



УДК 577.152.311*8.042:547.45'118.5

© 1993 г. В. П. Балема, Е. Г. Рыс, Е. Е. Социлина,
О. В. Ягодина, С. Н. Моралев, Ю. Г. Жуковский,
Н. Н. Годовиков, М. И. Кабачник

АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ КАРБОРАНИЛСОДЕРЖАЩИХ ТИО- И СЕЛЕНОЭФИРОВ КИСЛОТ ПЯТИВАЛЕНТНОГО ФОСФОРА

*Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН,
Москва*

Ключевые слова: ингибиторы холинэстераз, карборанилсодержащие тио- и селеноэфиры кислот пятивалентного фосфора.

Изучена антихолинэстеразная активность карборанилсодержащих тио- и селеноэфиров кислот пятивалентного фосфора. Установлено, что введение в тиоэфирную группу фосфорорганического соединения карборанильных заместителей приводит к увеличению антихолинэстеразной активности по сравнению с их тиоалкильными аналогами. При этом положение присоединения фосфорорганического фрагмента к карборанильному ядру существенно влияет на способность этих соединений взаимодействовать с холинэстеразами.

Проведенное ранее [1] исследование антихолинэстеразной активности дихлорвиниловых эфиров карборанилфосфиновых и карборанилфосфиновых кислот показало, что наличие в фосфорорганическом ингибиторе карборанильной группы, непосредственно связанной с атомом фосфора, приводит к заметному ослаблению антихолинэстеразной активности по сравнению с соответствующими алкоксипроизводными. В связи с этим представляло интерес более детально изучить влияние карборанильной группы на активность фосфорорганических соединений в реакциях с холинэстеразами. В качестве объектов исследования были выбраны некоторые тио- и селеноэфиры кислот пятивалентного фосфора, в которых карборанильная группа находится в эфирной части молекулы, т. е. на некотором удалении от атома фосфора. Синтез соединений описан в работах [2—6].

Активность выбранных веществ была изучена в реакциях ингибирования ацетилхолинэстеразы эритроцитов крови человека (КФ 3.1.1.7) и бутирилхолинэстеразы сыворотки крови лошади (КФ 3.1.1.8).

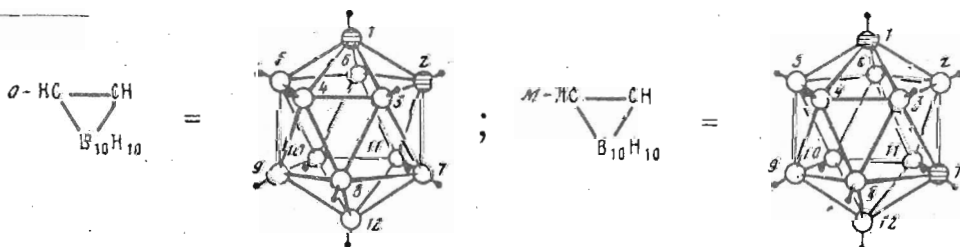
Мы нашли, что для всех исследованных соединений степень ингибирования обеих холинэстераз возрастает во времени и с увеличением концентрации ингибитора, а при бесконечном разбавлении раствора ингибитора степень ингибирования стремится к нулю. Все это указывает на необратимый тип ингибирования. О том же свидетельствует факт полного ингибирования холинэстераз при достаточно высоких временах инкубации, причем последующий диализ или фильтрация через гель сефадекса G-25 не приводит к реактивации ферментов.

Антихолинэстеразная активность оценивалась по величине бимолекулярной

Антихолинэстеразная активность карборанилсодержащих тио- и селеноэфиров кислот пятивалентного фосфора

№	Соединение*	$k_{II}, M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$	
		ацетилхолин-эстераза	бутирилхолин-эстераза
1	$o\text{-PhC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_{10}}{\text{C}}\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2$	$6,30 \cdot 10^4$	$1,80 \cdot 10^6$
2	$o\text{-MeC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_{10}}{\text{C}}\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2$	$3,40 \cdot 10^5$	$1,26 \cdot 10^6$
3	$m\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_{10}}{\text{C}}\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2$	$4,30 \cdot 10^5$	$8,65 \cdot 10^6$
4	$o\text{-PhC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_{10}}{\text{C}}\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})\text{Me}$	$3,10 \cdot 10^6$	$9,70 \cdot 10^6$
5	$o\text{-MeC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_{10}}{\text{C}}\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})\text{Me}$	$2,10 \cdot 10^6$	$1,40 \cdot 10^6$
6	$m\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_9\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2}{\text{C}}-\text{CH}$	$2,93 \cdot 10^3$	$2,17 \cdot 10^5$
7	$o\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_9\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2}{\text{C}}-\text{CH}$	$9,77 \cdot 10^3$	$3,68 \cdot 10^5$
8	$o\text{-PhC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_{10}}{\text{C}}\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2$	$3,20 \cdot 10^5$	$4,95 \cdot 10^6$
9	$m\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_{10}}{\text{C}}\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2$	$9,12 \cdot 10^5$	$4,32 \cdot 10^6$
10	$m\text{-DHC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_9\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2}{\text{C}}-\text{CH}$	$1,60 \cdot 10^4$	$9,60 \cdot 10^5$
11	$o\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_9\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2}{\text{C}}-\text{Croman}$	$9,09 \cdot 10^3$	$2,85 \cdot 10^5$
12	$o\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_9\text{SeP}(\text{O})(\text{OEt})_2}{\text{C}}-\text{CH}$	$9,33 \cdot 10^3$	$2,30 \cdot 10^4$
13	$o\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_9\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2}{\text{C}}-\text{CH}$	$7,70 \cdot 10^3$	$1,52 \cdot 10^4$
14	$o\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_9\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})\text{OCH}=\text{CCl}_2}{\text{C}}-\text{CH}$	$1,05 \cdot 10^5$	$1,87 \cdot 10^6$
15	$o\text{-HC}-\underset{\text{B}_{10}\text{H}_{10}}{\text{C}}\text{P}(\text{O})(\text{OEt})\text{OCH}=\text{CCl}_2$ [1]	$1,10 \cdot 10^2$	$5,00 \cdot 10^2$
16	$\text{EtSCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})_2$ (издистокс) [8]	$6,40 \cdot 10^3$	$1,30 \cdot 10^4$
17	$\text{EtSCH}_2\text{CH}_2\text{SP}(\text{O})(\text{OEt})\text{Me}$ (ГД-7) [9]	$6,00 \cdot 10^4$	$6,80 \cdot 10^3$
18	$\text{MeOP}(\text{O})(\text{OMe})\text{OCH}=\text{CCl}_2$ (ДЛВФ) [8]	$2,30 \cdot 10^4$	$2,50 \cdot 10^5$

*



константы скорости необратимого ингибирования ферментов (k_{ii}), рассчитанной на основании измерений холинэстеразной активности, проводившихся по методу Элмана [7] с ацетилтиохолинбромидом в качестве субстрата. Из таблицы видно, что тиоэффиры, содержащие С-карборанильную группировку (соединения (1) — (5)), обладающую электроакцепторными свойствами, проявляют более высокую по сравнению с соответствующими тиоалкильными производными (16) и (17) антихолинэстеразную активность. На ингибирующую активность влияют также заместители в карборановом ядре и тип самого карборана. Так, диэтилтиофосфаты (1) — (3) менее активны по отношению к ацетилхолинэстеразе, чем по отношению к бутирилхолинэстеразе, а влияние заместителей в карборановом ядре (соединения (1) и (2)) заметно сказываются только при ингибировании ацетилхолинэстеразы.

При переходе к метилтиофосфонатам (4) и (5) имеют место повышение ингибирующей активности по отношению к ацетилхолинэстеразе и небольшое ее изменение по отношению к бутирилхолинэстеразе. При этом не наблюдается специфичности действия на ацетилхолинэстеразу, что, как известно, характерно для большинства метилтиофосфонатов. Это связано, по-видимому, с большой гидрофобностью карборанильной группы, способствующей взаимодействию ингибитора с активной поверхностью бутирилхолинэстеразы.

Высокая антихолинэстеразная активность соединений (1) — (5) связана, вероятно, с влиянием электроотрицательного карборанового ядра, что приводит к увеличению эффективного положительного заряда на атоме серы, а соответственно и к увеличению способности молекулы ингибитора взаимодействовать с анионным центром фермента. Этот вывод подтверждается данными, полученными при изучении борзамещенных карборанильных производных (6) и (7), в которых карборанильная группа проявляет электронодонорный эффект и, следовательно, понижает эффективность взаимодействия атома серы с анионным центром холинэстераз, что приводит к снижению антихолинэстеразной активности. Замена в тиоэфирной группе атома серы на селен мало влияет на ингибирующую активность. Так, для соединений (8) и (9), содержащих С-карборанильные группы, наблюдается только примерно двукратное увеличение активности по сравнению с соединениями (1) и (3). Для борзамещенных соединений (10) и (11) увеличение активности несколько больше, однако по сравнению с их С-карборанильными аналогами они также менее активны, что подтверждает вывод об отрицательном влиянии на антихолинэстеразную активность электронодонорных карборанильных группировок.

Интересно, что соединения (12) — (14), в которых карборанильная группировка связана с атомом фосфора через серу или селен, проявляют значительную и примерно одинаковую антихолинэстеразную активность, причем более высокую по отношению к бутирилхолинэстеразе, а соединения (14) даже более высокую, чем для известного инсектицида ДДВФ (18) [8]. Если сравнить полученные нами результаты с данными работы [1], можно сделать вывод, что карборанильная группировка в соединениях (1) — (14) способствует ингибированию холинэстераз, в то время как карборанильная группа, непосредственно связанная с атомом фосфора (например, соединение (15)), затрудняет ингибирование, создавая стерические препятствия при фосфорилировании эстеразного центра фермента.

Таким образом, введение карборанильной группы в тиоэфирный радикал приводит к соединениям со сравнительно высокой антихолинэстеразной активностью. При этом важное значение имеет место замещения фосфорорганическим фрагментом карборанового ядра.

Экспериментальная часть

В работе использовали серийные липофилизированные препараты ацетилхолинэстеразы из эритроцитов крови человека (активность 2—4 МЕ/мг) и бутирилхолинэстеразы из сыворотки крови лошади (активность 8—12 МЕ/мг), изготовленные предприятием Пермского НИИ вакцин и сывороток. Каталитическую активность холинэстераз определяли по методу Элмана [7].

Определение бимолекулярной константы (k_{ii}) скорости необратимого ингиби-

рования холинэстераз. В термостатируемую при 25° С оптическую кювету фотоэлектрокалориметра КФК-2 помещали 1 мл 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,5), 1 мл раствора препарата фермента в 0,01 М фосфатном буфере (рН 7,5) и 1 мл воды (контрольная проба) или раствора фосфорорганического ингибитора заданной концентрации [I] (опытная проба). Смесь перемешивали и инкубировали в течение времени τ (2 мин), после чего добавляли 1 мл 0,01 М раствора субстрата (ацетилтиохолина бромистого) и 1 мл 0,001 М раствора Элмана в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,5), нагретые до 25° С. Смесь перемешивали и измеряли время, за которое величина оптического поглощения раствора возрастала на 0,05 ОЕ при 400 нм: T_k — время в контрольной пробе (мин), T_{on} — время в опытной пробе (мин).

Величину k_{II} рассчитывали по формуле

$$k_{II} = \frac{1}{\tau [I]} \cdot \ln \frac{T_{on}}{T_k}$$

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Захарова Л. М., Десярев А. Н., Агабекян Р. С., Брегадзе В. И., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1978. № 10. С. 2178—2180.
2. Рыс Е. Г., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1986. № 3. С. 719—721.
3. Рыс Е. Г., Балема В. П., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1988. № 9. С. 2187.
4. Балема В. П., Рыс Е. Г., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1989. № 1. С. 194—197.
5. Балема В. П., Рыс Е. Г., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1990. № 12. С. 2857—2859.
6. Рыс Е. Г., Балема В. П., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1990. № 7. С. 1653—1655.
7. Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V., Featherstone R. M. // Biochem. Pharmacol. 1961. V. 7. P. 88—95.
8. Brestkin A. P., Khovanskikh A. E., Maizel E. B., Morolev S. N., Novozhilov K. V., Sazonova I. N., Abduvakhobov A. A., Godovikov N. N., Kabachnik M. I., Khashkin B. A., Mastryukova T. A., Shipov A. E. // Insect Biochem. 1986. V. 16. № 4. P. 701—707.
9. Бресткин А. П., Волкова Р. И., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1968. № 9. С. 2028—2032.

Поступила в редакцию
22.IV.1993

V. P. Balema, E. G. Rys, E. E. Sochilina,
O. V. Yagodina, S. N. Moralev, Yu. G. Zhukovsky,
N. N. Godovikov, M. I. Kabachnik

ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF CARBORANYL CONTAINING THIO- AND SELENOESTERS OF PENTAVALENT PHOSPHORUS ACIDS

A. N. Nesmeyanov Institute of Organo-Element Compounds,
Russian Academy of Sciences, Moscow

Anticholinesterase activity of carboranyl containing thio- and selenoesters of pentavalent phosphorus acids has been studied. Insertion of the carboranyl substituents in the thioester group of phosphororganic compounds was found to increase the anticholinesterase activity as compared with the thioalkyl analogues. The compounds with B-carboranyl group are less active inhibitors of cholinesterase than their isomers with C-carboranyl group.