatory postsynaptic potential (Callingham and Barrand,

1979; Emson et al., 1985; Khachaturian et al., 1985; Petrusz et al., 1985; Sofroniev, 1985). Acetylcholine causes a local increase in permeability to ion, especially, Na^+ and K^+ , and this results in depolarization of membranes of the muscle cell (Ovchinnikov, 1987; Jakubke and Jeschkeit, 1983).

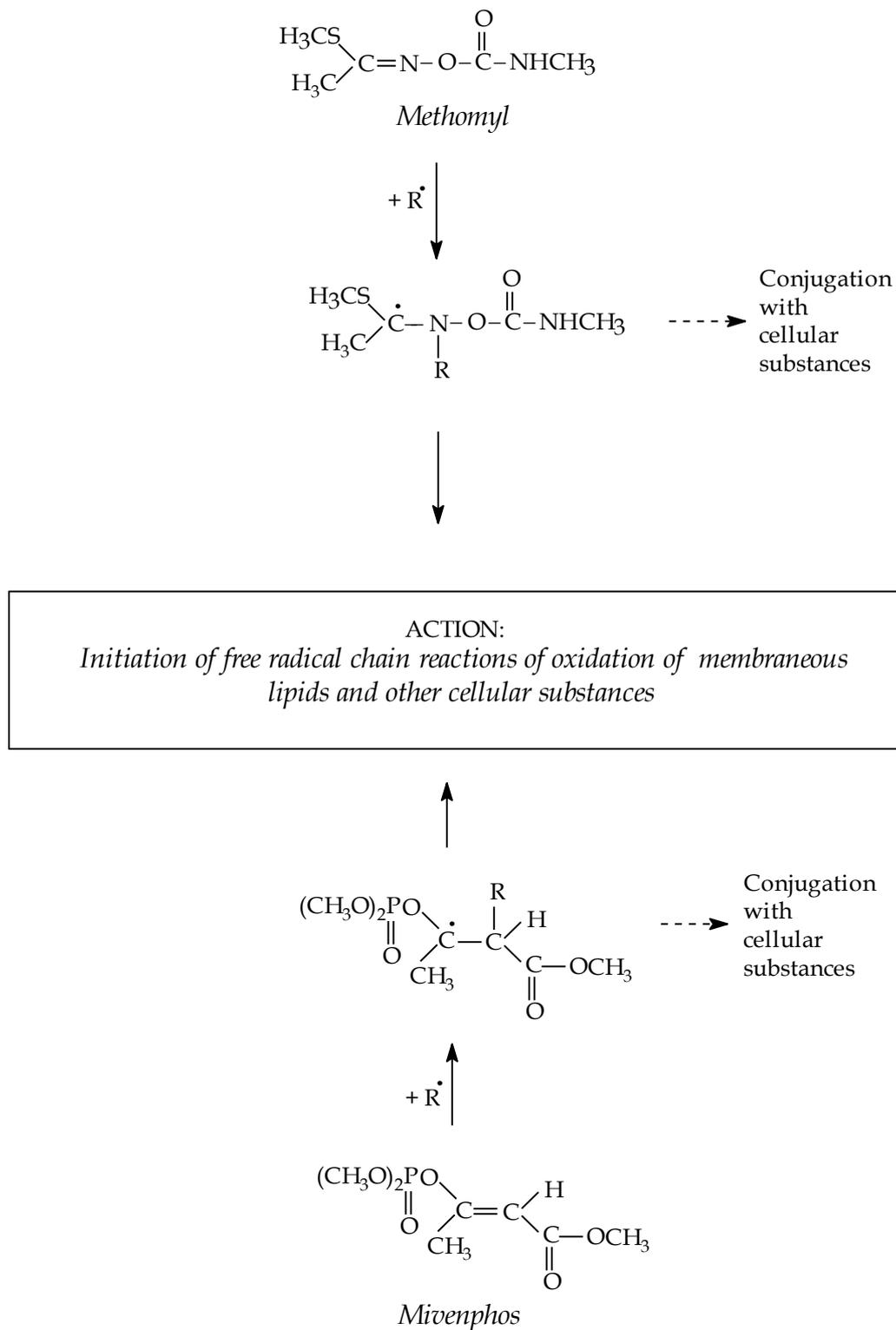


Figure 6. Proposed mechanisms for activation and mode of action of mivenphos and methomyl.

Table 3. Summary of the important natural narcotic and analgesic agents

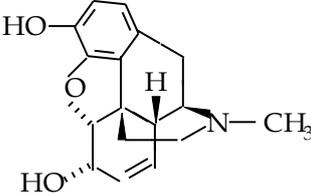
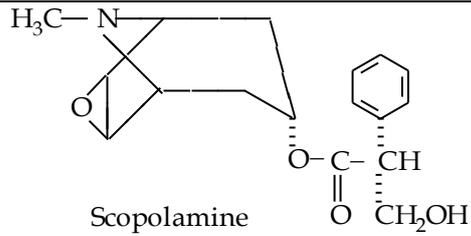
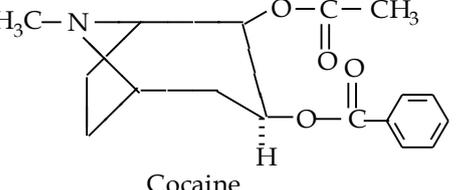
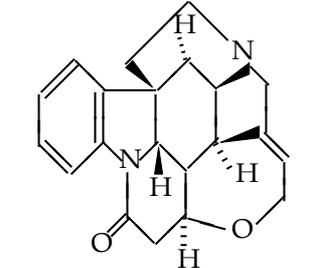
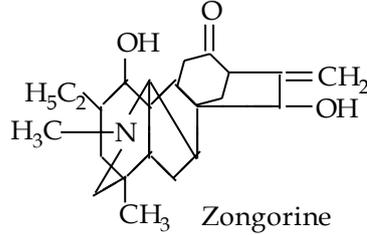
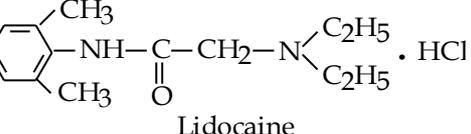
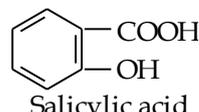
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	 <p>Morphine Heroin: OH = OCOCH₃</p>	$\begin{array}{c} >C=C< \\ \\ -OH \\ \\ -C-H \\ \end{array}$	- CH ₃		
2	 <p>Scopolamine</p>	$\begin{array}{c} -OH \\ \\ Ar-CH-C-O- \\ \quad \\ -C-H \\ \end{array}$	- CH ₃		
3	 <p>Cocaine</p>	$\begin{array}{c} \\ -C-H \\ \end{array}$	- CH ₃		
4	 <p>Strichnine</p>	$\begin{array}{c} -C-N-CH_2-C=C \\ \quad \quad \\ >C=C< \\ \\ -C-H \\ \end{array}$			LD ₅₀ μkg/kg for mouse: 500
5	 <p>Zongorine</p>	$\begin{array}{c} >C=C< \\ \\ -OH \\ \\ -C-H \\ \end{array}$	- CH ₃		
6	 <p>Lidocaine</p>	$\begin{array}{c} Ar-NH-C=O \\ \\ O=C-CH_2-N-C- \\ \quad \end{array}$	- CH ₃		
7	 <p>Salicylic acid</p>	- OH	- COOH		

Table 3. Summary of the important natural narcotic and analgesic agents (continued)

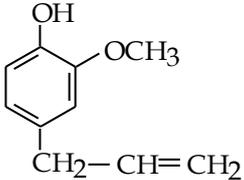
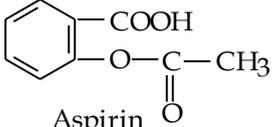
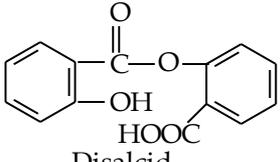
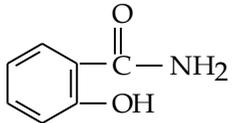
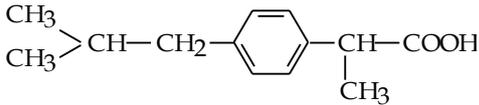
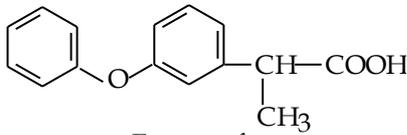
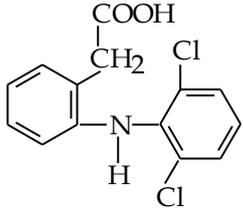
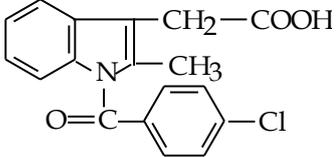
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
8	 <p>Eugenol</p>	$\begin{array}{c} >C=C< \\ -OH \end{array}$	- OCH ₃		1930
9	 <p>Aspirin</p>	(- OH)	- COOH		
10	 <p>Disalcid</p>	(- OH)	- COOH		
11	 <p>Salicylamide</p>	- OH	- COOH		
12	 <p>Ibuprofen</p>	$\begin{array}{c} \text{Ar}-\text{CH}-\text{C}=\text{O} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	- COOH - CH ₃		
13	 <p>Fenopropfen</p>	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	- COOH - CH ₃		
14	 <p>Diclofenac</p>	$\begin{array}{c} \text{Ar}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O} \\ \\ \text{Ar}-\text{NH}-\text{Ar} \end{array}$	- COOH		
15	 <p>Indomethacin</p>	$\begin{array}{c} -\text{C}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}= \\ \quad \quad \end{array}$	- COOH - CH ₃		

Table 3. Summary of the important natural narcotic and analgesic agents (continued)

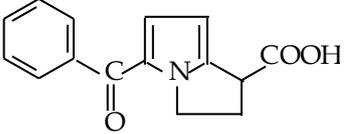
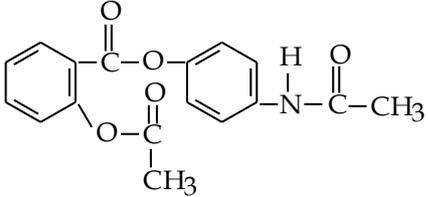
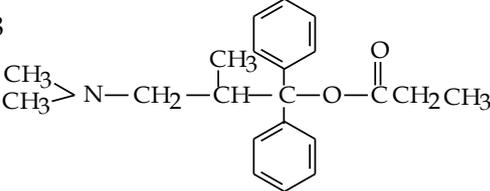
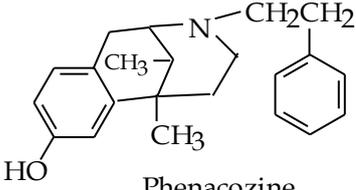
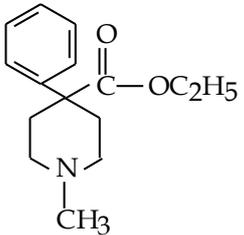
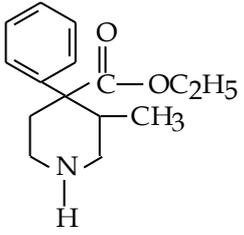
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
16	 <p>Ketorolac</p>	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	- COOH		
17	 <p>Benorylate</p>	$\begin{array}{c} \text{Ar}-\text{NH}-\text{C}=\text{O} \\ \\ (-\text{OH}) \end{array}$	- CH ₃		
18	 <p>Propoxyphene</p>	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \\ (-\text{OH}) \end{array}$	- CH ₃		
19	 <p>Phenacozine</p>	$\begin{array}{c} \\ -\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{Ar} \\ \quad \\ -\text{OH} \\ \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	- CH ₃		
20	 <p>Meperidine</p>	$\begin{array}{c} \text{Ar}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{N} \\ \quad \quad \\ (-\text{OH}) \end{array}$	- CH ₃		
21	 <p>Alphaprodine</p>	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \\ (-\text{OH}) \end{array}$	- CH ₃		

Table 3. Summary of the important natural narcotic and analgesic agents (continued)

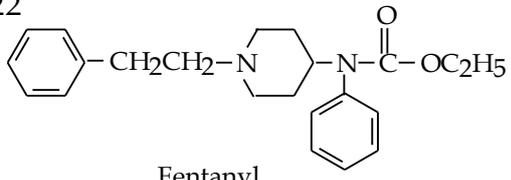
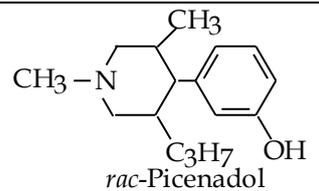
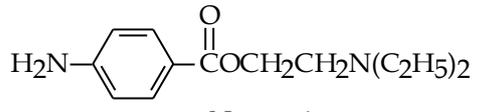
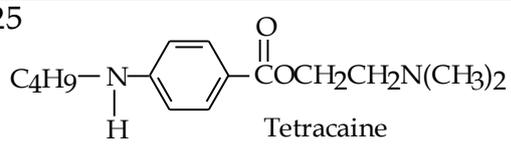
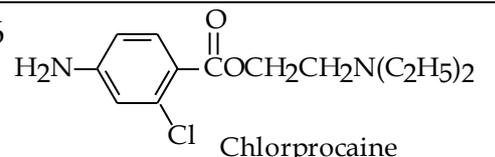
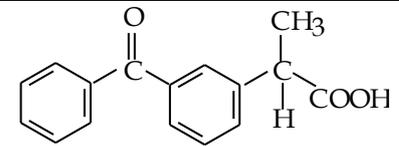
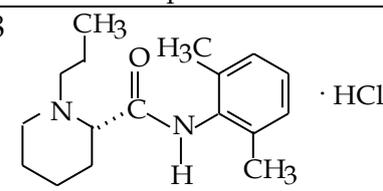
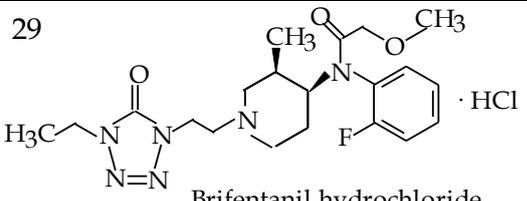
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
22	 <p>Fentanyl</p>	$\text{Ar}-\text{CH}_2-\underset{\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}}{\text{C}}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{N}}$	- CH ₃		
23	 <p><i>rac</i>-Picnadol</p>	$\underset{\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}}{\text{C}}-\text{OH}$	- CH ₃		
24	 <p>Novocaine</p>	$\begin{array}{c} \parallel \\ \text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{N}} \\ \\ (-\text{OH}) \end{array}$	- CH ₃		for mice 615
25	 <p>Tetracaine</p>	$\begin{array}{c} \parallel \\ \text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{N}} \\ \\ -\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{C}}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{C}}-\text{NH}-\text{Ar} \\ \\ (-\text{OH}) \end{array}$	- CH ₃		for mice 48
26	 <p>Chlorprocaine</p>	$\begin{array}{c} \parallel \\ \text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{N}} \\ \\ (-\text{OH}) \end{array}$	- CH ₃		for mice 1396
27	 <p>Dexketoprofen trometanol</p>	$\text{Ar}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{CH}}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{C}}=\text{O}$	- COOH		
28	 <p>Ropivacaine hydrochloride</p>	$\text{Ar}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{NH}}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{C}}=\text{O}$ $\underset{\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}}{\text{C}}$	- CH ₃		
29	 <p>Brifentanil hydrochloride</p>	$\begin{array}{c} \\ =\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-\underset{\begin{array}{c} \\ \\ \end{array}}{\text{C}}- \\ \\ -\text{C}-\text{H} \\ \\ -\text{N}=\text{N}- \end{array}$	- CH ₃		

Table 4. Summary of the some miscellaneous pharmaceutical substances

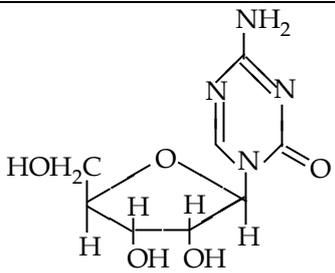
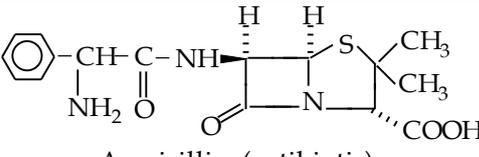
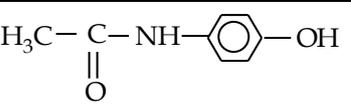
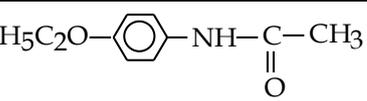
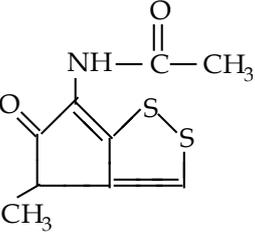
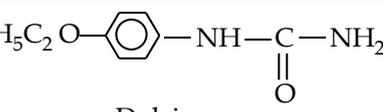
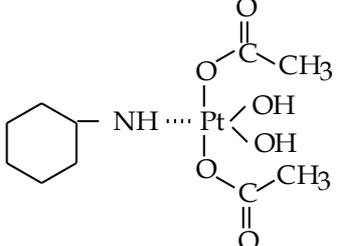
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	 <p>Azacitidine (cytostatic)</p>	- OH	- NH ₂		mouse 572
2	 <p>Ampicillin (antibiotic)</p>	$\text{Ar}-\begin{array}{c} \\ \text{CH}-\text{C}-\text{O}- \\ \quad \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	- NH ₂ - COOH		10000
3	 <p>Paracetamol (analgesic)</p>	$\text{O}=\text{C}-\text{NH}-\text{Ar}$ $ $ $-\text{OH}$	- CH ₃		7000
4	 <p>Phenacetin</p>	$\text{Ar}-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$ $ $	- CH ₃		4000
5	 <p>Farcinicin</p>	$-\text{C}=\text{C}-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$ $ \quad \quad $ $>\text{C}=\text{C}<$	- CH ₃		(m) 25
6	 <p>Dulcin</p>	$\text{Ar}-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$ $ $	- CH ₃		3200
7	 <p>No 234561 (antineoplastic)</p>	$-\text{OH}$ $\text{Cyclic aliphatic structure} \left. \vphantom{\begin{array}{c} \\ -\text{NH}-\text{Pt} \\ \\ \text{O} \end{array}} \right\} -\text{NH}-\text{Pt} \begin{array}{l} / \\ \\ \backslash \end{array}$ $ $ $-\text{C}-\text{H}$ $ $	- CH ₃		760

Table 4. Summary of the some miscellaneous pharmaceutical substances (continued)

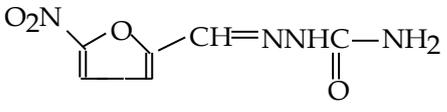
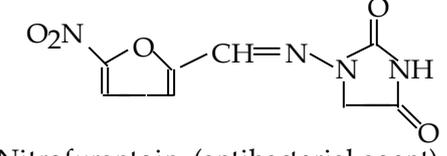
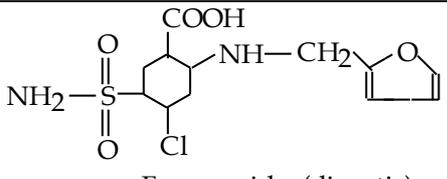
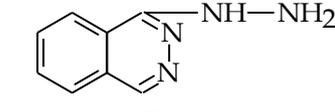
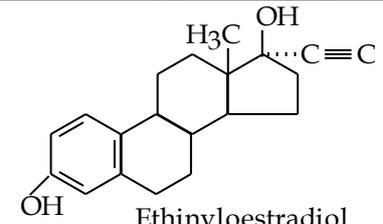
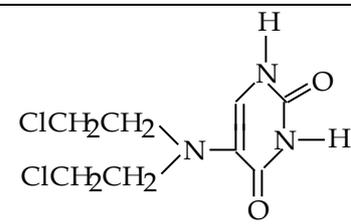
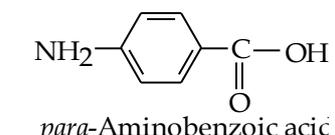
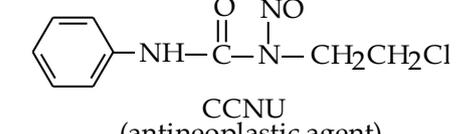
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
8	 Nitrofurantoin (antibacterial agent)	$>C=N-$	$-NH_2$		
9	 Nitrofurantoin (antibacterial agent)	$>C=N-$ $O=C-NH-C=O$			50
10	 Furosemide (diuretic)	$-C-H$	$-COOH$ $-NH_2$		2700
11	 Hydralazine (antihypertensive agent)	$Ar-NH-N-$			260 (m) 210 (f)
12	 Ethinylestradiol (steroidal hormone)	$-OH$ $-C-H$ $-C≡C-$	$-CH_3$		5000
13	 Uracil mustard (antineoplastic)	$Ar-N-CH_2-C-Hal$ $>C=C<$			3.55
14	 <i>para</i> -Aminobenzoic acid		$-NH_2$		6000
15	 CCNU (antineoplastic agent)	$-N=O$ $Ar-NH-C=O$			38-51

Table 4. Summary of the some miscellaneous pharmaceutical substances (continued)

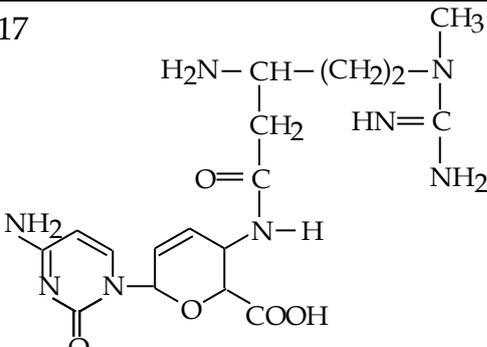
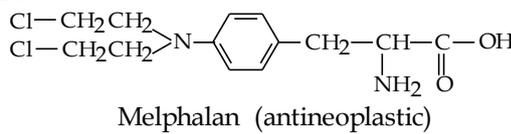
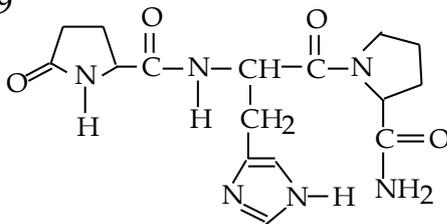
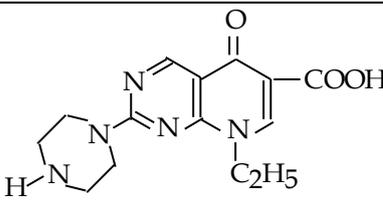
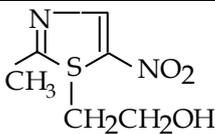
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
16	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{NO})\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ <p>Bischloroethylnitrosourea (antineoplastic agent)</p>	$\begin{array}{c} \quad \\ \text{N}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{Hal} \\ \quad \\ -\text{N}=\text{O} \end{array}$			30
17	 <p>Blasticidin S (antibiotic)</p>	$\begin{array}{c} > \text{C} = \text{C} < \\ - \text{N} = \text{C} < \\ \\ - \text{C} - \text{H} \end{array}$	<p>- NH₂ - CH₃</p>		760
18	 <p>Melphalan (antineoplastic)</p>	$\text{Ar}-\text{CH}_2-\begin{array}{c} \\ \text{C}-\text{N}- \\ \quad \\ - \text{C}-\text{H} \end{array}$	- COOH		
19	 <p>Thyroliberin (hormone)</p>	$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{C}-\text{NH}-\text{C}-\text{C} \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \quad \text{O} \\ \\ - \text{C}-\text{H} \end{array}$	- NH ₂		
20	 <p>Pipemidic acid (antibacterial agent)</p>	$\text{Ar}-\text{N}-\text{CH}_2-\begin{array}{c} \quad \\ \text{C}-\text{N} \\ \quad \end{array}$	- COOH		
21	 <p>Metronidazole (antiparasitic agent)</p>	- OH	- CH ₃		

Table 4. Summary of the some miscellaneous pharmaceutical substances (continued)

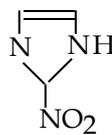
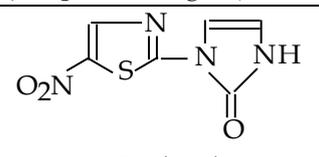
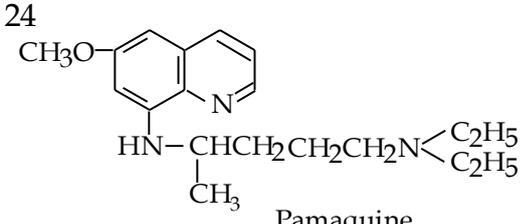
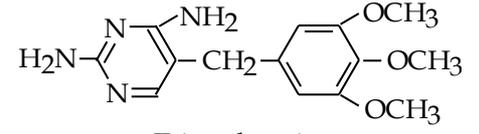
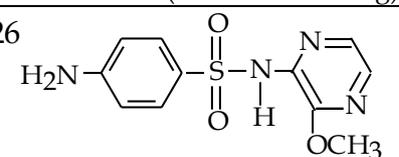
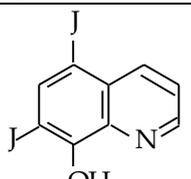
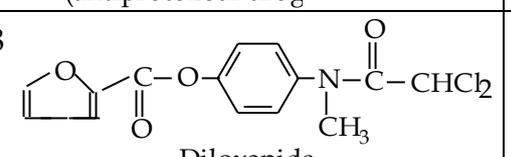
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
22	 Azomycin (antiparasitic agent)	$>C=C<$			
23	 Niridazole (antiparasitic agent)	$>C=C<$			
24	 Pamaquine (antimalarial drug)	$\begin{array}{c} \\ -C-H \\ \end{array}$	- CH ₃		
25	 Trimethoprim (antimalarial drug)	Ar—CH ₂ —Ar	- CH ₃		
26	 Sulfalene (antimalarial drug)	$\text{Ar}-\text{NH}-\begin{array}{c} \\ \text{S} \\ \end{array}-\text{Ar}$	- CH ₃		
27	 Diiodohydroxyquin (antiprotozoal drug)	— OH			
28	 Diloxanide (antiprotozoal drug)	$\begin{array}{c} \\ -C-\text{Hal} \\ \end{array}$	- CH ₃		

Table 4. Summary of the some miscellaneous pharmaceutical substances (continued)

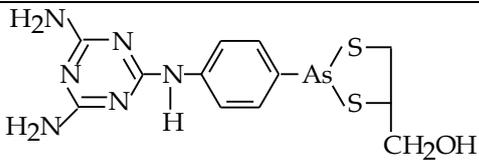
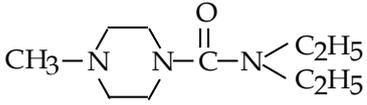
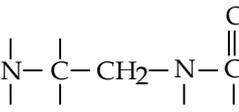
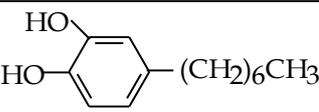
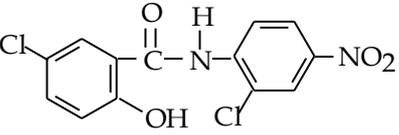
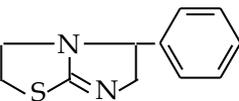
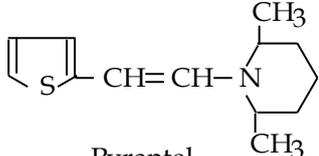
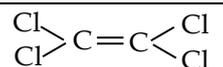
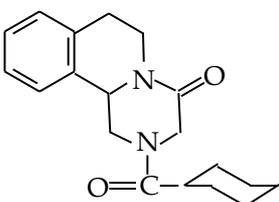
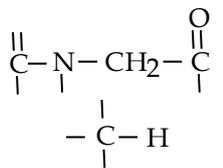
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
29	 <p>Melarsopol (antiprotozoal drug)</p>	$\text{Ar} - \text{NH} - \text{Ar}$ $- \text{OH}$			
30	 <p>Diethylcarbamazine citrate (anthelmintic)</p>	 <p>$- \text{CH}_3$</p>			
31	 <p>Hexylresorcinol (anthelmintic)</p>	$- \text{OH}$	$- \text{CH}_3$		
32	 <p>Niclosamide (anthelmintic)</p>	$\text{O} = \text{C} - \text{NH} - \text{Ar}$ $- \text{OH}$			
33	 <p>Levamisole (anthelmintic)</p>	$- \text{C} - \text{H}$ $- \text{N} = \text{C} <$			
34	 <p>Pyrantel (anthelmintic)</p>	$> \text{C} = \text{C} <$	$- \text{CH}_3$		
35	 <p>Tetrachloroethylen (anthelmintic)</p>	$> \text{C} = \text{C} <$			
36	 <p>Praziquantel (anthelmintic)</p>	 <p>$- \text{C} - \text{H}$</p>			

Table 4. Summary of the some miscellaneous pharmaceutical substances (continued)

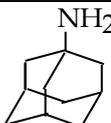
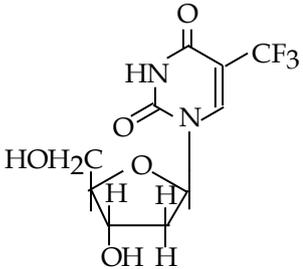
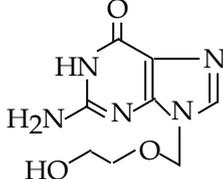
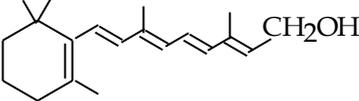
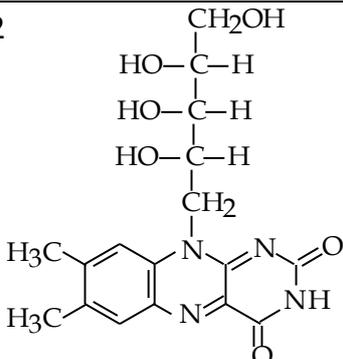
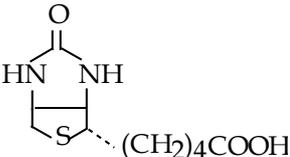
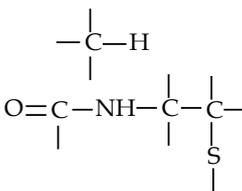
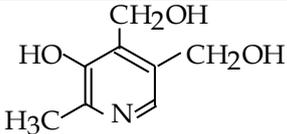
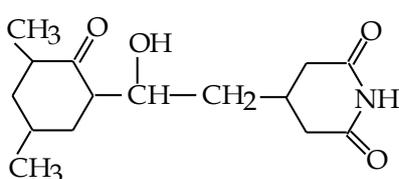
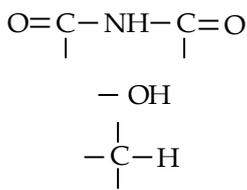
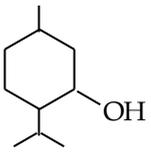
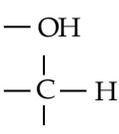
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
37	 Amantadine (antiviral drug)	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$			
38	 Trifluridine (antiviral drug)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}-\text{C}=\text{O} \\ \quad \\ -\text{OH} \\ >\text{C}=\text{C}< \end{array}$			
39	 Acyclovir (antiviral drug)	$\begin{array}{c} \text{Ar}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}- \\ \\ -\text{OH} \end{array}$			
40	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{O} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{HO} \quad \text{H}_3\text{C} \quad \text{OH} \end{array}$ Pantothenic acid	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \\ -\text{OH} \end{array}$	- COOH		
41	 Vitamin A	$\begin{array}{c} -\text{OH} \\ >\text{C}=\text{C}< \end{array}$	- CH ₃		
42	 Vitamin B ₂	$\begin{array}{c} \text{Ar}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{O}- \\ \\ -\text{OH} \end{array}$	- CH ₃		

Table 4. Summary of the some miscellaneous pharmaceutical substances (continued)

No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
43	 Vitamin H		- COOH		
44	 Vitamin B ₆	- OH			
45	 Cycloheximide (antibiotic)		- CH ₃		
46	 (-) - Mentho		- CH ₃		

In this connection the following elucidation we can point out. Our data suggest that chlorocholinchloride (CCC) which is using in agriculture to inhibit the plant growth is an ethylene-releasing substance. CCC is decomposed *in vitro* yielding ethylene in accordance to the Hofmann's rule (Kurchii, 1990; Kurchii, 1991). Hence, I believe that acetylcholine is an ethylene-releasing substance. Primary mechanism of acetylcholine action is schematically presented in the Figure 7.

Many chemicals can mimic biological effects of acetylcholine. For instance, it was found that such toxic agent from cyanobacteria as anatoxin-a is a potent stereospecific agonist at the muscle and-plate nAChR and with those of acetylcholine (Spivak et al., 1980). I believe that this can be possible in the case if both chemicals in active conformation are active free radicals.

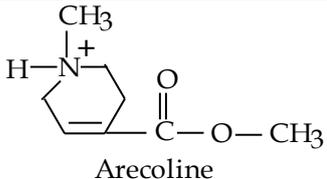
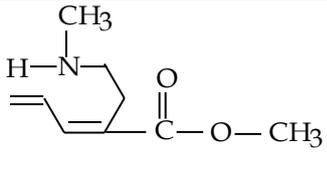
A vast number of substances can affect the storage and release of acetylcholine from nerve terminal. Thus, such antibiotics, as neomycin, kanamicin, streptomycin, local anaesthetic in high concentrations prevent or reduce the release of acetylcholine at the neuromuscular junction (Robinson et al., 1971; Jakubke and Jeschkeit, 1983). D-tubocurarine, gallamine and dihydro-β-erythroidine can produce neuromuscular block when are used in high concentrations. Nevertheless after the inspection of their structural formulae I have concluded that the primary mechanism of action of these substances should be similar to the acetylcholine but visible differences in physiological responses depend of using doses. These chemicals from non-active structures can be transformed into free radical (the ctive structure) which possess similar biological effects (Figure 8).

Another group of biologically active substances termed as cholinergic agonists presents. The essential future of these chemicals is that they have either quaternary nitrogen or tertiary sulfur. The mechanisms of their decomposition with elimination of olefin in the Hofmann's splitting reaction are pointed out earlier (Kurchii, 1990; Kurchii, 1991). Table 5 illustrates the possible olefins that can be formed after the decomposition of parental structures.

Such drugs as a physostigmine and a pyridostigmine can be activated by the hydrogen abstraction or by free radical addition as also by reduction-oxidation reactions (Figure 9).

The lower aliphatic monoamines are widely distributed in the plant and animal kingdoms and play an outstanding role as growth regulators. The diamines cadaverine and putrescine, and polyamines spermine and spermidine regulate numerous metabolic pathways. The primary mechanisms by which these chemicals can exert their action are similar those monoamines (Figure 10).

Table 5. Structural formulae of acetylcholine congeners and their possible olefins

No	Compound	Possible olefin
1	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$ <p>Acetylcholine</p>	$\text{CH}_2 = \text{CH}_2$
2	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}_2}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$ <p>Methacholine</p>	$\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CH}_3$
3	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ <p>Ethoxycholine</p>	$\text{CH}_2 = \text{CH}_2$ $(\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3)$
4	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{CH}_3$	Olefins
5	 <p>Arecoline</p>	
6	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}-(\text{CH}_2)_6-\overset{+}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3$ <p>Hexamethonium</p>	$\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH} = \text{CH}_2$

A signal from the CNS is transmitted through two successive neurons. The first neuron termed as preganglionic originates in the spinal cord and will synapse with the second neuron (postganglionic) in a ganglion. The postganglionic fiber then innervates the organ it controls. Preganglionic and postganglionic neural fibers are in each sympathetic and parasympathetic system. Postganglionic fibers of parasympathetic system secrete presumably acetylcholine, whereas the postganglionic fibers of the sympathetic system release noradrenalin (norepinephrine).

Another important biogenic amines are adrenalin (epinephrine) and dopamine. Possible mechanisms of activation and biotransformation of dopamine is presented in Figure 11. Methacholine, carbachol and bethachol are parasympathetic stimulators and can be decomposed to yield the olefins (Figure 12).

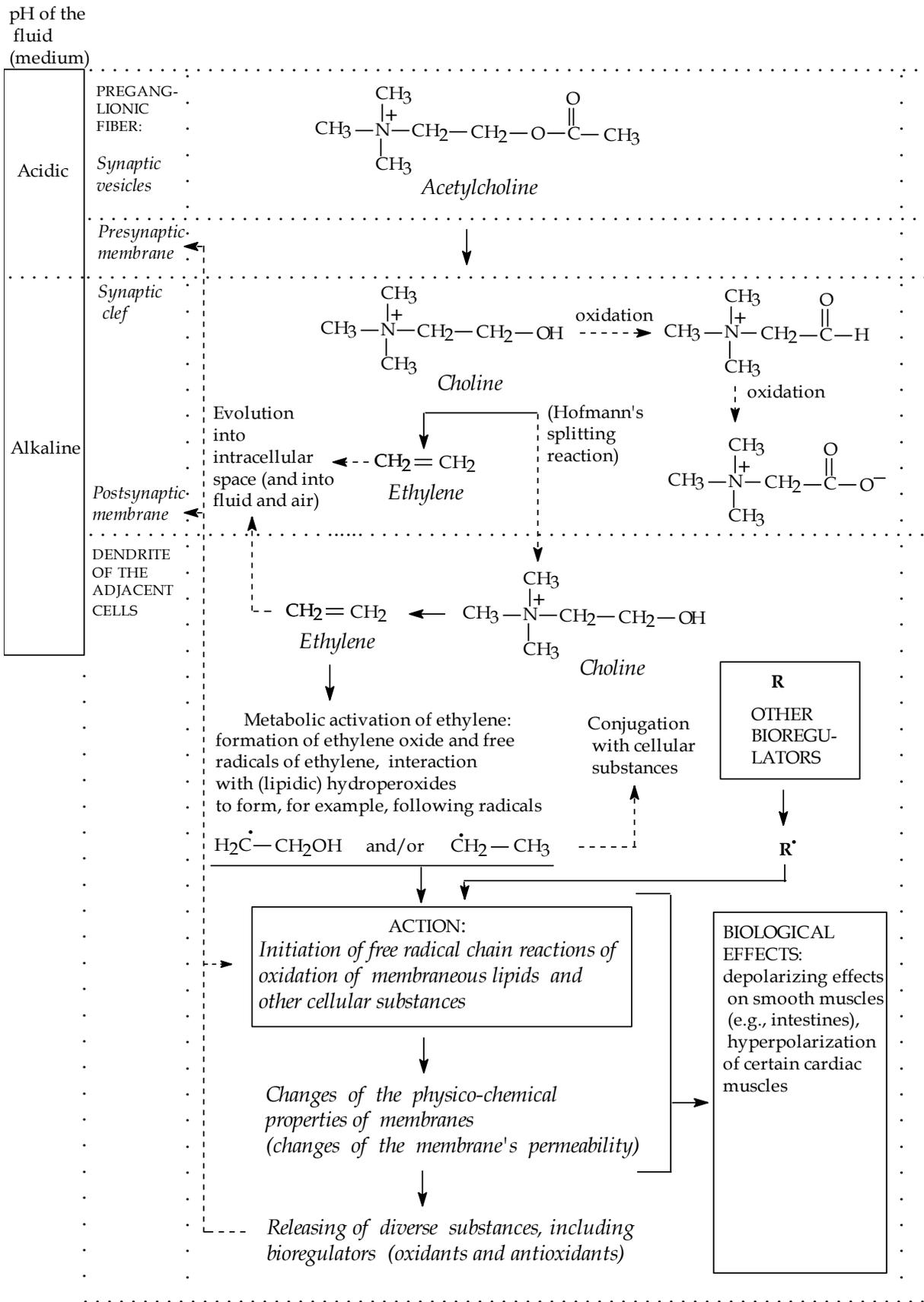


Figure 7. Proposed pathway for the primary mechanism of acetylcholine decomposition and biological action of formed ethylene. The liberated ethylene initiates a cascade of free radical reactions.

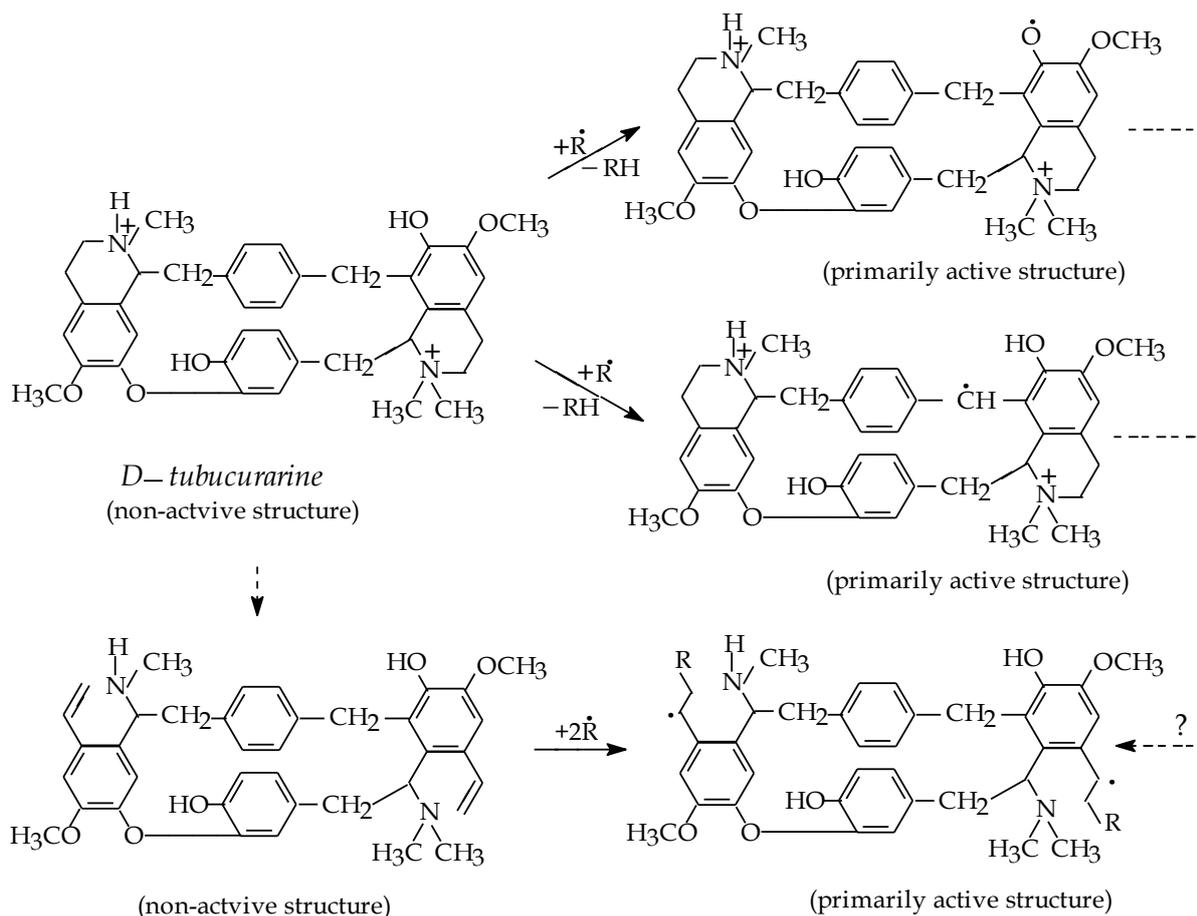


Figure 8. The chemical structure of *D*-tubucurarine and its possible primary mechanism of activation.

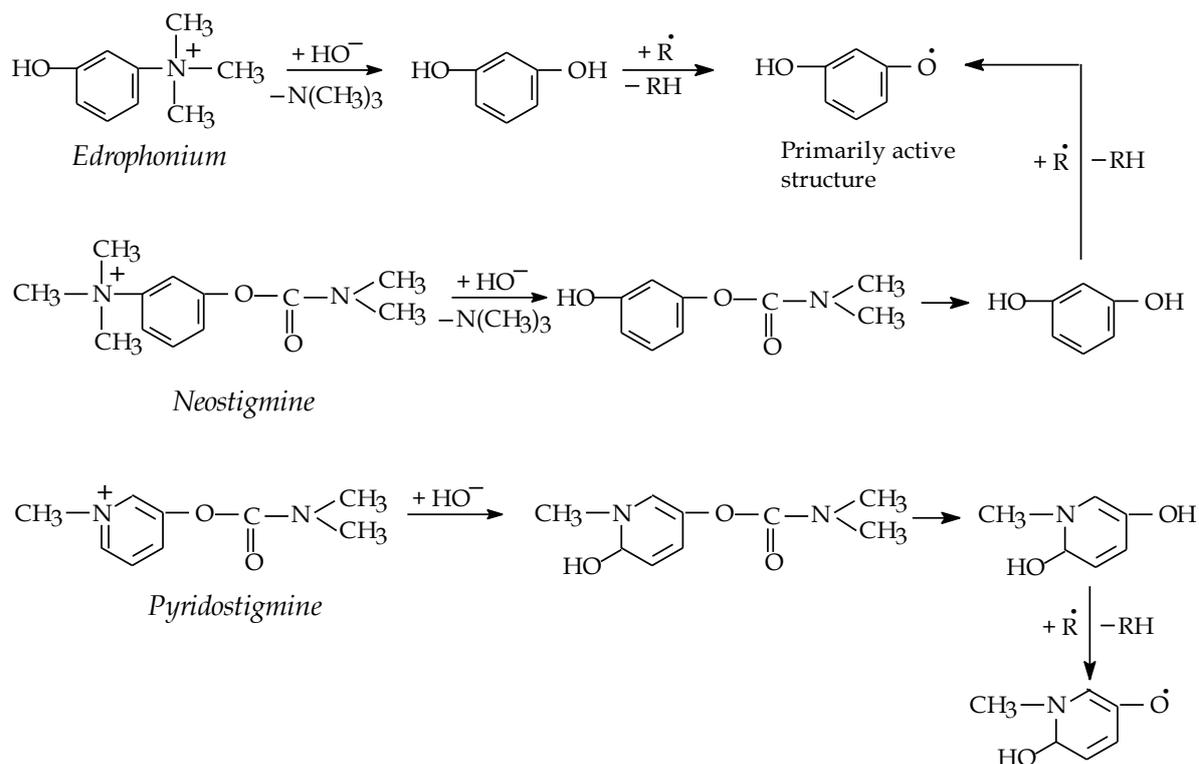


Figure 9. Possible mechanisms of edrophonium, neostigmine, and pyridostigmine transformation into phenol-like substances, and formation of their free radicals.

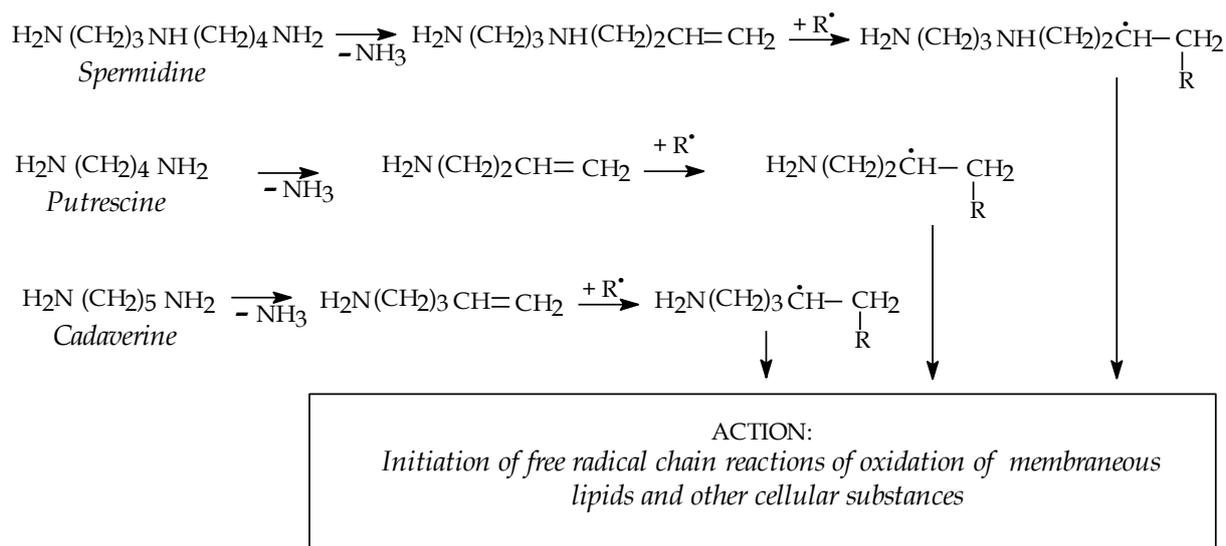


Figure 10. Proposed primary mechanisms of spermidine, putrescine, and cadaverine action.

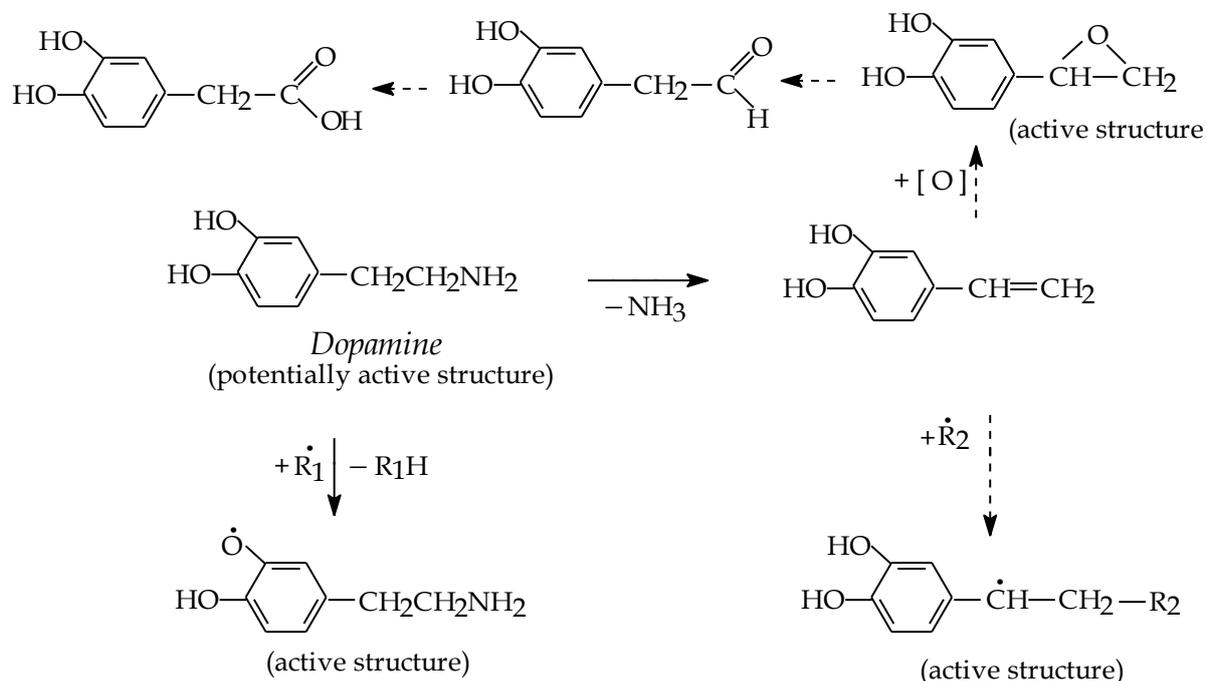


Figure 11. Possible mechanisms of activation and biotransformation of dopamine.

There is evidence that some antibiotics, e.g., streptomycin, neomycin, kanamycin, and also tetracyclines, in large dose can also produce neuromuscular block (Bradley, 1989). Organophosphorus compounds also affect neuromuscular transmission. These substances have active hydrogen atoms in FRG or such groups as >P=O and >P=S , possible functional role of them is described below.

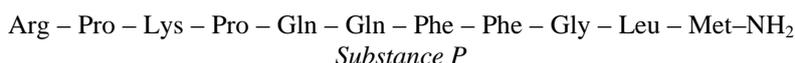
Physostigmine is used in ophthalmic practice in the same way as pilocarpine for the reduction of intraocular pressure. Possible mechanisms of bioactivation of physostigmine as also pyridostigmine are presented in Figure 13.

Another parasympathetic stimulators pilocarpine that is termed as a potent muscarinic stimulant and arecoline that promote salivary secretion have unsaturated double bonds and *in vivo* can be easily activated either by free radical addition or by hydrogen abstraction reactions (Figure 14).

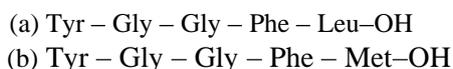
Several substances can block the effects of acetylcholine and muscarinic agonists. Thus, alkaloid atropine especially inhibits those cholinergic neurons which are activated by muscarine (Jakubke and Jeschkeit, 1983). Peripheral antimuscarinic action of hyoscyne and homatropine resemble atropine. These chemicals have OH-groups and can be primarily activated by oxidation reactions or by reactions of hydrogen abstraction from these groups.

A vast number of drugs act as neurotransmitters in the central nervous system (CNS). Thus 5-hydroxytryptamine (5-HT) stimulates peristalsis of the intestine, and causes a dose-dependent vasoconstriction or vasodilation of respiratory tract and vascular system. Some possible pathways of activation of this chemical is presented in Figure 15. There are at least three ways of 5-hydroxytryptamine *in vivo* activation, which of them is preferable in any given tissue depends on the penetration, translocation, destruction, oxidation/reduction reactions and excretion as also availability and nature of the antioxidative substances.

Peptide neurotransmitters represent a wide range of chemicals which have been found to be present in CNS. Thus, for example, substance P is linear peptide consisting of 11 amino acids causes constriction of the smooth muscle of the gut, and also it decrease blood pressure (Holaday et al., 1985; Jakubke and Jeschkeit, 1983).



Opioid peptides have similar activity to be derived from the opium poppy, for instance, such as morphine, that has an analgesic action. The most important opioid peptides are leucine enkephalin (a) and methionine enkephalin (b):



Certain amino acids have also a function of the inhibitory transmitters. Thus, γ -aminobutyric acid (GABA) is widely distributed in the vertebrate central nervous system. It inhibits neuronal firing and stabilizes the resting potentials. Proposed pathways of activation and primary mechanism of action of GABA are presented in Figure 16.

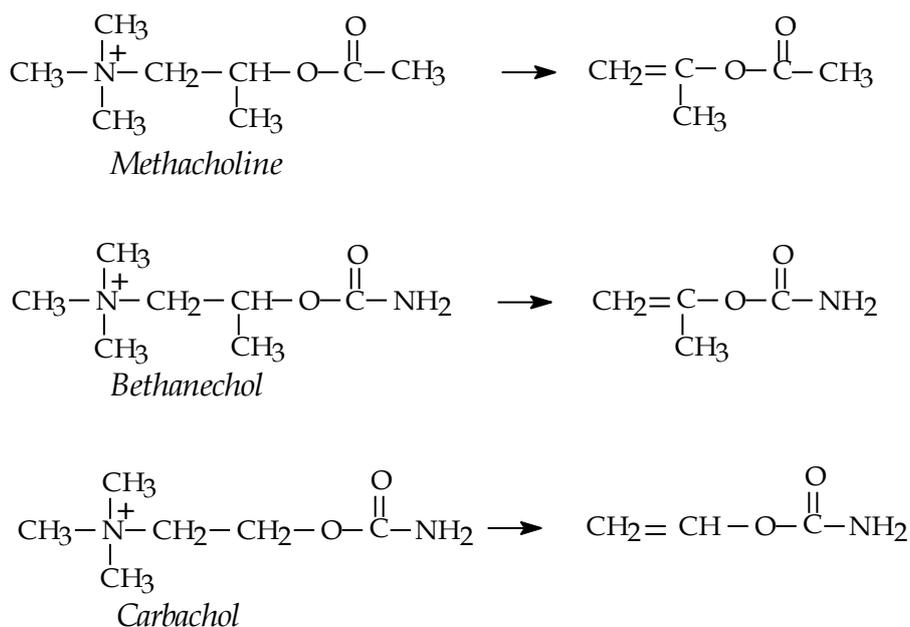


Figure 12. *In vivo* formation of olefins from methacholine, bethanechol and carbachol in the Hofmann's splitting reaction.

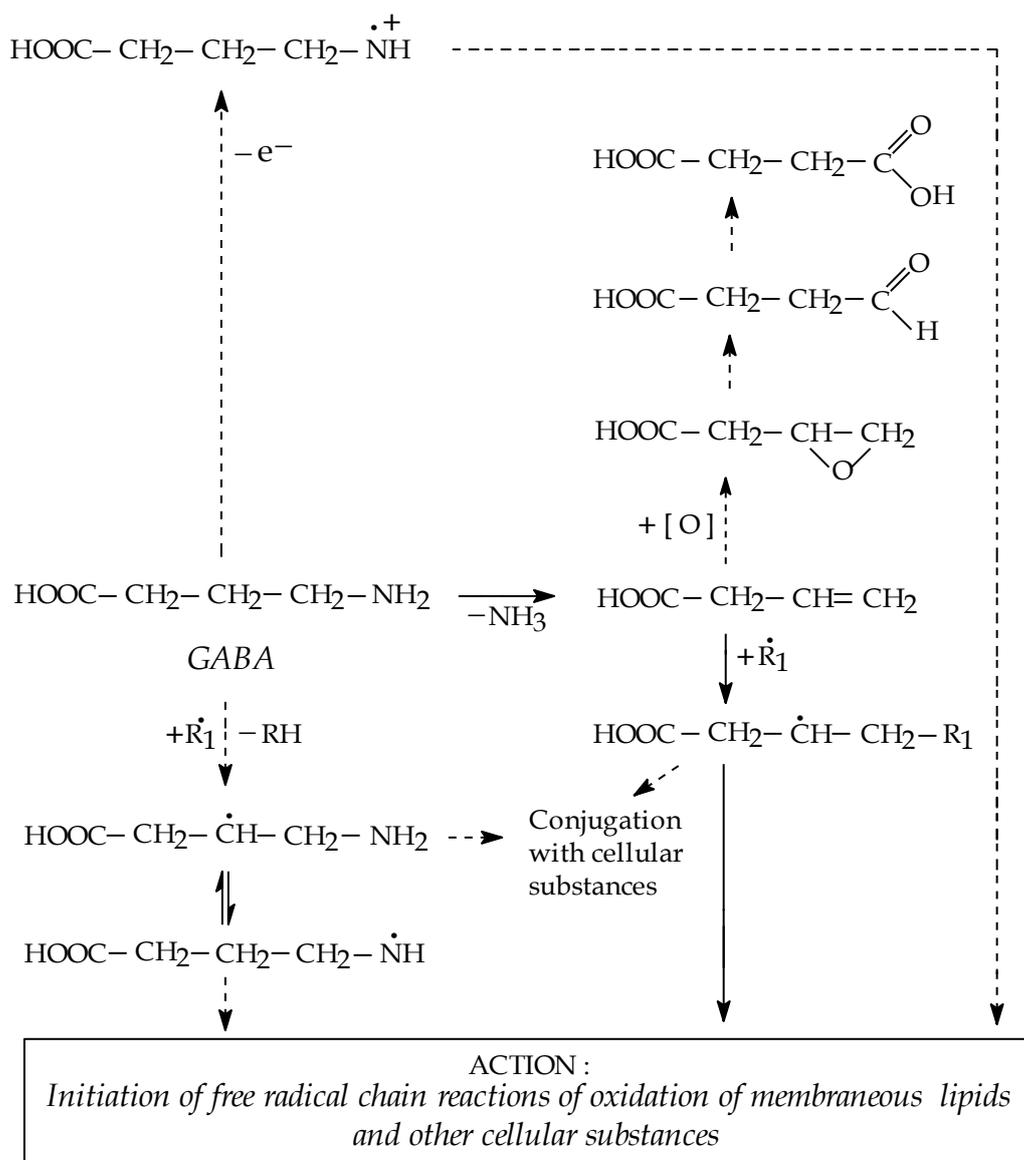


Figure 16. Possible pathways of γ -aminobutyric acid (GABA) activation and its mode of action.

Many chemicals have function as CNS depressants. An interesting group among their is the volatile general anesthetics that are gases or low-boiling liquids. Chemicals that are depressant to CNS tend to be structurally nonspecific. Nevertheless proposed free radical mechanisms of their activation and mode of action are presented in Figure 17. Many of these chemicals are not used in modern medicine. Large important group of non-volatile anesthetics have therapeutic interest and are widely used in surgery and in the treatment of many deaths. Table 6 shows several neurotransmitters and their FRG.

Midazolam other fixed general anesthetic is also used for short procedures or rapid induction of anesthesia. To produce very rapid anesthesia induction is used etomidate another non-barbiturate anesthetic. The general feature of these substances is that they have unsaturated bonds in their structural formulae. Ketamine and phencyclidine do not have FRG with unsaturated bonds and hence their physiological effects are less than midazolam and etomidate. Another non-barbiturate anesthetic is propofol that has no FRG with unsaturated bonds but has active hydrogen atoms at carbon and one hydroxy group. Propofol and also alfentanil, and droperidol usually are used in combination with N_2O . Possible mechanism of activation and mode of action of these substances are shown in Figure 18.

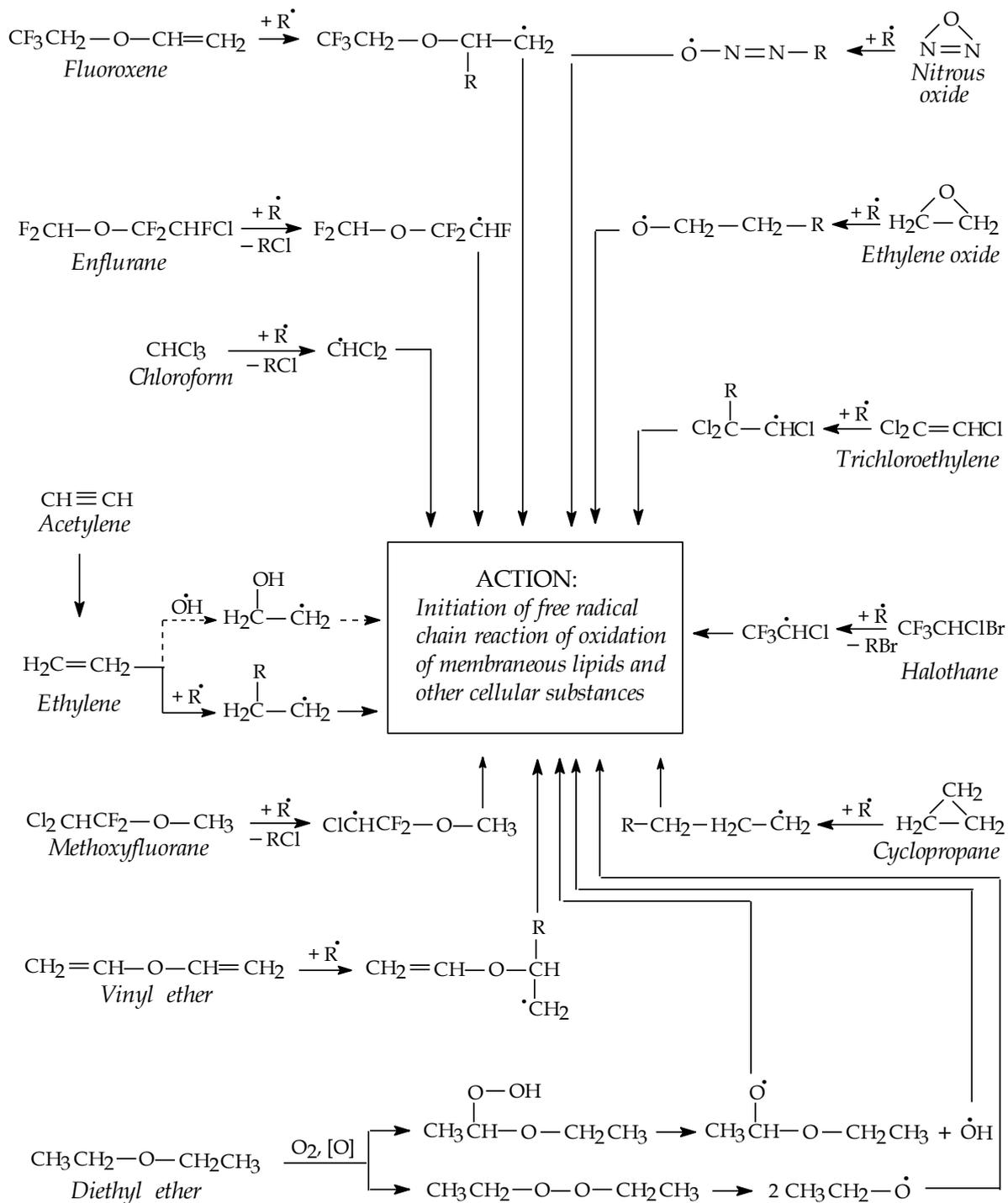


Figure 17. Proposed mechanisms for activation of volatile general anesthetics.

Opioid peptides having FRG can be easily transformed into free radicals by: (a) addition reactions of free radicals to unsubstituted benzene; (b) hydrogen abstraction from methylene and OH-groups, and/or (3) by oxidation/reduction of OH-groups. In free radical forms they initiate free radical chain reactions of oxidation of essential cellular substances.

Table 6. Summary of the important neurotransmitters

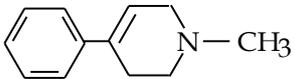
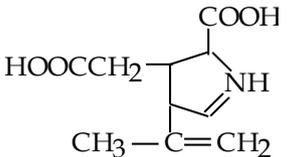
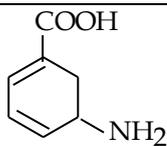
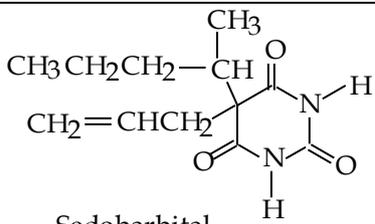
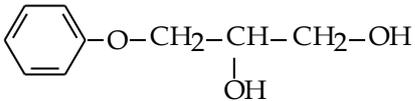
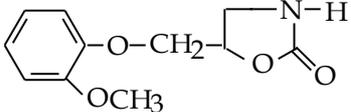
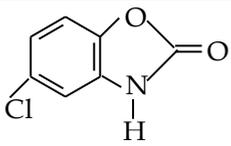
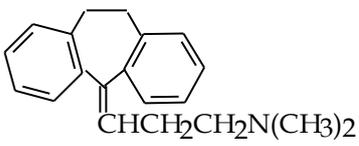
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	 Methylphenyltetra- hydropyridine, MPTP	>C=C<	- CH ₃		
2	 Kainic acid	>C=C< >C=N-	- COOH		
3	 Gabaculine		- COOH		
4	 Sedobarbital	>C=C< -C-H	- CH ₃		
5	 Antodyne (analgesic-antipyretic)	-C-H -OH			
6	 Mephenoxalone (muscle relaxant)	$\text{Ar-O-CH}_2\text{-C-O-}$	- CH ₃		
7	 Chlorzoxazone(muscle relaxant)	Ar-NH-C=O			
8	 Cyclobenzaprine (antidepressant)	>C=C<	- CH ₃		

Table 6. Summary of the important neurotransmitters (continued)

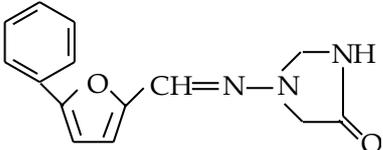
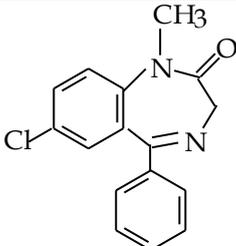
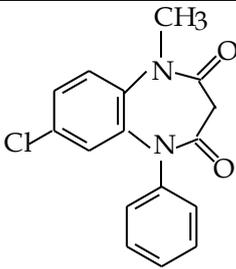
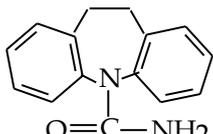
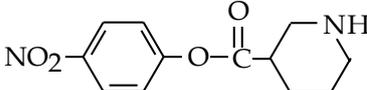
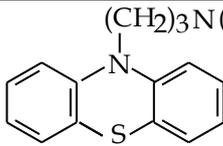
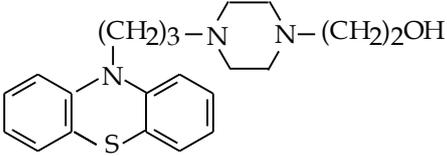
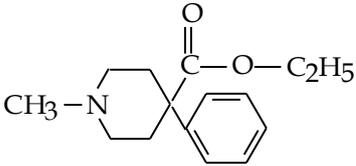
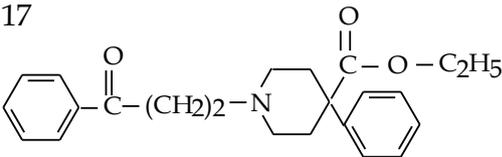
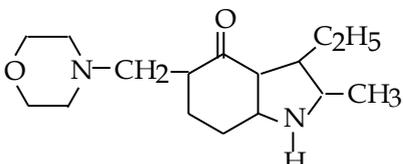
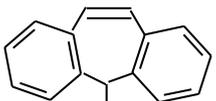
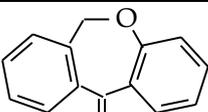
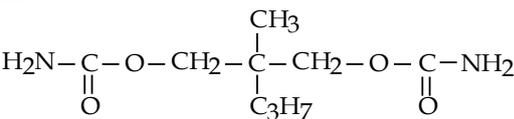
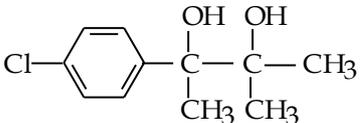
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
9	 <p>Dantrolene (muscle relaxant)</p>	$>C=N-$			
10	 <p>Diazepam (muscle relaxant)</p>	$>C=N-$			
11	 <p>Clobazepam (anxiolytic)</p>	$O=C-CH_2-C=O$	- CH ₃		
12	 <p>Carbamazepine (antiepileptic)</p>	$Ar-\overset{ }{\underset{ }{C}}-CH_2-Ar$			
13	 <p>p-Nitrophenylisonipecolate</p>	$-\overset{ }{\underset{ }{C}}-H$			
14	 <p>Chlorpromazine (antiemetic)</p>	$Ar-\overset{ }{\underset{ }{C}}-CH_2-\overset{ }{\underset{ }{C}}-N-$	- CH ₃		
15	 <p>Perphenazine (antiepileptic)</p>	$Ar-\overset{ }{\underset{ }{C}}-CH_2-\overset{ }{\underset{ }{C}}-N-$ - OH			

Table 6. Summary of the important neurotransmitters (continued)

No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED)	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
16	 <p>Meperidine (neuroleptic)</p>	$\begin{array}{c} \\ -N- \\ \end{array} \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} -CH_2- \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} -Ar$	- CH ₃		
17	 <p>R-951 (neuroleptic)</p>	$\begin{array}{c} \\ -N- \\ \end{array} \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} -CH_2- \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} -Ar$ $O= \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} -CH_2- \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} -N-$	- CH ₃		
18	 <p>Molidone (antipsychotic)</p>	$\begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} -H$	- CH ₃		
19	 <p>Protriptyline (antidepressant)</p>	$>C=C<$	- CH ₃		
20	 <p>Doxepin (antidepressant)</p>	$>C=C<$ $Ar-CH_2-O-Ar$	- CH ₃		
21	 <p>Meprobamate (muscle relaxant)</p>	$O- \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} - \begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array} -CH_2-O$ $\begin{array}{c} \\ -C- \\ \end{array}$ <p>(- OH)</p>	- CH ₃		
22	 <p>Phenaglycodol (muscle relaxant)</p>	$(- OH)$	- CH ₃		

Vasopressin enhances the permeability of a number of epithelial membranes to water, sodium, and certain chemicals. TRH, a tripeptide has potent pharmacological and behavioral actions that are independent of its hypophysiological function. Administration of TRH has been shown to result in cardiovascular respiratory function, body temperature, gastrointestinal activity and stimulatory action on behavior (Nemeroff et al., 1979; Yarbrough, 1979).

Beside the discovery of hormones in animals and in plants evidence was obtained of “secondary” of natural products (Fraenkel, 1969; Geissman and Grout, 1969; Harborne, 1977; Karlson, 1976). It should be noted that the term secondary products has also been used to mean that these substances are derivatives of primary products. In higher plants among secondary products are alkaloids, terpenes, rubbers, sterols, and steroids, tannins, and many other plant materials. Secondary products were isolated from lower plants and prokaryotes (bacteriae). These substances are frequently very complicated and include pigments, toxins, antibiotics, chitin, cellulose, lignin, lectins. It is recognized that main hormones of higher plants are growth regulators, first of all, of growth and differentiation. Such growth regulators as auxins, zeatine, gibberellins are found in bacteriae and fungi. Unfortunately in higher plants and in lower plants, and as in bacteriae, no definite proof of function of secondary products could be given. Secondary products derived from animals are much simpler than their counterparts in plants.

The relationship between a chemical structure and its biological activity of such peptide as cyclosporin A is reported (Wenger, 1986). Cyclosporin A is produced by *Cylindrocarpon lucidum* Both and *Tolypocladium inflatum* Gams. An amino acid No 11 is very important for maintaining the active conformation. In the case if this amino acid is changed (as in D-MeVal) into another amino acid the loss of activity is observed. Carbon chain of an amino acid one (MeBmt) is also important for biological activity. Removal of the non-polar part of the side chain as in (MeThr¹)cyclosporin reduces the immunosuppressive activity as does modification of the hydroxy group. Even the double bond makes a contribution to the biological activity since dihydro compounds are generally less potent as immunosuppressants. MeBmt alone is not sufficient for immunosuppressive activity.

Cyclosporin A (Figure 19) has at least 9 descriptors, among their 6 have an active hydrogen atom at carbon, one is an unsaturated bond, and one is an oxy group, and one has two active hydrogen atoms at amino acid N3. After the activation cyclosporin A can form more than one free radical center simultaneously. An amino acid N3 is a key acid because if it is changed by (L-Pro³) the loss of activity is observed (Wenger, 1986).

The amino acid N2 permits some variation with alkyl chain of 2–3 carbons showing good activity (Wenger, 1986). As you can see from Figure 19 this flanking radical of the amino acid N3 has no FRG and thus a variation in the quantity of carbon atoms do not influence biological activity of cyclosporin A.

Hence, cyclosporin A as also another peptide bioregulators can possess strong biological activity when they have a few free radical centers simultaneously. The chemical structure of cyclosporin A and the formation of possible bioactive conformations, i.e., the formation of free radicals is presented in Figure 19.

Most of the physiological responses of cells to hormones are mediated by many simple chemicals, for example, such as cyclic AMP, that involves changes in the activity of key regulatory enzymes (Robinson et al., 1971). The molecular mechanism of cyclic AMP action remains unclear. Recognition that cyclic AMP acts as a second messenger and it mediates the action of thyrotropin (TSH). At the same time TRH stimulates secretion of TSH and prolactin in many species (Wallis et al., 1985). The primary mechanism of cyclic AMP and cyclic GMP action is presented in Figure 20.

Thus, as you can see from Figure 20 cyclic AMP contains the functional reactive ($-\text{CH}_2-$) group that has an active hydrogen atom. GMP contains such FRG and also OH-group. The metabolic free radical or an enzyme (when its active center is oxidized) can abstract these hydrogens to give carbon- or oxygen-centered free radicals. Hence, cyclic AMP and cyclic GMP being activated can act as free radical agents.

Another organic compounds that possess biological activity are steroid hormones. It is established fact that corticosteroids exert a profound influence over immunological responses (Lee and Steinberg, 1987; Neher, 1984). The mechanisms of activation and mode of action of estradiol is proposed in Figure 21.

Summarizing proposed above mode of action of diverse biologically active chemicals that yield ethylene (or olefins) is schematically described in Figure 22.

In 1901, Neljubov has found that ethylene was the physiologically active ingredient of illuminating gas. The idea that ethylene might be an important factor in plant development was proposed by Zimmerman and Wilcoxon (1935). They reported that auxin increased ethylene production and that ethylene so produced might play a role in auxin action. They demonstrated that auxin-induced ethylene production might play a role in the ability of auxin to induce swelling, epinasty, root initiation and inhibition of growth. At present it is recognized: ethylene is formed by all higher plants and interacts with other plant growth regulators to coordinate and regulate a wide variety of biochemical processes.

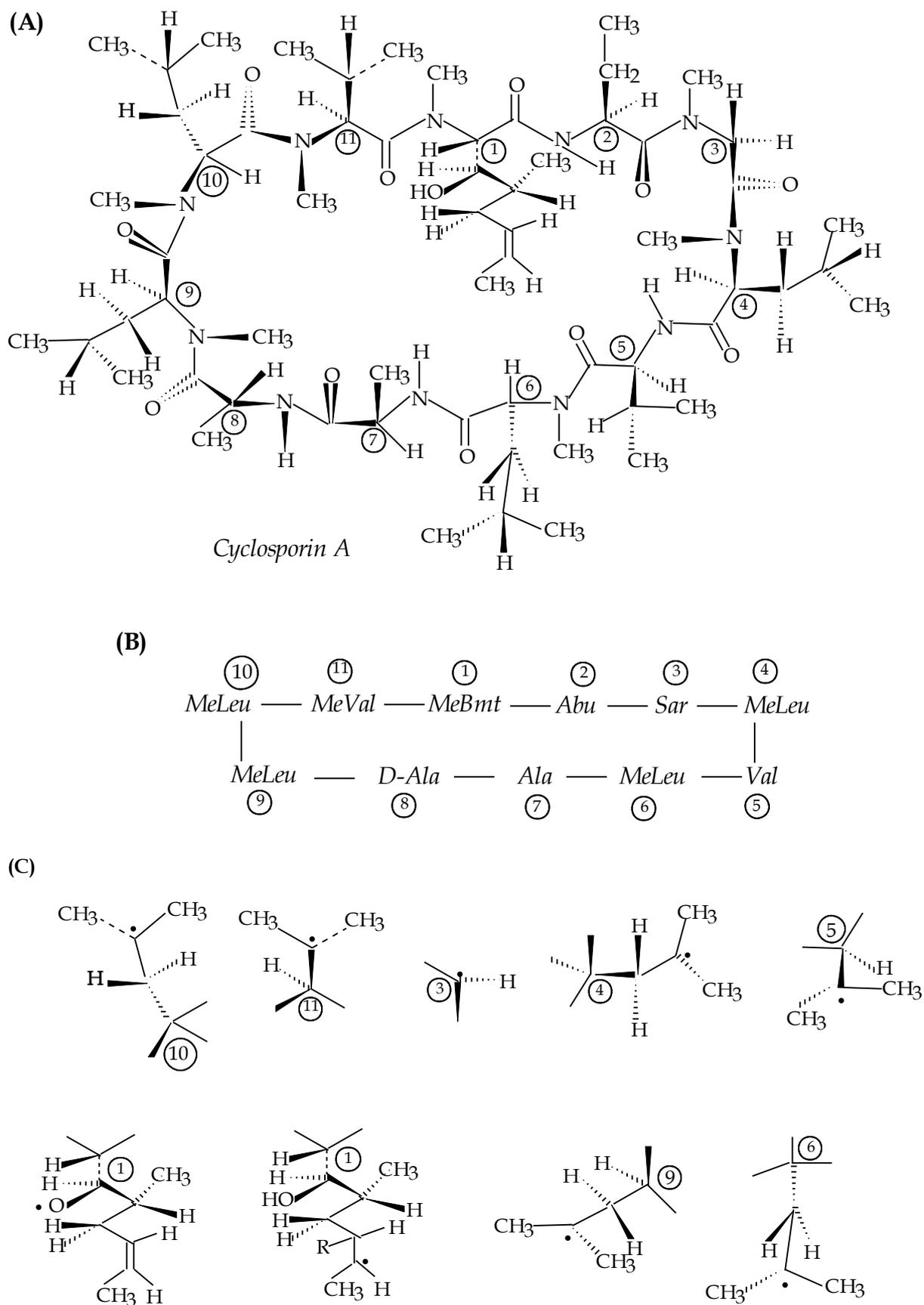


Figure 19. The chemical structure of cyclosporin A (A and B) and its possible free radicals (C).

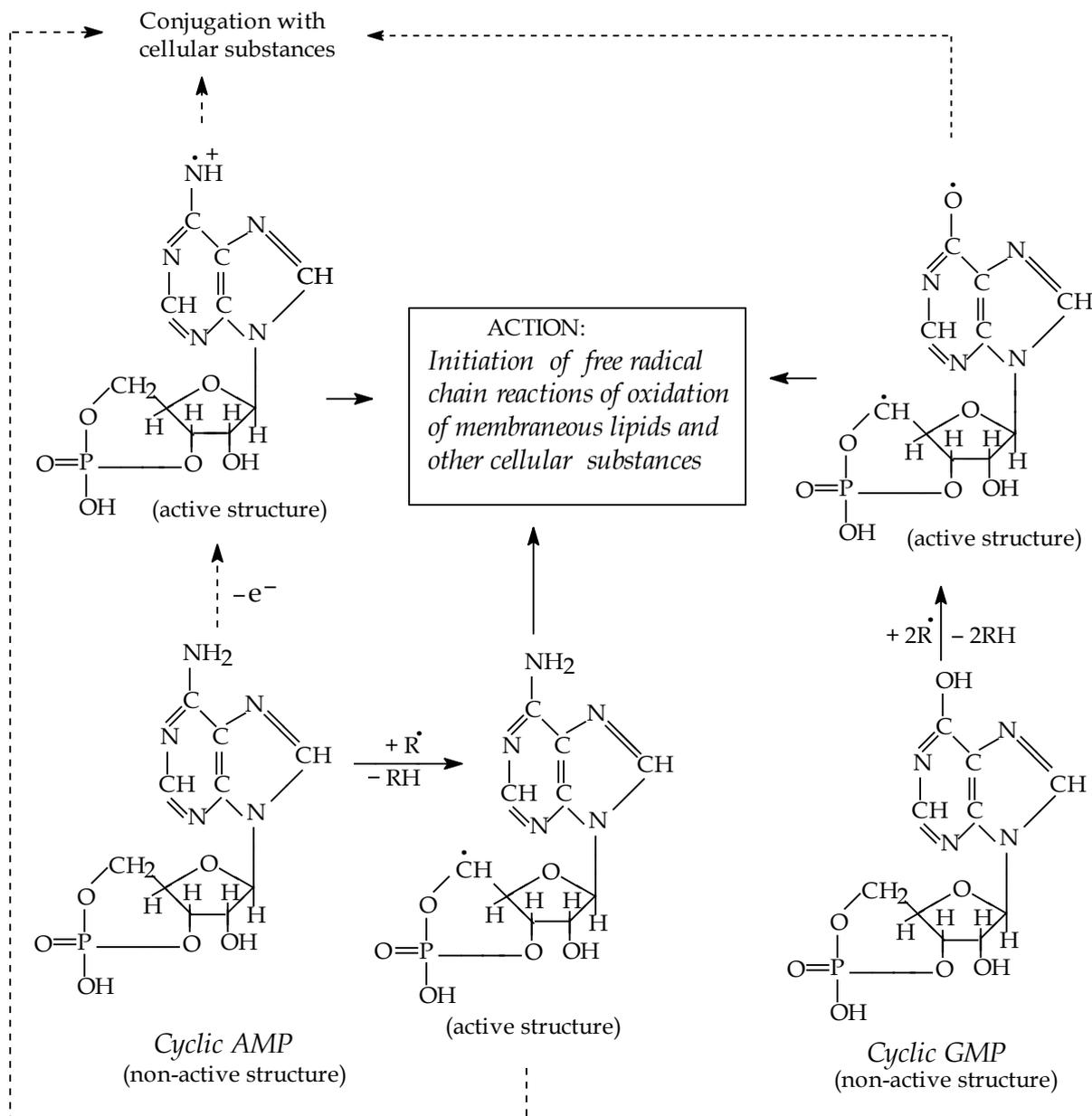


Figure 20. Hypothetical scheme to explain the mechanism of activation and mode of action of cyclic AMP and cyclic GMP.

Ethylene is formed by all part of higher plants (Abeles et al., 1992). Many compounds were proposed as source of ethylene formation, for example, linolenic acid, propanol, ethanol, acrylic acid, β -alanine, β -hydroxypropionic acid, fumaric acid and methionine (McKeon, 1995). Ethylene biosynthesis (see Abeles et al., 1992; Davies, 1995) is a 3-step biochemical pathway worked out in detail using ripening fruits as the model system. Possible pathways of ethylene formation we have presented in Figure 23.

Figure 22 shows how oxidative signals are transformed from the cytoplasmic membrane to the nucleus. It is essential to know how signal processing in cells works, i.e., how the physico-chemical changes within the membranes are converted into oxidative and/or antioxidative responses. Nevertheless biological signals that occur on the level of inter- and intra-cellular can have a high degree of similarity. A cell responds to intercellular signals by intercellular signal molecules which interact first of all with the cytoplasm of neighboring cells to initiate the signaling cascade. Many chemicals, notably ethylene, peptides, hormones, several secondary products, nucleotides, etc., can serve as signal molecules.

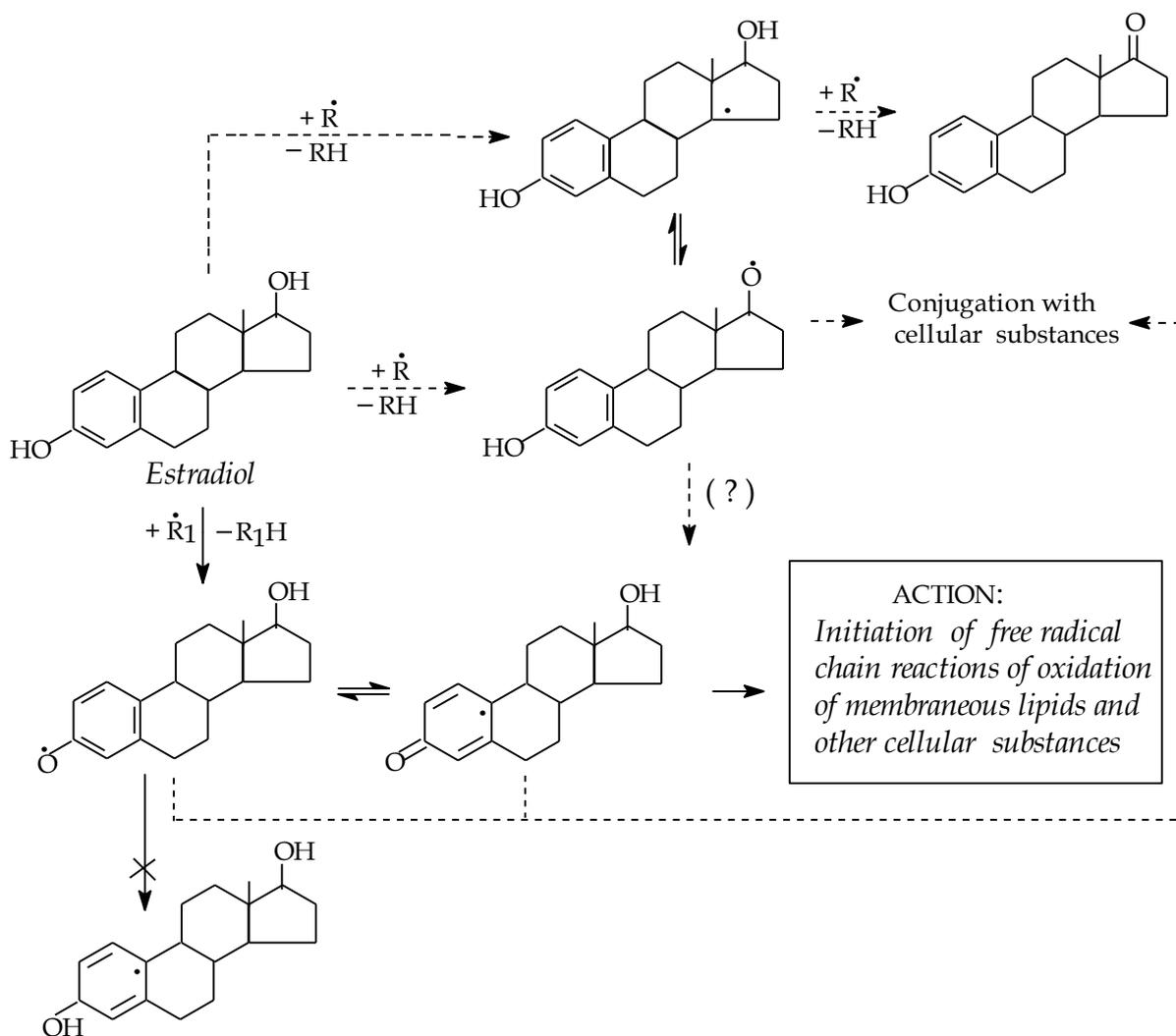


Figure 21. Hypothetical scheme for the activation and mode of action of estradiol.

The important function of the immune system is defense against non-specific events that result in direct damage, for example, to membraneous lipids, DNA, proteins, etc. Such functional changes sometimes lead indirectly to changes in fundamental cellular processes and thereby to cell death. In this connection the increasing in the levels of antioxidants and effects on selective gene expression is direct response of cell to oxidative stress. Accordingly it is not surprising that cell responds to the increasing in the level of oxidative agents by increasing in the level of antioxidants, particularly α -tocopherol, abscisic acid, some prostaglandins, etc. The scheme (Figure 22) demonstrates this positive feedback. If the damages of a cell are extensive enough to overwhelm defense antioxidative system they can result in harmful influences on neighboring cell, affecting their functioning.

A number of amines have already found practical application as local anaesthetics or as neurotransmitters in CNS. I believe these substances can be decomposed in accordance to Hofmann's splitting reaction or by desamination reactions (Kurchii, 1991) that yield olefins including ethylene (Figure 24).

Histamine is an important hormone which is involved in the control of wakefulness and sleep (Jakubke and Jeschkeit, 1983), it also induces gastric secretion. Proposed pathways for the biological activation of histamine can be described in accordance to Figure 25.

There are several substances termed as H_2 -antagonists that inhibit gastric secretion (Black et al., 1972). Such H_2 -receptor antagonists as cimetidine and ranitidine are used in the treatment of peptic ulcer. Structural formulae of these substances, and famotidine, and nizatidine (Krishna and Klotz, 1988) are presented in Figure 26. Most of these histamine H_2 -receptor antagonists have unsaturated separate bonds and *in vivo* can be activated by free radical addition reactions. Similar mechanism of action can also be presented for Vitamin U that is using in the ulcer treatment.

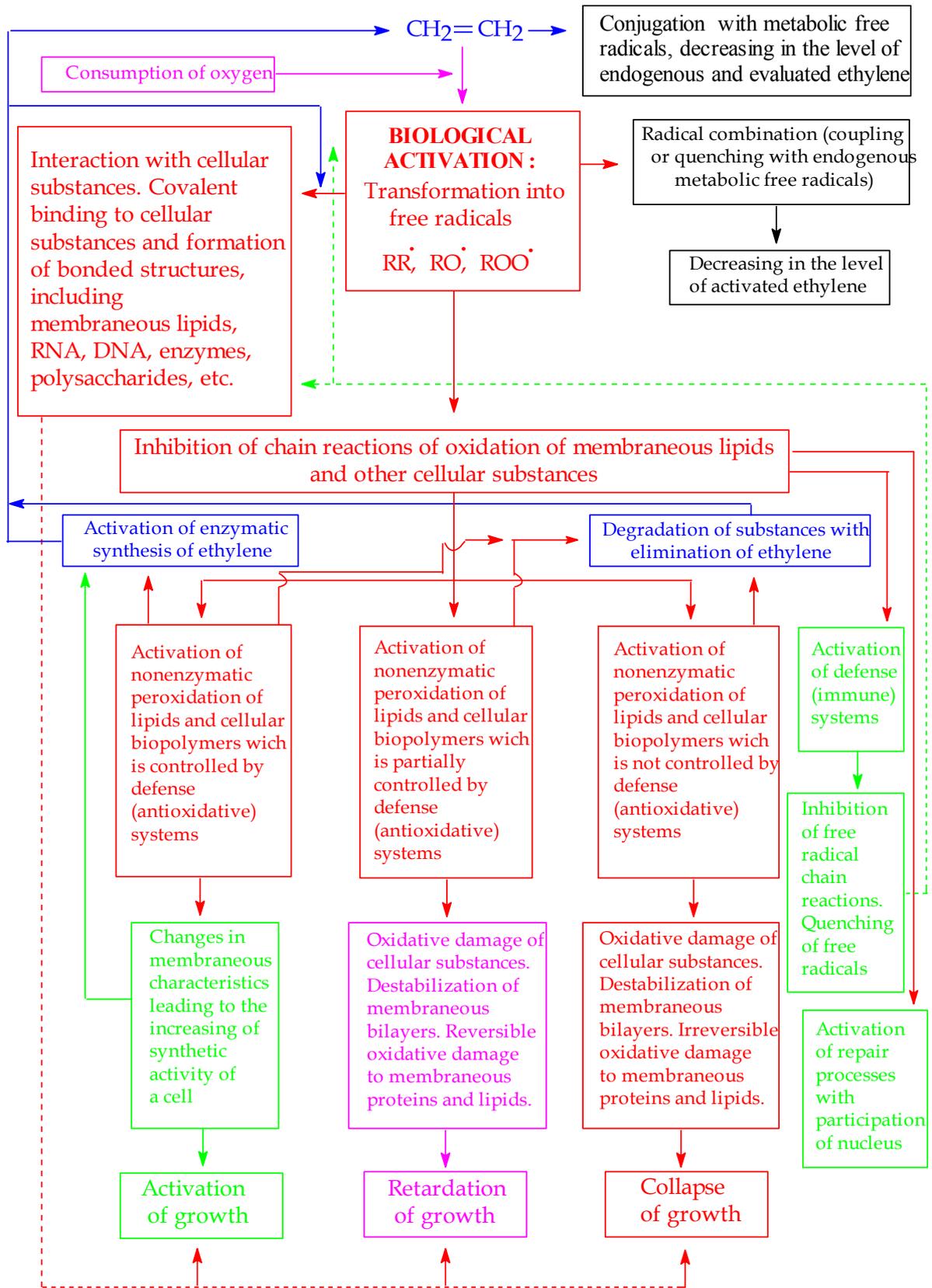


Figure 22. Proposed mechanisms for ethylene formation and the general scheme established for the perception, transduction and amplification of ethylene acting in the (plant) cells.

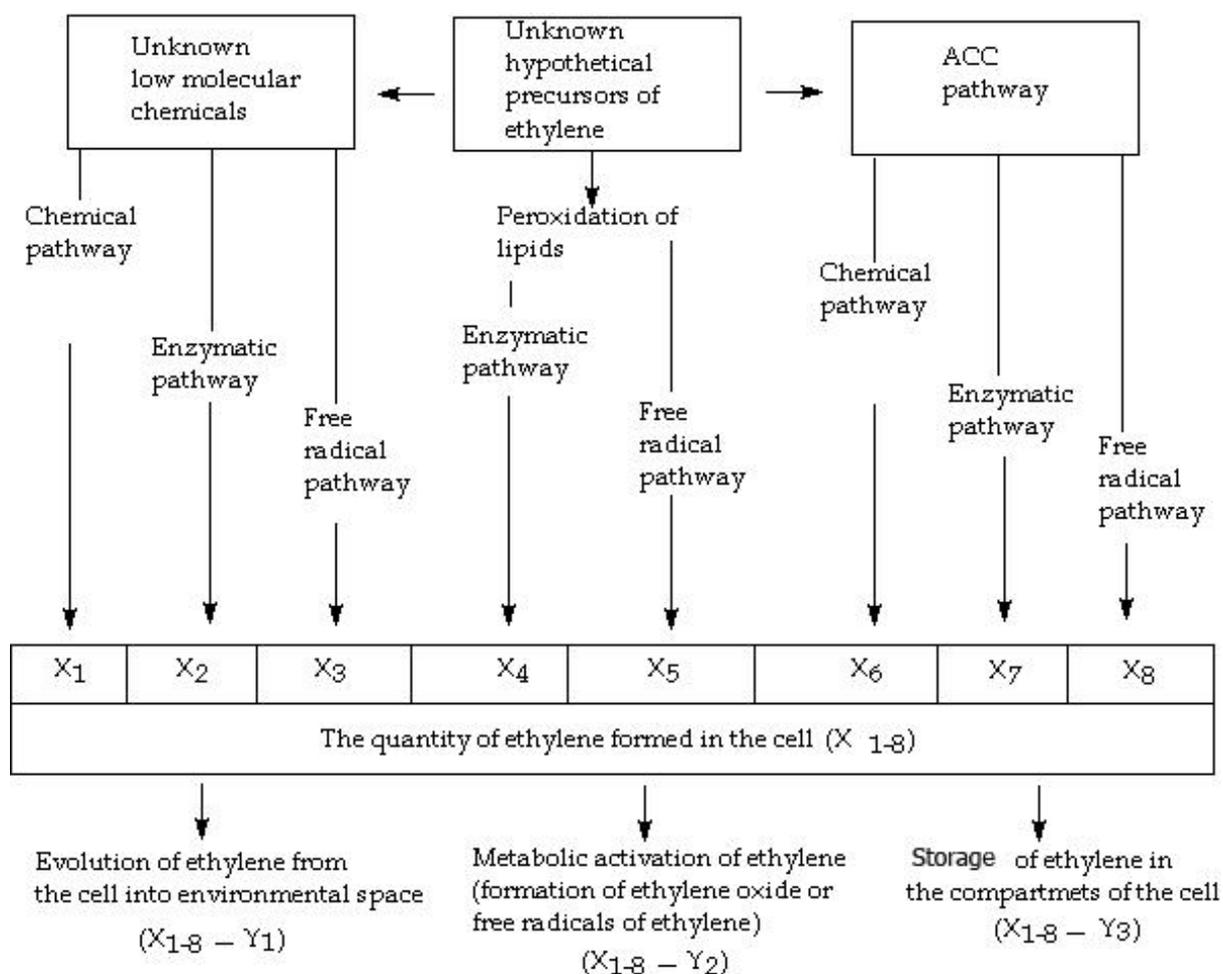
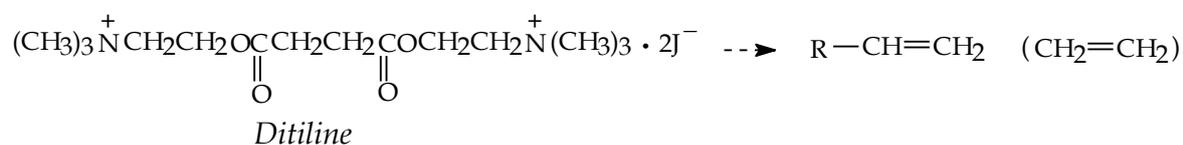


Figure 23. Hypothetical pathways of ethylene formation. Total amount of endogenous ethylene in cells is: $E_{total} = X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6 + X_7 + X_8$.

A



B

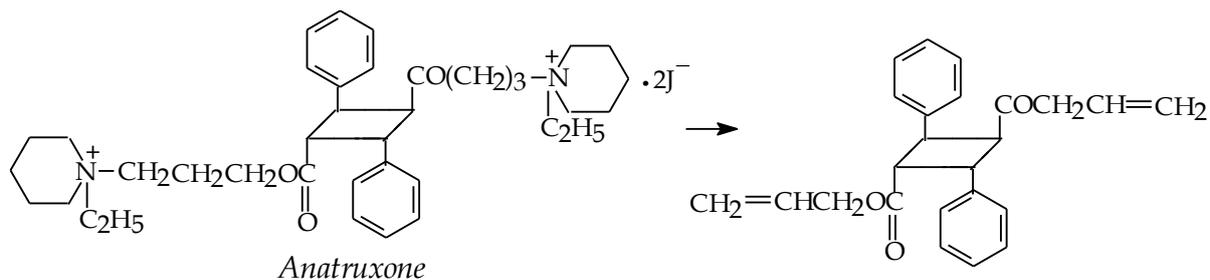


Figure 24. Possible ways for ditiline (A), and anatruxone (B) biotransformation.

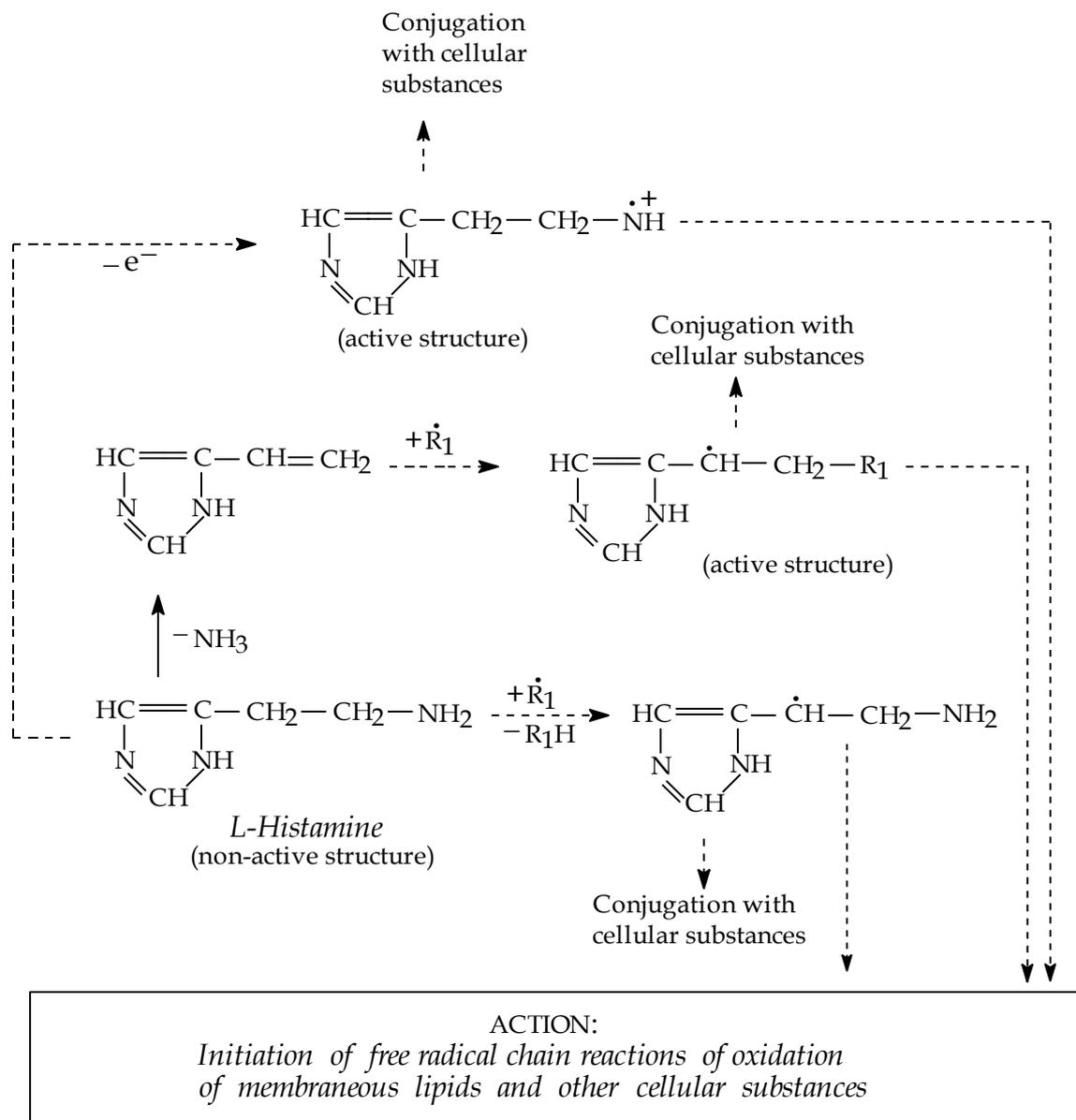


Figure 25. An hypothesis concerning the role of functional-reactive groups in the activation of L-hystamine. Conjugated forms can be detected as hormone-receptor complexes.

Serotonin (5-hydroxytryptamine), a biogenic amine, is stored in thrombocytes and mast cells of the blood (Bradley, 1989). It act as a neurotransmitter, stimulates peristalsis of the intestine, and causes a dose-dependent vasoconstriction or vasodilation of the respiratory tract and vascular system (Jakubke and Jeschkeit, 1983). Possible mechanism of activation of serotonin and primary mechanism of its action are presented in Figure 27.

Chemicals by attaching itself to different receptors can produce a variety of action. This is illustrated on the example with pheniramine (H_1 receptor antagonist) and burimamide (H_2 receptor antagonist) which can be activated by similar ways (Figure 28).

Many analgesic drugs unrelated to morphine contain $>\text{C}=\text{O}$ group(s). For example pethidine, fentanyl, and methadone have effects similar to morphine. Free radicals of these substances are stabilized by resonance and as consequence they possess strong biological effects. The reactivity of the carbonyl bond is primary due to the difference in electronegativity between carbon and oxygen, which leads to the considerable contribution of the dipolar resonance. Such substances can be activated by hydrogen abstraction reactions (a), and/or by reduction of $>\text{C}=\text{O}$ groups (Fig. 29).

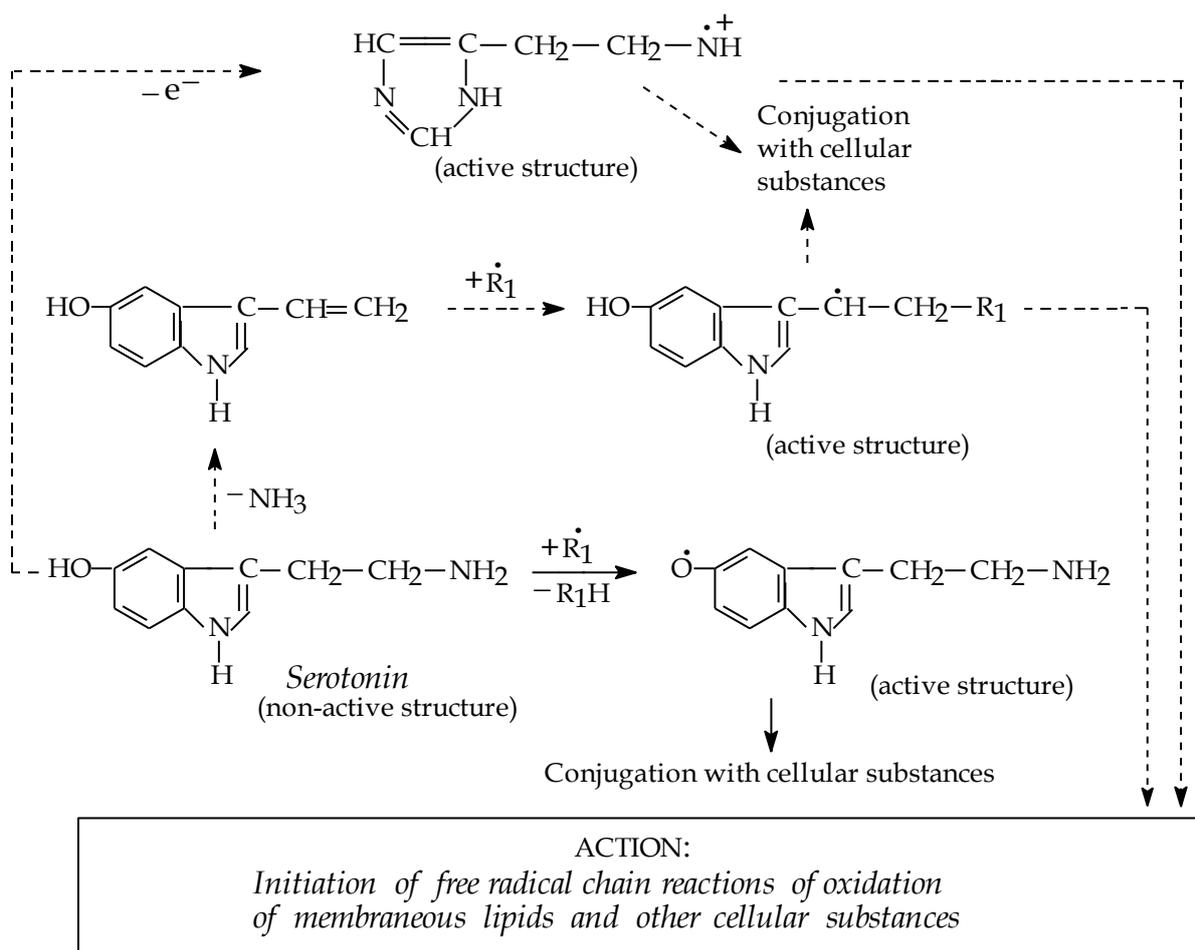


Figure 27. An hypothesis concerning the role of functional-reactive groups in the activation and mode of action of serotonin.

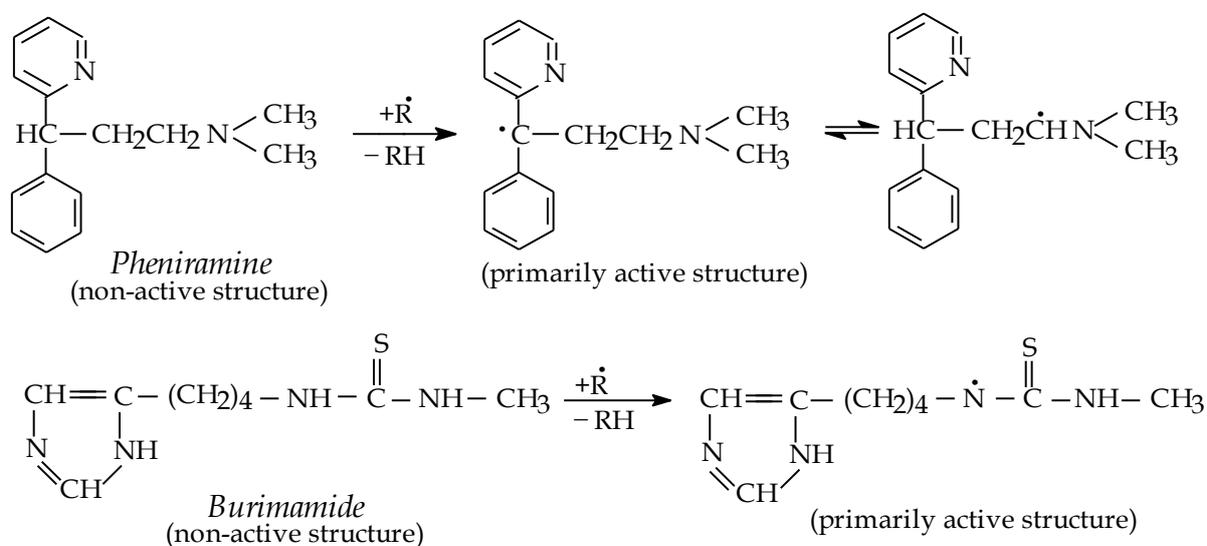


Figure 28. Possible mechanisms of pheniramine and burimamide activation.

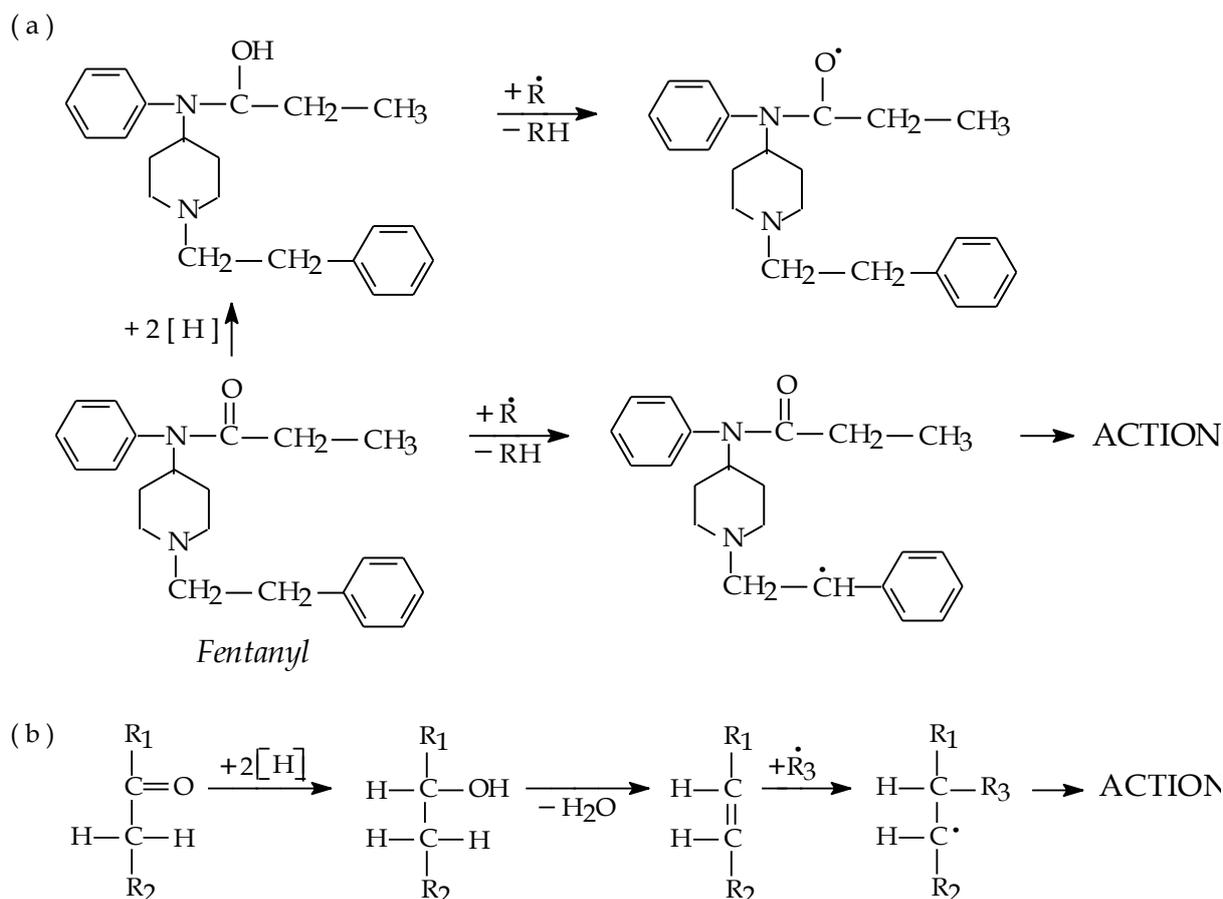
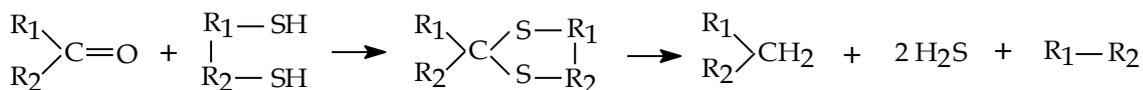


Figure 29. Possible mechanism of metabolic activation of chemicals containing $>C=O$ group.

A ketone group can react with alkyl sulfides yielding methylene group.



These reactions can be very important because it can lead to the destruction of sulfur-containing substances in the cell.

Chemicals which are psychotomimetic vary considerably in their chemical structure and pharmacological properties. The chemical structures of trimethoxyamphetamine (TMA), D-lysergic acid diethylamide (LSD), N,N-dimethyltryptamine (DMT), harmaline, 3,4,5-trimethoxyphenylethylamine (mescaline) are presented in Figure 30. These chemicals have unsaturated functions and their mode of action are similar to those of olefins.

Nicotine and lobeline are naturally occurring alkaloids being found in plants. Nicotine stimulates the postsynaptic neurons in both sympathetic and parasympathetic ganglia. Lobelin possesses biological action that is similar to nicotine. Hypothetical mechanism of activation and mode of action of these substances is described in Figure 31. The mechanisms presented in this scheme predict that non-active substances nicotine and lobeline can be activated by hydrogen abstraction.

Such chemicals as morphinans are basic morphine "skeletons". Many of these chemicals are clinically used drugs, notably, phenacozine. Another synthetic analgesic are meperidine, alphaprodine, fentanyl, and *rac*-piconadol (Table 3).

Numerous chemicals having an active hydrogen atom in the FRG are termed "local anaesthetics", for example, alcohol, inhalation anaesthetics, antiepileptic drugs and neuroleptics, etc. It is known local anaesthetics are used to produce a loss sensation, without a loss of consciousness, at localized areas of body. The large group of these substances is aminobenzoate amino esters. Another group is presented by amides. Proposed primary mechanisms of activation and action of muscarine, one representative of this class of regulators is presented in Figure 32. The most widely used local anaesthetic drug is lidocaine that has a rapid onset of action.

Bupivacaine, mepivacaine and prilocaine act similarly to lignocaine. Such chemicals can be activated by hydrogen abstraction reactions from a nitrogen or carbon atom as it is shown in figure (Figure 33).

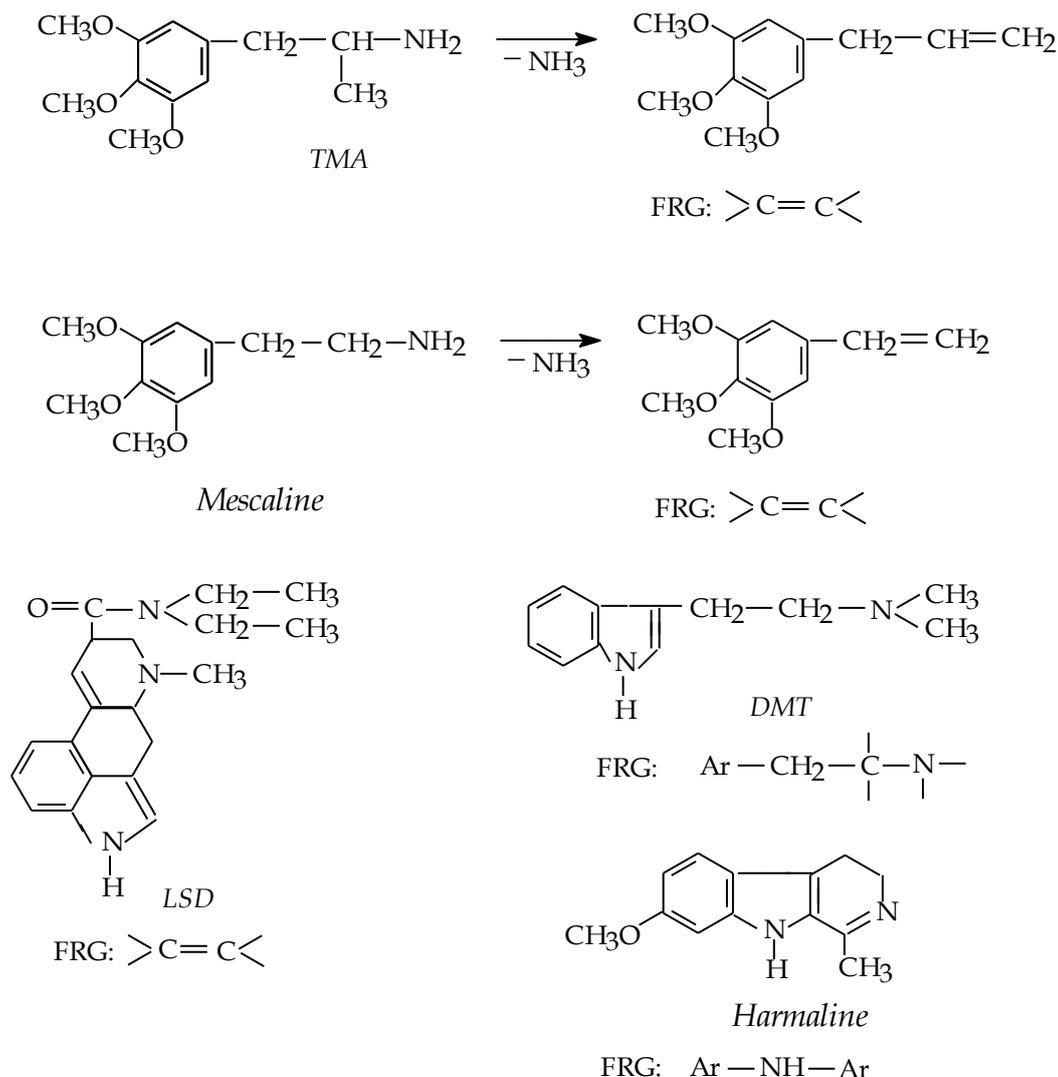


Figure 30. The chemical structure of psychotomimetic TMA, LSD, DMT, mescaline, and harmaline, and their functional reactive groups.

The chemical structures and acute toxicity data used in our report were from works (Buchel, 1983; Glasby, 1976; Kutchan, 1995; Ovchinnikov, 1987; Shamshurin and Krimer, 1976; Kirsch-Volders, 1984; the series of IARS Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; Worthiness and Walker, 1987).

As you can see from Tables 1–4 the toxicity of chemicals is usually increased by introduction to basic structure of halogen atoms and/or nitro-groups (i.e., EWG) and decreased by amino-groups (see, for example, substances No 9, Table 1) and No 1–2 (Table 4)), and thio-groups. Such biological effects of NH_2 -group are often unpredictable as they are not obvious molecule structure or physico-chemical properties. Nevertheless, I believe that decreasing in the penetration of bioregulators bearing it by conjugation (i.e., formation a peptide-like bond) with cellular substances can yield immobile complexes and hence, they can not reach target molecules.

Chemicals which have carbon-carbon or carbon-nitrogen double bonds, for instance, insecticides No 8, 20–23 (Table 2) possess as strong insecticidal activity as toxicity for mammals. High activity of chemicals is caused by the presence of CH_3 -radical as a flanking substitute as is shown, for instance, in chemical No 24 (Table 2) (Wouters, 1985). In the case if chemicals have simultaneously OH -group(s) their toxicity is low (chemicals No 15, 16, Table 1) (Caris, 1985), No 8 (Table 3). Such phenomena is also inherent to chemicals having $COOH$ groups.

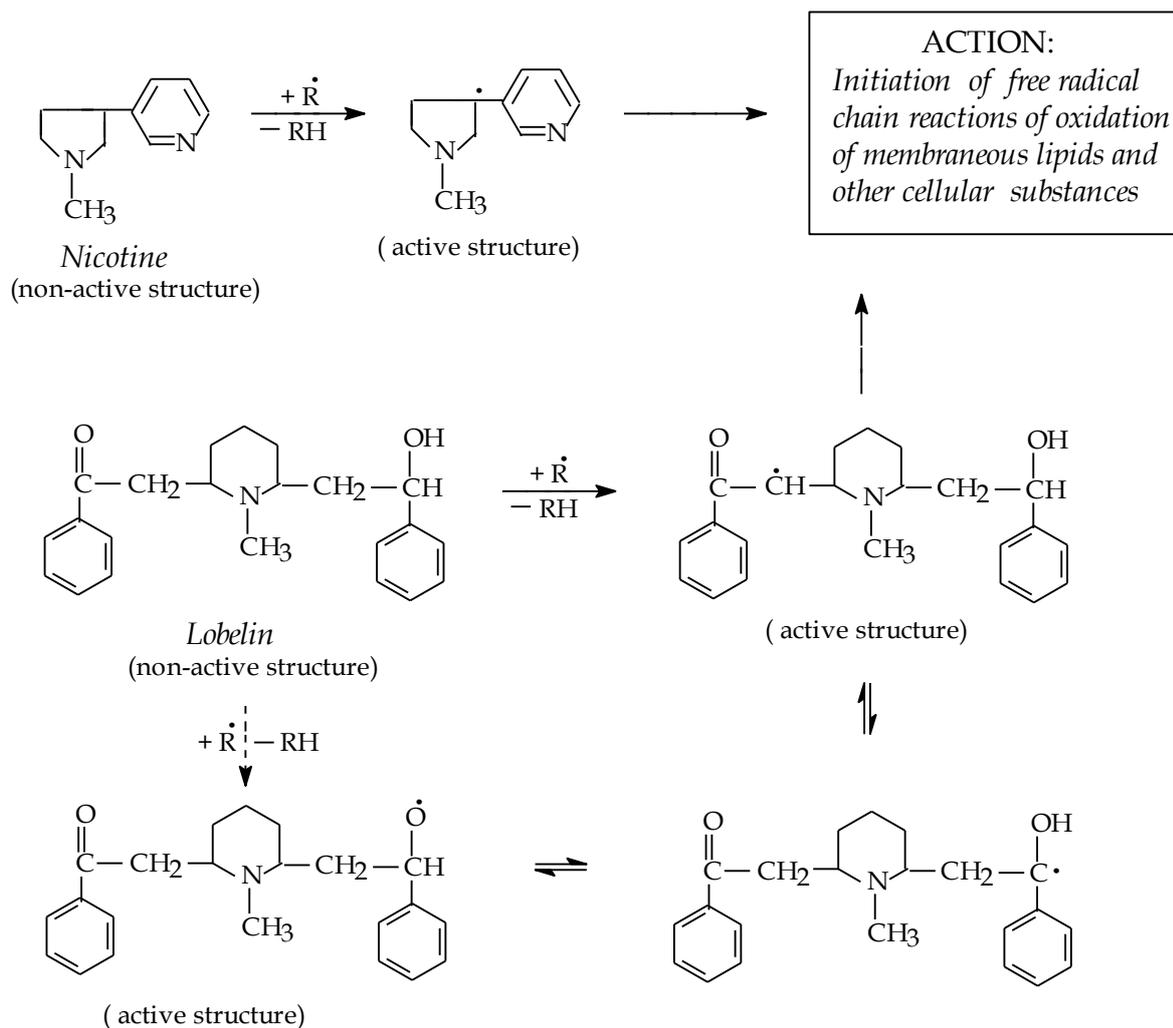


Figure 31. Possible mechanisms for activation and mode of action of nicotine and lobelin.

The differences in the biological activity of nicotine and muscarin (Craig et al., 1987) (Fig. 32) I can explain by their different ways of activation and penetration.

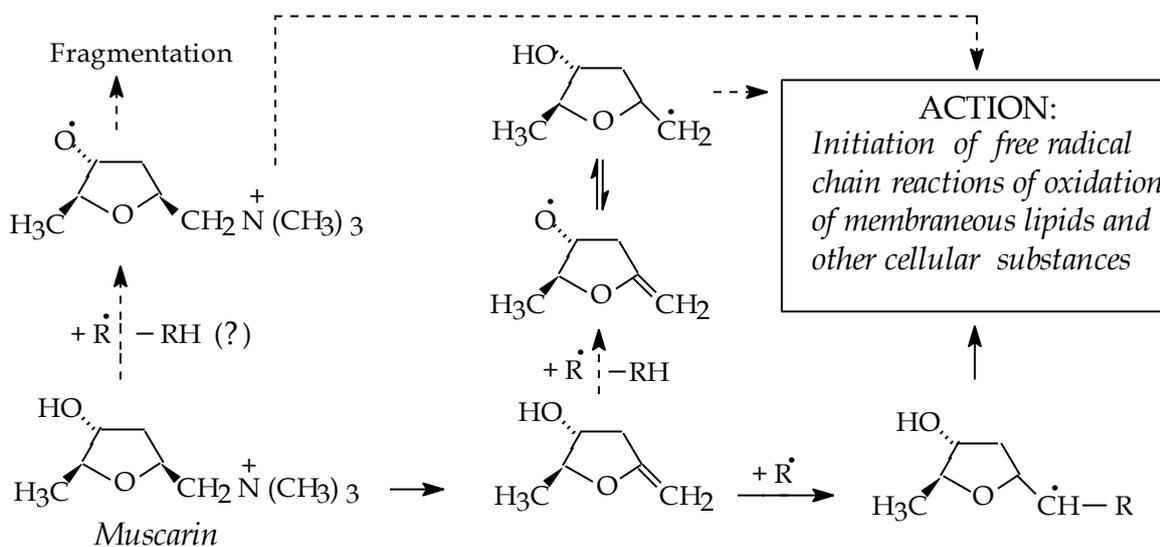


Figure 32. Possible mechanisms for activation and mode of action of muscarin.

differ in their toxicity for animals. This phenomenon can be explained by sterical shielding for free radical addition reactions to a double bond of *trans*-isomer, for example, No 8 (Table 2). Bromophos-methyl and bromophos-ethyl differ tremendously in their toxicity to rats and insects that can be explained by the presence of D in bromophos-ethyl No 13, 14 (Table 2).

As you can see from Table 4 the most widely used antiparasitic compounds are pipemidic acid, metronidazole, azomycin, and niridazole. These chemicals can exert their action through the activation of unsaturated groups such as $>C=C<$ and/or $>C=N<$.

Alkylating notably busulfan and chlorambucil agents are intensively used as anticancer drugs. One believe that the use of several chemicals termed as antimetabolites in anticancer treatment is based on the interaction of these chemicals within the essential cellular substances and thus inhibit cell proliferation, particularly with nucleic acids, the pyrimidine and purine bases. Mitotane and aminoglutethimide are cytotoxic hormonal agents. They are specific against the adrenocortical carcinomas. The primary mechanism of activation and mode of action of these and another anticancer drug is presented in Figure 34.

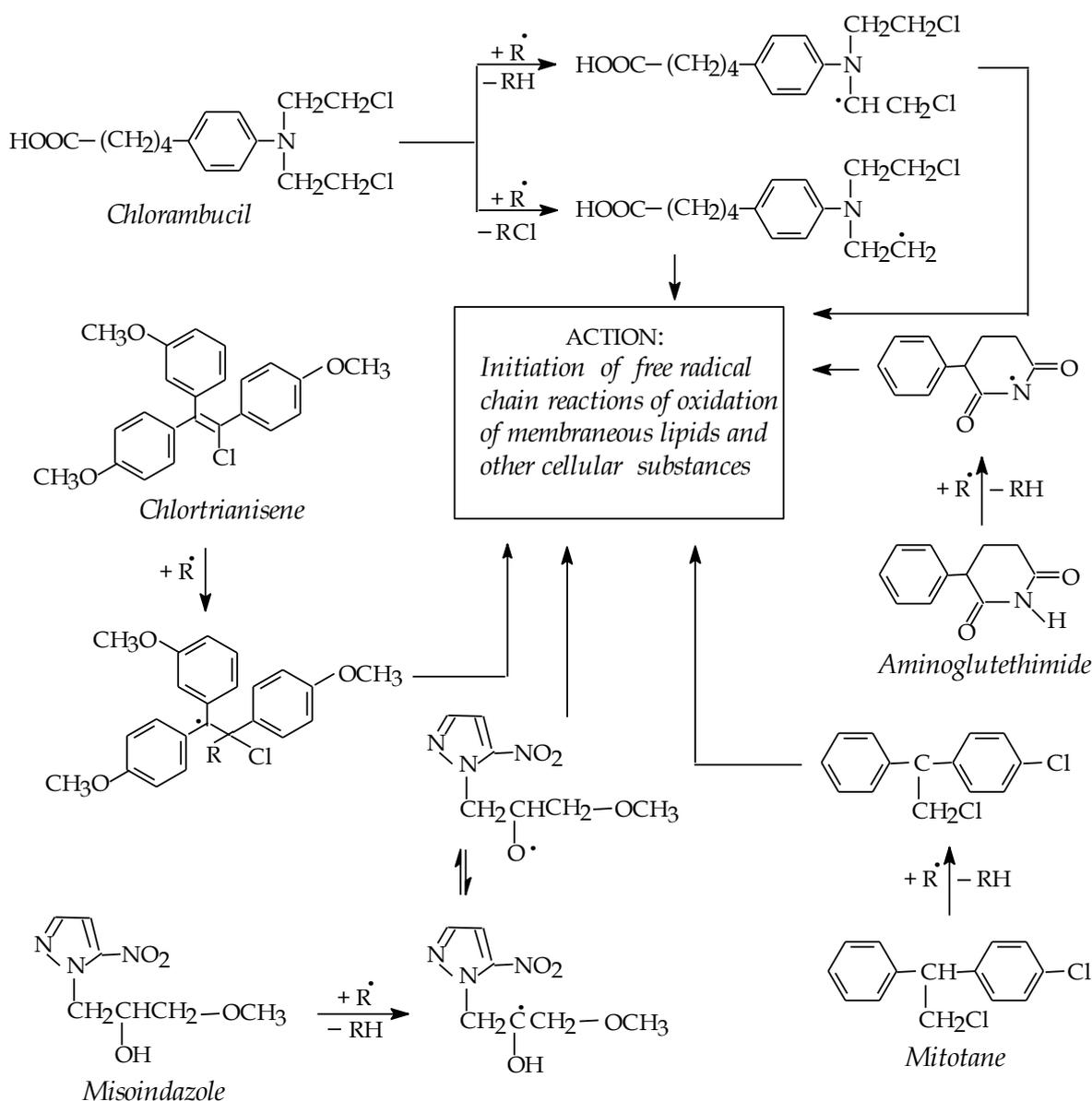
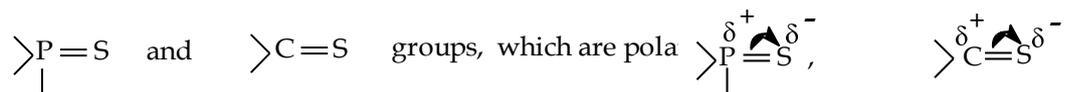


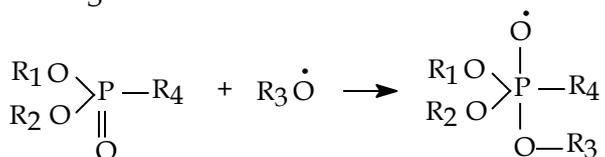
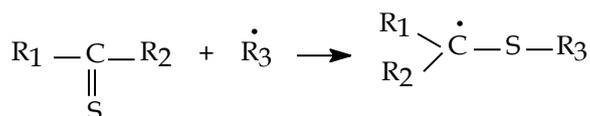
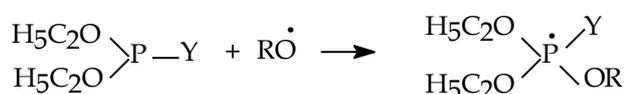
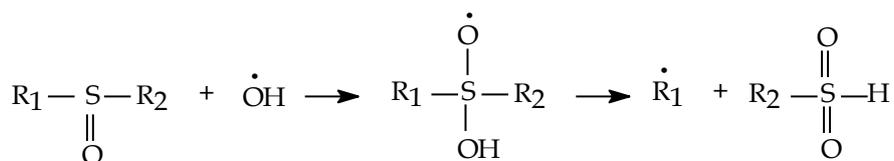
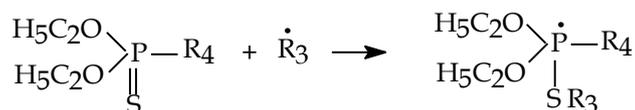
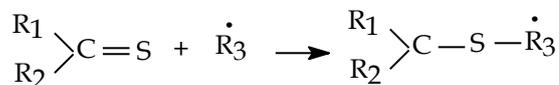
Figure 34. Possible primary mechanism of activation and mode of action of several antineoplastic drugs.

Numerous chemicals that possess high activity have in their structure sulfur, for example AC 92100, thiophos, azinphos-ethyl, etc. These chemicals contain

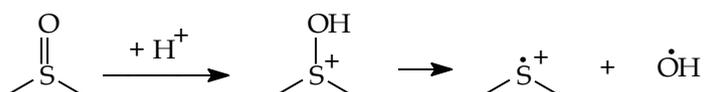


possessing a nucleophilic center at the sulfur, and electrophilic center at the phosphorus or carbon atoms and which readily undergo nucleophilic attack. A wide range reactions are available to activate these chemicals:

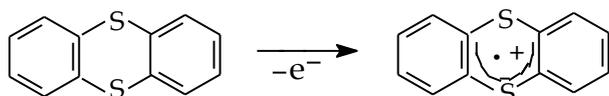
(1) Addition reactions



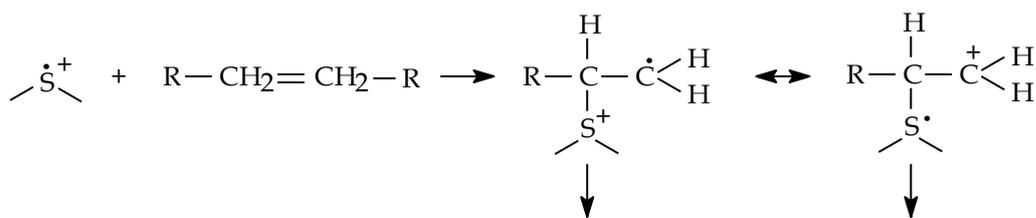
(2) Reduction reactions



(3) One-electron oxidation

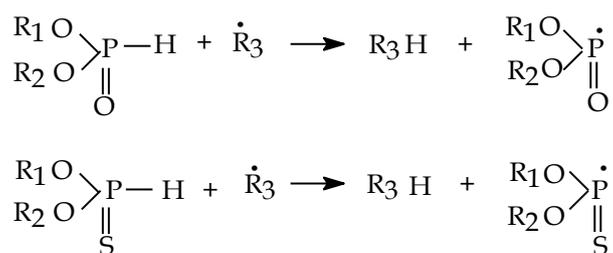


Formed cation radicals are active structures and can react with alkenes, for example, with unsaturated bonds of lipids:

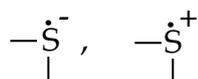


Hence, one can speculate that introduction the oxygen atom to any structure will stabilize its free radical and as consequence strong biological activity of this chemical will be observed.

In the presence of active hydrogen the preferable reaction is hydrogen abstraction but not addition:

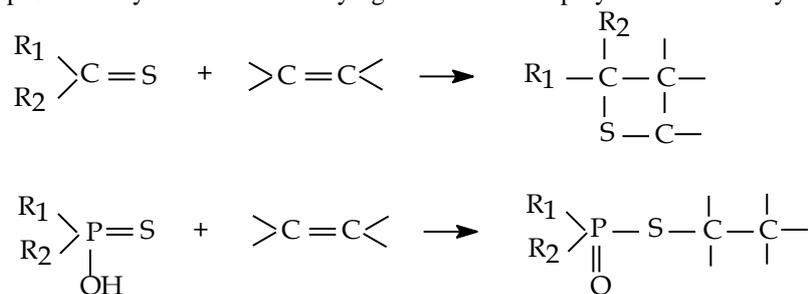


Sulfur-containing radicals



may be generated from non-radical precursor by electron transfer (oxidation or reduction)

Strong and quick biological effect of sulfur containing chemicals I can explain by direct conjugation with unsaturated bonds of membraneous lipids. This reaction can change physico-chemical properties of cellular membranes. One possible way consists of modifying the structure of polyunsaturated fatty acids.



Hence, these agents exert their biological action by damaging the integrity of cellular membranes and essential molecules in cellular matrix.

Every living terrestrial plant and animal are exposed to diverse photochemical oxidants and sulfur oxide that are the most broadly damaging to plants. Among these agents the most important air pollution constituents are the sulfur dioxide and nitrogen oxides.

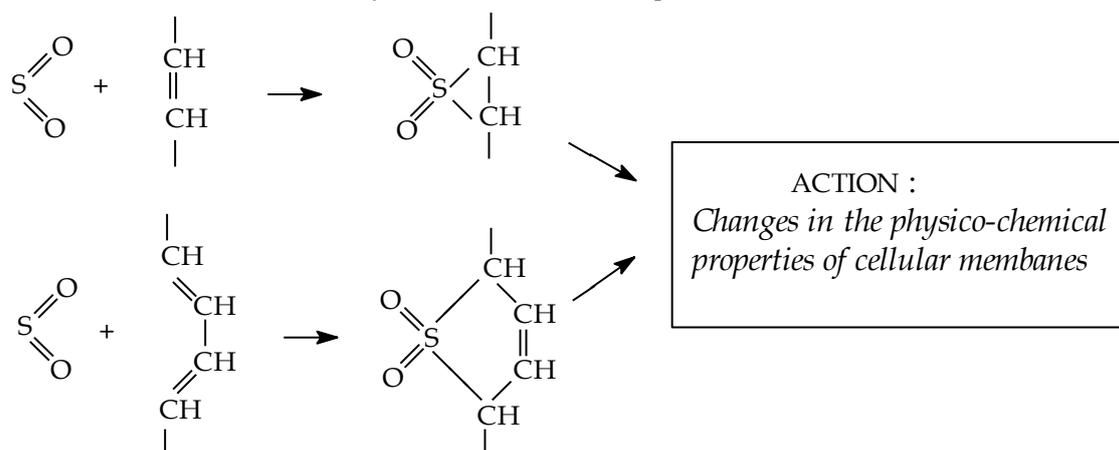
Decreasing in grain-yield and reduction of the thousand-grain-weight in the cereals *Secale*, *Triticum*, and *Hordeum* were caused by SO₂ (Haut and Stratmann, 1970). Reduction in yields of *Phaseolus*, *Pisum*, *Vicia* and *Lupinus* were also observed (Guderian, 1966). Decrease in the number of seeds per cone and reduction in dimensions and weight of cones were also reported (Roques et al., 1980). Short-time exposure to low SO₂ concentrations generally stimulates stomatal conductance within 15 minutes of exposure (Black and Unsworth, 1980). SO₂ at low concentration (50 ppm) stimulated Hill reaction activity, but this activity was completely inhibited at high concentration (500–1000 ppm) (Malhotra, 1976). A rapid decrease in net photosynthesis in leaves of *Helianthus annuus* upon exposure to 1.5 ppm SO₂ showed by Furukawa et al. (1980). Hence, these works suggest that the chloroplasts were the primary site of SO₂ attack. The work with chloroplasts isolated from SO₂-treated leaves of *Lactuca sativa* demonstrated that the site of SO₂ action was located closer to the oxidizing side rather than the reducing side of photosystem II (Shimazaki and Sugahara, 1980). An inhibition of

activity of photosystem II by exposure to SO₂ was accompanied by a similar inhibition in non-cyclic, but not in cyclic photophosphorylation.

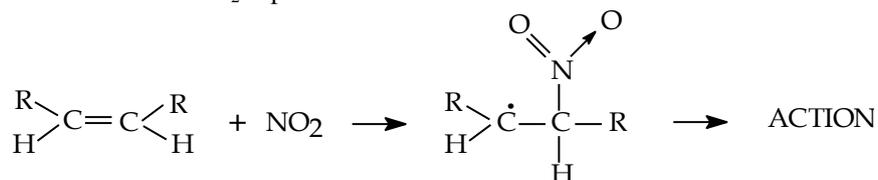
Sulfur dioxide can affect a variety of other cellular metabolites, for example, such as lipids, that are important components of photosynthetic membranes. Thus, decreases in the content of linolenic acid and an increase in the content of palmitic acid in the *Pinus banksiana* needles were shown in the work of Khan and Malhotra (1977). It has been suggested that activation of free-radical peroxidation reactions indicated by SO₂-related malonaldehyde accumulation (Khan and Malhotra, 1977).

Biochemical transformation of SO₂ was studied in many works. Experiments with isotopic SO₂ (³⁵SO₂) have shown that there are labelled SO₃²⁻ and SO₄²⁻ in the treated foliage (Garsed and Read, 1977). SO₂ can be utilized by plants in the reductive sulfur cycle (Ziegler, 1975). Photoreduction of SO₂ to H₂S and its subsequent release from plants was reported (Silvius et al., 1976). Barrett and Benedict (1970) have shown that after the entrance of SO₂ into the leaf, it reacts with water to produce the sulphite ion (SO₃²⁻) which is then oxidized to sulphate.

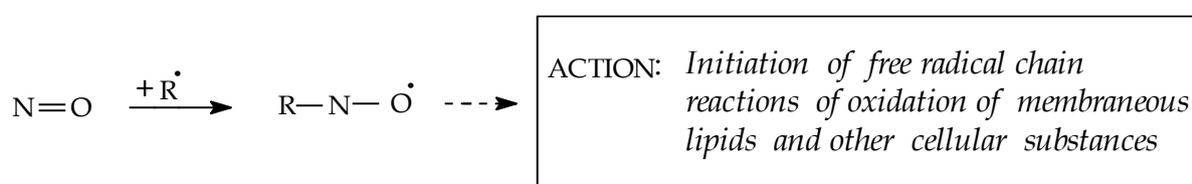
With regard to physiological and biochemical changes that occur in plants subjected to SO₂ we can elucidate one of the possible primary mechanism of SO₂-action which consists in the formation of conjugated substances with double bonds of unsaturated fatty acids of membraneous lipids.



Sulfur dioxide SO₂, nitric oxide NO, and nitrogen dioxide NO₂ (Menzel, 1976) are strong oxidizing pollutant commonly found in air. The toxicity of NO₂ is assumed to be related to membraneous lipid peroxidation, because NO₂ readily attacks unsaturated bonds of carbon acids of membraneous lipids. Possible primary mechanism of mode of action of NO₂ is presented below:

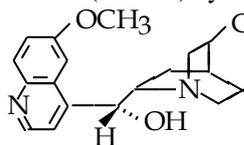


An important function of NO is the endothelial-dependent regulation of the vascular tone, inhibition of leukocyte adhesion to the endothelium, and NO is also involved in neurotransmission (Dinerman et al., 1993; Kubes et al., 1991). Mechanism of activation and primary mode of NO action is presented below:

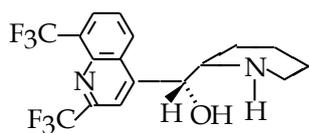


Many of the nitrogenous plant substances called alkaloids exert powerful biological effect on animal organisms. Some of these substances are toxic to the human organism and others have important medical value. The alkaloids are hydrocarbons containing carbon-carbon double bonds, unsubstituted cycloalkanes, nitrogen and oxygen atoms (Kutchan, 1995). One important characteristic of these substances is the presence of a few active hydrogen atoms and carbon-carbon double bonds (Table 3). Carbon-carbon double bonds constitute a particularly important class among the functional reactive groups because they can undergo a variety of addition reactions. For example, morphine contains 8 active hydrogen atoms and one carbon-carbon double bond. These chemicals may be activated *in vivo* by hydrogen atom abstraction and/or addition metabolic free radicals to multiple bonds generating long-lived bridged free radicals (and likewise possibly biradical intermediates).

Similar biological action is perhaps inherent to the herbicide endothal (Table 1). The biological activity such drugs, for instance, as quinines, that are known as the oldest universally antimalarial agents can be substantially increased (Table 6) by introduction cyclic non-aromatic substituents (Hofheinz and Merkli, 1984):



Quinine·HCl



Mefloquine

In this case high activity of mefloquine can be observed because it is more resonant structure and has no bulking substituents. Hence, chemicals which are strong resonance systems in free radical state possess very high toxicity

for mammals (Table 7). Another examples can be pointed out, for instance, strichnine (No 4, Table 3).

Table 7. Activity of quinine in comparison to mefloquine against different *Plasmodium* species (Hofheinz and Merkli, 1984)

Species	Host	Compound	ED ₅₀ mg/kg p. o.
P. berghei	Mouse	Quinine · HCl	153
		Mefloquine	5
P. falciparum	Aotus monkey	Quinine · HCl	266 - 560
		Mefloquine	14 - 28
P. vivax	Aotus monkey	Quinine · HCl	518 - 560
		Mefloquine	8 - 14

Absorption, distribution, and excretion as a rule means transport through the diverse tissues and cells, and first of all via membranes that form hydrophilic and lipophilic phases in the cell. Lipophilicity is probably the most important physico-chemical property of the bioactive substances and plays a prominent role in the transport within the animal biological system. For instance, substances such as No 2, 3, 5, 11, 12 (Table 1), No 19 (Table 2), No 1, 2, 12, 14 (Table 4) bearing flanking substituents $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{COR}$ and $-\text{COOR}$ possess strong biological activity for plants, insects and microbes whereas their toxicity for animals is moderately in contrast to chemicals No 1, 10 (Table 2), which have CH_3 -groups as flanking substituents.

The need for massive quantities of foods requires massive production, which is impossible without the use of pesticides, such as herbicides, fungicides, insecticides, etc. However when, for example, pests are controlled for long periods of time with the same insecticide, that the formation of new population can occur. This requires increasing concentration of insecticide for a lethal effect to be seen. To avoid these unwanted consequences of the action of biologically active substances we propose to alter an application of chemicals having diverse descriptors and flanking groups.

Peptide biologically active substances are active at very low concentrations (10^{-7} – 10^{-14} M) and its typical future is that they mimic non-peptide substances, for instance, such as insecticides. Many of biologically active peptides are toxins for mammals, but some of them are used as drugs (Ovchinnikov, 1987).

The analysis of molecular determinants of the peptide toxins is encumbered by their enormous chemical variety and by the combination of diverse functional-reactive groups.

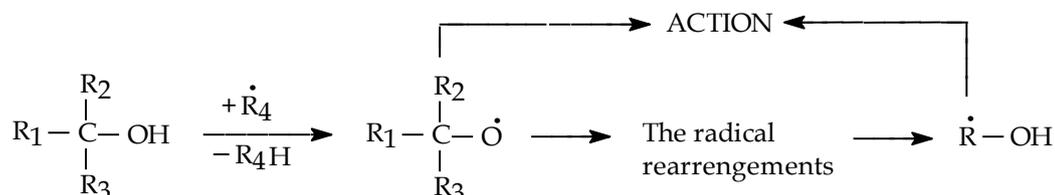
Structural similarity between a peptide molecule with known properties and another molecule provide a basis for the prediction of the other molecule's properties because FRG possess similar reactivity regardless the molecule bearing them. Such properties of FRG which are based on physico-chemical properties, are useful in comparison of molecules with dissimilar structure, but similar biological activities. For example such poisons from fungi as muscason, muscarin and peptide substance α -amanitin differ in their structures, but they exert similar physiological effects *in vivo* because they form similar primary biological active metabolites such as free radicals which initiate nonenzymatic oxidative chain reactions.

A large number of the small peptides being potentially active agents contain either benzene or phenolic substituents, and OH -groups at aliphatic structures. At first sight this may seem to imply that these substituents are critical to the activity of the peptides. The presence of an active hydrogen atom at nitrogen or carbon atoms in the ring of peptide structures can be an essential factor determining their biological activity. Nevertheless in peptide structures such assumption should be studied because in native peptides and proteins, the *trans* peptide bond predominates. The hydrogen atom to be easily abstracted from the nitrogen atom do not be shielded by neighboring substituents that take place when atoms are connected by *cis* peptide bond. Possible mechanism of activation and mode of action of peptide substances is presented in Figure 35.

Another class of toxic agents are substances extracted from frogs and salamandreae (Table 8). They possess very strong toxicity for mammals because they are resonance systems. Such chemicals are found in *Phyllobates aurotaenia* (batrachotoxin), *Dendrobates* (gistryonikotoxin, pumiliotoxin B and C), *Bufo vulgaris* (bufotalin) *Salamandra maculosa maculosa* (salamandrin).

Many biologically active peptides, for example, apamin (Table 9), neurotoxin from poison of cobra contain the atoms of a sulfur. Apamin which consists of 18 amino acids with two disulfide bridges is extracted from the bee venom (Habermann, 1972). Study of the structure/activity relationships of this toxin has shown that two of 18 amino acids in the sequence have particular importance for the action of the toxin, they are Arg-3 and Arg-14. I believe that amino acid Arg having unsaturated double bond $>C = NH$ can be easily activated by

A



B

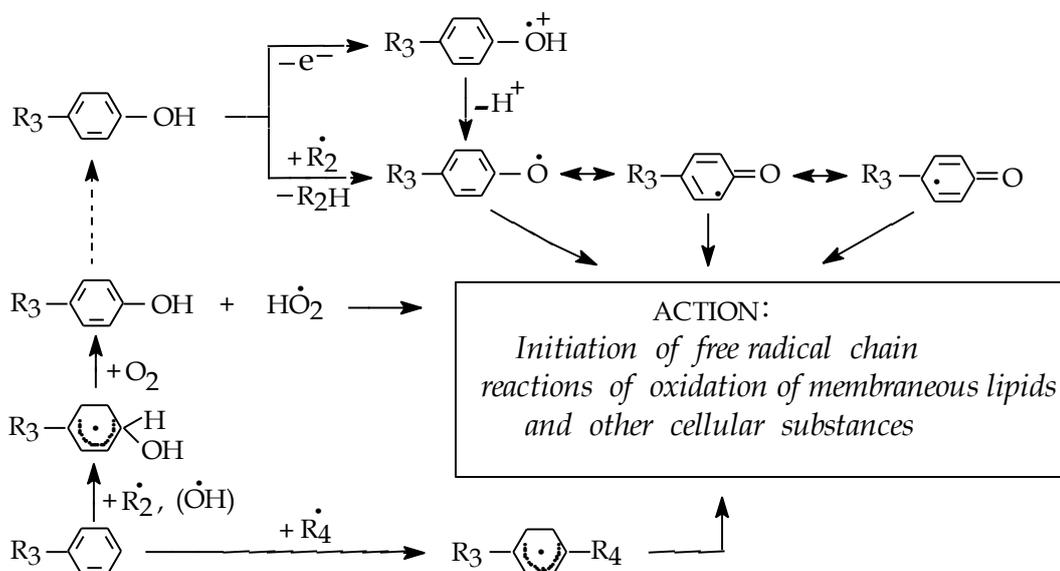


Figure 35. Scheme illustrating the possible roles of OH-groups in the metabolic activation of peptide bioregulators.

addition reactions of endogenous metabolic free radicals. Hence, these unsaturated groups seem to be essential elements of the active site of apamin. In Table 9 and in next Tables Ala is Alanine, Asn – Asparagine, Asp – Aspartic acid, Arg – Arginine, Cys – Cystine, Gln – Glutamine, Glu – Glutaminic acid, Gly - Glycine, His – Histidine, Ile – Isoleucine, Leu – Leucine, Lys - Lysine, Orn – Ornithine, Phe – Phenylalanine, Pro – Proline, Ser – Serine, Thr – Threonine, Trp – Tryptophane, Tyr – Tyrosine, Val – Valine.

Peptide bioregulators having the sulfur atoms can also form free radicals:

(1) By fragmentation



(2) In the reaction with the metabolic free radicals



Mycotoxins are made by some strains of Fungi. Thus ergometrin and diethylamide are found in *Claviceps purpurea*, diacetoxiscirpenol in *Fusarium*, aflatoxin B₁ in *Aspergillus flavus*, α -amanitin in *Amanita phalloides*, muscarin in *Amanita muscaria*, Girometrin in *Helvella esculenta* (Table 10).

Muscarin listed in Table 10 has quaternary nitrogen atom and I believe that it can exert its biological action through the olefin formation in accordance to the Hofmann's rule as was described earlier (Kurchii, 1990; Kurchii, 1991).

Acute oral toxicity LD₅₀ for rats for bis(2-chloroethyl)ether (No 7, Table 11) having 2 FRG is 75 mg/kg b.w. At the same time such LD₅₀ for uracil mustard (No 13, Table 4) having 5 FRG is 3.55 mg/kg b.w. Hence, chemicals that can easily form free radicals and are strong resonant structure possess as strong biological activity as toxicity.

As you can see from the Table 11 chemicals hexachlorobenzene (No 8), benzene (No 9) and hexachlorocyclohexane (No 32, Table 2) differ as structurally as in the toxicity. Acute oral toxicity LD₅₀ for rats is 500–700 mg/kg b.w. for hexachlorocyclohexane. This chemical has an active hydrogen atoms. Hexachlorobenzene has substituents and its acute oral toxicity LD₅₀ for rats is 3500–10000 mg/kg b.w. whereas in the benzene there is no an active hydrogen atom and substituents and its acute oral toxicity LD₅₀ for rats is 710–1230 mg/kg b.w. This phenomenon is explained in the Figure 36. The differences in the toxicity of benzene and hexachlorobenzene can be explained by the presence of substituents in the hexachlorobenzene which hinder the oxidation reactions and thus its activation.

Connection between the sterical sizes and toxicity of some nitroso chemicals is illustrated in the Table 12. Thus, *N*-nitrosodimethylamine which has aliphatic radicals of one carbon atom is 30 fold toxic than *N*-nitroso-*n*-butylamine that has four carbon atoms in aliphatic chain. Toxic effects of chemicals can be also illustrated with the example of substances No 25, 26 (Table 12) that having small sizes possess strong toxicity for mammals.

Substances having oxygen possess strong biological effects because their free radicals are stabilized by resonance. Many chemicals that act as neurotransmitter in the nerves and neuromuscular synapses have at least one atom of oxygen in their structure. Industrial chemical such as 4,4'-diaminodiphenil ether is 2 fold toxic than benzidine (Table 12). Aflatoxin B₁ having two double bonds is more toxic than aflatoxin B₂. The order of toxicity of aflatoxins is B₁ > G₁ > G₂ > B₂.

The comparison of the toxicity of the diverse neurotransmitters has shown that LSD is the most potent drug known to act on the CNS (see Table 13).

Summarizing scheme on the primary mechanism of activation and mode of action of diverse agents are presented in Figure 37.

Hence, these drugs may be transformed in part to species which then can react with various tissues macromolecules causing tissue damages. In the most cases, damage will take place locally in the membranes of nerve where the metabolic activation occurs. The most likely target sites are first of all the lipid bilayer portion and then also proteins of membranes.

As we mentioned above the second large group of biologically active substances is antioxidants. Among representatives of this group are α -tocopherol, ascorbic acid, several prostaglandins, carotenoids, abscisic acid (ABA), etc. These substances are produced by living organisms for purposes of defense against oxidative agents.

I hypothesize that several sterols can act as antioxidants. Sterols are a natural occurring steroids. Cholesterol is the most important sterol in animals. Possible mechanisms of action of cholesterol as antioxidant are presented in Figure 38.

Steroid hormones exert a profound influence over immunological responses (Lee and Steinberg, 1987; Neher, 1984). In animals there are very important 21 carbon steroids that are synthesized in the cortex of the adrenal gland (Gower, 1974). The mechanisms of activation and mode of action of testosterone (Figure 39), and pregnenolone, and progesterone (Figure 40) are proposed.

Another substances that possess similar antioxidative action can be α -spinasterol, lanosterol, stigmasterol, β -sitosterol, and ergosterol. Progesterone to be active as antioxidant should be reduced.

Androsterone is synthesized in the interstitial cells of the testes. Androstenedione is formed in the adrenal cortex. Testosterone that is synthesized in the interstitial cells stimulates growth of the prostate and seminal vesicles, and promotes sperm maturation. Possible mechanisms of biotransformation of androsterone are proposed in Figure 41.

Table 8. Summary of the important toxic agents derived from toads and salamandreae

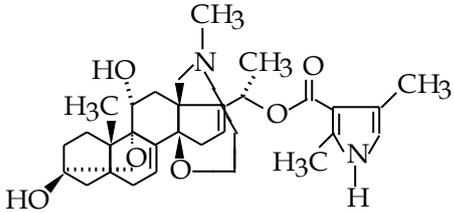
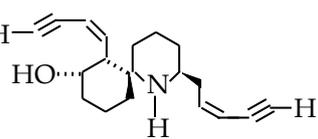
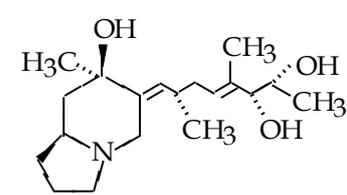
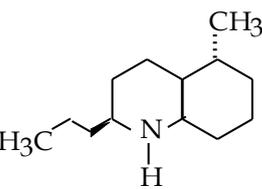
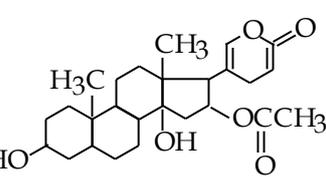
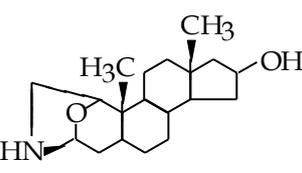
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	 <p>Batrachotoxin</p>	$-O-\overset{ }{\underset{ }{C}}-CH_2-\overset{ }{\underset{ }{C}}=C-$ $>C=C<$ $-\overset{ }{\underset{ }{C}}-H$ $-OH$	-CH ₃	LD ₅₀ μg/kg for mouse: 2
2	 <p>Gistryonikotoxin</p>	$>C=C<$ $-\overset{ }{\underset{ }{C}}-H$ $-OH$		
3	 <p>Pumiliotoxin B</p>	$-N-\overset{ }{\underset{ }{C}}-CH_2-\overset{ }{\underset{ }{C}}-O-$ $>C=C<$ $-\overset{ }{\underset{ }{C}}-H$ $-OH$	-CH ₃	
4	 <p>Pumiliotoxin C</p>	$-\overset{ }{\underset{ }{C}}-H$	-CH ₃	
5	 <p>Bufotaline</p>	$-\overset{ }{\underset{ }{C}}-H$ $-OH$	-CH ₃	
6	 <p>Salamandrine</p>	$-\overset{ }{\underset{ }{C}}-H$ $-OH$	-CH ₃	

Table 10. Summary of the important toxic agents derived from fungi

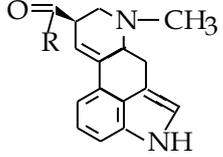
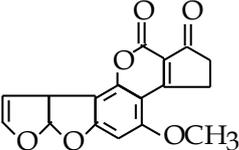
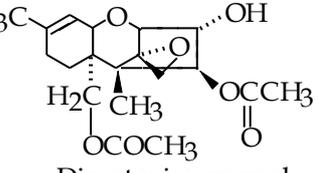
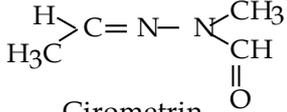
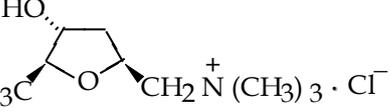
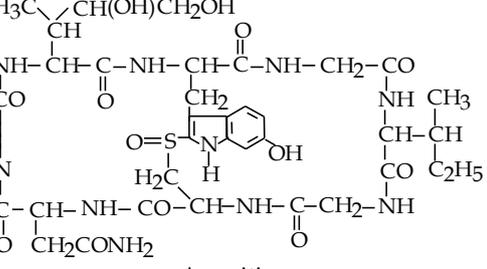
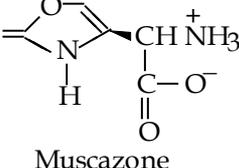
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	 <p>Ergometrine R= NHCH(CH₃)CH₂OH Diethylamides R= N(C₂H₅)₂</p>	$-C=C-CH_2-C-N-$ $>C=C<$ $-C-H$	- CH ₃	
2	 <p>Aflatoxin B₁</p>	$>C=C<$ $-C-H$	- CH ₃	
3	 <p>Diacetoxiscyrpenol</p>	$>C=C<$ $-C-H$ $-OH$	- CH ₃	0,75 - 3,8
4	 <p>Girometrin</p>	$>C=N-$	- CH ₃	
5	 <p>Muscarin</p>	$-OH$ $(>C=CH_2)$	- CH ₃	
6	 <p>α-Amanitin</p>	$O-C-NH-C-C-O$ $-C-H$ $-OH$	- CH ₃	0,0004
7	 <p>Muscazone</p>	$-O-C-NH-C=C-$ $>C=C<$ $-C-H$	- COOH	

Table 11. Summary of the important fungicides

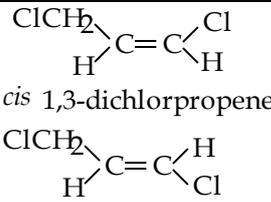
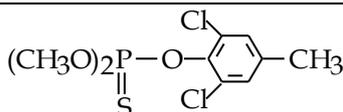
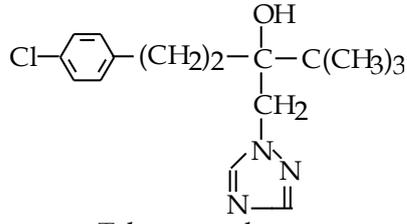
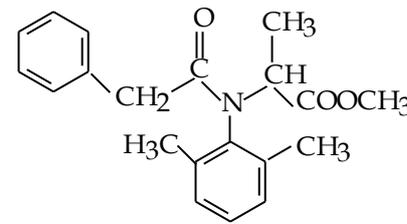
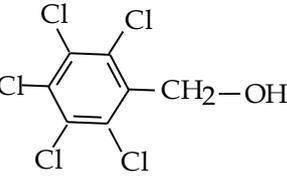
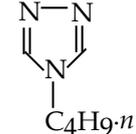
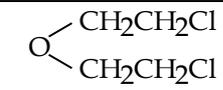
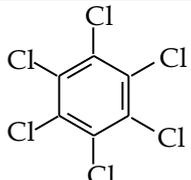
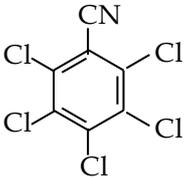
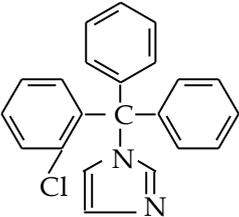
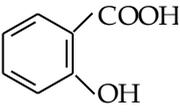
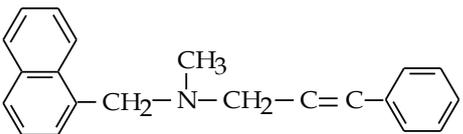
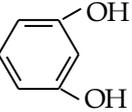
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED) kg a.i./ha	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	 <p><i>cis</i> 1,3-dichloropropene <i>trans</i> 1,3-dichloropropene</p>	$>C=C<$			<p><i>cis</i> = 85 <i>trans</i> = 94</p> <p><i>cis</i> + <i>trans</i> = 57</p>
2	 <p>Teclophos-methyl</p>	$\geq P = \epsilon$	- CH ₃		5000
3	 <p>Teboconazole</p>	$Ar-CH_2-\begin{array}{c} \\ C-O- \\ \\ -OH \end{array}$	- CH ₃		4260
4	 <p>Benalaxyl</p>	$Ar-CH_2-\begin{array}{c} C=O \\ \\ -C-H \end{array}$	- CH ₃	40-200 g/t	320
5	 <p>Blastine</p>	- OH			6750
6	 <p>Butrisol</p>	$Ar-CH_2-\begin{array}{c} \\ C- \\ \\ C- \end{array}$	- CH ₃	650 g/t	50.1- 90.5
7	 <p>Bis (2-chloroethyl) ethe</p>	$>C=C<$ $-\begin{array}{c} \\ C-O-CH_2-C- \\ \\ Hal \end{array}$			75

Table 11. Summary of the important fungicides (continued)

No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Effective dose (ED) kg a.i./ha	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
8	 <p>Hexachlorobenzene</p>				3500 - 10000
9	 <p>Benzene (chemical intermediate)</p>				710 - 1230
10	$\text{BrCH}_2 - \underset{\text{Br}}{\text{CH}} - \text{CH}_2\text{Cl}$ <p>1,2-Dibromo-3-chloropropan</p>	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$			150-370
11	 <p>Chlorothalonil</p>	$-\text{C} \equiv \text{N}$			10000
12	 <p>Clotrimazole</p>				
13	 <p>Salicylic acid</p>	$-\text{OH}$	$-\text{COOH}$		
14	 <p>Naftifine</p>	$\text{Ar}-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{N}}-\underset{\text{>C=C<}}{\text{C}}$	$-\text{CH}_3$		
15	 <p>Resorcinol</p>	$-\text{OH}$			

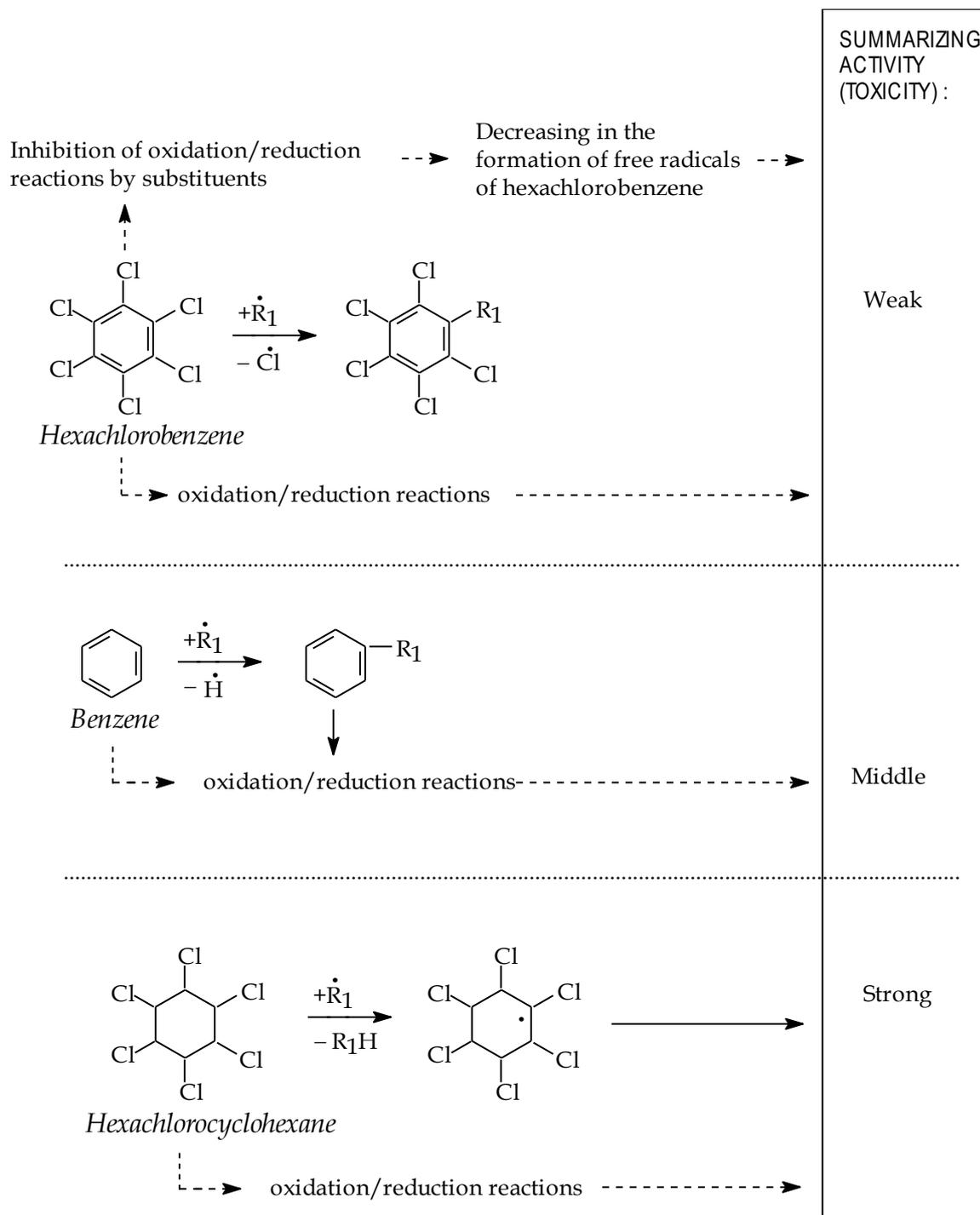


Figure 36. Scheme explaining the differences in the toxicity of hexachlorobenzene, benzene and hexachlorocyclohexane. Radical substitutions of hexachlorobenzene are more difficult than those of benzene because it has substituents. Abstraction of a hydrogen atom is easier for hexachlorocyclohexane. Free radical of hexachlorocyclohexane is stabilized by resonance.

In the literature dealing with plants, sterols are known as terpenoids or isoprenoids. These chemicals have the perhydro-1,2-cyclopentanophenanthrene ring system. All plant tissues have the potential to synthesize sterols. Several of these substances, notably 31-norlanosterol, avenasterol, sitosterol, and stigmasterol, are interesting to have function as natural antioxidants. Proposed primary mechanism of 31-norlanosterol action is presented in Figure 42.

Abscisic acid (ABA) plays an important role in plants especially in the stressful conditions. Schematically primary mechanism of action of ABA as an antioxidant is shown in Figure 43.

Table 12. Summary of the important pollutants and chemical intermediates

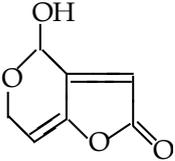
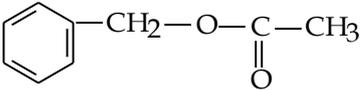
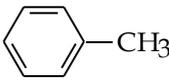
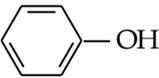
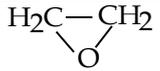
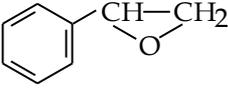
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
1	 Patulin	$>C=C<$ $-OH$		32.5
2	 Benzylacetate	$Ar-CH_2-C(=O)$	-CH ₃	3690
3	 Toluene		-CH ₃	5000
4	$CH_2=CH-CH_2-O-C(=O)-CH_2-CH(CH_3)_2$ Allyl isovalerate	$>C=C<$ $-C-H$	-CH ₃	230
5	 Phenol	-OH		340 – 650
6	$CH_2=CH-C(=O)H$ Acrolein	$>C=C<$		46
7	$CH_2=CH-CH_2Cl$ Allyl chloride	$>C=C<$		460
8	$CH_3-C(=O)H$ Acetaldehyde	$>C=O$		640
9	$O=C-CH_2-C(=O)H$ Malonaldehyde	$O=C-CH_2-C(=O)$		606
10	 Ethylene oxide			200-330
11	 Styrene oxide			4290
12	CH_3Br Bromometan			100

Table 12. Summary of the important pollutants and chemical intermediate (continued)

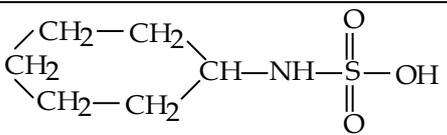
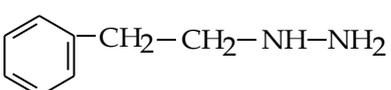
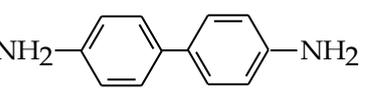
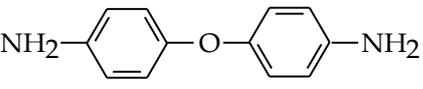
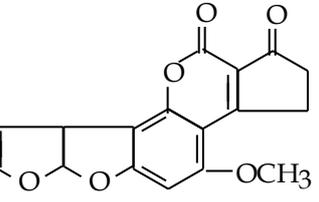
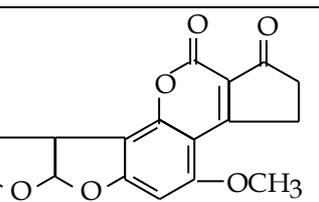
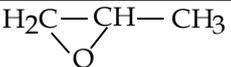
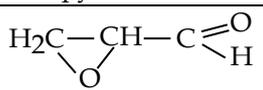
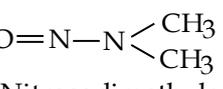
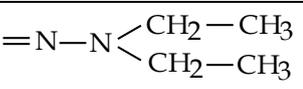
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
13	 Cyclamates	$\begin{array}{c} \\ -C- H \\ \\ -OH \end{array}$		10000 - 12000
14	 Phenelzine	-CH=NH		210 (m)
15	 Benzidine		-NH ₂	1570
16	 4,4'-diaminodiphenyl ether		-NH ₂	725
17	 Aflatoxin B ₁	$\begin{array}{c} >C=C< \\ \\ -C- H \\ \end{array}$	-CH ₃	16
18	 Aflatoxin B ₂	$\begin{array}{c} >C=C< \\ \\ -C- H \\ \end{array}$	-CH ₃	
19	 Propylene oxide		-CH ₃	1140
20	 Glycidaldehyde			230
21	 N-Nitrosodimethylaminir	O=N-	-CH ₃	40
22	 N-Nitrosodiethylaminir	O=N-	-CH ₃	280

Table 12. Summary of the important pollutants and chemical intermediate (continued)

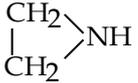
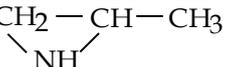
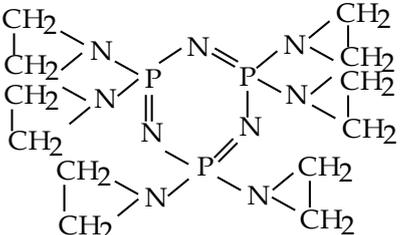
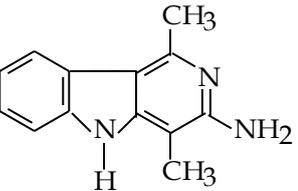
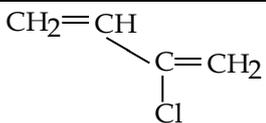
No	Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes	Acute, oral toxicity LD ₅₀ mg/kg for rats
23	$\text{O}=\text{N}-\text{N} \begin{cases} \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{cases}$ <p><i>N</i>-Nitrosodi-<i>n</i>-propylamine</p>	O=N—	—CH ₃	480
24	$\text{O}=\text{N}-\text{N} \begin{cases} \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{cases}$ <p><i>N</i>-Nitrosodi-<i>n</i>-butylamine</p>	O=N—	—CH ₃	1200
25	 <p>Aziridine</p>			15
26	 <p>2-Methylaziridine</p>			19
27	 <p>Apholate</p>			113
28	 <p>Tryptophan P1</p>	Ar — NH — Ar	—NH ₂ —CH ₃	100
29	 <p>2-Chlorobutadiene 1'</p>	>C=C<		251

Table 13. Approximate minimal doses of some drugs of abuse (Bradley, 1989)

Drug	Route	Dose (µg) for mouses
Ethyl alcohol	oral	7 000 000 – 20 000 000
Cocaine	subcutaneous	80 000 – 3 000 000
Mescaline	oral	10 000 – 20 000
Morphine	subcutaneous	5 000 – 10 000
Atropine	subcutaneous	3 000 – 10 000
LSD	oral	30 – 50

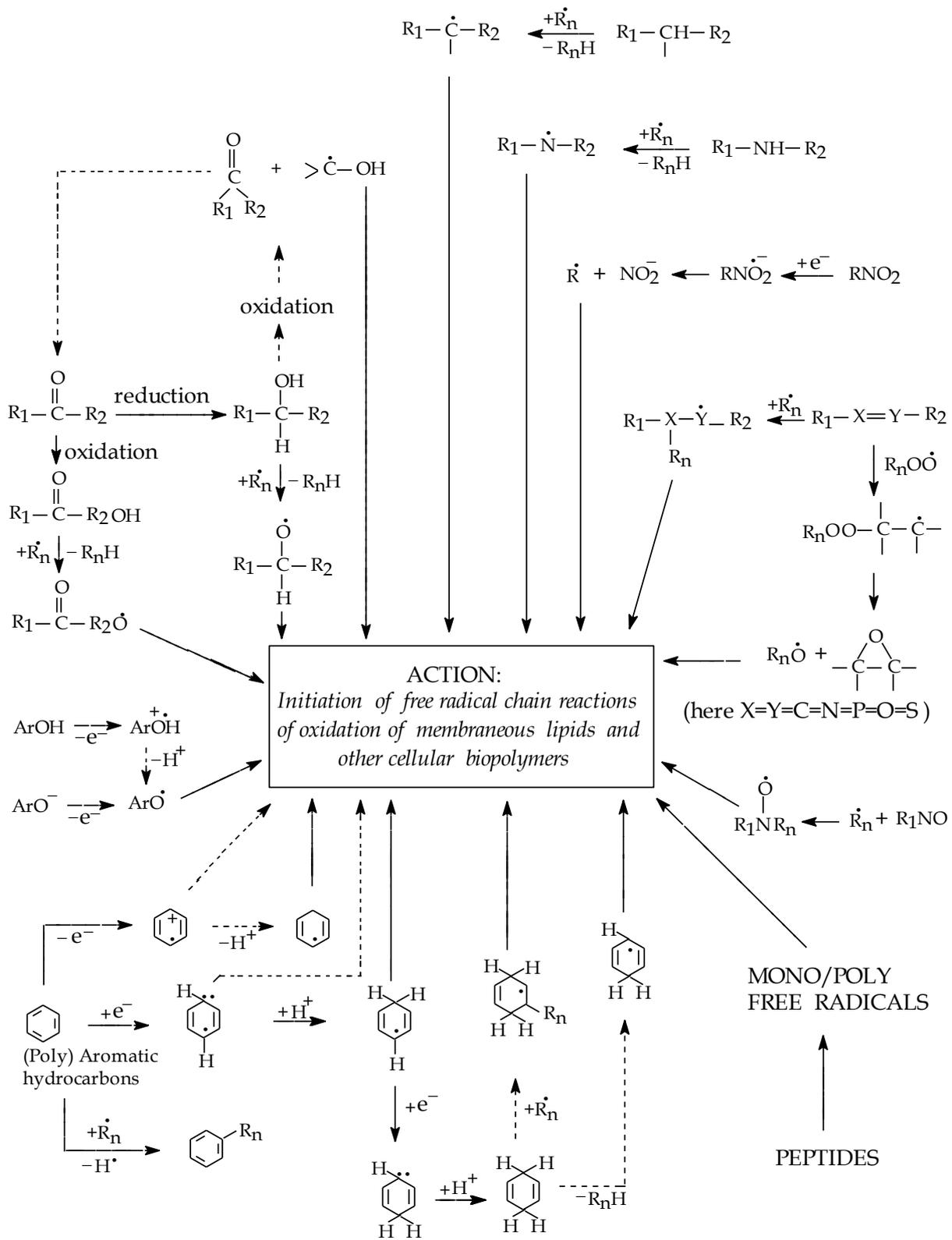


Figure 37. Summarizing diagram explaining activation and primary mechanism of action of diverse chemicals.

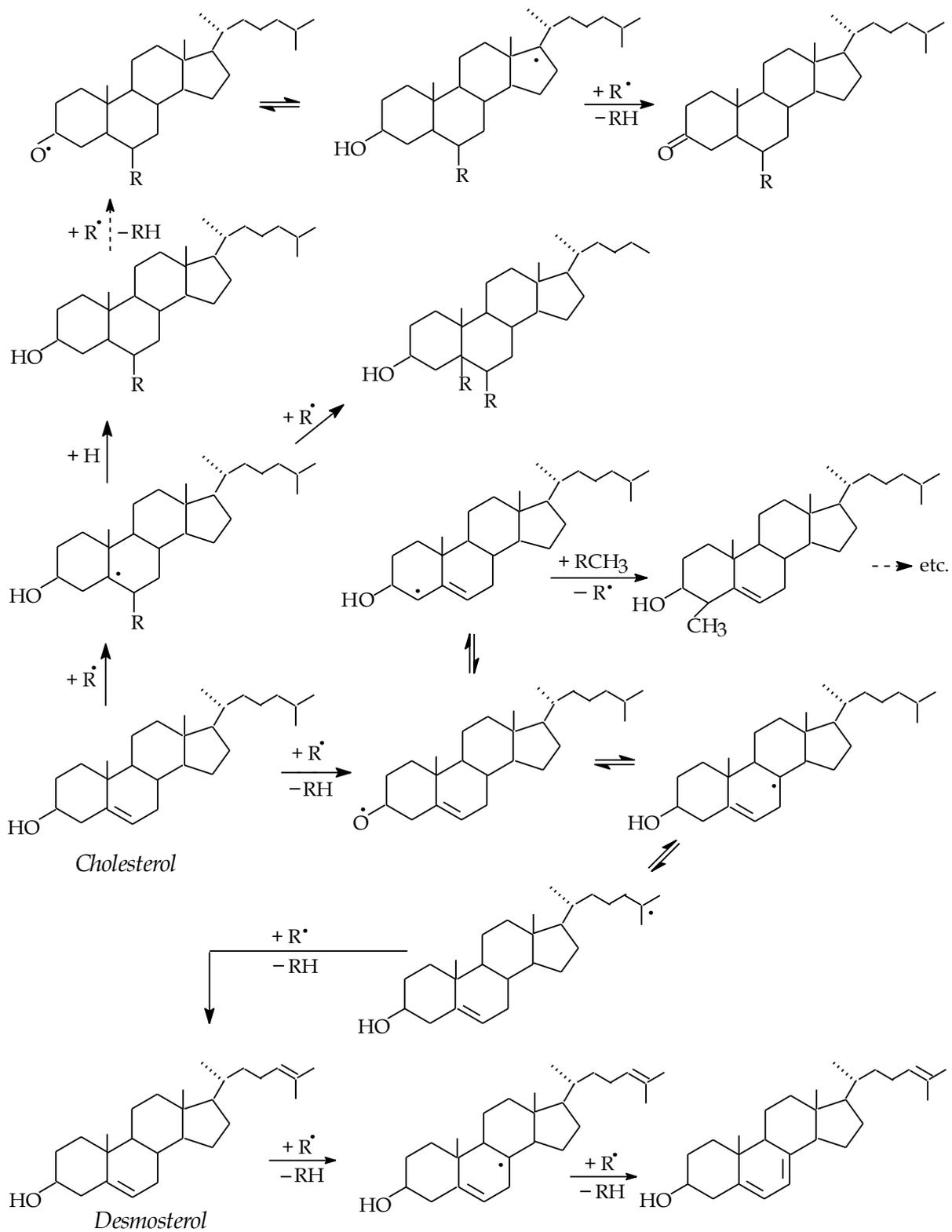


Figure 38. Proposed mechanisms for antioxidative action of cholesterol.

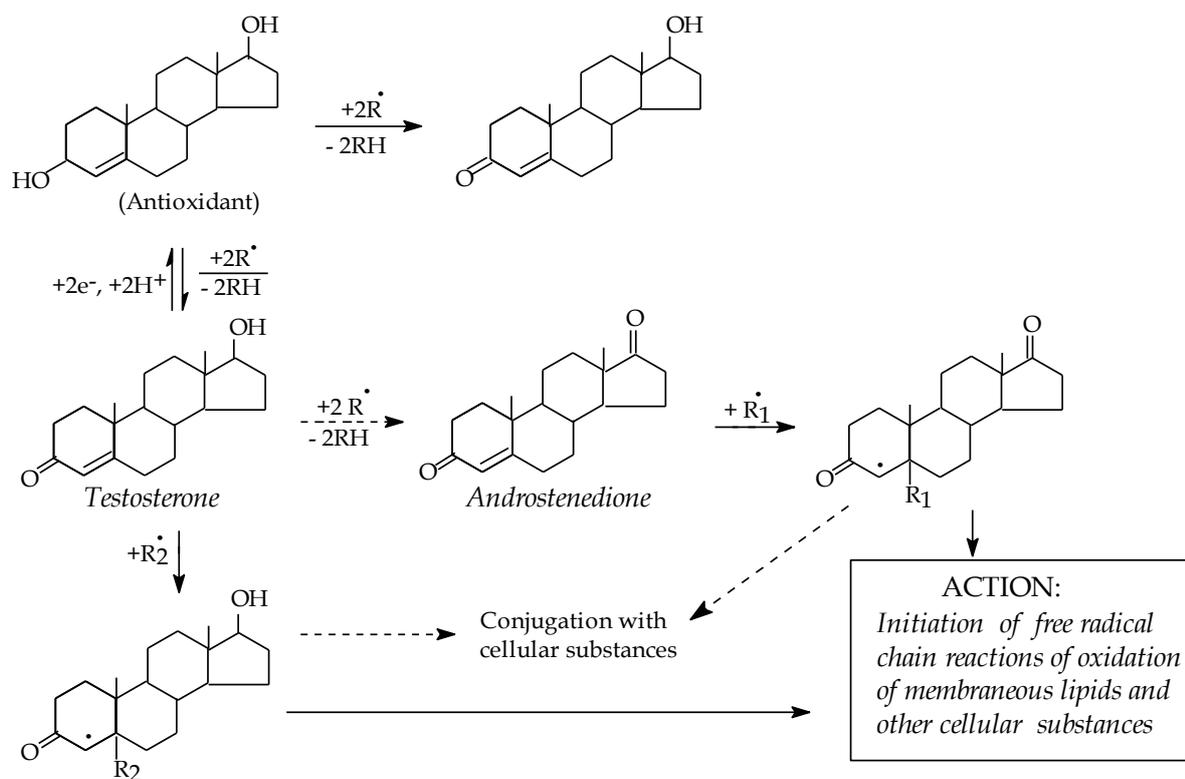


Figure 39. Hypothetical scheme for the activation and mode of action of testosterone.

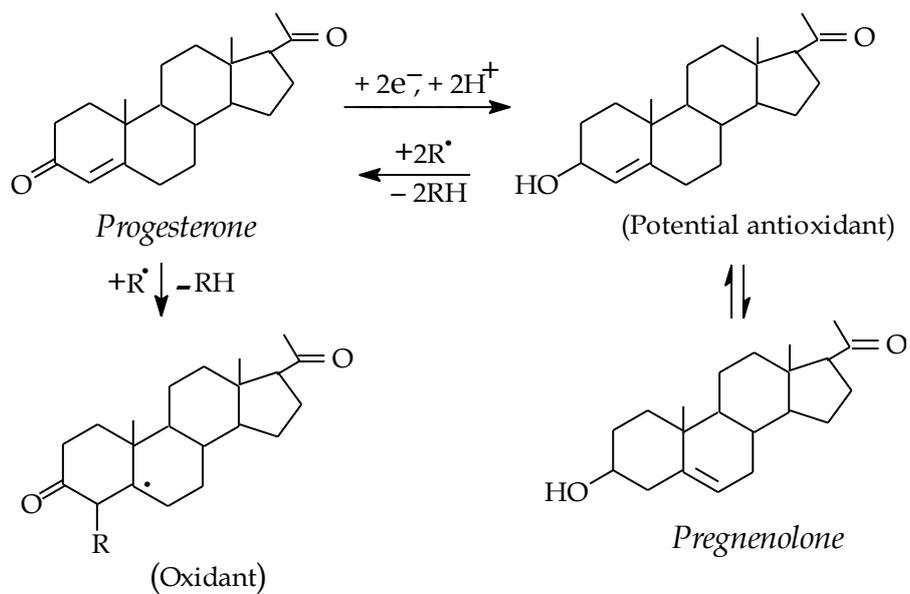


Figure 40. Proposed pathways for the biotransformation of pregnenolone and progesterone.

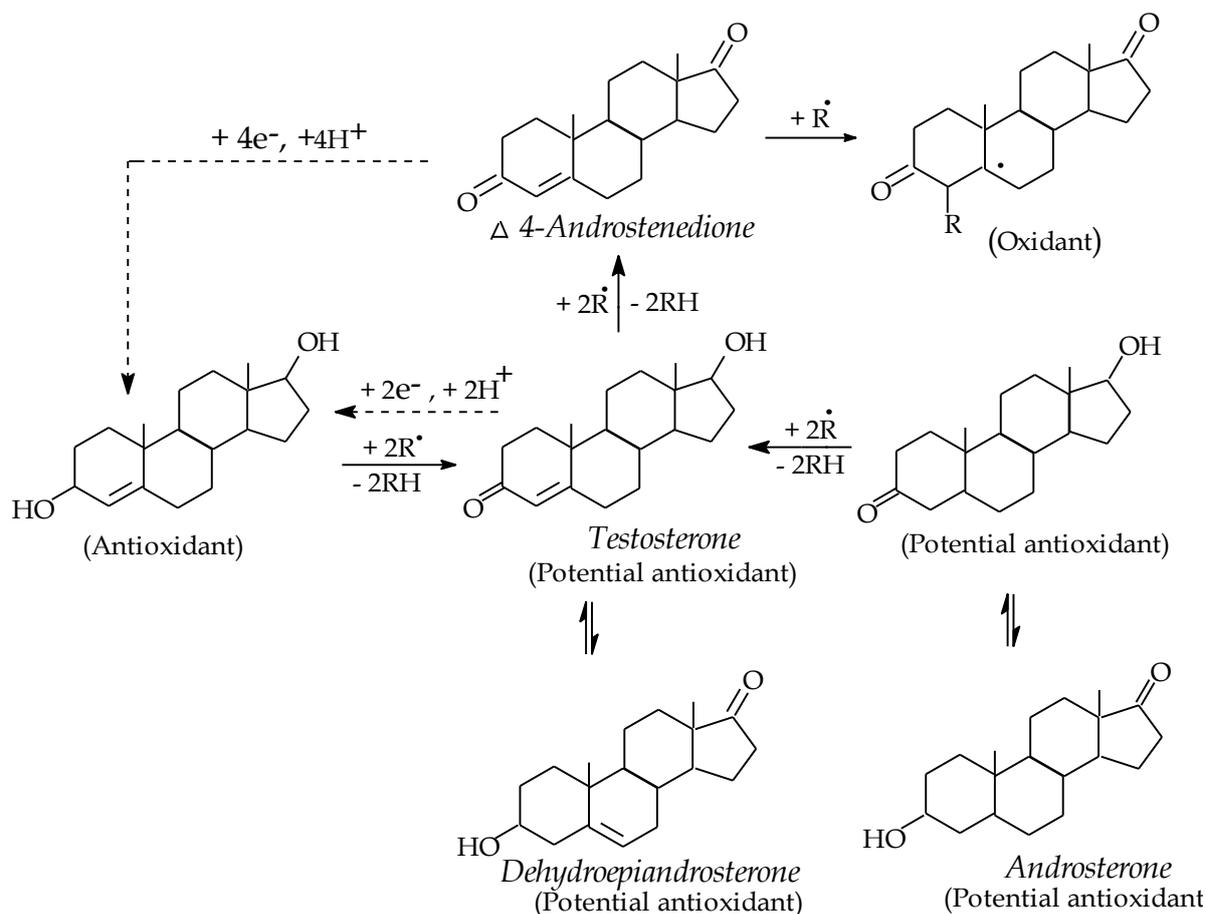


Figure 41. Proposed pathways for the biotransformation of diverse glucocorticoids. Potential antioxidants are androsterone, dehydroepiandrosterone, and testosterone, while 4-androstenedione can act as oxidative agent.

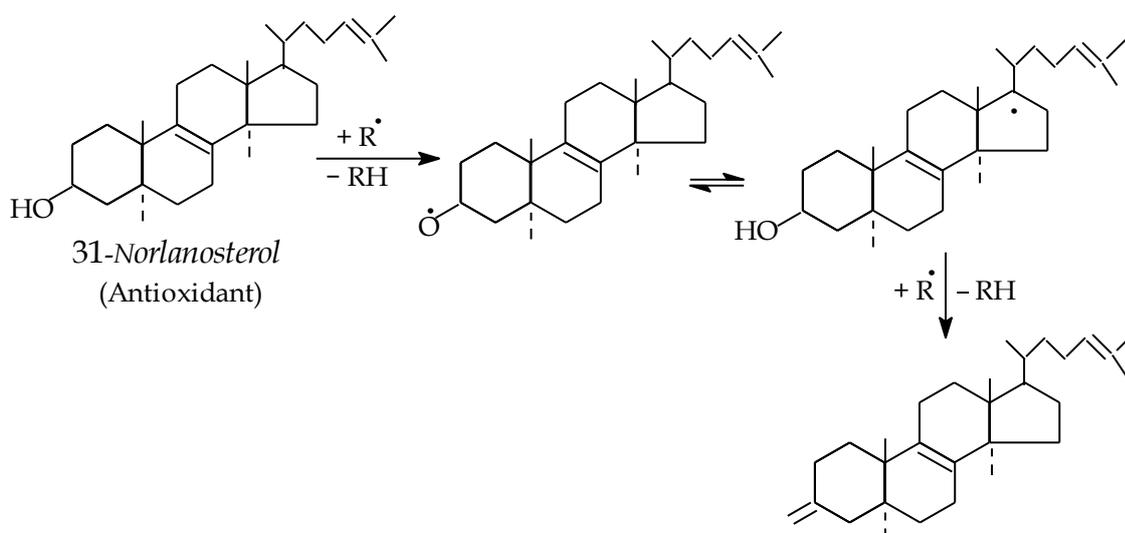


Figure 42. Proposed antioxidative mechanisms of 31-norlanosterol action. Formed free radicals of 31-norlanosterol are non-active because their free radical centers are hindered by substituents.

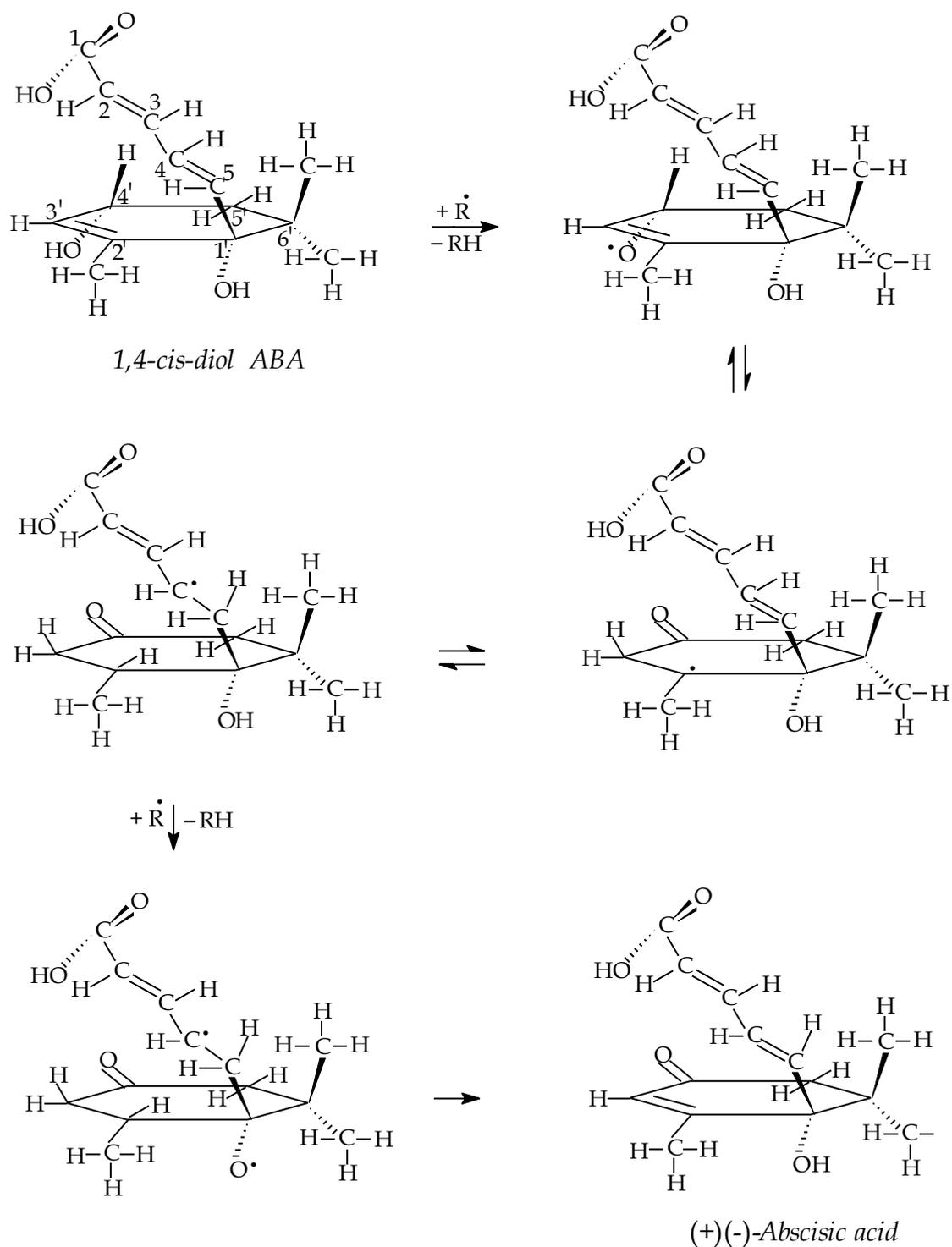


Figure 43. Possible molecular derivatives and antioxidative mechanism of action of ABA.

It should be pointed out that such very known class of bioregulators as prostaglandins is formed from arachidonic acid. Possible primary mechanism of prostaglandin action is presented in Figure 44.

It is very well known about existing such phenomenon as drug dependence, especially, for analgesic drugs. It is defined as: "A state, psychic and sometimes also physical, resulting from the interaction between a living organism and a drug, characterized by behavioural and other responses that always include a compulsion to take the drug on a continuous or periodic bases in order to experience its psychic effects, and sometimes to avoid the discomfort of its absence. Tolerance may or not be present. A person may be dependent on more than one drug" (WHO, 1993).

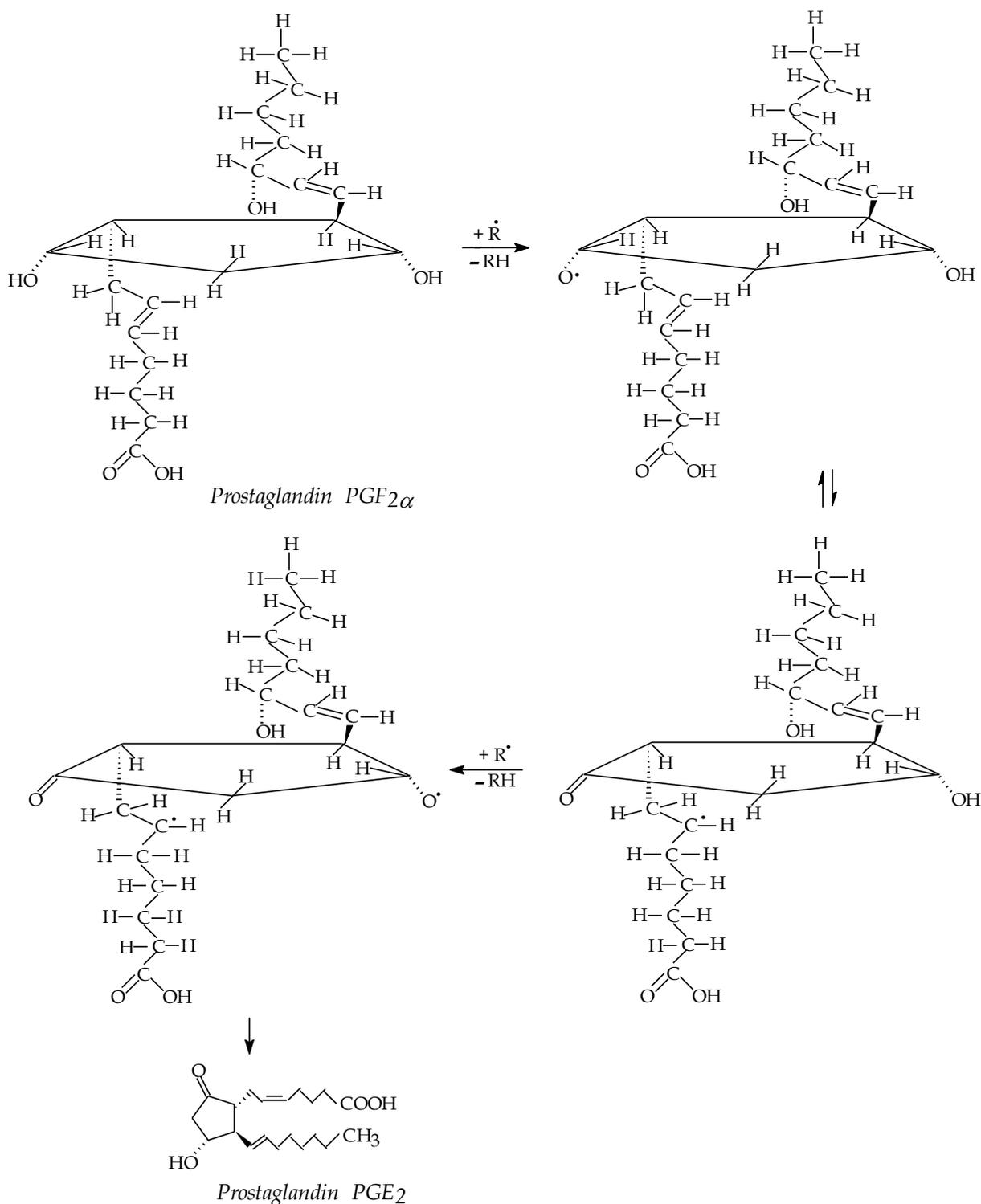


Figure 44. Possible molecular derivatives and antioxidative mechanism of action of prostaglandin PGF_{2α}.

Theoretically should be possibility to use antioxidants not only to prevent several pathological processes by scavenging uncontrolled free radical reactions but also to treat the drug (narcotic) dependence. These substances in free radical state by initiating oxidative reactions stimulate production of endogenous antioxidants. Antioxidants in enormous quantity can inhibit several oxidation/reduction reactions and activity of enzymes and hence lead to several pathological changes. Introduction of exogenous antioxidants in animal organisms will decrease the production of endogenous antioxidants. Thus balance between the oxidative and antioxidative substances could be restored. These events are presented in Figure 45.

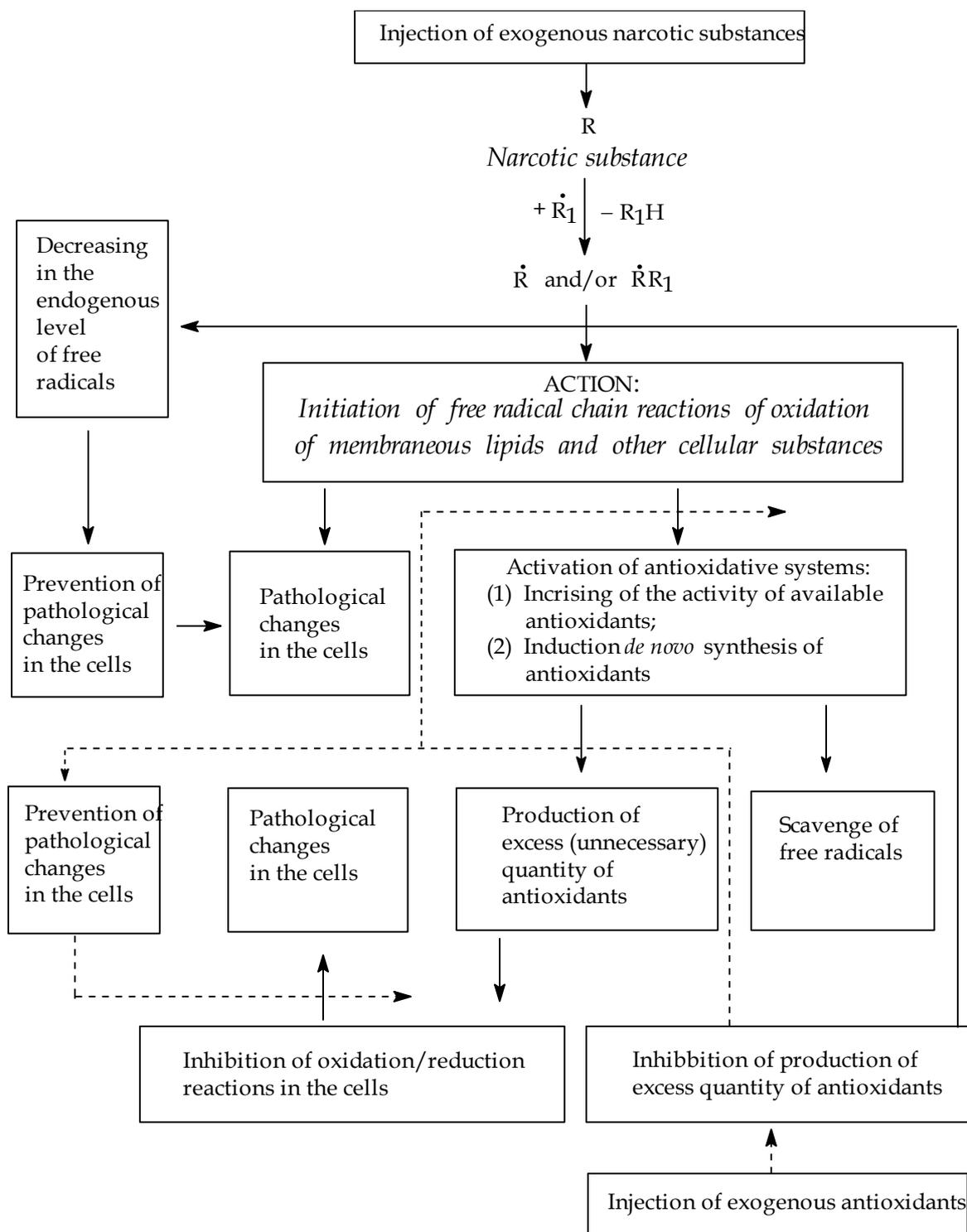


Figure 45. Hypothetical pathways for mode of action of narcotic substances and prevention of narcotic dependence in animals. Pathological changes in the cells caused by free radical oxidation are different of those caused by antioxidants.

Hence, the result presented here may suggest that antioxidants located in cytosol or, as well as those located in membrane lipids, can act as potential antistress factors by interrupting free radical chain reactions initiated by stress.

In summary, looking at the data presented in this article from the perspective of scientists interested in structure-activity relationships one can say that the availability of reliable data had made possible the application of our approaches to the understanding of toxicity phenomena and had even permitted the prediction of the biological activity of yet untested chemicals. Also the information provided in this report of the dependence existing between the structure of a certain substance and its biological activity may be used in the designing of

new compounds which possess biological activity and in predicting the toxicity of industrial and environmental chemicals.

From this survey it is possible to formulate the main general principles for identification and designing of biologically active substances.

GENERAL CONCLUSIONS

1. The primary role of described Descriptors in the designing of novel bioregulators is to detect leads without performing experiments.
2. Using of Descriptors having an active hydrogen at a nitrogen atom ($-\text{NH}-$) can be preferable in the designing of novel bioregulators with desirable prompt biological effects. In order to achieve prolonged and more strong biological effects using of Descriptors having an active hydrogen at carbon atoms ($>\text{CH}-$) could be more suitable.
3. Chemicals having non-aromatic non-substituted cyclic structures possess strong biological activity.
4. Substances bearing flanking substitutes such as $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{COR}$ and $-\text{COOR}$ possess strong biological activity for plants and microbes whereas their toxicity for mammals is moderate or slight.
5. Chemicals having Descriptors which is formed by P and S atoms possess as very strong toxicity as biological activity.
6. Chemicals having Descriptors which is not formed by P and S atoms possess very/or strong biological activity, its toxicity is only moderate.
7. Only substituents which have small sizes in α -position to active hydrogen atom are suitable for their introduction to a basic formula to receive the bioregulators with potent strong biological activity.
8. Bridgehead olefins which can form long-lived bridged free radicals *in vivo* possess analgesic activity.
9. In order to design potent bioregulators with strong biological effects it is needed to introduce to their formulae *cis* isomers.
10. Selection of Descriptors and flanking groups is the main conditions that must be carry out in the designing of novel bioregulators.
11. Chemicals whose free radicals are stabilized by resonance possess strong toxicity for mammals.
12. Conjugation of chemicals having NH_2 -groups as flanking substitutes with cellular biopolymers can be the main cause of their low toxicity.
13. Chemicals having lipophylic CH_3 -groups as flanking substitutes possess strong toxicity to mammals.
14. Chemicals having an oxygen in the ring of a molecule possess strong biological activity.
15. Substances that can form *in vivo* more than one free radical center simultaneously possess strong biological (analgesic) activity.
16. Factors which stabilize free radicals increase biological activity of bioregulators.

REFERENCES

- Abeles FB, Morgan PW, Salveit ME, Jr** (1992) Ethylene in plant biology. Second edition. Academic Press, New York
- Barrett TW, Benedict HM** (1970) Sulfur dioxide. In J Jacobson, AC Hill, eds, Recognition of air pollution and injury to vegetation: A pictorial atlas. Air Pollution Control Association, Pittsburgh – Pennsylvania (USA), pp 1–17
- Black VJ, Unsworth MH** (1980) Stomatal responses to sulphur dioxide and vapour pressure deficit. *J Exp Bot* **31**: 667–677
- Black JW, Dunkan WAM, Durant GJ et al** (1972) Definition and antagonism of histamine H_2 -receptors. *Nature* **236**: 385–390
- Bradley PB** (1989) Introduction to neuropharmacology. WRIGHT, London – Boston – Singapore – Sydney – Toronto – Wellington
- Brault D, Neta P, Patterson LK** (1985) The lipid peroxidation model for halogenated hydrocarbon toxicity: Kinetic of peroxyradical processes involving fatty acids and Fe (III) porphyrins. *Chem-Biol Interactions* **54**: 289–297
- Bray K, Quast U** (1991) Some degree of overlap exists between the K^+ -channels opened by chromakalim and those opened by minoxidil sulphate in rat isolated aorta. *Arch Pharmacol* **344**: 351–359
- Buchel KH** (1983) Chemistry of pesticides. A Wiley Interscience Publication John Wiley and Sons, New York – Chichester – Brisbane – Toronto – Singapore
- Buckheit RW, Kinserski TL, Fliakas-Boltz V et al** (1995) Structure-activity and cross-resistance evaluation of a series of human immunodeficiency virus type I – specific compounds related to oxathiin carboxanilide. *Antimicrob Agents Chemother* **39**: 2718–2727

- Callingham BA, Barrand A** (1979) The catecholamine: Adrenaline, noradrenaline, dopamine. *In* CH Gray, VHT James, eds, *Hormone in blood*. Third edition. Volume 2, pp 143–207
- Caris M** (1985) Clethodim. *In* Pesticide residues in food – 1994. Joint meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in food and the environment and the WHO Expert group on Pesticide Residue Rome, 19–28 September 1994. World Health Organization, Geneva
- Craig Venter J, Kerlavage AR, Fraser CM** (1987) What are prospects for a molecular definition and classification of hormone ? *In* JW Black, JH Jankinson, VP Gerchkovich, eds, *Perspective of receptors classification*. Alan R Liss, Inc, New York
- Davies PJ** (1995) *Plant hormones: Physiology, biochemistry and molecular biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht – Boston – London
- Dinerman JL, Lowenstein CJ, Snyder SH** (1993) Molecular mechanisms of nitric oxide regulation. Potential relevance to cardiovascular disease. *Circulation* **73**: 217–222
- Emson PC, Goedert M, Mantyh PW** (1985) Neurotensin-containing neurons. *In* A Bjorklund, T Hokfelt, eds, *GABA and neuropeptides in CNS*. Volume 4. Part 1. Elsevier, Amsterdam – New York – Oxford, pp 355–405
- Felig P, Baxter JD, Broadus AE, Frohman LA** (1987) *Endocrinology and metabolism*. 2nd edition. McGraw-Hill, New York
- Fraenkel GS** (1969) Evaluation of our thoughts on secondary plant substances. *Entomol Exp Appl* **12**: 473–486
- Furukawa A, Natori T, Totsuka T** (1980) The effect of SO₂ on net photosynthesis in sunflower leaf. Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. *Res Rep Natl Environ Stud (Japan)* **11**: 1–8
- Garsed SG, Read DJ** (1977) Sulphur dioxide metabolism in soybean, *Glycine max* var Biloxi. II Biochemical distribution of ³⁵SO₂ products. *New Phytol* **79**: 538–592
- Geissman TA, Crout DHG** (1969) *Organic chemistry of secondary plant metabolism*. Freeman, Cooper a Co, San Francisco
- Giorgi EP** (1980) The transport of steroid hormones into animal cells. *Int Rev Cytol* **65**: 49–115
- Glasby JS** (1976) *Encyclopedia of antibiotics*. A Wiley Interscience Publication Jonh Wiley and Sons, London – New York – Sydney – Toronto
- Gotto AM, O'Maley BW**, eds (1986) *The role of receptors in biology and medicine*. Raven Press, New York
- Gower DB** (1974) Modifiers of steroid hormone metabolism: A review of their chemistry, biochemistry and clinical applications. *J Steroid Biochem* **5**: 501–523
- Guderian R** (1966) *Reaktionen von pflanzengemeinschaften der feldfutterbaues auf schwefeldiooxidwirkungen*. Giraldet – Verlag, Schriftenreihe Landesant, Essen (West Germany)
- Guern J** (1987) Regulation from within: The hormone dilemma. *Ann Bot* **60** (Supplement 4) : 75–102
- Haberman E** (1972) Bed and wasp venoms. *Science* **177**: 314–322
- Harborne JB** (1977) *Introduction to ecological biochemistry*. Academic Press, London
- Haut H van, Stratmann H** (1970) *Farbtafelatlas uber schwefeldiooxid-wirkungen and pflanzen*. Verlag W.Girardet, Essen (West Germany)
- Hofheinz W, Merkli B** (1984) Quinine and quinine analogues. *In* SW Peter, WHG Richards, eds, *Antimalarial drugs II*. Springer Verlag, Berlin – Heidelberg – New York
- Holaday JW, Black LE, Long JB** (1985) Neuropeptides in shock and trauma. *In* GW Goelhoed, B Chernow, eds, *Endocrin aspects of acute illness*, pp 257–284
- Jakubke HD, Jeschkeit H** (1983) *Concise encyclopedia of biochemistry*. Walter de Gruyter, Berlin – New York
- Karlon P** (1976) Animal hormones as a secondary plant products and their ecological relevance. *Nova Acta Leopold*, Supplement **7**: 423–432
- Khachaturian H, Lewis ME, Tsou K, Watson SJ** (1985) β -Endorphin, α -MSH, ACTH, and related peptides. *In* A Bjorklund, T Hokfelt, eds, *GABA and neuropeptides in CNS*. Volume 4. Part 1. Elsevier, Amsterdam – New York – Oxford, pp 216–272
- Khan AA, Malhotra SS** (1977) Effects of aqueous sulfur dioxide on pine needle glycolipids. *Phytochemistry* **16**: 539–543
- Kirsch-Volders M** (1984) Mutagenicity, carcinogenicity, and teratogenicity of industrial pollutants. Plenum Press, New York – London
- Krishna DR, Klotz U** (1988) Newer H₂-receptor antagonists: Clinical pharmacokinetics and drug interaction potential. *Clinical Pharmacokinetics* **15**: 205–215
- Kubes P, Suzuki M, Granger DN** (1991) Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**: 4651– 4655
- Kurchii BA, Koydan GN** (1985a) What regulate the growth regulators? *Chemistry and Life (Khimiya i Zhizn, Moscow)* **2**: 36–39 (In Russian)
- Kurchii BA, Koydan GN** (1985b) Mechanisms of action of growth regulators. *Chemistry and Life (Khimiya i Zhizn, Moscow)* **10**: 68–69 (In Russian)
- Kurchii BA** (1990) Possible alternative way of ethylene evolution from quaternary ammonium salts. *The Preprint of the Institute of Plant Physiology and Genetics*, pp 1–19
- Kurchii BA** (1991) Ethylene formation from quaternary ammonium salts in the Hofmann's splitting reaction. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev)* **23**: 17–23 (In Russian)
- Kurchii BA** (1993) Functional-reactive groups of bioregulators. *Physiology and Biochemistry of Cultivate Plants (Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii, Kiev)* **25**: 82–92 (In Russian)
- Kurchii BA** (1996) Chemical structure of descriptors with an active hydrogen atom in certain bioregulators. *The Ukrainian Biochemical Journal (Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal, Kiev)* **68**: 3–13 (In English)

- Kutchan TM** (1995) Alkaloid biosynthesis – the basis for metabolic engineering of medicinal plants. *Plant Cell* **7**: 1059–1070
- Lan NC, Karin M, Nguyen T et al** (1984) Mechanism of glucocorticoid hormone action. *J Steroid Biochem* **20**: 77–88
- Lazar M, Ruchly J, Klimo V, Pelikan P and Valko V** (1989) Free radicals in chemistry and biology. CRC Press Inc, Boca Raton – Florida
- Lee NJ, Steinberg A** (1987) Sex steroids, autoimmunity, and autoimmune diseases. *In* I Berczi, K Kovacs, eds, *Hormones and immunity*. MTP Press Limited, Loscater – Boston –The Hague – Dordrecht, pp 93–119
- Lin C, Radwanski E, Affirime M, Cayen MN** (1995) Multiple-dose pharmacokinetic of ceffibuten in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* **39**: 356–358
- Lunt E, Newton CG, Smith C et al** (1987) Antitumor imidazotetrazines. 14. Synthesis and antitumor activity of 6– and 8–substituted imidazo[1,5-*d*]-1,2,3,5–tetrazinones and 8–substituted pyrazolo[5,1-*d*] –1,2,3,5–tetrazinones. *J Med Chem* **30**: 357–366
- Maeda M, Kodama T, Saito M et al** (1987) Neuromuscular action of insecticidal domoic acid on the American cockroach. *Pestic Biochem Physiol* **28**: 85–92
- Malhotra SS** (1976) Effects of sulfur dioxide on biochemical activity and ultrastructural organization of pine needle chloroplasts. *New Phytol* **76**: 239–245
- McKeon TA, Fernandez-Maculet JC, Yang SF** (1995) Biosynthesis and metabolism of ethylene. *In* PJ Davies, ed, *Plant hormones: Physiology, biochemistry and molecular biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht – Boston – London, pp 118–139
- Menzel DB** (1976) The role of free radicals in the toxicity of air pollutants (nitrogen oxides and ozone). *In* WA Pryor, Ed, *Free radical in biology*. Volume 2. Academic Press, New York, pp 181–182
- Mulder GJ** (1992) Pharmacological effects of drug conjugates: is morphine–6–glucuronide an exception? *Trends Pharmacol Sci* **13**: 302–304
- Nair V, Clair MHS, Reardon JE et al** (1995) Antiviral, metabolic, and pharmacokinetic properties of the isomeric dideoxynucleoside 4(S)–(6–amino–9H–purin–9yl)tetrahydro–2(s)–furanmethanol. *Antimicrob Agents Chemother* **39**: 1993–1999
- Neher R** (1984) Activators and inhibitors in adrenocortical steroidogenesis. *In* K Fothrby, SB Pal, eds, *The role of drugs and electrolytes in hormonogenesis*. Walter de Gruyter, Berlin – New York, pp 1–52
- Neljubow D** (1901) Uber die horizontale nutation der strenged von *Pisum sativum* und einiger anderer. *Pflanzen Beihefte zur Botanisches Centrblatt* **10**: 128–129
- Nemeroff CB, Loosen PT, Biosette G et al** (1979) Pharmaco– behavioral effects of hypothalamic peptides in animals and man: Focus on thyrotropin-releasing hormone and neutsensin. *Psychoneuroendocrinology* **3**: 279–310
- Newland ES, Bleckledge GRP, Slack JA et al** (1992) Phase I trial of temozolomide (CCRG 811045: M & B 39831: NSC 362856). *Brit J Cancer* **65**: 287–291
- Nonhebel DC and Walton JC** (1974) Free-radical chemistry: structure and mechanism. University press, Cambridge
- Ovchinnikov YA** (1987) Bioorganic chemistry. Prosveschenie Publ., Moscow
- O'Reilly SM, Newlands Es, Glaser MG et al** (1993) Temozolomide: A new oral cytotoxic chemotherapeutic agent with promising activity against primary brain tumours. *Eur J Cancer* **29A**: 940–942
- WHO meeting on pesticide residues** (1995) Pesticide residues in food – 1994. Toxicology evaluation. World Health Organization, Geneva
- Petrusz P, Merchanthaler I, Maderdrut JL** (1985) Distribution of enkephalin-containing neurons in the central nervous system. *In* A Bjorklund, T Hokfelt, eds, *GABA and neuropeptides in CNS*. Volume 4. Part 1. Elsevier, Amsterdam – New York – Oxford, pp 273–334
- Reusch WH** (1977) An introduction to organic chemistry. Holden-day Inc., San Francisco e.a.
- Robinson GA, Butcher RW, Sutherland EW** (1971) Cyclic AMP. Academic Press, New York – San Francisco – London
- Roques A, Kerjean M, Auclair D** (1980) Effect de la pollution atmospherique par de fluor et le dioxyde de soulfre sur L'appareil reproducteur femelle de *Pinus sylvestris* en foret de roumate (Seine–Maritime, France). *Environ Pollut Ser A* **21**: 191–201
- Shamshurin AA, Krimer MZ** (1976) The physico-chemical properties of pesticides. *Khimia Publ, Moscow*
- Shimazaki K, Sugahara K** (1980) Inhibition site in electron transport system in chloroplasts by fumigation of lettuce leaves with SO₂. Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. *Res Rep Natl Environ Stud (Japan)* **11**: 79–89
- Silvius JE, Baer CH, Dodrill S, Patrick H** (1976) Photoreduction of sulfur dioxide by spinach leaves and isolated spinach chloroplasts. *Plant Physiol* **57**: 799–801
- Sofroniev MV** (1985) Vasopressin, oxytocin and their related neurophysins. *In* A Bjorklund, T Hokfelt, eds, *GABA and neuropeptides in CNS*. Volume 4. Part 1. Elsevier, Amsterdam – New York – Oxford, pp 93–165
- Spivak CE, Witkop B, Albuquerque EX** (1980) Anatoxin-a: Novel potent agonist at nicotinic receptor. *Mol Pharmacol* **18**: 384 – 394
- Wallis M, Howell SL, Taylor KW** (1985) The biochemistry of the polypeptide hormones. John Wiley and Sons, Chichester – New York – Brisbane – Toronto – Singapore
- Wenger RM** (1986) Synthesis of cyclosporin and analogue: Structural and conformational requirements for immunosuppressive activity. *Progress in Allergy* **38**: 46–64
- WHO expert committee on drug dependence** (1993). Twenty-eighth report. No 836. World Health Organization, Geneva

- Wouters MFA, Van Hoven-Arentzen PH** (1995) Chlorfenvinphos. *In* Pesticide residues in food – 1994. Joint meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in food and the environment and the WHO Expert group on Pesticide Residue Rome, 19–28 September 1994. World Health Organization, Geneva
- Worthington CR and Walker SB** (1987) The pesticides manual: A world compendium. 8th edition. Published by the British Crop Protection Council
- Yaksh TL, Harty GJ** (1988) Pharmacology of the allogynia in rats evoked by high dose intrathecal morphine. *J Pharmacol Exp Ther* **244**: 501–507
- Yarbrough GG** (1979) On the neuropharmacology of thyrotropin releasing hormone (TRH). *Progr Neuropharmacol* **12**: 291–312
- Ziegler I** (1975) The effect of SO₂ pollution on plant metabolism. *Residue Rev* **56**: 79–105
- Zimmerman PW, Wilcoxon F** (1935) Several chemical growth substances which cause of initiation of roots and other responses in plants. *Contributions of the Boyce Thompson Institute* **7**: 209–229.

Lipids as Possible Source of Stress Ethylene Formation and its Mode of Action*

B. A. Kurchii

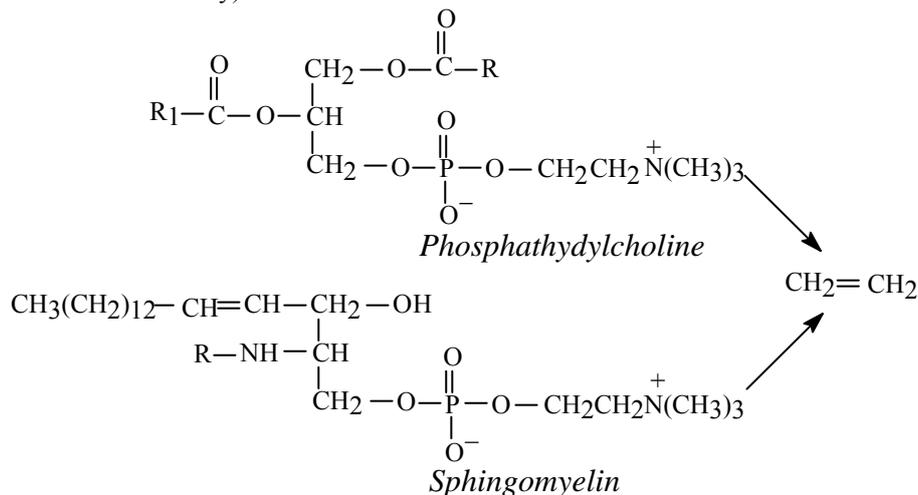
Institute of Plant Physiology and Genetics, Vasylykivska 31/17, 252022 Kiev, Ukraine

Some chemicals such as metal ions (Fe^{3+} , Hg^{2+} , Cu^{2+}), ozone, trichloroacetic acid, iodoacetic acid, NaClO_3 , ammonium thiocyanate, salicylic acid, herbicides, insecticides, and endogenous plant growth regulators including ABA interact with endogenous substances to form ethylene. Also physical factors such as temperature, drought, flooding change ethylene production. Ethylene which evolution from tissues is accelerated by stressful conditions was named as "stress ethylene".

We have studied the ethylene evolution from tissues of apples, winter wheat and winter rye, onion, and pea seedlings (etiolated and greening seedlings were used). All seeds were germinated in a thermostated box (25°C , 75% relative humidity). The plants were treated by following agents: diquat, tordon, indolyacetic acid, glyphosate, metaphos, and ampicillin in the concentrations from 0,05% to 1%. Germinated plants were used to detect lipid peroxidation (LPO) by thiobarbiturate method and the malonedialdehyde thiobarbiturate adduct (MDA) spectrophotometrically. Individual lipids were identified by TLC and their identities further was confirmed by specific spray reagents. The fatty methyl ester composition and ethylene were analyzed by GLC-GC.

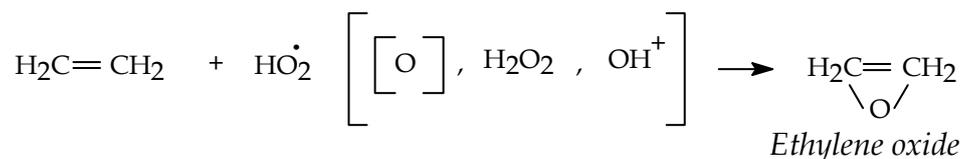
We have found that these agents increased ethylene evolution from tissues, and its quantity differs tremendously for diverse plants. Increasing in ethylene evolution was accompanied by decreasing in the endogenous levels of such lipids as phosphatidylcholine, phosphatidylserine, phosphatidylethanolamine. Fatty acid composition of the total lipid pool also shows that these chemicals caused a relative decrease in linolenic (18:3) and linoleic (18:2) acids and corresponding increase in palmitic (16:0) and oleic (18:1) acids. The MDA content, an indicator of the state of LPO, increased under chemical stress conditions.

We still do not know how the formation of ethylene in the chemical stress occurs. Nevertheless taking into account our earlier data that ethylene is easily formed from quaternary ammonium salts in the Hofmann's splitting reaction from choline and 2-chloroethyltrimethylammonium chloride (CCC) [1, 3] we postulate that it could be formed after the decaying of phosphatidylcholine and phosphatidylsphingomyelin (which was not tested in this study):



* Published in: **Kurchii B. A.** (1998) Lipids as possible source of stress ethylene formation and its mode of action. *In* Proceeding of the International Conference on Plant Ontogenesis in Natural and Transformed Environments, July 1-4, 1998, Lviv, Ukraine, pp. 264-266.

According to current knowledge ethylene itself is not reactive agents but it can be activated *in vivo* by many ways. The oxidative activation of ethylene *in vivo* is enzymecatalysed process. Under stressful conditions as we believe the oxidation of ethylene is presumably nonenzyme process [1, 2]:



The mechanism of stress ethylene action is not known in details. Earlier we have reported that ethylene exerts its action, first of all, through the initiation free radical oxidation of fatty lipids [2]. In general possible pathways of ethylene transformation into free radical state [2], i.e. its activation may be following:



Where $\dot{\text{R}}$ may be presented by $\text{PhCH}_2\text{CMeO}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\dot{\text{O}}\text{H}$, ROOH , $\dot{\text{R}}\text{O}$ ($\text{ROO}\cdot$) and also other free radical; It is necessary to point out that opening of ethylene oxide ring also yields free radicals of ethylene.

Of key importance of the study of such reactions in an understanding of the primary interaction between the free radical of ethylene and unsaturated fatty acids of membraneous lipids. If free radical chain reactions are initiated *in vivo* in amounts sufficient to overcome the normally efficient defense systems metabolic and cellular disturbances will occur. Major early perturbations produced to cell substances by exposure to free radicals include covalent binding, cellular biopolymer oxidation, and LPO. Products of LPO, include numerous primary peroxides have been shown to promote tissue damage. Formed free radicals may also damage cell membranes: (1) by covalent binding to membraneous components thereby changing structure and membraneous function; (2) by oxidation or covalent binding to membraneous enzymes; (3) by disturbance of transport processes through thiol-group oxidation and influence of the products of peroxidation on membraneous fluidity, cross-linking; (4) by changes in lipid/protein ration.

Nothing is known about the physiological function of “stress ethylene”. Nevertheless some speculations can be point out: (1) *in vivo* formation of “stress ethylene” is a consequence of oxidative stress, i.e., it is nonenzymatic process initiated either by growth regulators (xenobiotics) or by many physical factors which disturb membrane functions leading to unnecessary free radical formation; (2) ethylene having small size can quickly penetrates through the cytoplasm and thus after the activation inhibits the important living biochemical reactions to avoid “undesirable” syntheses, i.e., it is signaling factor (a primary transduction signal) about the danger for cells.

In any case increasing in ethylene production leads to the activation of endogenous defense antioxidative and repair systems. The ability of any cell to protect itself against these various active species can be crucial in determining their relative susceptibility to oxidative stress. Among natural antioxidant abscisic acid also called as “stress plant growth regulator” appear to be effective scavenger of free radicals [1–3].

We can draw some general conclusion from these data: (1) The decrease in the phospholipids content of the studied plants indicates that phospholipids are the targets of chemical stress; (2) Under chemical oxidative stress conditions the phospholipids can serve as precursor of “stress ethylene”.

1. **Kurchii BA, Koydan GN** (1985) *Khimiya i Zhizn* (Chemistry and Life, Moscow) **2**: 36–39
2. **Kurchii BA** (1990) *Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii* (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev) **22**: 445–454
3. **Kurchii BA** (1991) *Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii* (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev) **23**: 17–23

Theoretical Investigation of Relationships Between the Chemical Structure of Some Blue–Green Algae Metabolites and their Biological Activity *

B. A. Kurchii¹, P. D. Klochenko²

¹Institute of Plant Physiology and Genetics, Vasylykivska 31/17, 252022 Kiev, Ukraine

²Institute of Hydrobiology, Geroyev Stalingrada 12, 254210 Kiev, Ukraine

Many genera of blue–green algae produce toxic substances. The mechanism by which blue–green algae toxins exert their biological effects are largely unknown. The scope of our research was to introduce the functional-reactive groups (FRG) in toxicity of some blue–green algae metabolites. These FRG appear to be very promising in toxicological evaluations because they allow to compare at least two molecules of any kind, one of them possesses in known toxicity. The causes of different biological activity of blue–green algae metabolites are proposed

Key words: blue–green algae, functional-reactive groups, structure-activity relationships, toxins

Although there are presently more highly effective toxic agents that can be produced by many living organisms, toxins from such microorganisms as blue–green algae (cyanobacteria) have very big scientific and practical interests. The study of their effects on the aquatic ecosystems and some wild and domestic animals has been the subject of numerous research (Codd, 1995; Carmichael, 1997). The toxic agents produced by different strains of blue–green algae usually are divided into two big classes which are termed: neurotoxins and hepatotoxins.

Among neurotoxins four substances have been explored in detail, for instance, such as anatoxin–a, anatoxin–a(s), saxitoxin and neosaxitoxin (Carmichael, 1992). Anatoxin–a is mostly distributed in blue–green algae and it has been derived from *Anabaena flos-aquae*, *A. spiroides*, *A. circinalis*, *Oscillatoria* and *Aphanizomenon flos-aquae* (Sivonen et al., 1989). Methylene homologue of anatoxin–a called homoanatoxin–a is produced by *Oscillatoria rubescens* (Skulberg et al., 1992), saxitoxin and neosaxitoxin were found in *Aphanizomenon flos-aquae* (Mahmood, Carmichael, 1986). The most of well-known toxic effect of the anatoxin–a is similar to organophosphorus pesticides, e. g., changes in the activity of acetylcholinesterase which is responsible for the hydrolysis of acetylcholine (Carmichael, 1994). Acetylcholine acts as a neurotransmitter of the endings of postganglionic parasympathetic nerve fibers. The blue–green algae toxins showed predominantly central nervous system depression and ataxy in various animals. The major sites of action of toxic substances derived from blue–green algae include: respiration, metabolism of carbohydrates, proteins, nucleic acids, and lipids (Kirpenko et al, 1977).

Hepatotoxins such as, for instance, microcystins (monocyclic heptapeptides) are produced by species within the genera of *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria* and *Nostoc* (Carmichael, 1992). Nodularins (monocyclic pentapeptides) are produced by *Nodularia spumigena* (Rinehart et al., 1988).

The most of natural biologically active substances that possess strong toxic effects have extremely complex structure, making their identification a daunting task. To accomplish this goal many new methods were introduced in the research process last decade: high performance liquid chromatography (Harada et al., 1989), thin layer chromatography (Ojanpera et al., 1991), gas chromatography-mass spectrometry (Himberg, 1989).

The major improvements will come through the use of such new technologies as combinatorial chemistry, robotic high-throughput screening, crystallography, computer graphics, antisense oligonucleotides (Petsko, 1996). Screening of large numbers of substances, derived from natural products and inhouse catalogue of previously received compounds has long been a mainstay of identification of biologically active substances. High-throughput screening is largely used to select substances for further biological testing. Now is possible to use the computer programs to analyze molecules and their associated biological activity on the base of structural fragments identified preliminary (Hogan, 1996; Kurchii, 1993; Kurchii, 1996).

* Published in: **Kurchii B. A., Klochenko P. D.** (1998) Theoretical investigation of relationships between the chemical structure of some blue–green algae metabolites and their biological activity. *Algologia* (Kiev) **8**: 368–377.

Thus, there is an increasing problem of toxicological evaluation of new compounds because traditional methods of analysis of such data are cumbersome and slow. Although the last decade has led to considerable advances in our understanding of the way in which toxins exert their noxious effects it would be wrong to suggest that there is any complete understanding of the mechanism of action of any given toxin.

The aim of this paper was to study which of functional-reactive groups (FRG) are responsible for the biological activity of diverse blue-green algae toxins.

We have investigated in the previous publications the relationships between the structure of known substances and their biological activity (Kurchii and Koydan, 1985a, b; Kurchii, 1993; Kurchii, 1996a, b). In the base of our method is the assumption that all compounds possess the biological activity in the case if they can be easy transformed into free radical state *in vivo* and thus to initiate nonenzymatic free radical chain reactions first of all in the membrane structures and then in the cytoplasm. This is possible for chemicals having an active hydrogen atom in the separate fragments of the molecule termed as functional reactive groups (FRG), i. e., descriptors or unsaturated groups (Kurchii and Koydan, 1985a, b; Kurchii, 1993; Kurchii, 1996a, b).

Such descriptors have bilaterally an electron-attracting group (EAG) containing σ - and π -bonds:

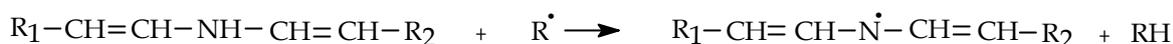


Similar EAG can also be formed by a triple bond, and bonds between P, O, S, N, halogen and Aryl (Ar).

Molecules in the free radical state can react very energetically and mainly nonspecifically to remove an electron, typically in the form of a hydrogen atom, from adjacent molecules (Heyes, 1960; Ingold, 1969; Kice and Marvell, 1974). The formation of the free radical in the unsaturated fatty acids may be presented by the following mechanism:

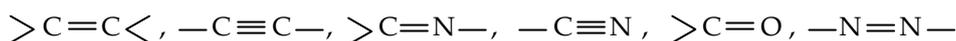


A similar mechanism may be described for substances having NH-group:



Another FRG that determine biological activity of any substance are following (Kurchii, 1993; Kurchii, 1996a, b):

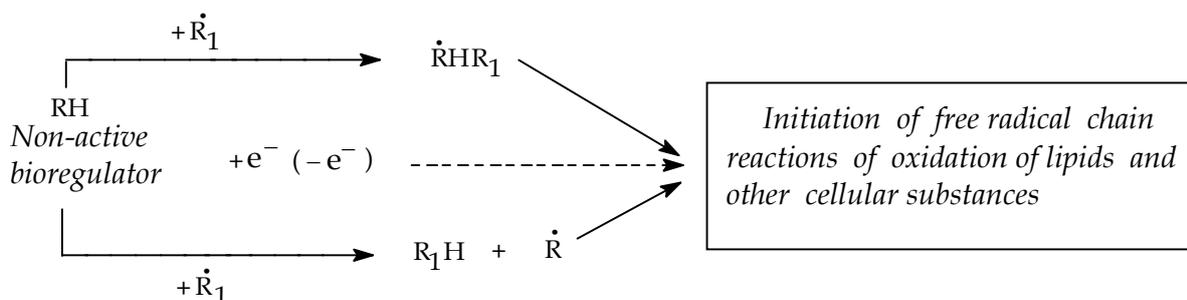
(1) Chemicals having double or triple bonds



Such substances can be activated *in vivo* by addition to their structure of endogenous metabolic free radicals or through the formation of epoxides (Kurchii, 1990; Kurchii, 1993; Kurchii, 1996a). Breaking of epoxide bond can yield free radicals.

(2) The HO-groups which are presented in many natural chemicals. Substances having such groups can act either as antioxidants (when hydrogen from HO-groups is used to quench the free radical in the cytoplasm) or as oxidants (in the case when hydrogen in OH-groups is abstracted).

The mechanism whereby the chemicals or xenobiotics are activated can be presented in accordance to the following scheme (Kurchii and Koydan, 1985a, b; Kurchii, 1993; Kurchii, 1996a):



The oxidation reactions in the cell are chain reactions and can be prolonged by oxygen. As result of such reactions is the formation of free radicals. These radicals can be initiators of oxidation of lipids and other cellular biopolymers.

Lipid peroxidation (LPO) seem to be a common consequence of the nonenzymatic free radical-mediated reactions that can occur *in vivo* after biotransformation of substances derived from blue-green algae. LPO is a free radical-mediated process that results in the degradation of unsaturated fatty acids to complex variety of products (Pryor, 1976). LPO is frequently associated with pathobiological conditions caused by the biological membrane structure alteration (Tribble et al., 1987). Hence, we think that the free radical formation and LPO to be an important mechanism in the toxicity of toxins from blue-green algae.

The acute toxicity data used in our study (Table 1) were from works Rinehart et al. (1994) and Carmichael (1992).

In the last decade much progress has been made in the chemistry of toxins such as microcystins and nodularins. The structure of some toxic substances found in cyanobacteria are presented in Table 2.

We can generally assume that homologous region in different peptides are functional reactive groups. For example, the activity of numerous microcystins and nodularins is known to depend first of all on the presence of common fragment termed as Adda (3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4,6-dienoic acid) (Namikoshi et al., 1989; Rinehart et al., 1988).

Table 1 and 2 show the correlation between the chemical structure and the toxicity of presented chemicals. These data strongly agree with our theoretical prediction of biological activity using descriptors having an active hydrogen atom (Kurchii and Koydan, 1985b; Kurchii, 1993; Kurchii, 1996a). Essential feature of these toxins is that they have a few descriptors either with an active hydrogen atom or unsaturated function.

Microcystins (Figure 1) listed in Table 1 differ in their amino acid combinations. More essential feature of amino acid presented in microcystins is the presence of benzene or phenol rings.

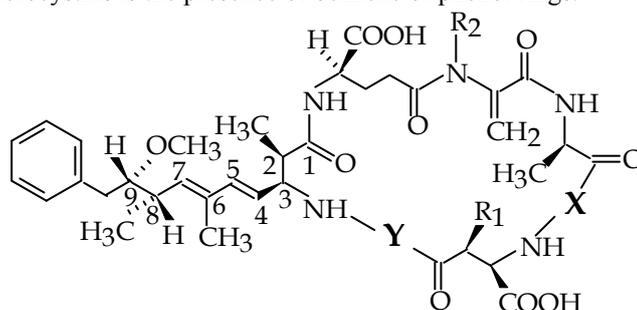
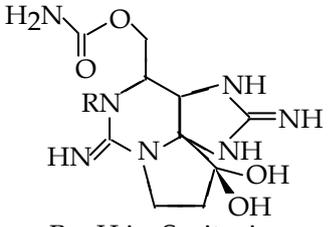
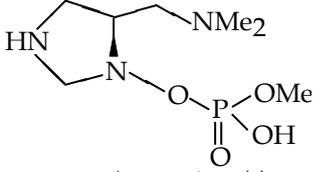
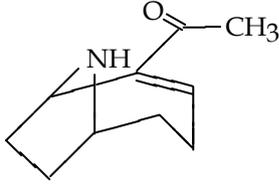
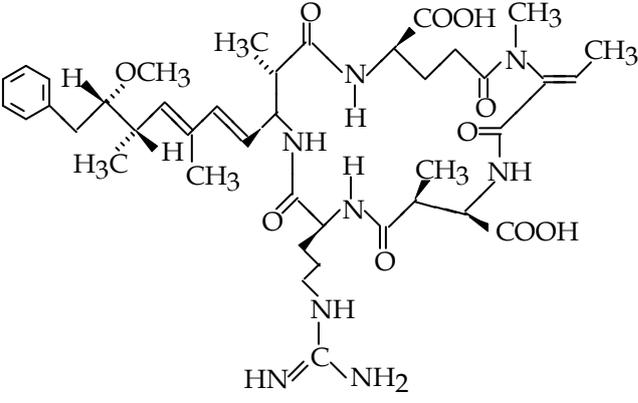
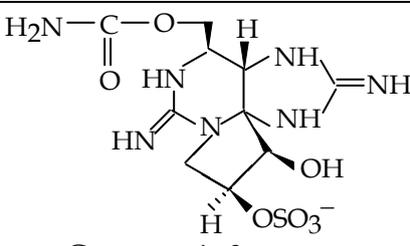


Figure 1. Chemical structure of microcystins.

Table 1. *Intraperitoneal toxicity of some important toxins* (Rinehart et al., 1994; Carmichael, 1992)

Structures, Common name	Lethal i. p. dose LD ₅₀ µg/kg for rat or mouse injections
Nodularin	50
[(6Z)-Adda ³]nodularin	> 2000
[D-Asp ¹]nodularin	75
[D-Glu-OCH ₃ ⁴]nodularin dihydronodularin	>1200
Anatoxin-a	200
Anatoxin-a (s)	20
Microcystin-LA	50
Microcystin-LR	50
Microcystin-YR	70
[L-MeLan]microcystin-LR	1000
[(6Z)-Adda ³]microcystin-LR (stereoisomer of Adda at the Δ ⁶ double bond	> 1200
Microcystin-M (O)R (methionine-S-oxide)	700-800
Microcystin-RR	600
[D-Asp ¹]microcystin-RR	250
Microcystin-FR	250
Microcystin-WR	150-200
[D-Glu-OC ₂ H ₃ (CH ₃)OH ⁶]microcystin-LR	>1000

Table 2. Summary of the important toxic agents derived from blue-green algae

Structures, Common name	Descriptors	Typical flanking substitutes
 <p>R = H in Saxitoxin R = OH in Neosaxitoxin</p>	$\begin{array}{c} -\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{NH}-\text{C}=\text{N}- \\ \quad \quad \\ -\text{OH} \\ >\text{C}=\text{NH} \end{array}$	- NH ₂
 <p>Anatoxin-a(s)</p>	$\begin{array}{c} -\text{N}-\text{C}-\text{NH}-\text{C}-\text{C}-\text{N}- \\ \quad \quad \quad \\ -\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{C}- \\ \quad \quad \quad \end{array}$	- CH ₃
 <p>Anatoxin-a</p>	$\begin{array}{c} -\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C}= \\ \quad \quad \quad \\ >\text{C}=\text{C}< \\ -\text{CH} \\ \end{array}$	- CH ₃
 <p>Nodularin</p>	$\begin{array}{c} >\text{C}=\text{C}< \\ -\text{CH} \\ \\ >\text{C}=\text{NH} \end{array}$	- NH ₂ - COOH
 <p>Gonyautoxin 3</p>	$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{O}- \\ \quad \quad \\ -\text{CH} \\ \\ >\text{C}=\text{NH} \\ -\text{OH} \end{array}$	- NH ₂

Proposed mechanism of activation and mode of action of microcystins or/and nodularins are presented in Figure 3.

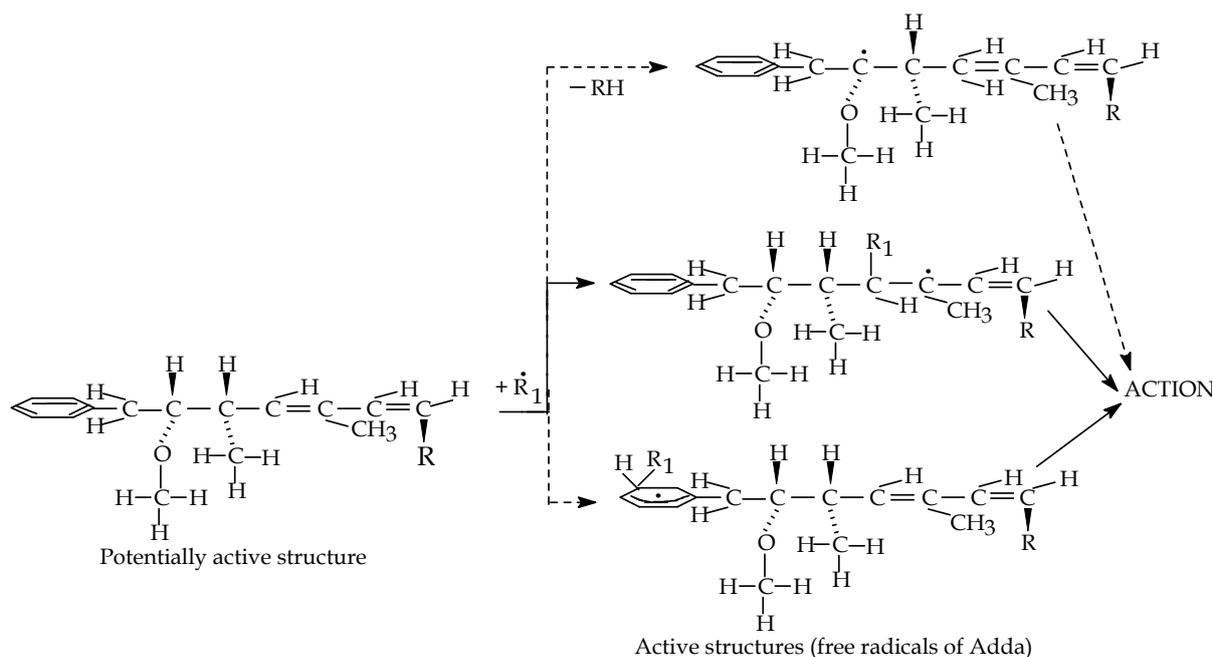


Figure 3. Proposed free radical mechanism of activation of Adda substitute at blue-green algae toxins.

Next step can be following. The free radical center can migrate to C₈ or C₉ carbon atoms, i.e., free radical of Adda is stabilized by resonance. The benzene ring can be also activated by addition reaction of free radicals.

The second factor which operates is sterical effects. The reactivity of a radical depends on the interaction of an unpaired spin with the neighboring atoms carrying a radical site as well on the sterical shielding of the semioccupied orbital. Radicals, which have minimum inner interactions of unpaired electrons and neighboring atoms of which do not hinder the approach of the reactant to the semioccupied orbital, will be reactive (Ingold, 1969; Lazar et al., 1989).

The substituent at C₈ is also important to toxicity of microorganisms (Carmichael, 1992). We believe that in this case the methyl group can hinder neither the approach of an endogenous free radical to the hydrogen atom to abstract it or the approach a free radical center of C₈ or C₉ to cellular biopolymers to oxidize them and thus initiate free radical chain reactions in the cellular matrix. Also CH₃-group can shield and preserve the addition reaction of endogenous free radicals to the double bond, i. e., for reaction to occur, the reactants must approach each other to enhance the coupling of their electronic orbital (Figure 4).

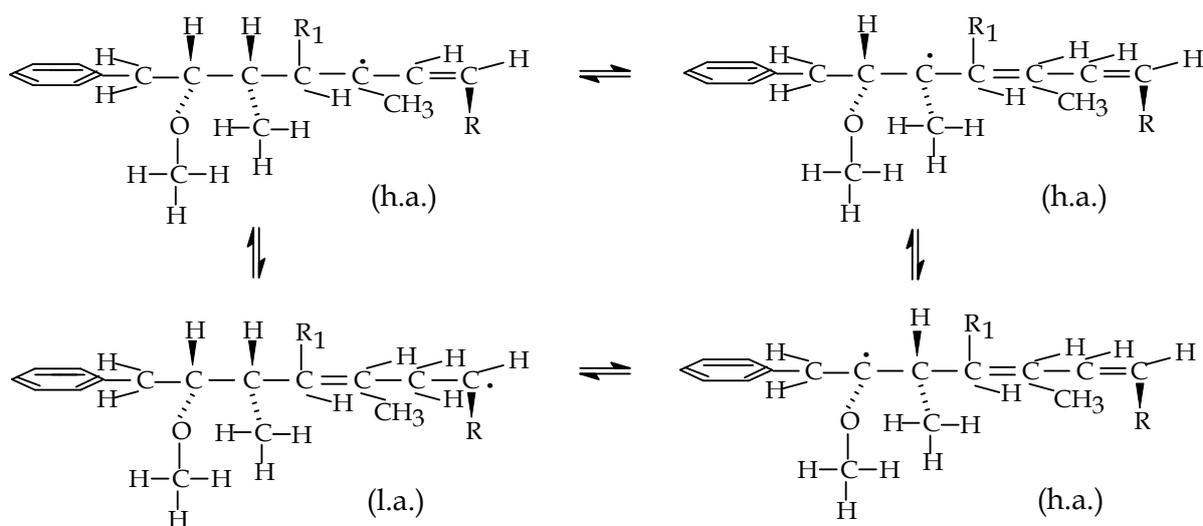
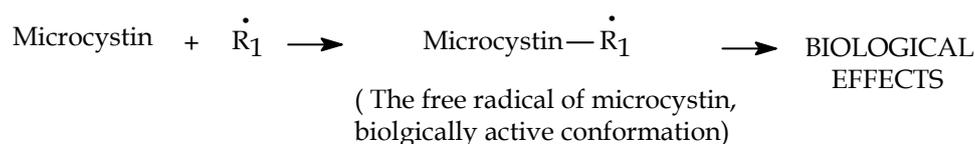
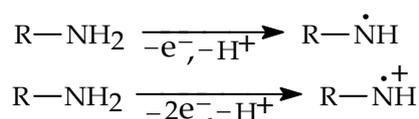


Figure 4. Sterical effects of Adda substitutes which modulate biological activity of blue-green algae toxins. h. a. – high activity, l. a. – low or middle activity.

Hence, chemicals in the free radical state can be regarded as biologically active conformation:



Many toxic substances have NH₂-groups as flanking radicals. Free radicals of these substances can be generated *in vivo* by both one and/or two electrons oxidation.



Thus, when the free radical center is not hindered by neighboring substitutes such chemicals will be active and can initiate, first of all, the oxidation of polyunsaturated fatty acids of the cellular membranes.

Active cyclic analogues of peptide toxins can be also obtained by introduction benzene rings or unsaturated functions. In this case the free radicals of cyclic analogues of peptide toxins are stabilized by resonance.

The relationships of the chemical structure to the toxicity with the nodularin and [(6Z)-Adda⁵]nodularin were shown by Rinehart et al. (1994). Thus, the lethal intraperitoneal dose LD₅₀ μg/kg body weight for rat or mouse injections of microcystin-LA is 50 μg/kg whereas of [(6Z)-Adda⁵]microcystin-LR (stereoisomer of Adda at the Δ⁶ double bond) is 1200 μg/kg (Rinehart et al., 1994).

In relation to this phenomenon the following conclusion can be drawn. As you can see from Figure 1 biologically active structures of microcystins have the methyl group at the position 6 which is situated in the plain of the structure, whereas the methyl group at C₈ is situated under the plain of the structure. In the [(6Z)-Adda⁵]microcystin-LR (the stereoisomer of Adda) the methyl group at the C₈ is situated over the plain of the structure. In this case the methyl group hinders an approach of metabolic free radicals to the double bond between the C₆ and C₇ and hence prevents their addition to the unsaturated bond. Consequently the activation of microcystins having the [(6Z)-Adda⁵]microcystin-LR does not occur (Figure 5).

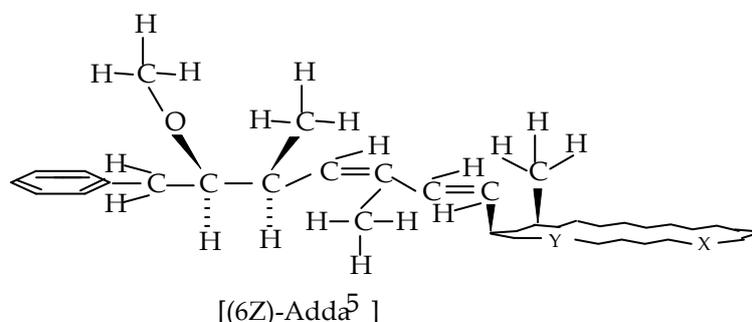


Figure 5. Structure of [(6Z)-Adda⁵]. Bulking substituents at C₂ and C₈ hinder the approach of any free radicals to the double bonds. The abstraction of H from C₉ can be blocked by a phenyl ring.

From the above, it is obvious that the toxicological evaluation of this class of compounds is complex task. Nevertheless our investigation showed that it is possible to perform the SAR study to the preliminary evaluation the toxicity of new biologically active substances derived from blue-green algae. Integrated biological and chemical approaches allow to identify active entities among extracted chemicals. Our approaches are not the recipe for a toxicology but they can offer immediate information about biological activity of any compound. The present study was performed first of all in order to gain better insight into the possible role of FRG in the toxicity of some compounds produced by blue-green algae. Our approaches on the SAR analysis can be used in at least three respects: (1) Identification of potentially active cyclic analogues among peptides which have not been bioassayed; (2) Preliminary evaluation the toxicity of novel substances received from blue-green algae, and (3) Selection of compounds which have not been studied to test as potential biologically active agents.

LITERATURE

- Carmichael WW** (1992) Blue-green algae secondary metabolites - the cyanotoxins. *J Appl Bacteriology* **72**: 445–459
- Carmichael WW** (1994) The toxins of blue-green algae. *Scientific American* **270**: 78–86
- Carmichael WW** (1997) The cyanotoxins. *Advances in Bot Res* **27**: 211–256
- Codd GA** (1995) Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Wat Sci Tech* **32**: 149–156
- Harada K-I, Kimura Y, Ogawa K et al** (1989) A new procedure for the analysis and purification of naturally occurring anatoxin-a from the blue-green algae *Anabaena flos-aquae*. *Toxicon* **27**: 1289–1296
- Harada K-I, Matsuura K, Suzuki M et al** (1990a) Isolation and characterization of the minor components associated with microcystins LR and RR in the cyanobacterium (blue green algae). *Toxicon* **28**: 55–64
- Harada K-I, Ogawa K, Matsuura K et al** (1990b) Structural determination of geometrical isomers of microcystins LR and RR from blue-green algae by two-dimensional NMR spectroscopic techniques. *Chem Res Tox* **3**: 473–481
- Heyes MA** (1960) An introduction to electronic theory of organic compounds. Georg G Harrap and Co Ltd, London –Toronto –Wellington – Sydney
- Himberg K** (1989) Determination of anatoxin-a, the neurotoxin of *Anabaena flos-aquae* cyanobacterium, in algae and water by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr* **481**: 358–362
- Hogan JC** (1996) Directed combinatorial chemistry. *Nature* **387**, Suppl **7**: 17–19
- Ingold CK** (1969) Structure and metabolism in organic chemistry. Cornell University Press, Ithaca – London
- Kice JL, Marvell EN** (1974) Modern principles of organic chemistry: In introduction, Second edition. Collier Macmillan Publ, New York and New Macmillan Publishing Co Inc, London
- Kirpenko YA, Sirenko LA, Orlovsky VM, Lukina LF** (1977) Toxins of blue-green algae and the mammal organism. Naukova Dumka Publ, Kiev
- Kurchii BA., Koydan GN** (1985a) What regulate the growth regulators? *Khimiya i Zhizn (Chemistry and Life, Moscow)* **N 2**: 36–39
- Kurchii BA., Koydan GN** (1985b) The mechanisms of action of growth regulators. *Khimiya i Zhizn (Chemistry and Life, Moscow)* **N10**: 68–69
- Kurchii BA** (1990) Possible reactions of ethylene oxidation and formation of free radicals. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev)* **22**: 445–454
- Kurchii BA** (1993) Functional-reactive groups of bioregulators. *Fisiologia i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii (Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev)* **25**: 82–92
- Kurchii BA** (1996a) Chemical structure of descriptors with an active hydrogen atom in certain bioregulators. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal (The Ukrainian Biochemical Journal, Kiev)* **68**: 3–13
- Kurchii BA** (1996b) Activated atom of hydrogen as a factor of the pharmacological activity of drugs. *Zhurnal Akademii Medychnykh Nauk Ukrainy (Journal of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev)* **2**: 682–688
- Lazar M, Ruchly J, Klimo V et al** (1989) Free radicals in chemistry and biology. CRC Press Inc, Boca Raton – Florida
- Mahmood NA, Carmichael WW** (1986) Paralytic shellfish poisons produced by the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* NH-5. *Toxicon* **24**: 175–186
- Namikoshi M, Rinehart KL, Dahlia AM et al** (1989) Structure and biosynthesis ADDA, the unique C20 amino acid of blue-green algal hepatotoxins. *Tetrahedron Lett* **30**: 4349–4352
- Ojanpera L, Vuori E, Himberg K et al** (1991) Facile detection of anatoxin-a in algal material by thin-layer chromatography with fast black K salt. *Analyst* **116**: 265–267
- Petsko GA** (1996) For medicinal purposes. *Nature* **384** Suppl **7**: 7–9
- Pryor WA, ed,** (1976) Free radicals in biology. Volume 1. Academic Press, New York – San Francisco – London
- Rinehart KL, Harada KI, Namikoshi M et al** (1988) Nodularin, microcystin and the configuration of Adda. *J Am Chem Soc* **110**: 8557–8558
- Rinehart KL, Namikoshi N, Choi BW** (1994) Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (blue-green algae). *J Appl Phycology* **6**: 159–176
- Sivonen K, Himberg K, Luukkainen R et al** (1989) Preliminary characterization of neurotoxic blue-green algal blooms and strains from Finland. *Toxicity Asses* **4**: 339–352
- Skulberg OM, Carmichael WW, Anderson R et al** (1992) Isolation and characterization of homoanatoxin-a, a potent neurotoxin from the freshwater bloom-forming blue-green algae (blue-green alga) *Oscillatoria*. *Env Tox Chem* **11**: 321–329
- Tribble DL, Aw TY, Jones DP** (1987) The pathological significance of lipid peroxidation in oxidative cell injury. *Hepatology* **7**: 377–387

Received 02.04.1998

ЗАКЛЮЧЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Биологические мембраны контролируют многие физиологические процессы, такие как межклеточные взаимодействия, деление, рост и дифференциацию клеток. От физиологического состояния мембран зависит функционирование и патология клеток, тканей, целостного организма. В настоящее время общепризнано, что регуляторные свойства мембран определяются липид-белковыми взаимодействиями в самой мембране. В мембранных структурах клеток липиды участвуют в передаче внутриклеточных и трансмембранных сигналов, в регулировании активности ферментов, в транспорте ионов и воды. Регуляторное влияние биологических мембран осуществляется, главным образом, двумя путями: 1) регулированием проницаемости мембран для воды и метаболитов и 2) регулированием активности мембраносвязанных ферментов. Поэтому изменение физико-химических свойств мембран может оказывать существенное влияние на биохимические процессы, прежде всего в самих мембранах, а затем и на функционирование клетки как целостной структуры.

Изменение физико-химических свойств мембран может происходить под воздействием как химических (окислители или восстановители), так и физических (различные виды полей и излучений) факторов. Обычно в клетке окислительно-восстановительные реакции как ферментативно, так и с участием различных низкомолекулярных веществ, находится в динамическом равновесии. Равновесие между окислителями и восстановителями, которое не определяется как эквимолярное соотношение этих противоположного действия веществ, и определяет физиологическое состояние клетки. Изменение любой из этих групп в сторону уменьшения или увеличения ведет к изменению окислительно-восстановительных реакций, к нарушению установившегося функционального состояния клетки, известного под названием патологии.

Перекисное окисление липидов происходит постоянно в норме и контролируется как ферментативно, так и с помощью различных низкомолекулярных веществ. При этом оказалось, что как резкая активация свободнорадикальных процессов, так и их резкое ингибирование ведут к изменению физиологического состояния клеток как у растений, так и у животных. Длительная активация свободнорадикального окисления, как правило, ведет к необратимым патологическим процессам в клетках.

Генерирование *in vivo* различных типов свободных радикалов возможно в таких реакциях: одноэлектронного окисления молекул различными химическими агентами; фотовосстановлением; реакцией с пероксильными радикалами, образующимися *in situ* термально или под воздействием ультрафиолетовой радиации; разложением перекисей; воздействием ультрафиолетовых излучений, магнитных и электрических полей; ферментативным окислением; электрохимическим восстановлением или окислением; электронным обменом при взаимодействии с другими свободными радикалами.

Все биологически активные вещества, изменяющие физиолого-биохимические процессы в клетке, нами объединены в две группы: оксиданты и антиоксиданты. Теоретически для всех экзогенных или эндогенных веществ, изменяющих физиолого-биохимические процессы *in vivo*, присущи общие черты: в малых дозах они стимулируют, а в высоких – ингибируют биохимические процессы. Для многих веществ такое поведение уже установлено. Однако наблюдаемые различия в биологическом действии могут быть обусловлены несколькими причинами: 1) наличием функционально активных групп с активным атомом водорода при атоме углерода или азота; 2) наличием ненасыщенных групп; 3) процессами поступления, передвижения, метаболизации и выведения из клетки (ткани). При этом одни и те же вещества в адекватных концентрациях, но в различных типах клеток, будут проявлять различный биологический эффект.

Различный биологический эффект одного и того же вещества исследователи попытались объяснить с позиции рецепции гормонов. При этом исходили из наблюдений зависимости биологического действия вещества от его связывания с компонентами клетки. На основе этих фактов было и высказано предположение, что для действия гормона необходимо его связывание с какими-то веществами на мембране или в клетке мишени. Специфические места связывания регулятора были названы “рецепторами”. Рецепторами гормонов являются макромолекулы (Rohde and Dorner, 1986), которые могут специфически узнавать вещества-гормоны, связывать их не ковалентно и обратимо с высоким сродством проведения гормонального сигнала через эффекторную систему и вызывать характерное для данного гормона биологическое действие. Узнавание осуществляется по принципу ключа-замка. Как и где происходит связывание, генерирование сигнала вследствие такого связывания зависит от природы самого гормона. Главным аргументом в пользу наличия рецепторов являются данные о связывании гормонов с неизвестными веществами клетки. При этом частота связывания или количество молекул гормона связанных с “рецептором”, как правило, коррелирует с биологическим эффектом, вызываемым данным гормоном (биорегулятором). Отсюда делается вывод, что чем больше молекул гормона

связалось с рецептором, тем сильнее выражено действие гормона, который после селективного связывания с мембранными рецепторами и действия через внутриклеточные посредники (типа цАМФ) управляет различными функциями клетки.

Однако, на мой взгляд, имеются серьезные бреши в теории рецепции гормонов. Абсурдным выдается наличие (на “все случаи жизни”) в клетке такого большого количества рецепторов. Ведь огромное количество различных по структуре веществ влияют на жизнедеятельность клетки, и в больших концентрациях, как правило, с летальным исходом. Не дает она прямого и четкого ответа на факт трехступенчатого биологического ответа клеток (стимуляция → ингибирование → гибель) в зависимости от концентрации. Не объясняет она почему один и тот же биологический ответ можно вызвать не только веществами совершенно различного строения, к тому же различными концентрациями, но и различными физическими факторами. Нет четкого ответа с позиции описания химического поведения вещества и рецептора когда, например, такая незначительная замена как замещение водорода на метильную группу делает вещество инертным или мало активным. Наконец открытым остается вопрос: “А что же все-таки первично: связывание препарата и его действие, или сначала действие, а потом связывание?”

Я не отрицаю наличие таких веществ на мембранах или в цитозоле клетки. Однако это могут быть как белковые, так и небелковые соединения, в том числе и ферменты, активные центры, коферменты или структуры которых, находясь в окисленном состоянии, способны окислять, т.е. активировать биорегулятор. Под активированием я понимаю процесс перевода вещества в свободнорадикальное состояние при котором реакции протекают без энергии активации или при очень незначительной ее величине. Из изложенного следует также, что связывание или рецепция биорегуляторов может быть закономерной (иногда также случайной) химической реакцией веществ в свободнорадикальном состоянии с веществами клетки, т.е. следствием активирования биорегулятора, а не процессом его активации. С позиции свободнорадикального активирования биорегуляторов, взаимодействия свободных радикалов и антиоксидантов (тушителей свободных радикалов) я и попытался объяснить концентрационные зависимости в действии биорегуляторов. С этих позиций клетке абсолютно не нужно иметь так много рецепторов, а достаточно нескольких типов “оксидазных систем”.

Имеется достаточно экспериментальных данных свидетельствующих о том, что мембранные липиды могут действовать как природные оксиданты и антиоксиданты. Биологическая активность жирных кислот липидов обусловлена наличием в них ненасыщенных связей. При окислении липидов образуются как оксиданты (окислители), так и антиоксиданты. К оксидантам можно отнести этилен, малоновый диальдегид и свободные радикалы, образующиеся вследствие присоединения внутриклеточных метаболитических радикалов к отдельным ненасыщенным связям. К антиоксидантам можно отнести, прежде всего, некоторые простагландины, например $PGF_{2\alpha}$. Таким образом, уже сама мембрана является связующим звеном между внутренней и внешней средой. Она способна как защищать себя от неконтролируемых ферментами окислительных процессов, так и продуцировать вещества окислители, способные через целенаправленное окисление собственных веществ тормозить нежелательные биохимические реакции и, таким образом, предотвращать появление необратимых изменений.

Резкое увеличение образования этилена под воздействием различных как физических, так и химических стрессов возможно вследствие разложения некоторых соединений, например, фосфатидилхолина или сфингомиелина в реакции по Гофману или вследствие свободнорадикальных реакций.

В предложенных читателю статьях мы не рассматриваем подробно влияние различных физических и химических факторов на образование и выделение этилена клетками растений и животных. Дело в том, что нам не удалось обнаружить специфичности в действии различных физических факторов на образование и выделение этилена за пределы клетки. Поэтому в оптимальных условиях жизнедеятельности растений и животных этилен образуется преимущественно ферментативным путем и, к тому же, в небольших количествах. В стрессовых же состояниях под воздействием физических и химических факторов преобладает неферментативный путь образования этилена (Курчий, 1992).

Причины резкого увеличения выделения этилена под воздействием стрессов неизвестны. Интересно было бы это явление назвать целенаправленным ответом на внешнее воздействие. Однако, поскольку стрессы сопровождаются снижением эндогенного содержания антиоксидантов и синтетических возможностей клетки, но в то же время и увеличением интенсивности протекания неконтролируемых (неферментативных) свободнорадикальных процессов, повышение скорости образования этилена ферментативным синтезом должно быть незначительным. Кстати, и с точки зрения энергетических возможностей клетки, это также маловероятно из-за снижения количества АТФ. Следовательно, образование этилена в условиях стресса в больших количествах может происходить вследствие деструкции биополимеров и, в первую очередь, биомембран.

Биологическим мембранам свойственна высокая степень асимметрии, которая создается различиями в ионном составе, окружающем мембрану, распределением фосфолипидов, белковым окружением и др.

Липиды играют важную роль в поддержании нативной конформации мембранных ферментов и контролируют взаимоотношения между субъектами внутри олигомерных комплексов. При этом фосфолипиды вовлечены в процесс транспорта ионов через мембранный липидный барьер и обеспечивают избирательную проницаемость мембран.

Удаление липидов, в первую очередь фосфатидилхолина и фосфатидилинозитола, например, вследствие активации перекисного окисления под воздействием стресса, может приводить к агрегации белка и потере ферментативной активности мембран. К тому же, для поддержания мембранных ферментов в активном состоянии необходимо наличие в мембране определенных липидов и в определенном количестве. Важен также и характер движения углеводородных цепей липидов, входящих в состав мембраны, т.е. характер изменения плотности упаковки липидного бислоя. Активность фермента находится также в жесткой зависимости от липид-белкового взаимодействия, т.к. образование межбелковых сшивок вследствие взаимодействия со свободными радикалами также ведет к снижению его активности. Образование сшивок мембранных белков ведет к уменьшению вращательной и латеральной подвижности ферментов. Таким образом, активация перекисного окисления липидов, белков, углеводов, нуклеиновых кислот должна резко снижать долю этилена, образующегося ферментативным путем.

Образующийся, в первую очередь из биомембран, в экстремальных условиях этилен, переходя в свободнорадикальное состояние (Курчий, 1988), инициируя дальнейшее окисление мембран, может выполнять функцию сигнализатора опасности для клетки в целом, а также для других соседних клеток. Например, резко ингибируя активность ферментов, он может предотвращать “ненужные или ошибочные в данный момент” синтеза биополимеров и, таким образом, уменьшать количество тиражируемых биосинтетических ошибок (Курчий, 1992). Однако в небольших количествах (относительные величины неизвестны) этилен, превращаясь в клетке в свободные радикалы, будет активировать работу ферментов (например, синтезирующих АТФ и антиоксиданты, регулирующих проницаемость мембран и др.), что внешне будет выражаться в снижении отрицательного влияния физического или химического стресса. В то же время активность цитоплазматических ферментов может регулироваться, по-видимому, посредством изменения концентрации ионов Ca^{2+} или других элементов. Концентрация ионов Ca^{2+} в цитоплазме регулируется ферментативно или пассивно вследствие изменения конформации и проницаемости мембран, например, при активации перекисного окисления липидов. Взаимодействие Ca^{2+} с белками (ферментами, конституционными белками) мембран приводит к конформационным перестройкам и изменению их функциональной активности. Таким образом, в клетках существуют различные механизмы регуляции активности ферментов: посредством изменения липидного состава мембран, концентрации различных ионов, в том числе Ca^{2+} , а также свободных радикалов и антиоксидантов.

Защитное действие липидов осуществляется двумя способами: 1) активацией антиоксидантной системы для нейтрализации свободных радикалов и 2) активацией окислительных систем. Обычно обе эти системы объединены общим термином иммунная система.

Антиоксидантная система включает продуцирование различных веществ. Главной чертой строения антиоксидантов является наличие активного атома водорода у гидроксильной группы, “хвоста”, неароматического кольца и ненасыщенных карбон-карбонных связей. Характерным свойством, образовавшегося первичного свободнорадикального центра, является его способность мигрировать в хвост (боковой радикал), где имеются стерические препятствия для взаимодействия его с другим веществом. Одновременно идет миграция (перегруппировка) двойной связи. Отщепление второго атома водорода может привести к образованию бирадикала. Внутренняя миграция свободнорадикальных центров ведет к образованию химически инертного соединения.

Воздействие различных окислителей (свободных радикалов) на мембранные структуры клеток может вызвать, прежде всего, изменения в липидном составе мембран (рис. 1). Окисление липидов ведет не только к изменению их физико-химических свойств, но и к разрушению. При окислении фосфатидилхолина и сфингомиелина может образовываться этилен, который может служить также перехватчиком свободных радикалов, образуя менее подвижные радикалы. В случае же свободнорадикальной активации он может также действовать как окислитель.

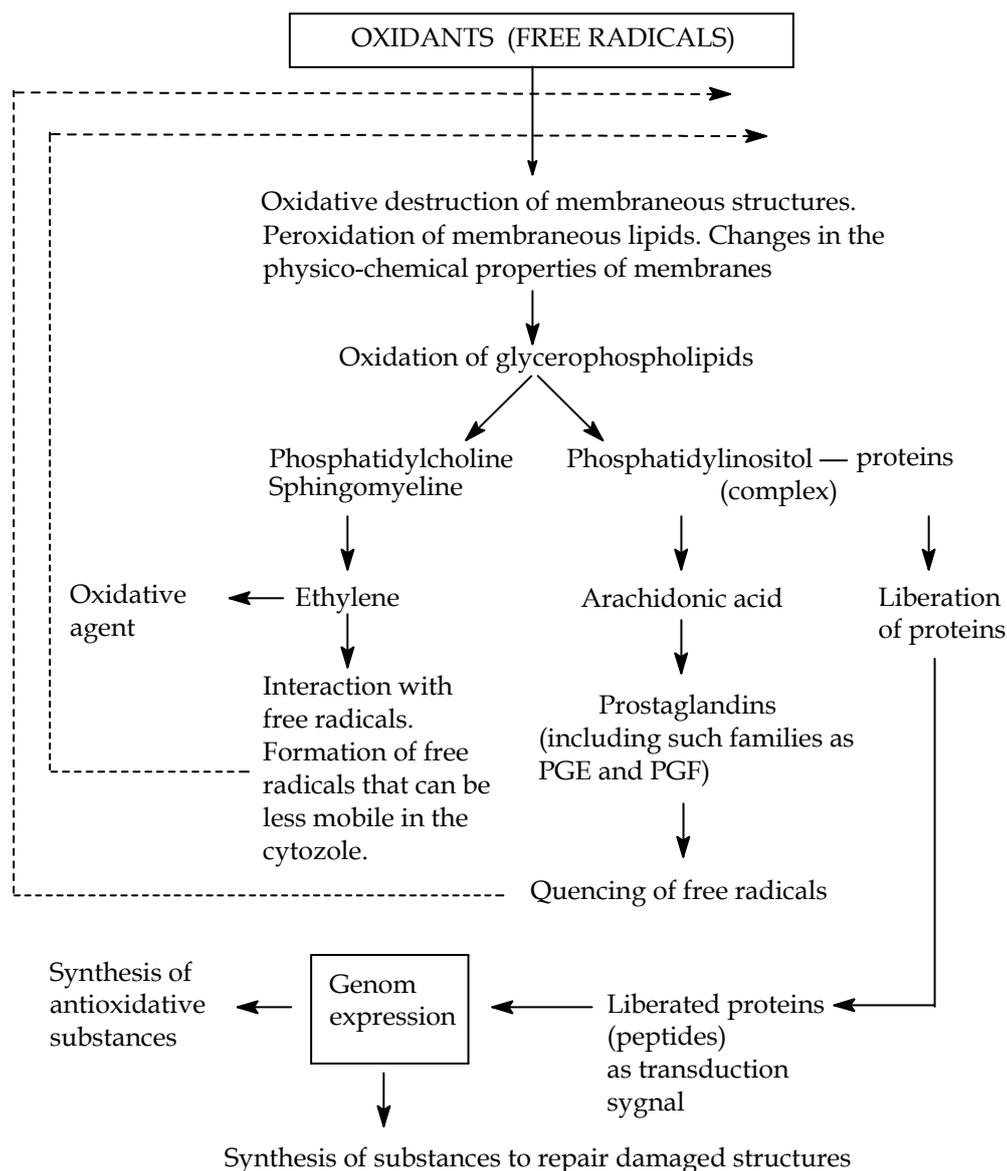


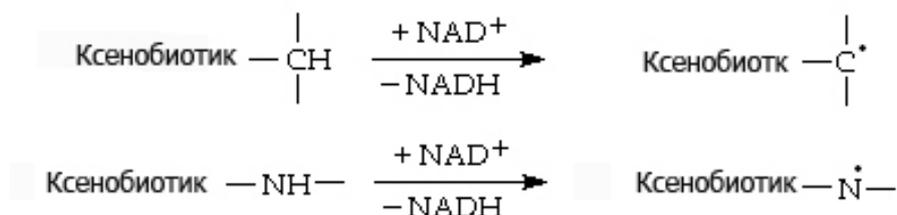
Рис.1. Гипотетическая схема для описания участия мембранных липидов в защитных механизмах клетки.
Fig. 1. Hypothetical scheme describing the role of membraneous lipids in the defence mechanism of cell.

Однако в самой мембране “предусмотрен” механизм антиоксидантной защиты путем превращения фосфоинозитола в арахидоновую кислоту, а затем в простагландины групп PGE и PGF. Быстрое, не требующее энергетических затрат, образование простагландинов и может являться первичным механизмом защиты мембран от действия окислителей (свободных радикалов). Аналогичный механизм существует в растениях, когда абсцизовая кислота образуется из каротиноидов.

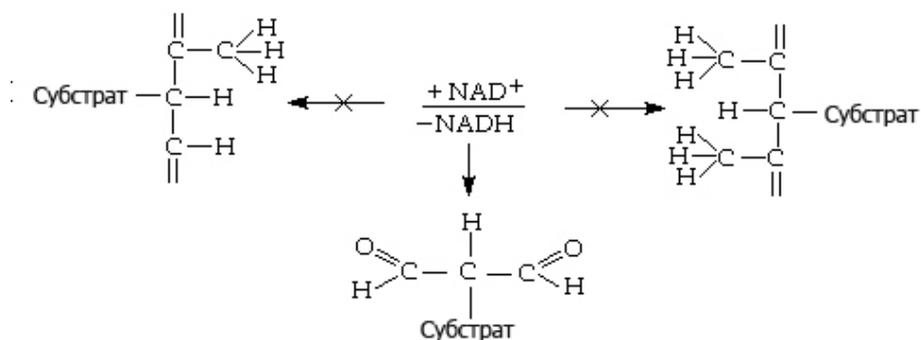
Трансформация биологически активных веществ в свободные радикалы возможна вследствие присоединения эндогенного метаболитического радикала, электронного окисления, отщепления атома водорода. Отщепление атома водорода возможно двумя путями: при взаимодействии с эндогенными метаболитическими радикалами или ферментами, имеющими кофактор в окисленном состоянии, который способен отщепить атом водорода. Возможно, это и могут быть вещества, известные в литературе под названием рецепторов, то есть таких, после контакта с которыми потенциально активные вещества становятся биологически активными (трансформируются в свободные радикалы). Однако здесь имеется один важный момент: обнаруживаемые конъюгаты биологически активных веществ с веществами точно не установленной природы могут быть вовсе не активаторы биорегуляторов, а вещества прореагировавшие с биорегулятором в тот момент, когда он уже был в свободнорадикальном состоянии. Конъюгирование же биорегулятора в свободнорадикальном состоянии с внутриклеточными веществами может восприниматься как процесс его активации, тогда как в действительности это может быть

противоположный процесс – его нейтрализации или дезактивации. Это обусловлено тем, что исследователи изучают последствия действия свободных радикалов в клетках, то есть нарушения или отклонения метаболических процессов от усредненной нормы. Как правило, эти нарушения часто коррелируют с наличием биорегулятора в “связанном состоянии” с неизвестными веществами. Обычно, чем сильнее повреждение тканей, тем большее количество связанного биорегулятора обнаруживается. Это и натолкнуло исследователей на мысль, что действие биорегуляторов зависит от их активирования путем связывания с рецепторами. В действительности усиление процессов активирования было, и оно было до появления видимых повреждений. Следовательно, увеличение количества конъюгатов биорегуляторов с неизвестными компонентами клетки может быть следствием их взаимодействия в свободнорадикальном состоянии с образованием, как ни парадоксально, уже неактивных либо менее активных биорегуляторов.

Возможными кандидатами, выполняющими роль рецепторов в активации БАВ, могут быть ферменты оксидоредуктазы (дегидрогеназы и оксидазы). Отщепляя атом водорода от >CH– или –NH– групп, эти ферменты могут активировать любые вещества, содержащие эти группы и, таким образом, инициировать цепочку окислительно-восстановительных реакций:



Поскольку у потенциальных биорегуляторов существуют ФАГ и, зачастую, они совпадают с асимметричным центром, то эти ферменты также проявляют стерическую специфичность. Поэтому они легко будут атаковать водород того ксенобиотика (гормона), приближению к электронному облаку которого не препятствуют соседние радикалы. Следовательно, стереоспецифичность фермента, т.е. его способность атаковать субстрат, принадлежащий к D– или L–формам веществ жестко детерминированы стерическим строением самого субстрата:



Дело в том, что стерическим положением радикалов и перекрытием донора реакции атома водорода и можно объяснить предпочтение в метаболизации одной из двух L– или D–форм веществ. В случае присутствия вместо атома водорода метильной группы различие между этими формами менее однозначно, так как отщепление атома углерода требует больших энергетических затрат. Это значит, что разрыв связи C–C, даже при ее доступности, не может быть осуществлен атакой любого свободного радикала.

Известно, что реакции, катализируемые большинством ферментов, обратимы, т.е. фермент может катализировать реакции в обоих направлениях. Это значит, что активный центр фермента может связывать как субстрат, так и продукт реакции. Молекулы субстрата и продукта реакции могут отличаться по структуре. Однако, как окисление субстрата, т.е. перенос водорода с углерода или азота на NAD⁺, так и обратная реакция окисления NADH с отщеплением водорода, вполне реальны. Следовательно, специфичность фермента может определяться природой кофермента, т.е. будет ли он иметь в активном центре металл, пиридиннуклеотид или флавопротеид, иначе говоря, величиной энергии активации, необходимой для расщепления той или иной связи. Следовательно, одни ферменты могут отщеплять только электроны, другие – атом водорода, а третьи – иные атомы или группы атомов.

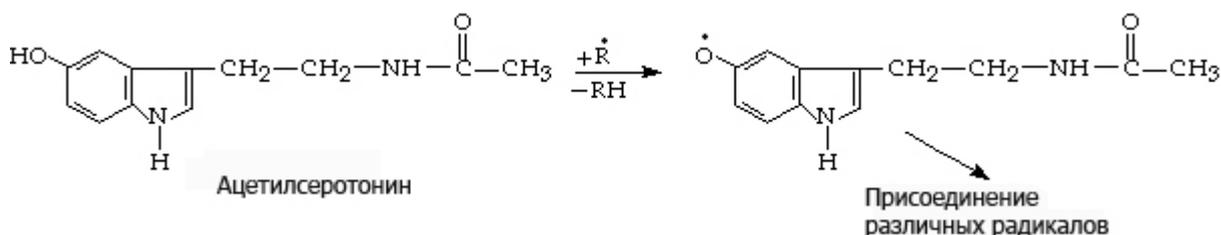
Например, ферменты, содержащие металлы переходной валентности в качестве активного центра, легко отщепляют электроны; NAD^+ , ФП и КоQ – атомы водорода.

Гистамин, имеет в своей структуре ненасыщенные связи и его активация может происходить в реакции присоединения других эндогенных метаболитических свободных радикалов. В то же время имеется много препаратов, которые хотя и имеют в своих структурах ненасыщенные группы, но действуют противоположно, т.е. являются антагонистами H_2 -рецепторов. Кажущиеся противоречия в механизме действия этих веществ могут быть объяснены с позиций последствий различной степени окисления ключевых веществ клетки (мембраны) как это показано на рис. 1 (Курчий, 1988). В этом случае гистамин, активируя процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), активирует и секрецию желудочного сока. В соответствии с этой схемой, резко активируя ПОЛ в больших концентрациях, он уже будет ингибировать эти процессы. Вещества симетидин, ранитидин, фамотидин и низатидин, действуя как антагонисты гистидина, т.е. ингибируя выделение желудочного сока, в меньших концентрациях активируют ПОЛ в большей степени, что может соответствовать большей концентрации гистамина. В то же время эти же препараты в меньших концентрациях должны действовать аналогично гистидину, т.е. усиливать секрецию желудочного сока. Эти процессы определяются активностью свободных радикалов: более активный радикал для достижения одинакового биологического эффекта требует меньшей концентрации в сравнении с менее активным.

Возможно, следует обратить внимание на такие физиологические патологии как различные воспалительные процессы. Воспаление является комплексом местных реакций на нарушение целостности органелл (клеток) при различного рода воздействиях, таких как, бактериальная инфекция, химические или физические повреждения, аллергические реакции и т.д. Обычно ответная реакция сопровождается повышением проницаемости капилляров, местной вазодилатацией и скоплением лейкоцитов. Характерной особенностью воспалительного процесса является накопление в зоне воспаления различных биологически активных веществ, например, стероидных гормонов и лейкотриенов. Например, простагландины, в частности PGE_2 , концентрируются в очагах воспаления в больших концентрациях. Такое явление вполне закономерно, если учесть тот факт, что патологические процессы, как правило, сопровождаются усилением перекисного окисления липидов клеточных мембран и увеличением уровня свободных радикалов в клетках. Ответная реакция и есть активация синтеза, или притока из других частей в эту зону антиоксидантов, в том числе простагландинов PGE_2 , которые и нейтрализуют свободные радикалы.

Аналогичная закономерность характерна и для растительных организмов, у которых под воздействием различных физических и химических стрессов возрастает эндогенное содержание абсцизовой кислоты. Исходя из этих фактов многие исследователи и приписывали ингибиторную роль в физиологических процессах абсцизовой кислоте, которая базировалась на отдельных модельных опытах по изучению экзогенной абсцизовой кислоты как ингибитора ростовых процессов. Тем не менее, абсцизовая кислота также может являться эффективным антиокислителем, нейтрализующим свободные радикалы в клетке. И в этом случае ее увеличение является необходимым процессом и ответной реакцией на увеличение эндогенного уровня окислителей в цитозоле и мембранах.

Известно, что одним из наиболее выраженных эффектов мелатонина является торможение секреции гонадотропинов. Особенно это характерно при воздействии различных стрессов. При этом реакция эндокринной системы такова, что количество мелатонина и секреция ряда гормонов при стрессе возрастает (глюкокортикоиды надпочечников, альдостерон, вазопрессин, гормон роста), тогда как гонадотропинов и инсулина снижается. Поскольку мелатонин отличается от ацетилсеротонина наличием метильной группы, то можно предположить, что увеличение количества мелатонина может быть следствием метаболитических превращений, как более физиологически сильнодействующего вещества, ацетилсеротонина:

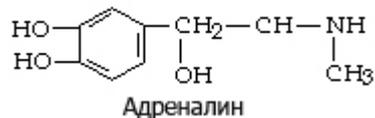
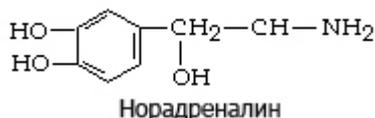
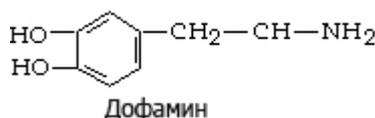
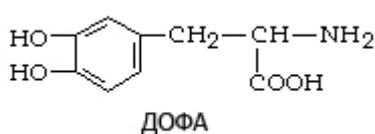
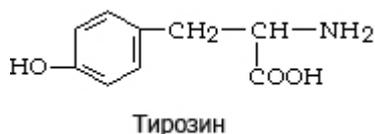


Поведение же этих веществ в тканях будет различно вследствие наличия OH -группы, которая и может определять передвижение ацетилсеротонина в гидрофобной и гидрофильной среде в разной степени. Мелатонин, как липофильное соединение, будет иметь большее сродство к липидной фазе мембран, где его действие и будет более выраженным.

Таким образом, механизмы иммунной защиты реализуются в трех направлениях: 1) снижением количества (нейтрализация) окислителей посредством увеличения количества антиоксидантов; 2) снижением количества антиоксидантов посредством увеличения количества окислителей; 3) усилением синтеза или новообразованием веществ, способных инициировать окисление липидов и других веществ и, таким образом, разрушать чужеродные тела.

В литературе значительное внимание уделяется цАМФ, как низкомолекулярному посреднику в действии различных агентов. Такое внимание цАМФ не случайно и основано оно, прежде всего, на данных количественного определения этого соединения под воздействием как химических, так и физических стрессов. Тем не менее, доля случайности все-таки имеется ибо, если провести еще более скрупулезные исследования, то несомненно можно обнаружить и другие биологически активные вещества и, возможно, даже в больших концентрациях нежели цАМФ. Действительно, цАМФ является биологически активным соединением, но изменение его концентрации обусловлено иным фактором и может являться уже следствием действия этого фактора (стресса). При этом изменение проницаемости мембран и нарушение компартментации ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} только усиливается цАМФ. Такие вещества, например, как кортикотропин (АКТГ), тиреотропный гормон (ТТГ) являются в активированном состоянии инициаторами ПОЛ мембранных структур. Другое дело, что цАМФ, а также различные низкомолекулярные соединения, например, тромбоксины или перекиси, в том числе и малоновый диальдегид, обладая меньшими размерами, более подвижны, а следовательно могут проникать как в различные структуры самой клетки, так и в другие клетки (ткани) и окислять там различные соединения.

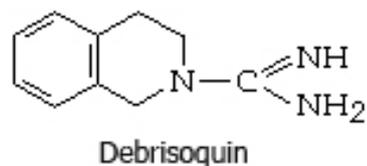
Наблюдаемые часто противоположные эффекты могут быть обусловлены двумя главными причинами: активностью соединения с свободнорадикальным состоянием и его концентрацией в месте действия. Концентрация любого ксенобиотика определяется его физико-химическими свойствами, т.е. липофильностью или гидрофильностью. Этим и можно объяснить различные физиологические эффекты близких по структуре соединений. Например, такие соединения как тирозин, 3,4-дигидроксифенилаланин (ДОФА), дофамин, адреналин и норадреналин, имея похожие структуры, проявляют различный биологический эффект.



В этом случае дофамин, адреналин и норадреналин являются более гидрофобными соединениями, т.е. с большим сродством к липидной фазе мембранных структур. Следовательно, липофильные соединения, попадая в липидную фазу мембраны, могут долго функционировать окисляясь-восстанавливаясь, нарушая ее целостность. В этом случае клетка не может метаболизировать эти соединения по причине того, что большинство ферментов, в частности оксидаз, находятся на поверхности мембран.

Стабилизация свободных радикалов оказалась ключевым звеном в реализации потенциальной биологической активности веществ. При этом, чем белее стабилизирован радикал, тем выше его токсичность. Так, например, близкие по структуре местные анестетики лидокаин, хлоркаин и тетракаин, различаясь только боковыми радикалами, резко различаются по величине LD_{50} для мышей. Наиболее токсичным оказался тетракаин, стабилизация свободного радикала которого достигается как за счет бокового радикала $\text{C}_4\text{H}_9\text{NH}$, так и за счет незамещенного бензольного кольца. Меньшая токсичность хлорпрокаина обусловлена заместителем в бензольном кольце.

Для многих биологически активных веществ, например блокаторов адренергических нейронов, которые тормозят высвобождение медиатора норадреналина из адренергических нервных окончаний характерно наличие в структуре либо ненасыщенных связей (гуанидиновые группы), либо четвертичного атома азота. При разложении четвертичных аммониевых оснований в реакции Гофмана образуются олефины. Следовательно биологическая активность этих соединений обусловлена наличием ФАГ с ненасыщенными функциями.



Интересно отметить, что в больших концентрациях эти препараты оказывают местное анестезирующее действие. Если же эти соединения блокируют высвобождение медиатора норадреналина из адренергических нервных окончаний, то они должны действовать как самостоятельные агенты. Следовательно, мишенью для действия наркотических обезболивающих препаратов, в том числе и опиоидных пептидов, должны быть постганглионарные нервные волокна.

Накоплено много экспериментальных данных, когда какое-то хорошо изученное действие одного вещества снимается воздействием другого. Например, действие этилена снималось обработкой 2,5-норборнадиена, СО или нитрата серебра (Burg and Burg, 1967; Beyer, 1979; Sisler and Yang, 1984). Таких примеров можно привести много. Объяснение этому явлению было предложено в конкурентном взаимодействии с рецепторами этилена. Возможно, что здесь имеют место чисто концентрационные зависимости действия свободных радикалов, так как различные эффекты можно получить меняя только концентрацию одного и того же вещества.

Известно большое количество веществ, названных вторичными продуктами, которые синтезируются как растительными, так и животными организмами. Хотя роль этих веществ для организмов продуцирующих их не совсем ясна, многие из них проявляют сильные биологические эффекты и являются опасными для других видов. Физиологическая роль многих вторичных продуктов хорошо установлена. В этой связи хотелось бы обратить внимание на такие вещества как фенолы (полифенолы) растений, активно функционирующие в период формирования клеточных оболочек растений. Судьба этих соединений интересна тем, что после отдачи атомов водорода другим веществам и, таким образом, превратившись в свободные радикалы, они выводятся из цитоплазмы в оболочку, где путем рекомбинации происходит их полимеризация в лигнины. Таким образом, фенолы, с одной стороны, являются оксидантами, а с другой – усиливают жесткость клеточной оболочки растений. В связи с тем, что миграция атома водорода на кислород с бензольного кольца невозможна, то эти соединения могут либо окислить другое вещество, т.е. отщепить водород, или конъюгировать с этим веществом, образовав менее подвижный конъюгат, а значит и менее биологически активный агент. Чаще всего происходит взаимодействие свободных радикалов этих соединений, т.е. их нейтрализация как это показано на примере катехина, метилевгенола и бататазина I (рис. 2).

Хочется обратить внимание на такой класс биорегуляторов как полипептиды. Большинство полипептидов не могут проникать в организм через желудочно-печеночный тракт, а значит не могут достигать клеток-мишеней. Следовательно, их вводят с помощью инъекций. Использование этих соединений является перспективным потому, что они, имея несколько функционально-активных групп, значительно медленнее подвергаются метаболическому разрушению и, следовательно, могут функционировать значительно дольше в организме. В то же время, при наличии одной функционально активной группы, после отщепления активного атома водорода, в случае присоединения не атома водорода, а другого радикала, может привести к резкому снижению биологической активности вещества или его полной инактивации. При наличии в веществе нескольких функционально активных групп снижение биологической активности станет заметно при полной инактивации всех функционально активных групп.

При использовании антинеопластических веществ более перспективным является прямая их инъекция в больной орган. Обусловлено это тем, что различные ткани по разному метаболизируют одно и то же вещество. К тому же передвижение веществ существенно отличается в различных тканях. Наличие и спектр ферментов также определяет скорость активации как эндогенных, так и экзогенных потенциально биологически активных веществ.

Многочисленные данные свидетельствуют о влиянии биорегуляторов, а также различных физических факторов на экспрессию генов. В связи с этим, мы вкратце остановимся на возможных механизмах регуляции экспрессии генов. В настоящее время общепризнано, что ген – это последовательность дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК, DNA), несущая информацию об определенном белке. Сейчас известно, что ДНК, находящаяся в хромосомах, организована в нуклеотидах в виде двойной спирали Уотсона и Крика из антипараллельных цепей (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978). Она имеет форму спирали с диаметром около 20 Å и длиной одного нуклеотида около 3,4 Å.

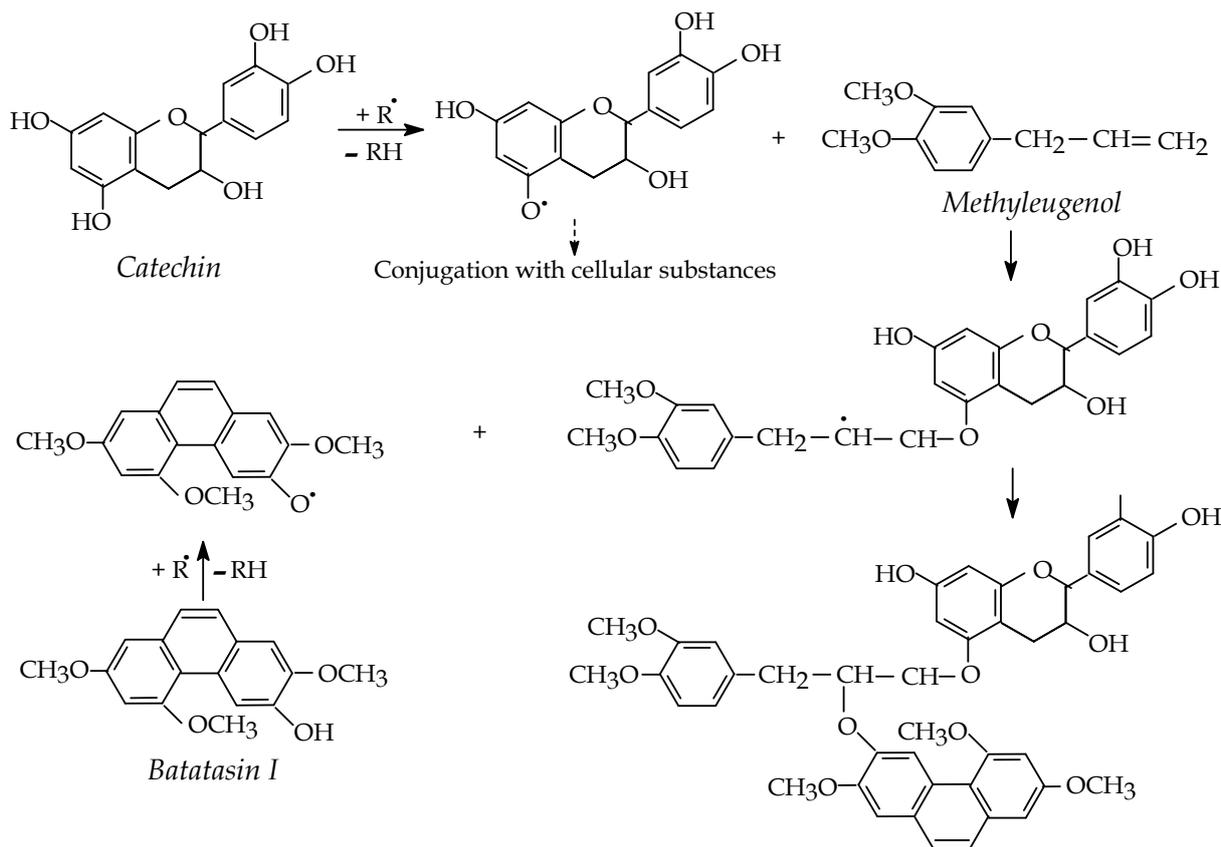


Рис. 2. Возможные пути биотрансформации катехина, метилевгенола и бататазина I.
Fig. 2. Possible ways for biotransformation of catechin, methyleugenol and batatasin I.

ДНК в клетке упакована в хроматине и этот процесс контролируется гистоновыми белками. Гистоны находятся примерно в одинаковом количестве с ДНК. Наиболее хорошо изучено пять основных белков: H3 и H4 (аргинин-богатые), H2A и H2B (умеренно обогащенные лизином), а также H5 (очень богатый лизином). Белки H3, H4, H2A и H2B образуют октамер в виде нуклеосомы, размеры которой составляют примерно $110 \times 110 \times 55 \text{ \AA}$ (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978).

Каждый ген экспрессируется путем образования рибонуклеинового (РНК, RNA) посредника, у которого последовательность нуклеотидов точно соответствует последовательности аминокислот в белке. Двадцать аминокислот, обнаруживаемых в белках, соединяются вместе пептидными связями, образующимися при взаимодействии аминогруппы (NH_2) одной аминокислоты и карбоксильной группы ($COOH$) другой.

Поскольку генетический код триплетен, то каждой аминокислоте соответствует три расположенных рядом основания, названные кодоном. Генетический код считывается как серия триплетов, а белок синтезируется последовательно с одного конца до другого. Последовательность нуклеотидов записывается условно в направлении от 5'-конца к 3'-концу, что соответствует аминокислотной последовательности, записанной в направлении от N-конца к C-концу. Полагают (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978), что первичная экспрессия гена состоит в синтезе матричной РНК (мРНК, mRNA), копирующей одну цепь ДНК. Процесс образования мРНК на ДНК называется транскрипцией, а сбор аминокислот на этой матрице – трансляцией. Трансляция осуществляется на рибосомах, которые прикрепляются к мРНК на 5'-конце и передвигаются вдоль полинуклеотидной цепи по направлению к 3'-концу, транслируя каждый триплет в аминокислоту. По предложению Крика посредником в трансляции служит транспортная РНК (тРНК, tRNA), которая имеет тринуклеотидную последовательность – антикодон. Антикодон комплементарен кодону, соответствующему данной аминокислоте. Каждая тРНК, узнавая свою аминокислоту, при участии аминоацил-тРНК-синтазы связывается с ней и образует аминоацил-тРНК. Аминокислота обычно присоединяется к 2'-ОН-группе. Аминоацил-тРНК, в свою очередь, способна связываться с рибосомой (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978).

Рибосомы представляют собой две субчастицы: большая и малая. При этом большая частица по размерам примерно в два раза больше малой. В одной клетке, например бактерий, может содержаться до 20000 рибосом. Основной особенностью рибосом есть то, что на 60–70% они состоят из рРНК (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978).

И бактериальные рибосомы, и рибосомы эукариот по своей форме сходны. Так, малая бактериальная субчастица представляет собой эллипсоид размерами 55×220×220 Å, а большая субчастица имеет сферическую форму размерами 150×200×200 Å. Цитоплазматические рибосомы млекопитающих отличаются только несколько большими размерами.

Поскольку РНК оказалась посредником между ДНК и белком, то необходимо вкратце остановиться на процессе транскрипции. Считается (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978), что транскрипция происходит в три стадии: инициации, элонгации и терминации. Процесс синтеза РНК осуществляется ферментом РНК-полимеразой, которая, передвигаясь вдоль молекулы ДНК, образует цепь РНК, последовательность в которой детерминируется матрицей. Инициация означает образование комплекса между РНК-полимеразой и ДНК в месте стартовой точки с которой идет включение первого нуклеотида в синтезирующийся транскрипт. Участок ДНК, который отвечает за прекращение синтеза РНК называется терминатором. Общее количество РНК-полимераз в клетке может достигать 7000 (для *E. coli*). При этом синтез мРНК, тРНК и рРНК осуществляется одной и той же полимеразой. Только голофермент (полный фермент), содержащий сигма-фактор может инициировать транскрипцию, тогда как элонгация осуществляется минимальным ферментом. Сигма-фактор придает ферменту способность узнавать специфические мета связывания.

По-видимому, два фундаментальных химических процесса лежат в основе деятельности живых организмов – это реакции окисления и восстановления. Следовательно, как ДНК, так и РНК должны быть экранированы от разрушительного действия эндогенных окислителей. При этом жестким требованием к такой защитной пленке должно быть то, что она сама не должна содержать реактивных групп, способных образовывать ковалентные связи с ДНК. На эту роль могут претендовать нуклеосомы, если хотя бы одна сторона которых построена из полиаминов, обращенных аминогруппами к ДНК. Даже, если ДНК и находится в скрученной форме, где боковые участки ленты подвернуты так, что экранируются активные ее участки в открытом (оголенном) виде, вероятность быть атакованной свободными радикалами очень высока. К сожалению, приведенные в монографиях, модели расположения ДНК вокруг нуклеосом (Alberts et al., 1994; Lewin, 1985; Stent and Calendar, 1978) приводят отрывистые данные о механизмах ее защиты на такой нуклеосоме.

При описании гипотетической модели хранения ДНК в ядре мы должны исходить из того, что как ДНК, так и РНК должны быть защищены какой-то оболочкой от действия различных ферментов и оксидантов, прежде всего низкомолекулярных свободных радикалов. Такие азотистые основания как пурин, аденин, гуанин, пиримидин и цитозин, имея систему ненасыщенных связей являются арилами и, следовательно, не имеют функционально активных групп. В то же время урацил, тимин, рибоза и 2-дезоксирибоза имеют открытые функционально активные группы (рис. 3). Как видно из рисунка у тимина отдельная ненасыщенная связь заслонена (экранирована) метильной группой, но остаются активными два атома водорода при атомах азота.

Если гибридная цепь ДНК-РНК в процессе элонгации защищена от возможной неферментативной атаки внутриклеточными агентами, то ничего не известно как защищена вторая цепь ДНК от случайного взаимодействия с низкомолекулярными веществами или просто с нуклеотидами. Ведь образование связей между нуклеотидами, как это следует из опытов кинетики реассоциации, может происходить и без участия ферментов.

Хромосома является местом хранения ДНК. При этом сосредоточение ДНК в каждой отдельной хромосоме может быть основано на функциональном принципе, когда гены, несущие информацию о белках с близкими функциями, сгруппированы в одной хромосоме. Например, гены, ответственные за синтез мембранных структур, могут быть сосредоточены в одной субдиректории.

Для предотвращения беспорядочного перемещения хромосом по ядру они могут прикрепляться к ядерной мембране через *центромеру* (*centromere*) или *теломеры* (*telomeres*). При этом транскрипция будет происходить с цепочки ДНК, обращенной к центру ядра. Строение хромосомы (Cr) и упаковка в ней ДНК приведены на рис. 4. Вверху показан общий план расположения субдиректорий (Sd) и генов (Gn) в них в виде петель (с целью упрощения рисунка петли нарисованы в виде прямоугольников). При этом кроме промотора (promoter) имеется код хромосомы (a code of chromosome) и код субдиректории (a code of subdirectory). На фрагменте внизу показано расположение ДНК в генах. Предполагаемый механизм хранения ДНК приведен на рис. 5. При отделении цепочки ДНК одного гена от хромосомы вместе с еще двумя нуклеосомами по бокам может образовываться структура диаметром около 30 нм.

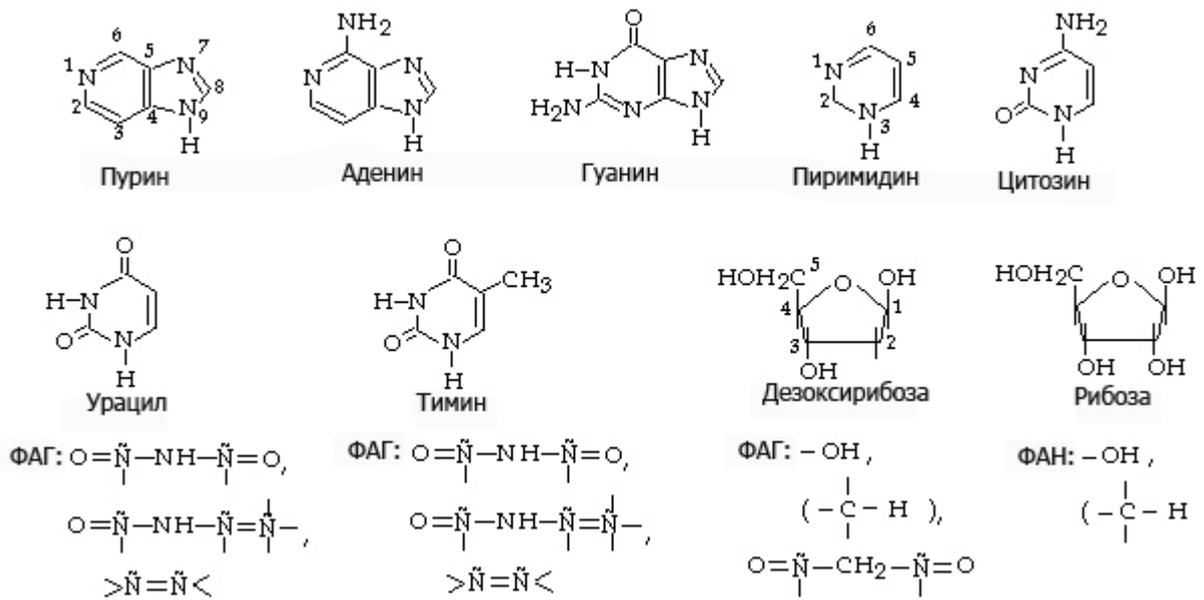


Рис. 3. Азотистые основания (пиримидины и пурины) и сахара (дезоксирибоза и рибоза), входящие в состав нуклеиновых кислот. ФАГ – функционально активные группы.

Fig. 3. The nitrogenous pyrimidines and purine bases, and sugar (deoxyribose and ribose) that form nucleic acids.

Рассмотрим теперь механизм репликации ДНК и транскрипции РНК в связи с предлагаемым расположением ДНК в хромосоме. ДНК сверху, снизу и с двух сторон окружена нуклеосомами (рис. 4 и 5). Если связь нижнего ряда нуклеосом окажется более жесткой, то синтез ДНК для последующей трансформации в РНК будет происходить с участием верхней цепи нуклеотидов. Инициация процесса репликации начинается с расщепления двойной цепочки перед началом гена. После образования двух иницирующих кодонов происходит вскрытие непосредственно тоннеля с ДНК и начинается ее синтез на каждой цепочке. При этом новые нуклеосомы присоединяются к нижней цепочке ДНК сверху, а к верхней снизу. Таким образом ДНК постоянно защищена от внешнего случайного воздействия различных агентов. После выхода фермента ДНК-полимеразы из тоннеля образуется двойной комплект ДНК и нуклеосом. Синтез РНК может быть аналогичен ДНК, но вновь синтезированная ДНК (ген) вытесняется со слоя нуклеосом на поверхность (в полость ядра), где и происходит ее превращение в РНК.

Имеющиеся данные (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978) свидетельствуют, что на одну нуклеосому приходится примерно от 146 до 260 пар нуклеотидов (п.н.). Предположим, что ДНК хранится в тоннеле из нуклеосом в виде четырехугольника (рис. 4 и 5). Электронно-микроскопические

данные свидетельствуют, что диаметр ДНК равняется примерно 20 Å. В действительности он может быть меньше. Для дальнейших рассуждений допустим, что ДНК имеет вид ленты, подкрученной с боков, что внешне напоминает спираль. Подкручивание, возможно необходимо для экранирования ФАГ от возможного случайного взаимодействия с окислителями. Если ДНК имеет вид ленты, то она может быть легко расположена на поверхности нуклеосомы в виде змейки (рис. 4). При этом расчетное количество пар нуклеотидов на одну хромосому увеличится. Мне трудно сказать на каком минимальном расстоянии смогут находиться две ленты (несущие по две цепи), чтобы силы отталкивания не влияли на пространственное положение ДНК. Не зная эту величину, я не могу сказать сколько пар нуклеотидов может вестись на нуклеосоме площадью 110×110 Å.

Поскольку нуклеосома состоит из различных гистонов, то, следовательно, они должны нести различную функциональную нагрузку. Нуклеосома имеет форму прямоугольного параллелепипеда, у которого шесть сторон могут иметь различный аминокислотный состав, и, следовательно, различаться по химическим свойствам. Лицевая и тыльная сторона нуклеосомы (ABCD A'B'C'D'), верхняя и нижняя

(ABA'B' и CDC'D'), а также две боковые (ACA'C' и BDB'D') должны быть близки по химическому составу, сердцевина может состоять из одного типа гистонов (рис. 5).

Мое предположение о непрямом синтезе РНК базируется на химических свойствах этих двух нуклеиновых кислот. Во-первых, с химической точки зрения ДНК содержит только тимин, имеющий активный атом водорода и отдельную ненасыщенную связь. Но ненасыщенная связь заслонена метильной группой, а активный атом водорода обращен внутрь подкрученной ленты. ОН-группы дезоксирибозы деактивированы, а активность атомов водорода резко снижена вследствие конфигурации. Таким образом, в целом ДНК является почти инертной. К тому же теоретически ни ДНК, ни ее окружение не должны содержать функционально активных групп.

РНК, в отличие от ДНК, должна перемещаться внутри клетки и, следовательно, для ее прикрепления и транспортировки необходимо образование более прочных связей. Возможно для этого, двойная связь в тимине демаскируется путем удаления метильной группы, а дезоксирибоза активируется путем введения ОН-группы. Включение готовых нуклеотидов с урацилом и рибозой во вновь синтезируемую двойную цепь ДНК может вызывать ряд осложнений в случае разрыва цепочки материнских нуклеотидов. При этом в ДНК может вклиниться урацил или рибоза со всеми вытекающими последствиями.

Поскольку скорость синтеза РНК очень высокая (до нескольких сот пар нуклеотидов в 1 с), то это значит, что раскручивание спирали ДНК должно происходить с сравнимой скоростью, чтобы обеспечить непрерывный процесс элонгации. Неизвестно, где синтезируются другие виды РНК, в частности тРНК и рРНК. И уж совсем ничего не говорится о том как движется фермент по ДНК, если согласно предположению ДНК намотана вокруг нуклеосомы (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978). К тому же ферменту еще необходимо и непрерывно протискиваться между нуклеосом. Также неизвестно почему скорость синтеза РНК превосходит таковую синтеза ДНК. Правда, высокая суммарная скорость синтеза РНК может быть обусловлена наличием большого числа копий гена, транскрипция которых осуществляется одновременно.

Если блочный принцип транскрипции имеет место, то транскрипция генов одной субдиректории может происходить при наличии кода субдиректории (может быть это есть энгансер) и кода хромосомы даже при отсутствии персональных кодов генов.

Какова же роль ионов Mg^{2+} в стимуляции РНК-полимеразы? Как происходит образование эфирной связи? Имеют ли место здесь окислительно-восстановительные процессы? Если да, то скорость работы РНК-полимеразы, может быть, и обусловлена окислением-восстановлением Mg^{2+} . Столь быстрая работа ферментов требует непрерывного поступления в ядро или новых ферментов, или их коферментов в восстановленном состоянии, что крайне осложнило бы работу фермента. Если фермент имеет более одного активного центра, которые могут быть представлены ионами переменной валентности или коэнзимами NAD, NADP, FMN, FAD, то он может работать так, что при восстановлении, например центра А, он может быть окислен за счет миграции электрона или водорода в другой центр Б. Это можно проиллюстрировать на примере пептидилтрансферазы (Курчий, 1992). Отщепляя атом водорода, находящегося при углероде, активный центр пептидилтрансферазы восстанавливается и становится неактивным. Однако, если атом водорода мигрирует на кислород уходящего Р-участка, восстанавливая последний, то пептидилтрансфераза снова становится активной, т.е. первый участок является свободным радикалом. Известное ингибирование активности РНК-полимеразы токсином α -аманитином и может свидетельствовать об окислении ее активных центров. Это значит, что РНК-полимеразы могут работать как окислительно-восстановительные ферменты и Mg^{2+} может выступать в роли основного компонента коферментной части фермента.

Коды хромосом должны быть уникальны для каждой хромосомы. Однако, если гены транскрибируются параллельно (возможно и одновременно) с разных хромосом, то коды субдиректорий могут быть идентичны, как и коды отдельных генов, если они считываются индивидуально в каждой субдиректории. Поскольку трансляция даже одного гена осуществляется при наличии информации многих других генов (рибосомы, тРНК и др.), то предпочтительным было бы размещение всех необходимых генов в одной субдиректории при наличии одного кода субдиректории и идентичных кодов генов. При транскрипции генов в субдиректории терминатор может быть заменен интроном (intron) (рис. 6). При этом после транскрипции одного гена продолжится транскрипция соседнего.

Что касается природы кодов хромосом и субдиректорий, то они могут быть двухцепочечные ДНК или РНК, что делало бы их легко воспроизводимыми при репликации ДНК и хромосомы. Природа кода

может быть такова, что после разрыва двойной цепочки кода в субдиректории может образовываться комплементарная двойная цепочка с одноцепочечным фрагментом на ферменте. После этого активный

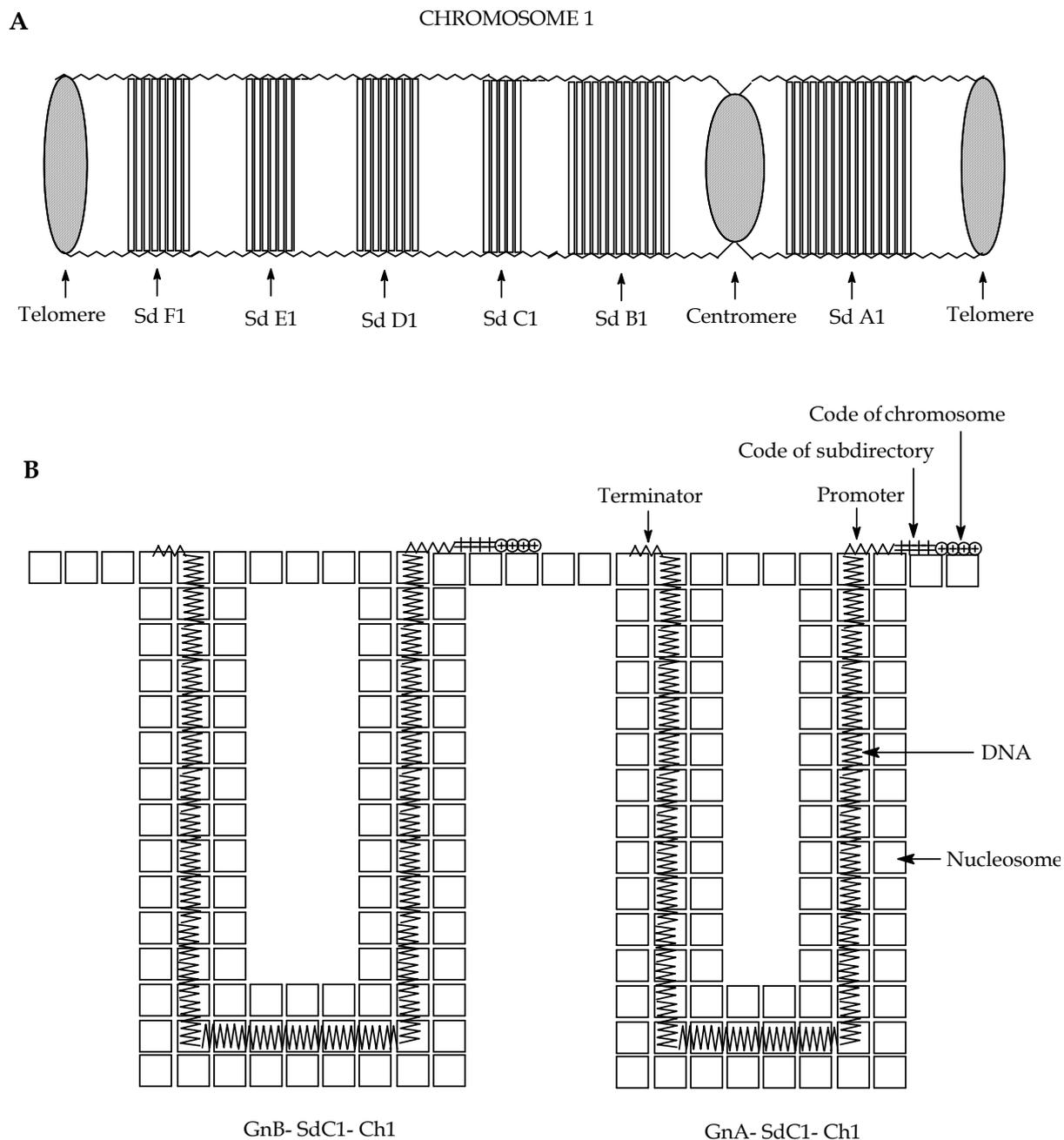


Рис. 4. Гипотетическое строение хромосомы и упаковки в ней ДНК. А – общий вид упаковки генов (Gn) в хромосоме; В – увеличенное изображение генов А и В, находящихся в субдиректории (Sd) C1 хромосомы (Ch) 1.
Fig. 4. Hypothetical disposition of DNA within the chromosome. А – general view of disposition of genes (Gn) within the chromosome; В – increased picture of genes А and В within the subdirectory C1 of chromosome 1.

A

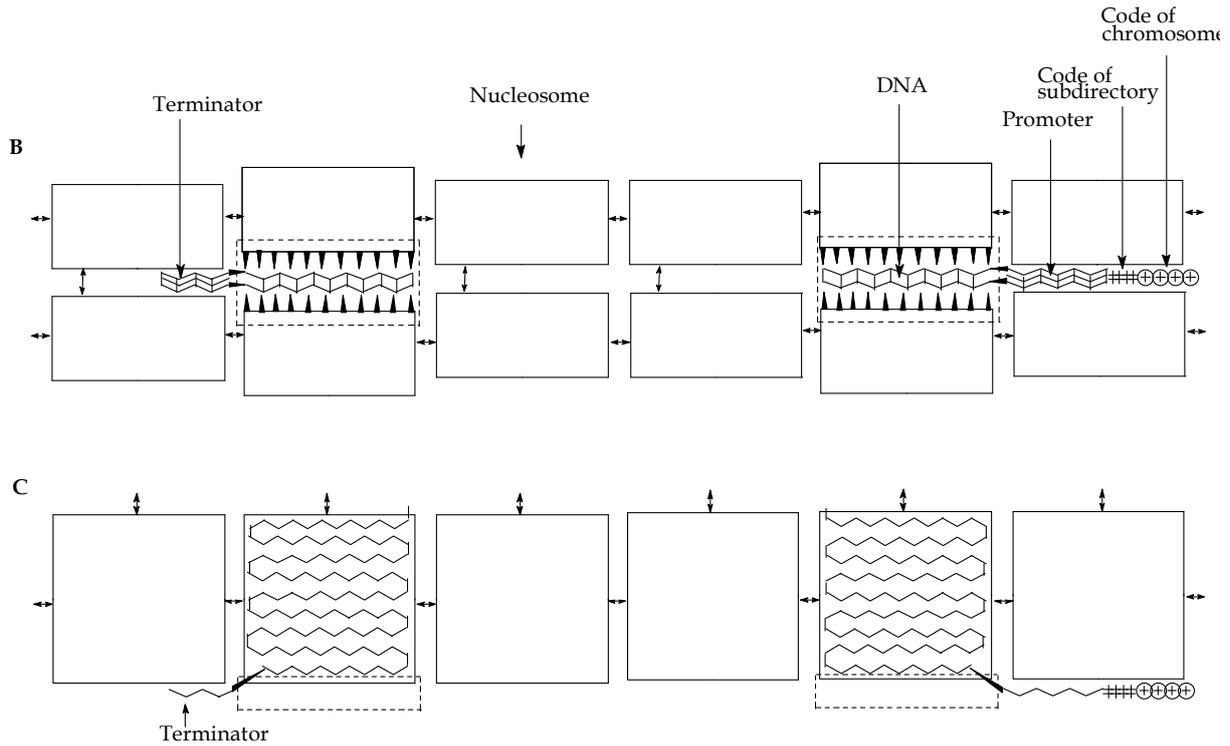
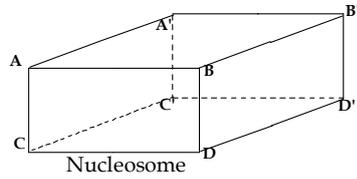


Рис. 5. Предполагаемый способ упаковки ДНК в хромосоме у эукариот. А – нуклеосома (nucleosome), промотор (promoter), ДНК (DNA), терминатор (terminator), код субдиректории (code of subdirectory), код хромосомы (code of chromosome); В – субдиректория (вид спереди); С – первый ряд нуклеосом (вид сверху).

Fig. 5. Diagram of DNA storage within the chromosome of eukaryote. A, nucleosome, promoter, DNA, terminator, code of subdirectory, code of chromosome; B, subdirectory (view in front); C, first row of nucleosomes (view from top).

центр фермента деблокируется и фермент становится активным. Например, комплементарная цепочка РНК (ДНК), находясь на РНК-полимеразе, может блокировать ее активный центр (центры). При расщепления двухцепочной метки (промотора) образуются две цепочки нуклеотидов. Если взаимодействие РНК (ДНК) одной стационарной, находящейся на хромосоме и другой подвижной, находящейся на РНК-полимеразе, приводит к образованию новой двухцепочной структуры, например, с более прочными связями, то происходит демаскировка активного центра РНК-полимеразы (ДНК-полимеразы) и она отпечатывает вход в тоннель. Аналогичное взаимодействие 3'- и 5'-концов затравочных РНК или ДНК соответственно с 5'- и 3'-концами хромосомной ДНК может привести к разрыву двойной цепочки ДНК и началу синтеза ДНК для РНК. В роли же терминатора транскрипции может выступать и сама нуклеосома (или другая частица, прикрывающая вход в тоннель с ДНК)

путем образования такой связи с ДНК, которая легко обрывается при приближении фермента и, таким образом, происходит механическая остановка ее синтеза (рис. 7).

Важно подчеркнуть, что на разных этапах развития клетки от меристематической до дифференцированной могут быть задействованы одни субдиректории генов, тогда как другие будут отключаться после прохождения клеткой определенных этапов роста и развития. Следовательно, в узко специализированной дифференцированной клетке может функционировать только незначительная часть генов (субдиректорий генов).

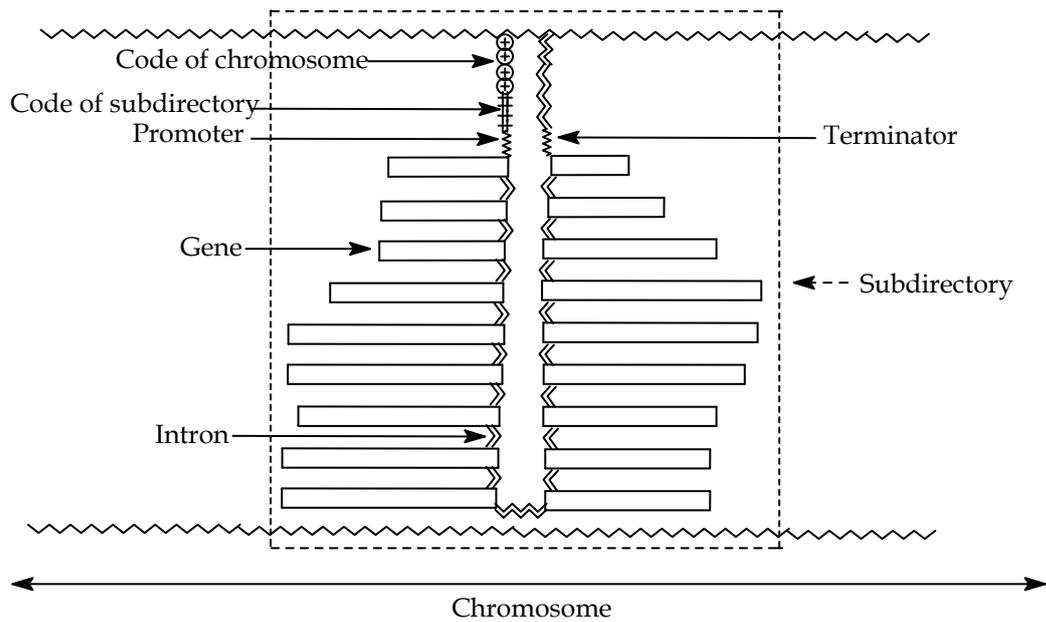
Блочная форма упаковки ДНК эукариот предполагает, что все функционально близкие структурные гены должны находиться в одной субдиректории. Поэтому метод кинетики реассоциации суммарной ДНК не сможет дать ответ на местоположение гена в хромосомах. Даже две одинаковой длины нуклеотидные цепочки, давая близкие данные о кинетике реассоциации, но отличаясь составом нуклеотидов в нескольких местах, могут дать далеко не идентичный белок. Как для работы компьютерной программы (файла), так и для работы гена (биофайла) важно не общее число команд (повторяющихся или уникальных), а, прежде всего, их последовательность работы. И все же вопрос о том, что является сигналом для того, чтобы считать новую генную информацию, или повторить считывание с уже включенной, остается неясным.

Мало известно (Alberts et al., 1989; Lewin, 1985; Stent, 1978) о том как конкретно происходит синтез ДНК и РНК. Как один фермент, будь-то ДНКаза или РНКаза, узнает какой нуклеотид из шести видов, теоретически находящихся в ядре, нужно включить в данный момент? В отличие от хорошо описанного кодон-антикодонного механизма синтеза белков с участием тРНК аналогичных механизмов для описания синтеза ДНК и РНК не приводится. Происходит ли синтез ДНК и РНК с участием каких-то структур аналогичных тРНК в синтезе белков, т.е. транспортных РНК или транспортных ДНК для синтеза собственно ДНК и РНК ?

Что представляет собой сигнал, исходящий из цитоплазмы и инициирующий транскрипцию генов, неизвестно. Но поразительное сходство в действии различных веществ на этот процесс указывает на то, что либо они индуцируют одни и те же посредники, либо образуют вторичные продукты, которые действуют сходно. Некоторые спекуляции по этому поводу могут быть следующие. Поскольку действие химических и физических факторов на биохимические процессы опосредовано образованием свободных радикалов, то логично предположить, что аналогичный механизм присущ и в отношении процессов репликации и транскрипции. Прослеживается четкая связь: экзогенный (эндогенный) фактор → мембрана → ответ. Ответная реакция зависит от степени нарушений мембранных структур. Поскольку любые стрессовые воздействия сопровождаются активацией свободнорадикальных процессов, то первичная реакция клетки направлена на нейтрализацию свободных радикалов. После этого включаются биохимические процессы, направленные на усиление синтеза антиоксидантных систем и восстановление целостности измененных или поврежденных структур. Этот этап происходит с участием ядра и сопровождается как экспрессией “работающих” генов, т.е. уже экспрессируемых до начала действия какого-либо агента, так и не экспрессируемых доселе генов. Сигнальный фактор, влияющий на экспрессию генов, может находиться в самих структурах, синтезированных по “чертежам” этих же генов.

В случае каких-либо структурных или функциональных изменений он может отделяться от этих структур и, прямо или через неких посредников, инициировать экспрессию генов. Большинство биохимических процессов, так или иначе, связаны с мембранными системами на всем пространстве от плазмалеммы до ядра. Мембраны первыми подвергаются влиянию различных агентов. Поэтому, можно допустить, что один из первых сигналов в ядро и должен поступать от мембран. Возможно, на эту роль могут претендовать белки связанные с мембранными липидами. Например, мембранный фосфолипид фосфатидилинозитол связан ковалентно с определенными белками. Эти белки могут отделяться от липидов при перекисном окислении последних. Кроме того, распад фосфатидилинозитола сопровождается освобождением жирных кислот, которые затем служат для образования антиоксидантов простагландинового ряда (рис. 1). Логично также, что единичные освобожденные белки не могут служить сигналом для экспрессии генома. Для этого может понадобиться агрегация нескольких типов белков, которые образуют структуры с большей молекулярной массой. Однако это возможно в том случае, если хранение ДНК организовано по блочному принципу. В этом случае экспрессируется вся информация необходимая для восстановления не только мембранных фосфолипидов, но и белков, а

A



B

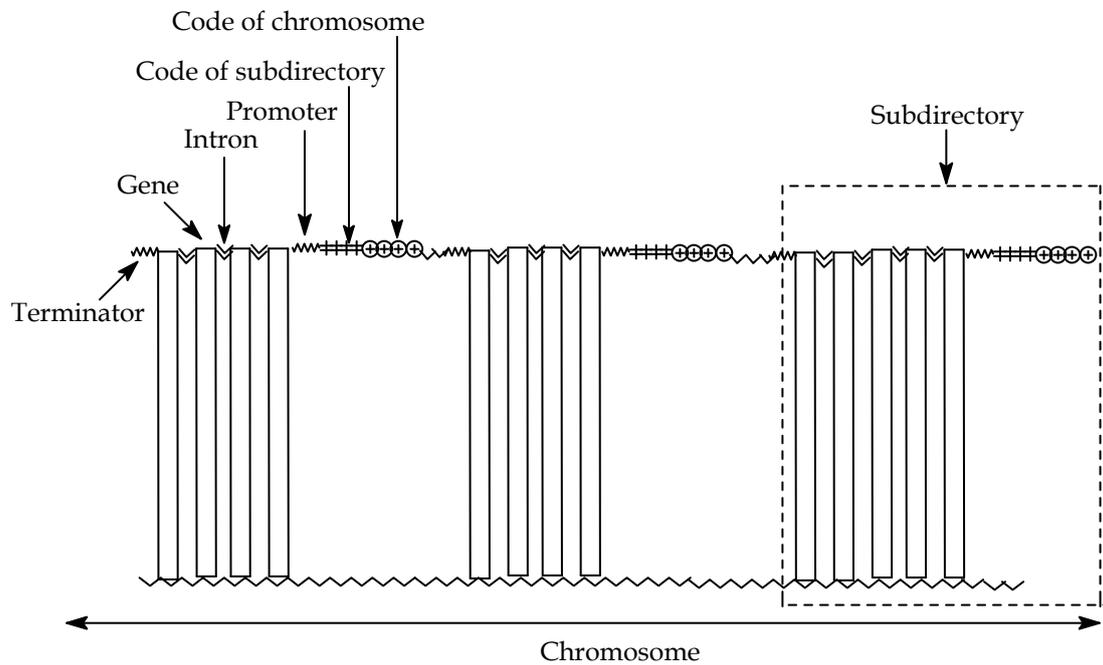


Рис. 6. Схематическое расположение генов в субдиректории с одним промотором, терминатором и интронами. А – расположение генов в субдиректории вдоль длинной оси хромосомы, В – расположение генов в субдиректории поперек хромосомы.

Fig. 6. Cross section through the genes within the subdirectory that has promoter, terminator and introns. A, the arrangement of genes within the subdirectory along the long axis of chromosome; B, the arrangement of genes within the subdirectory across the chromosome.

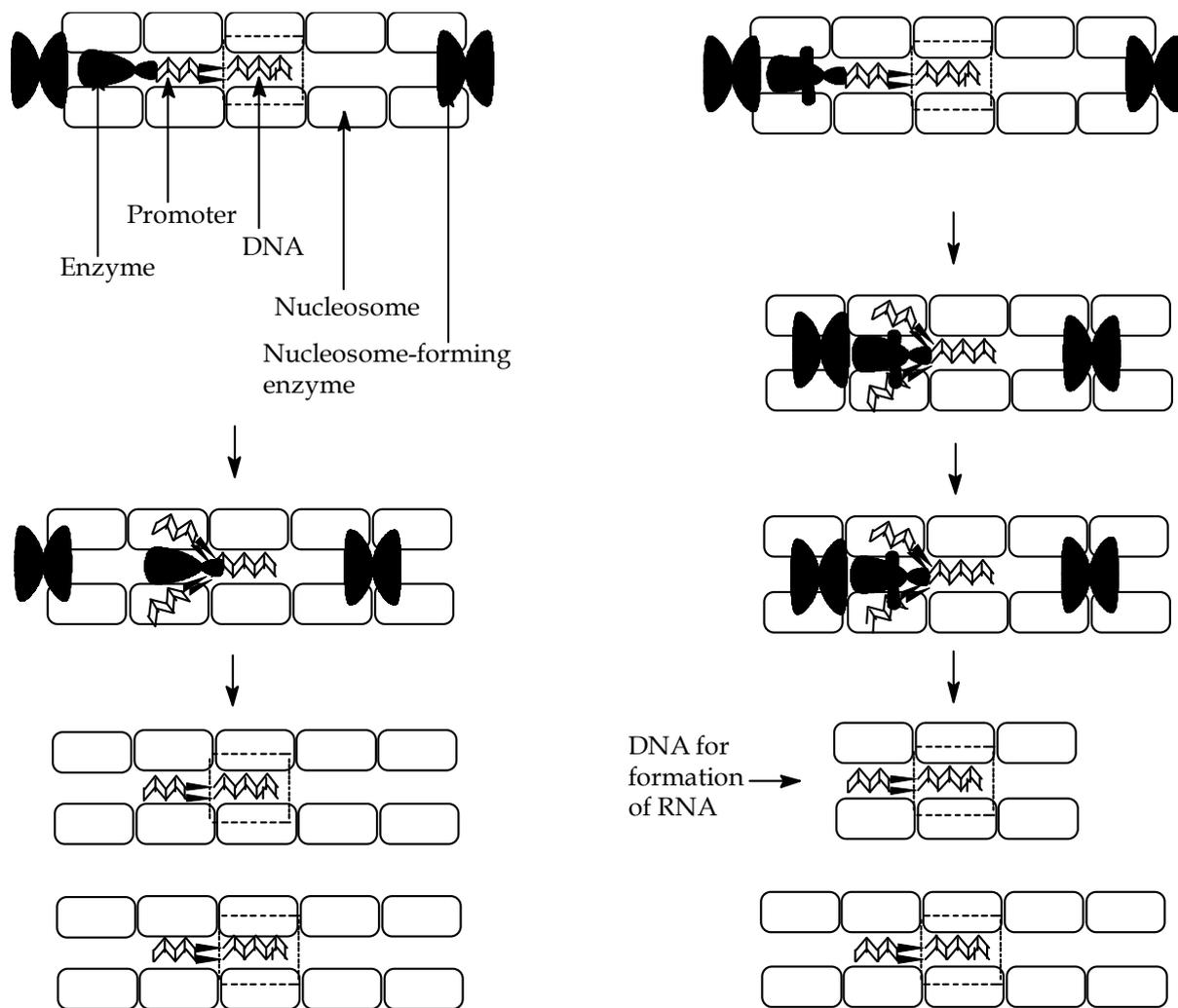


Рис. 7. Предполагаемый механизм синтеза ДНК и ДНК для формирования РНК.

Fig. 7. Diagrammatic interpretation of the hypothetical mechanism of DNA synthesis and synthesis of DNA for RNA formation.

также липидов из бислоя мембраны. Обнаруживаемые стрессовые белки могут также быть следствием экспрессии генома под воздействием стресса. Возможно также, что окислительные процессы в мембранах могут приводить к увеличению пор в ядерной мембране и в ядро могут поступать вещества больших размеров, чем в норме.

В заключение хочу отметить, что стержневая часть приведенных в книге работ была выполнена с 1979 по 1986 годы, однако из-за субъективных причин была опубликована только в последние годы.