

Н. В. ХРОМОВ-БОРИСОВ, М. Л. ИНДЕНБОМ, Л. Н. ТИХОНОВА,
А. Ф. ДАНИЛОВ, Е. В. РОЗЕНГАРТ, И. Н. СОБОЛЕВА, Л. А. СТАРШИНОВА

**ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ И ДЕЙСТВИЕ НА СКЕЛЕТНУЮ
МЫШЦУ АНАЛОГОВ АЦЕТИЛХОЛИНА С РАЗЛИЧНОЙ
СТРУКТУРОЙ КАТИОННОЙ ГРУППЫ**

(Представлено академиком Е. М. Крепом 15 VII 1974)

В живом организме как холинорецепторы (ХР), так и холинэстеразы (ХЭ) являются макромолекулярными «мишенями» ацетилхолина (АХ). Поэтому представляет интерес сравнительное исследование холинотиметической активности и ферментативного гидролиза аналогов АХ, различающихся строением катионной группы.

Нами были синтезированы и исследованы три серии соединений.

1. $\text{CH}_3\text{—CO—O—CH}_2\text{—NMe}_2^+\text{R}$, где $\text{R}=\text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{изо-C}_3\text{H}_7, \text{n-C}_3\text{H}_7, \text{n-C}_4\text{H}_9$ и $\text{n-C}_5\text{H}_{11}$.

2. $\text{CH}_3\text{—CO—O—CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}^+\text{R}$, где $\text{N}^+\text{R} = \text{N}^+\text{CH}_3, \text{N}^+\text{C}_2\text{H}_5, \text{N}^+\text{C}_3\text{H}_7, \text{N}^+\text{C}_4\text{H}_9, \text{N}^+\text{C}_5\text{H}_{11}$

3. $\text{CH}_3\text{—CO—O—CH}_2\text{—CH}_2\text{—NMeR}^+$, где $\text{R}=\text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \text{n-C}_3\text{H}_7, \text{n-C}_4\text{H}_9$.

Как показали расчеты, * величина положительного заряда на атоме азота всех исследованных соединений почти не меняется (0,679—0,686). Сохраняется также постоянство положительного заряда на карбонильном атоме (0,243), что особенно важно при сопоставлении структуры субстратов со скоростью их ферментативного гидролиза. Поэтому можно предполагать, что изменение холинотиметической активности и субстратных свойств в ряду исследованных соединений обусловлено изменением характера взаимодействия радикалов катионной группы с гидрофобным окружением анионного участка ХР-а и ХЭ, а также изменением конформации реагирующей молекулы. По направленности изменений холинотиметических и субстратных свойств можно, по-видимому, говорить о сходстве или различии гидрофобного окружения анионного участка ХР-а и ХЭ.

Холинотиметическая активность соединений определялась в опытах на прямой мышце живота лягушки *Rana temporaria* методом регистрации кумулятивных кривых «концентрация — действие» Ариенса (1). По результатам опытов на 10 мышцах высчитывалась средняя величина максимальной эффективности (МЭ; «внутренняя активность», по Ариенсу) — отношение высоты максимального сокращения мышцы, вызванного исследуемым веществом, к высоте максимально возможного ее сокращения (по хлориду калия). Кроме того, высчитывалось среднее значение D_2 и ее отрицательный логарифм (D_2 — концентрация вещества, при действии которой наблюдалось сокращение мышцы на 50% от максимального, вызванного этим веществом).

Активность каталитического центра (a_c) для исследованных субстратов определялась описанным ранее методом (2). Источником ацетилхолинэстеразы (АХЭ) служил водорастворимый препарат, полученный из эритроцитов крови крупного рогатого скота, обладающий удельной активностью 0,5 мкмоля ацетилхолина в 1 мин. на 1 мг белка. В качестве источ-

* Все расчеты проводились с помощью программ, составленных для ЭВМ «Наир-3» под руководством и при участии В. А. Наумова, которому авторы выражают искреннюю признательность.

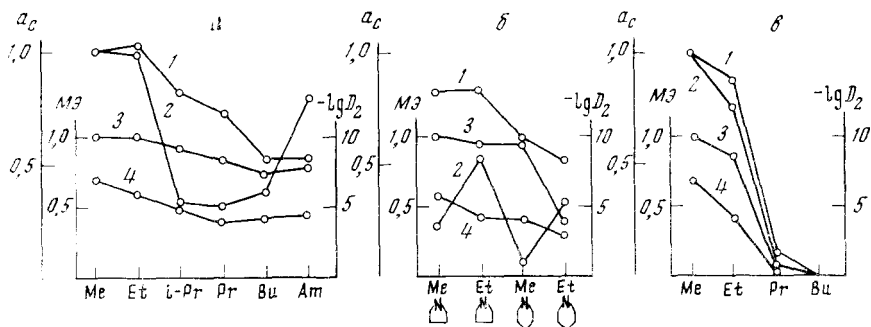


Рис. 1

ника бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) использовали очищенный препарат, полученный из сыворотки крови лошади с удельной активностью 4,0 микромоля ацетилхолина в 1 мин. на 1 мг белка.

На рис. 1 приведены зависимости активности каталитического центра (a_c) АХЭ, БуХЭ, максимальной эффективности (МЭ) и отрицательного логарифма D_2 ($-\lg D_2$) соединений от строения катионной группы. Значения этих величин приведены на соответствующих ординатах, а на абсциссе дана условная шкала строения катионной группы. Точки на рисунках соединены для наглядности. Активность каталитического центра АХЭ и БуХЭ для ацетилхолина принята за единицу. На кривых 1 даны значения a_c АХЭ, 2 — a_c БуХЭ, 3 — МЭ и 4 — $-\lg D_2$.

На рис. 1а (для $\text{CH}_3\text{-C(O)-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NMe}_2\text{R}$) видно, что при постепенном увеличении R от метила до амила значения a_c АХЭ, МЭ и $-\lg D_2$ изменяются симбатно, в то время как для значений a_c БуХЭ симбатность резко нарушается; при переходе от пропила к бутилу и амилу активность возрастает. На рис. 1б (для $\text{CH}_3\text{-C(O)-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}^+\text{R}$)

нарушение симбатности для a_c БуХЭ выступает еще более резко; как в пирролидиниевых, так и в пиперидиниевых катионных группах замена метила на этил приводит к существенному повышению a_c БуХЭ. Подобного изменения a_c АХЭ, МЭ и $-\lg D_2$ не наблюдается. Возможно, это объясняется изменением конформационных способностей холиновой части молекулы под влиянием этильного радикала (3), что, имеет одни последствия для взаимодействия молекул с БуХЭ и другие — для АХЭ и ХР.

На рис. 1в (для $\text{CH}_3\text{-C(O)-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NMeR}_2$) видно, что при наличии двух пропильных радикалов в катионной группе холиномиметическая активность вещества полностью отсутствует, а скорость ферментативного гидролиза резко снижается. При переходе к бутильным радикалам скорость ферментативного гидролиза вещества как АХЭ, так и БуХЭ полностью утрачивается. Вероятно, поэтому в этой серии соединений не проявляются особенности величины a_c БуХЭ.

На основании полученных результатов следует сделать вывод, что активный центр ХР-а прямой мышцы живота лягушки по своей структуре, в частности по протяженности гидрофобного окружения анионного участка, ближе к активному центру АХЭ, чем БуХЭ.

Институт экспериментальной медицины
Академии медицинских наук СССР

Поступило
29 IV 1974

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова
Академии наук СССР
Ленинград

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ E. J. Ariens, Arch. Int. Pharmacodyn., v. 99, 32 (1954). ² А. П. Бресткин и др., ДАН, т. 205, 715 (1972). ³ E. В. Розенгарт и др., ДАН, т. 209, 482 (1973).