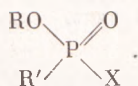


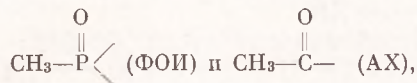
А. А. АБДУВАХАБОВ, К. М. ЗУПАРОВА, Н. Н. ГОДОВИКОВ,
академик М. И. КАБАЧНИК, А. И. КРАШЕНЮК, С. С. МИХАЙЛОВ,
В. И. РОЗЕНГАРТ

О НОВЫХ ГИДРОФОБНЫХ УЧАСТКАХ В РАЙОНЕ ЭСТЕРАЗНОГО ЦЕНТРА ХОЛИНЭСТЕРАЗ

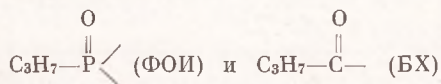
За последние годы с большой достоверностью было показано наличие на активной поверхности холинэстераз (ХЭ) гидрофобных участков, на которых сорбируются углеводородные радикалы фосфорорганических ингибиторов (ФОИ) (1, 2). Наличие таких гидрофобных участков также повышает вероятность сорбции молекулы субстрата на активной поверхности фермента. Было установлено (1-3), что в районе эстеразного центра ацетилхолинэстеразы (АХЭ) имеется гидрофобный участок, соответствующий алкильной цепочке из 4-углеродных атомов, в то время как наиболее специфическим субстратом для АХЭ является ацетилхолин (АХ), имеющий в ацильной части лишь метильную группу. Такое же несоответствие наблюдается и в случае бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) (1, 2, 4), у которой гидрофобный участок в районе эстеразного центра соответствует пространственно *n*-гептильному радикалу, а оптимальным субстратом является бутирилхолин (БХ), содержащий в ацильной части пропильный радикал. Такое отсутствие корреляции между размером гидрофобной области и субстратной специфичностью обеих ХЭ может быть связано с тем, что указанные выше гидрофобные участки в районе эстеразного центра были выявлены с помощью ФОИ, имеющих алкоксильный радикал (RO—) различной длины:



Алкильный же радикал субстратов, по-видимому, соответствует не алкоксильной группировке ФОИ, а алкильному радикалу (R'), непосредственно связанному с атомом фосфора, и вполне вероятно, что на активной поверхности ХЭ в районе эстеразного центра имеется еще один гидрофобный участок, на котором как раз и происходит сорбция алкильных радикалов ФОИ и субстратов. Действительно, если рассматривать ФОИ как квазисубстраты, то центральный атом фосфора их должен соответствовать карбонильному углероду субстрата, тогда структуры оптимальных ингибитора и субстрата должны быть аналогичны для каждого вида ХЭ. В случае АХЭ это

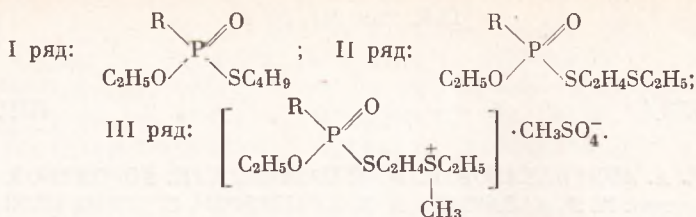


а в случае БуХЭ



Для подтверждения такого предположения были синтезированы три ряда ФОИ, имеющих различной длины алкильный радикал, непосред-

опубликован отдельно):



венно связанный с атомом фосфора (синтез этих соединений будет во всех трех рядах алкильный радикал изменялся от метильного до *n*-бутильного).

Антихолинэстеразные свойства синтезированных соединений были изучены на АХЭ (КФ 3.1.1.7) бычьих эритроцитов (лиофилизированная строма и продажный препарат Ленинградского мясокombината) и на БУХЭ (КФ 3.1.1.8) сыворотки крови лошади (продажный препарат Московского института им. И. И. Мечникова). Антихолинэстеразную активность ФОИ оценивали по величине бимолекулярной константы (k_n) скорости их взаимодействия с ферментом (⁴).

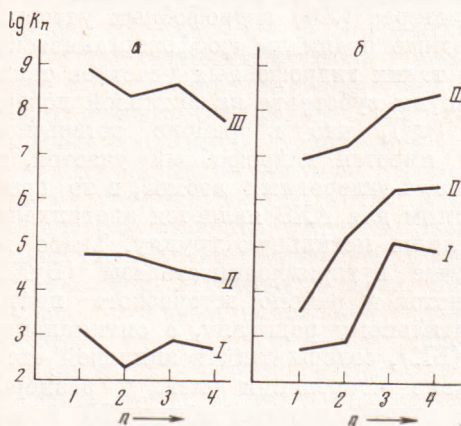


Рис. 1. Зависимость $\lg k_n$ от числа углеродных атомов (n) в алкильном радикале исследованных ФОИ для АХЭ (а) и БУХЭ (б). I — ФОИ I ряда, II — ФОИ II ряда, III — ФОИ III ряда

Результаты измерения констант скорости взаимодействия исследованных ФОИ с АХЭ и БУХЭ приведены в табл. 1, а также на рис. 1, где показана зависимость $\lg k_n$ от числа углеродных атомов в алкильном радикале.

Как видно из табл. 1 и рис. 1а, в случае АХЭ наибольшая антихолинэстеразная активность отмечается у ФОИ, у которых с атомом фосфора связана метильная группа. Удлинение алкильного радикала либо снижает антихолинэстеразные свойства, либо не изменяет их.

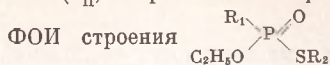
В случае БУХЭ наблюдается иная зависимость. Во всех трех рядах ФОИ удлинение алкильного радикала приводит к значительному возрастанию антихолинэстеразного действия. Максимальный эффект в ряду I наблюдается у соединений с пропильным радикалом, для ингибиторов II и III рядов дальнейшее удлинение приводит к некоторому повышению антихолинэстеразной эффективности.

Сравнение антихолинэстеразного действия исследованных рядов ФОИ между собой показывает, что соединения III ряда с катионной серой имеют значительно более высокие константы скорости торможения, что легко объясняется взаимодействием положительно заряженного атома серы с анионным центром ХЭ.

Для оценки электрофильности атома фосфора исследованных ФОИ у некоторых соединений I и II рядов сняты спектры я. м. р. на спектрометре Н-60 с резонансной приставкой на ядра P^{31} . В качестве внешнего эталона использован 85% водный раствор ортофосфорной кислоты. Полученные данные приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, химические сдвиги ядер P^{31} исследованных соединений мало изменяются при варьировании длины алкильного радикала при фосфоре. Этот факт указывает на то, что в данных рядах соединений валентное состояние и электронное окружение, а значит, и электрофиль-

Таблица 1

Бимолекулярные константы (k_{II}) скорости ингибирования АХЭ и БУХЭ

R_1	$R_2 = C_4H_9$	$R_2 = C_2H_5SC_2H_5$	$R_2 = C_2H_5\overset{+}{S}C_2H_5$ CH_3
АХЭ			
CH_3^*	$(1,2 \pm 0,04) \cdot 10^3$	$(6,6 \pm 0,4) \cdot 10^4$	$(8,1 \pm 0,7) \cdot 10^8$
C_2H_5	$(1,9 \pm 0,10) \cdot 10^2$	$(6,4 \pm 0,2) \cdot 10^4$	$(1,8 \pm 0,1) \cdot 10^8$
C_3H_7	$(7,0 \pm 0,2) \cdot 10^2$	$(3,3 \pm 0,7) \cdot 10^4$	$(4,3 \pm 0,4) \cdot 10^8$
C_4H_9	$(6,6 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(2,7 \pm 0,1) \cdot 10^4$	$(6,5 \pm 0,6) \cdot 10^7$
БУХЭ			
CH_3^{**}	$(5,2 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(3,0 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(8,2 \pm 0,5) \cdot 10^6$
C_2H_5	$(8,0 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(1,6 \pm 0,1) \cdot 10^5$	$(1,7 \pm 0,1) \cdot 10^7$
C_3H_7	$(1,3 \pm 0,08) \cdot 10^5$	$(1,4 \pm 0,07) \cdot 10^6$	$(1,2 \pm 0,1) \cdot 10^8$
C_4H_9	$(7,2 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(2,2 \pm 0,1) \cdot 10^6$	$(2,7 \pm 0,2) \cdot 10^8$

* По данным А. А. Абдувахובה и др. (5).

** По данным А. А. Абдувахובה и др. (6).

Таблица 2

Химические сдвиги ($\delta_{м.д.}$) на ядрах P^{31} ФОИ строения $\begin{array}{c} R_1 \quad O \\ \diagdown \quad / \\ P \\ / \quad \diagdown \\ C_2H_5O \quad SR_2 \end{array}$

R_1	$R_2 = C_4H_9$	$R_2 = C_2H_5SC_2H_5$
C_2H_5	-56,6	-56,6
C_3H_7	-54,7	-55,5
C_4H_9	-55,0	-55,8

ная способность атома фосфора остаются практически постоянными. Следовательно, обнаруженные нами изменения антихолинэстеразных свойств исследованных ФОИ в пределах каждого ряда могут быть объяснены лишь различной величиной сорбции алкильной группы разной длины на соответствующем гидрофобном участке.

Несомненно, этот гидрофобный участок находится в районе эстеразного центра, так как гидрофобная область в районе анионного пункта в случае использования ингибиторов III ряда занята алктиольным радикалом, содержащим положительно заряженный атом серы. Алкильные группы незаряженных ФОИ I и II рядов, по всей вероятности, также сорбируются на гидрофобном участке в районе эстеразного центра, что вытекает из рассмотрения рис. 1, на котором кривые зависимости антихолинэстеразной активности от длины алкильного радикала имеют практически симбатный ход для всех трех рядов ФОИ.

У АХЭ этот участок очень ограничен и приспособлен лишь к сорбции метильной группы. У БУХЭ он более обширен и, видимо, пространственно соответствует *n*-пропильному радикалу.

Есть все основания полагать, что данные гидрофобные участки, на которых сорбируются алкильные радикалы ингибиторов, не идентичны описанным ранее гидрофобным участкам в район эстеразного центра ХЭ, имеющим, как было указано выше, иные размеры и выявленным с

помощью ФОИ другого строения. Вполне вероятно, что именно на этих гидрофобных участках происходит сорбция алкильных радикалов субстратов.

Проблемная лаборатория химии природных соединений
Ташкентского государственного университета
им. В. И. Ленина
Институт элементоорганических соединений
Академии наук СССР
Москва
Первый Ленинградский медицинский институт
им. И. П. Павлова

Поступило
1 III 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. И. Кабачник, А. А. Абдувахабов и др., Усп. хим., **39**, 6, 1050 (1970).
² M. I. Kabachnik, A. P. Brestkin et al., Pharmacological Rev., **22**, 355 (1970).
³ А. А. Абдувахабов, Н. Н. Годовиков и др., Изв. АН СССР, сер. хим., **1972**, 1169. ⁴ А. А. Абдувахабов, Н. Н. Годовиков и др., Изв. АН СССР, сер. хим., **1968**, 744. ⁵ А. А. Абдувахабов, И. И. Агабекова и др., Изв. АН СССР, сер. хим., **1968**, 2033. ⁶ А. А. Абдувахабов, Н. Н. Годовиков и др., ДАН, **171**, № 4, 857 (1966).