

Е. С. ЧЕРКАССКИЙ и С. Е. СОРИНА

**ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ, АКРИДИНОВЫХ
И ДРУГИХ ПРЕПАРАТОВ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ВИРУСА ЧУМЫ
ПЛОТЯЯДНЫХ В КУРИНЫХ ЭМБРИОНАХ**

(Представлено академиком К. И. Скрябиным 18 VI 1952)

Оригинальное физиологическое направление в вирусологии, созданное В. Л. Рыжковым^(1, 2), впервые позволило экспериментально доказать живую природу вирусов и тем самым окончательно опровергнуть автокаталитическую теорию их происхождения, развивавшуюся преимущественно американскими авторами, и окончательно утвердить приоритет советской науки в решении этого кардинального вопроса современной биологии.

Дальнейшие исследования В. Л. Рыжкова и его школы и разработанные им новые физиологические методы изучения вирусов привели к открытию ингибиторов саморепродукции вирусных белков, сначала растительных^(3-11, 13, 14, 17), затем бактериальных^(10, 13), а в последнее время — животных⁽¹⁸⁻²¹⁾.

Эти достижения послужили основанием для нашей работы по изучению действия некоторых аминокислот, акридиновых и других препаратов на размножаемость вируса чумы плотоядных.

Удобной моделью для указанной цели явились развивающиеся куриные эмбрионы (РКЭ), так как ранее в процессе работы по направленной изменчивости вируса чумы плотоядных нами было показано^(15, 16), что этот вирус, предварительно прошедший ряд перекрестных субинокуляций от собачьих щенят к РКЭ и обратно, способен интенсивно размножаться в РКЭ и через 18—120 час. после инокуляции вызывать их специфическую гибель, при характерной патолого-анатомической картине. Были также детально установлены все необходимые для этого условия: возраст эмбрионов, место и способ инокуляции вируса, его доза, температура инкубации, очередность перекрестной субинокуляции и пр.

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения действия 4 групп препаратов: I) аминокислот: аспарагиновой, глутаминовой, цистеина и DL-норлейцина; II) акридинов: риванола, профлавина, акридина № 8, акридина № 12, акридина № 287, аминоакрихина, 9-аминоакридина, нитроакрихина; III) красок: фуксина основного, эритрозина, нейтральной красной и кристалл-виолет; IV) других препаратов: α -динитрофенола, 8-оксихинолина, пиррофосфорнокислого натрия, уретана и малоновой кислоты.

Предварительно на 300 РКЭ была установлена токсичность этих препаратов для РКЭ. Для этой цели растворы препаратов в дозе 0,1 мл вводились на обнаженную хориоаллантоисную оболочку РКЭ по методике, обычно принятой в нашей лаборатории для заражения РКЭ вирусом чумы плотоядных⁽¹⁵⁾.

Наиболее токсичными оказались препараты из группы акридинов. Риванол в концентрации 10 мг% вызывает гибель почти 100%, а профлавин в концентрации 1 мг% — гибель 50% всех инокулированных РКЭ. Остальные акридиновые препараты в 10—20 раз менее токсичны.

Высокотоксичными, вызывающими гибель всех РКЭ, оказались также α -динитрофенол в концентрации 10 мг%, пирофосфорнокислый натрий и 8-оксихинолин — в концентрациях 1 мг%.

Мало токсичными для РКЭ оказались аминокислоты. Так, глутаминовая кислота только в концентрации 250 мг% вызвала гибель одной трети инокулированных РКЭ, т. е. оказалась в 50 000 раз менее токсичной, нежели пирофосфат и 8-оксихинолин, и в 5000 раз менее токсичной, нежели риванол и α -динитрофенол. *DL*-норлейцин совершенно атоксичен даже в концентрации 100 мг%.

Все четыре краски, испытывавшиеся в концентрации 5 мг%, также оказались нетоксичными.

Ингибиторные свойства наименее токсичных препаратов и концентраций изучены на 1274 РКЭ. Растворы препаратов в дозе 0,1 мл по указанной методике (15) инокулировались на обнаженную хориоаллантаоисную оболочку РКЭ за сутки, за 2 часа или одновременно с инокуляцией той же дозы адаптированного вируса чумы, вызывающего гибель РКЭ при титре 10^{-8} .

В качестве основного контроля служили РКЭ, инокулированные 0,1 мл адаптированного вируса, того же титра, что и в опыте. Кроме того, ставился второй контроль на РКЭ, инокулированных 0,1 мл физраствора. Погибшие РКЭ стерильно вскрывались, и из них делались высевы на МПБ, МПА и среду Кит-Тароци; РКЭ, павшие не стерильно, из опыта выбраковывались. В некоторых случаях из стерильно павших эмбрионов выделялся вирус, определялся его титр и проводилась серологическая идентификация.

Выживаемость РКЭ, инокулированных вирусом и указанными препаратами, в сравнении с выживаемостью РКЭ, инокулированных одним вирусом (контроль), служила показанием ингибиторных свойств испытывавшихся препаратов. С этой целью для каждого опыта исчислялся фактический процент гибели опытных (вирус плюс ингибитор) и контрольных (один вирус) РКЭ. Если принять за 100 гибель РКЭ в контроле, то можно вычислить, сколько процентов составит гибель РКЭ в опыте по сравнению с процентом гибели контрольных РКЭ. Разность между 100 и последней величиной показывает на процент выживаемости опытных РКЭ при выживаемости в контроле, равной нулю. Разность эта называется индексом подавления летальных свойств вируса.

Полученные данные в то же время указывают на определенные физиологические особенности размножения чумного вируса.

Сводные результаты опытов приведены в табл. 1. Из табл. 1 видно, что многие из испытывавшихся препаратов подавляют размножение вируса чумы плотоядных в РКЭ и предохраняют их от гибели.

Однако, как и в работе В. Л. Рыжкова (14) с вирусом табачной мозаики, нами отмечен довольно большой диапазон колебаний ингибиторных свойств изучавшихся препаратов, иногда от опыта к опыту составлявший от 0 до 100%. Колебания эти обусловлены физиологическими особенностями отдельных партий РКЭ, их разной чувствительностью к вирусу и ингибитору, а также плохо поддающимися контролю различиями инвазионных свойств вируса в РКЭ, времени и особенно места его встречи с ингибитором и, наконец, условий проникновения ингибитора внутрь тех клеток РКЭ, где уже успел начаться процесс размножения вируса.

В связи с этим в отношении наиболее перспективных ингибиторов мы увеличивали число повторностей, стремясь по возможности уменьшить элемент случайности в индексах подавления. Приведенные в табл. 1

Таблица 1

Сводные данные действия ингибиторов на размножаемость вируса чумы плотоядных в РКЭ

| Препарат | Концентрация в мг% | Гибель РКЭ в % | | | Средн. индекс подавления | Колеб. индекса подавления | Число повторностей |
|--|--------------------|----------------|-----------|-----------|--------------------------|---------------------------|--------------------|
| | | опыт | конт-роль | оп. 100 к | | | |
| Риванол | 1 | 58 | 88 | 65,9 | 34,1 | 17—60 | 19 |
| Профлавин | 0,05 | 75 | 80 | 93,7 | 6,3 | 6,2 | 12 |
| " | 0,5 | 60 | 73 | 82,5 | 17,5 | 0—68,8 | 10 |
| Акридин № 8 | 1 | 77 | 80 | 96,2 | 3,8 | 0—3,8 | 16 |
| Акридин № 12 | 1 | 75 | 80 | 93,7 | 6,3 | 6,3 | 12 |
| Акридин № 12 | 5 | 100 | 80 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| Аминоакрихин | 5 | 58 | 80 | 72,8 | 27,2 | 27,2 | 12 |
| " | 10 | 60 | 71 | 84 | 16 | 0—33,4 | 10 |
| 9-аминоакридин | 1 | 73 | 77 | 94,2 | 5,8 | 0—68,8 | 22 |
| Нитроакрихин | 5 | 50 | 72 | 60,4 | 39,6 | 25—37,8 | 10 |
| Акридин № 287 | 1 | 83 | 90 | 92,5 | 7,5 | 0—20 | 12 |
| Аспарагиновая кислота | 1 | 100 | 91 | 0 | 0 | 0 | 16 |
| " | 10 | 70 | 79 | 88,6 | 11,4 | 0 | 30 |
| Уретан | 1 | 93 | 90 | 89,7 | 10,3 | 0—12,5 | 16 |
| " | 10 | 69 | 79 | 87,3 | 12,7 | 0—25 | 23 |
| Цистеин | 1 | 81 | 90 | 89,3 | 10,7 | 0—25 | 16 |
| " | 10 | 78 | 78 | 0 | 0 | 0—6,3 | 23 |
| α-динитрофенол | 1 | 60 | 66 | 90 | 10 | 10 | 5 |
| " | 5 | 61 | 73 | 83,1 | 16,9 | 0—50 | 28 |
| Пирофосфорнокислый натрий | 0,1 | 80 | 80 | 0 | 0 | 0—20 | 21 |
| 8-оксихиолин | 0,1 | 72 | 77 | 94,2 | 5,8 | 0—20 | 11 |
| Фуксин основной | 5 | 63 | 70 | 90,8 | 9,2 | 0—25 | 11 |
| Кристалл-фиолет | 5 | 70 | 70 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| Эритрозин | 5 | 70 | 70 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| Нейтральная красная | 5 | 70 | 70 | 0 | 0 | 0—20 | 11 |
| Малоновая кислота | 1 | 100 | 100 | 0 | 0 | 0 | 16 |
| " | 10 | 45 | 76 | 63,4 | 36,6 | 20—100 | 96 |
| Глутаминовая кислота | 1 | 69 | 91 | 75,5 | 24,5 | 10—37,5 | 16 |
| " | 10 | 35 | 56 | 62,7 | 37,3 | 16—60 | 37 |
| " | 100 | 42 | 81 | 51,2 | 48,8 | 24,1—66,8 | 12 |
| " | 250 | 33 | 82 | 40,3 | 59,7 | 24,1—75 | 42 |
| DL-норлейцин | 10 | 35 | 76 | 47,3 | 52,7 | 24—100 | 20 |
| " | 100 | 42 | 77 | 54,2 | 45,8 | 0—66,8 | 31 |
| I контроль—заражение вирусом | — | — | 74,5 | — | — | — | 106 |
| II контроль—физиол. раствор | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 76 |

средние показатели индекса подавления выведены из суммы всех повторностей.

Наиболее выраженным ингибиторным действием в отношении вируса чумы обладают аминокислоты, особенно глутаминовая кислота. Введение последней в концентрации 250 мг% в 2,5 раза уменьшает гибель РКЭ от вируса чумы, составляя, соответственно, 33% против 82% при индексе подавления, равном 59,5.

Ингибиторное действие глутаминовой кислоты отмечено даже в случаях падежа РКЭ, инокулированных ею и вирусом. Так, дважды проведенное титрование показало, что вирус чумы, выделенный из стерильно павших РКЭ, имел титр 10^{-3} , т. е. был в 100 000 раз слабее исходного.

Интересно, что параллельно увеличению концентрации увеличивается и индекс подавления (глутаминовая кислота). Однако эта закономерность, повидимому, имеет определенные пределы. Так, повышение концентрации норлейцина в 10 раз с 10 до 100 мг% не только не увеличило индекс подавления, но даже несколько его снизило — с 50 до 45,8.

Подавляют размножение вируса чумы в РКЭ также малоновая кислота и некоторые акридины: нитроакрихин, аминоакрихин, риванол.

Сопоставление ингибиторного эффекта глутаминовой кислоты и норлейцина с аспарагиновой кислотой и цистеином указывает на очень большую специализацию вируса чумы плотоядных и целесообразность изучения ингибиторных свойств этих аминокислот в концентрациях, более близких к токсичным. Сравнительно низкий средний индекс подавления α -динитрофенола обусловлен, повидимому, применением невысокой концентрации этого мощного подавителя синтетических процессов.

Наши данные свидетельствуют о том, что открытый В. Л. Рыжковым (14) феномен подавления размножения вируса табачной мозаики некоторыми аминокислотами имеет общее вирусологическое значение.

В заключение приносит глубокую благодарность чл.-корр. АН СССР проф. В. Л. Рыжкову за помощь, оказанную в проведении этой работы неоднократными консультациями и предоставлением препаратов.

Поступило
18 VI 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Л. Рыжков, *Микробиология*, **16**, № 5, 375 (1947). ² В. Л. Рыжков, *ЖМЭИ*, № 11, 33 (1947). ³ В. Л. Рыжков, Е. П. Громько, *Микробиология*, **7**, 979 (1938). ⁴ В. Л. Рыжков, Е. П. Громько, там же, **10**, 898 (1941). ⁵ В. А. Смирнова, там же, **10**, 903 (1941). ⁶ В. Л. Рыжков, там же, **12**, 37 (1943). ⁷ В. Л. Рыжков, К. С. Сухов, *Биохимия*, **9**, № 4 (1944). ⁸ В. Л. Рыжков, В. А. Смирнова, О. С. Городская, *Биохимия*, **11**, № 3 (1946). ⁹ В. Л. Рыжков, В. А. Смирнова, *Микробиология*, **15**, в. 3 (1947). ¹⁰ В. Л. Рыжков, А. И. Семиц, *Бюлл. exper. биол.*, **24**, № 10, в. 4, 264 (1947). ¹¹ В. Л. Рыжков, В. А. Смирнова, *Микробиология*, № 1 (1948). ¹² В. Л. Рыжков, В. А. Смирнова, О. С. Городская, *Биохимия*, **15**, в. 3 (1950). ¹³ В. Л. Рыжков, *ДАН*, **73**, № 5, 1049 (1950). ¹⁴ В. Л. Рыжков, *ДАН*, **80**, № 4, 677 (1951). ¹⁵ Е. С. Черкасский, *Тр. ВНИО*, в. 9, 77 (1950). ¹⁶ Е. С. Черкасский, *Ветеринария*, **9**, 28 (1951). ¹⁷ M. W. Woods, *Science*, **91**, 295 (1940). ¹⁸ M. E. Rafelson, H. E. Pearson, R. J. Winsler, *Arch. Biochem.*, **23**, No. 1 (1950). ¹⁹ O. Heinrich, A. Kulse, *Tierärztl. Umsch.*, **4**, No. 11—12, 165 (1949). ²⁰ A. Rasmussen et al., *J. Bacter.*, No. 1, 64 (1947). ²¹ M. Eaton et al., *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **66**, No. 1, 144 (1947).