



УДК 577.153.02

ИНДУКЦИОННОЕ ВЛИЯНИЕ ОТЩЕПЛЯЮЩЕЙСЯ ГРУППЫ В РЕАКЦИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ С АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗОЙ

*Яров Л. Л., Аавиксаар А. А., Годовиков Н. Н.,
Лобанов Д. И.*

Тартуский государственный университет, ЭССР

Институт кибернетики Академии наук ЭССР, Таллин

Институт элементоорганических соединений Академии наук СССР, Москва

Определены бимолекулярные константы скорости ингибирования ацетилхолинэстеразы (КФ 3.1.1.7) фосфорорганическими ингибиторами $(C_2H_5O)_2P(O)SX$, в которых $X = -C_nH_{2n+1}$ ($n = 4-8$), $-(CH_2)_mSC_2H_5$ ($m = 1-6$), и бимолекулярные константы скорости их щелочного гидролиза. Показано, что зависимость ингибирующей способности соединений от строения отщепляющейся группы описывается уравнением $\lg k_{II} = \lg k_{II}^0 + \rho^* \sigma_X^* + \phi \pi_X$, учитывающим индукционное влияние и гидрофобность заместителя X. Определены значения констант: $\rho^* = 4,0$, $\phi = 0,58$, $\lg k_{II}^0 = -1,2$. Величина реакционной константы ρ^* для реакции фосфорилирования активного центра фермента в 1,8 раза превышает ρ^* для реакции щелочного гидролиза. Обсуждаются возможные различия в структурах переходных состояний этих реакций.

Известно, что введение катионной группы в отщепляющуюся часть фосфорорганических ингибиторов существенно увеличивает бимолекулярные константы скорости фосфорилирования активного центра ацетилхолинэстеразы (КФ 3.1.1.7) [1-6]. Этот эффект связывают с наличием анионного центра на активной поверхности фермента [3-9]. Количественное определение эффекта ион-ионного взаимодействия в реакции ацетилхолинэстеразы с ингибиторами, однако, возможно только после учета вклада индукционного влияния заместителя, которое, судя по данным некоторых работ [5, 10-13], в реакции торможения этого фермента может играть весьма значительную роль. Определение вклада индукционного влияния в свою очередь затруднено наличием гидрофобного взаимодействия отщепляющейся группы с активной поверхностью фермента [6, 9, 14, 15]. Поэтому в случае неионной отщепляющейся группы корреляционное уравнение для учета влияния структуры ингибиторов на бимолекулярные константы скорости торможения должно содержать по меньшей мере два члена [16, 17]:

$$\lg k_{II} = \lg k_{II}^0 + \rho^* \sigma_X^* + \phi \pi_X, \quad (1)$$

где $\rho^* \sigma_X^*$ (или $\rho \sigma_X$) учитывает вклад индукционного влияния, а $\phi \pi_X$ — вклад гидрофобности заместителя X.

Ханшом и Дойтч [16] была сделана попытка определить константы ρ и ϕ в случае отщепления ароматической группы, исходя из литературных данных Фукуто и Меткафа [10, 13] по ингибиторной активности заме-

Бимолекулярные константы ингибирования (k_{II}) ацетилхолинэстеразы фосфорорганическими ингибиторами $(C_2H_5O)_2P(O)SX$ и бимолекулярные константы скорости щелочного гидролиза, k_{OH}

№ соедине- ний	X	$k_{II}, M^{-1} c^{-1}$	$k_{OH} \cdot 10^3, M^{-1} c^{-1}$	№ соедине- ний	X	$k_{II}, M^{-1} c^{-1}$	$k_{OH} \cdot 10^3, M^{-1} c^{-1}$
1	C_4H_9	$0,90 \pm 0,05$	$3,40 \pm 0,15$	7	$(CH_2)_2SC_2H_5$	$17,5 \pm 0,9$	$17,0 \pm 0,4^*$
2	C_5H_{11}	$1,83 \pm 0,09$	$3,35 \pm 0,20$	8	$(CH_2)_3SC_2H_5$	$7,2 \pm 0,3$	$8,78 \pm 0,06$
3	C_6H_{13}	$3,30 \pm 0,20$	$3,45 \pm 0,15$	9	$(CH_2)_4SC_2H_5$	$9,1 \pm 0,7$	$5,27 \pm 0,15$
4	C_7H_{15}	$9,25 \pm 0,20$	$3,40 \pm 0,25$	10	$(CH_2)_5SC_2H_5$	$11,5 \pm 0,6$	$4,02 \pm 0,10$
5	C_8H_{17}	$11,5 \pm 0,9$	—	11	$(CH_2)_6SC_2H_5$	$16,1 \pm 0,9$	$3,45 \pm 0,15$
6	$CH_2SC_2H_5$	75 ± 5	$66,6 \pm 1,7$				

* Данные работы [23]: $k_{OH} = 13,6 \cdot 10^{-3}, M^{-1} c^{-1}$.

Таблица 2

Результаты корреляционного анализа

Соединения из табл. 1	Уравне- ние	Определяемые константы и их значения	Коэффициент корреляции, r	Стандартное отклонение, s
6—11	(2)	$\lg k_{OH}^0 = -2,43 \pm 0,02$ $\rho^* = 2,25 \pm 0,17$	0,995	0,040
1—5	(3)	$\lg k_{II}^0 = -1,20 \pm 0,14$ $\varphi = 0,58 \pm 0,04$	0,991	0,050
*	(3)	$\lg k_{II}^0 = -0,22 \pm 0,14$ $\varphi = 0,77 \pm 0,05$	0,987	0,146
1—10	(1)	$\lg k_{II}^0 = -1,12 \pm 0,14$ $\rho^* = 3,96 \pm 0,22$ $\varphi = 0,57 \pm 0,05$	0,992	0,078

* Данные работы [6] для соединений $(C_2H_5O)(CH_3)P(O)SC_nH_{2n+1}$, $n = 4-8$.

щенных фениловых эфиров О,О-диэтилфосфорной кислоты по отношению к ацетилхолинэстеразе голов мух. Эта задача, однако, осталась нерешенной, так как в случае метазамещенных производных отсутствовала статистически достоверная корреляция ($r = 0,558$), а в случае паразамещенных производных между параметрами σ и π наблюдается взаимная корреляция с коэффициентом r , равным 0,876, что не позволяет присвоить физический смысл значениям ρ и φ в двухпараметровой корреляции [18].

Для определения параметров ρ^* и φ в уравнении (1) в настоящей работе была выбрана серия ингибиторов $(C_2H_5O)_2P(O)SX$ с алифатическими отщепляющимися группами, где $X = -(CH_2)_mSC_2H_5$ ($m = 1-6$) и $-C_nH_{2n+1}$ ($n = 4-8$), и изучена их ингибирующая способность по отношению к ацетилхолинэстеразе (табл. 1; способ расчета констант см. «Экспериментальную часть»). Для производных с углеводородными заместителями величины констант k_{II} на два порядка меньше значений, полученных ранее Браха и О'Брайном [19]. Это согласуется с результатами работы [20], в которой на примере диэтил-S-*n*-пропилтиофосфата показано, что значение константы скорости ингибирования для препарата ингибитора, сво-

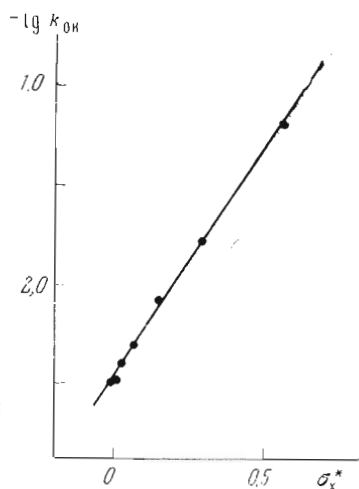


Рис. 1

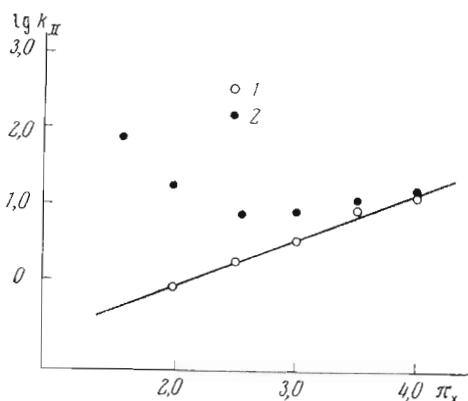


Рис. 2

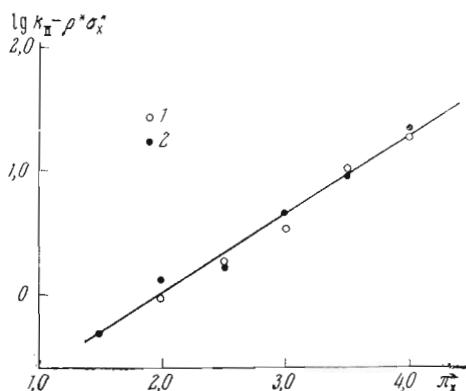


Рис. 3

Рис. 1. Корреляция констант скорости щелочного гидролиза соединений $(C_2H_5O)_2P(O)SX$ с индукционными постоянными σ_X^* заместителей $X = -(CH_2)_mSC_2H_5$

Рис. 2. Зависимость антиацетилхолинэстеразной активности ингибиторов $(C_2H_5O)_2P(O)SX$ от π -констант гидрофобности заместителя X :
1 — $X = C_nH_{2n+1}$; 2 — $X = -(CH_2)_mSC_2H_5$

Рис. 3. Зависимость $(lg k_{II} - \rho^* \sigma_X^*)$ от π -констант гидрофобности заместителя X в ингибиторах $(C_2H_5O)_2P(O)SX$: 1 — $X = -C_nH_{2n+1}$; 2 — $X = -(CH_2)_mSC_2H_5$

бодного от высокоактивных ингибирующих примесей, существенно ниже, чем в работе [19]. Константы k_{II} для соединений $(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_mSC_2H_5$ при $m = 2$ и 3, рассчитанные из приведенных в литературе значений I_{50} [3, 21, 22], имеют такой же порядок величины, как и полученные в настоящей работе.

В качестве неферментативной модельной реакции фосфорилирования активного центра ацетилхолинэстеразы под действием фосфорорганических ингибиторов в настоящей работе исследовался их щелочной гидролиз (см. табл. 1). В случае соединений с электроотрицательными заместителями $-(CH_2)_mSC_2H_5$ между $lg k_{OH}$ и σ -константами наблюдается линейная зависимость (рис. 1) согласно уравнению

$$lg k_{OH} = lg k_{OH}^0 + \rho^* \sigma_X^* \quad (2)$$

(Результаты корреляции см. в табл. 2.) Индукционные константы σ_X^* для заместителей $-(CH_2)_mSC_2H_5$ рассчитывали по формуле $\sigma_X^* = z^{(m-1)} \sigma_{-CH_2SC_2H_5}^*$, используя для z значение 0,50 [24] и для группы $-CH_2SC_2H_5$ $\sigma^* = 0,56$ [25]. В случае ингибитора с $m = 6$ индукционное влияние электроотрицательной группы $-SC_2H_5$ практически полностью затухает. Как видно из табл. 1, k_{OH} для этого соединения совпадает с константами щелочного гидролиза соединений с алкильными заместителями в отщепляющейся группе.

Такой результат естествен с точки зрения классических представлений об индукционном эффекте, с которыми согласуется предложенная недавно шкала индукционных постоянных [26], где в качестве стандартного заместителя с $\sigma^* = 0$ выступает бесконечно длинная полиметиленовая цепь. В этой шкале индукционные постоянные для алкильных заместителей $-\text{CH}_3$ и $-\text{C}_2\text{H}_5$ имеют положительные значения, а для остальных нормальных углеводородных заместителей $\sigma^* = 0$ в пределах точности их определения. Индукционные постоянные для электроотрицательных заместителей в этой шкале эквивалентны σ^* -константам Тафта [27].

Как видно из рис. 2, при затухании индукционного влияния ингибирующая способность соединений с электроотрицательными и алкильными заместителями, как и в реакции щелочного гидролиза, становится одинаковой также в реакции с ферментом (ср. данные табл. 1). Изменение ингибирующей активности фосфорорганических ингибиторов, для которых $\sigma_X^* = 0$, определяется исключительно гидрофобностью отщепляющейся части, и уравнение (1) превращается в более простую зависимость:

$$\lg k_{II} = \lg k_{II}^0 + \pi \pi_X \quad (3)$$

Для количественного учета гидрофобности заместителей в данной работе использовались π -константы Ханша [28, 29]. Величины π_X алкильных заместителей рассчитаны согласно аддитивной схеме с использованием для $-\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_3$ значения π , равного 0,5. С помощью уравнения (3) рассчитаны значения $\lg k_{II}^0$ и ϕ для подсерии фосфорорганических ингибиторов с алкильными заместителями (табл. 2). Константа $\phi = 0,57$, характеризующая чувствительность реакции торможения к изменению гидрофобности отщепляющейся группы в исследованной серии ингибиторов, близка к соответствующей константе $\phi = 0,78$, рассчитанной с помощью уравнения (3), для ингибиторов $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2(\text{CH}_3)\text{P}(\text{O})\text{SC}_n\text{H}_{2n+1}$ с $n = 4-8$, исходя из значений k_{II} , приведенных в работе [6]. Это, по-видимому, свидетельствует о взаимодействии отщепляющихся групп обоих типов фосфорорганических ингибиторов с одним и тем же гидрофобным участком поверхности ацетилхолинэстеразы.

При расчете констант гидрофобности электроотрицательных заместителей $-(\text{CH}_2)_m\text{SC}_2\text{H}_5$ для атома сульфидной серы использовали значение $\pi = 0,05$ из данных работы [29]. Так как между π -константами и индукционными постоянными σ^* в исследуемой реакционной серии отсутствует статистически значимая взаимная корреляция ($r = 0,659$), анализ экспериментальных данных был проведен методом двухпараметровой корреляции согласно уравнению (1). Результаты корреляции (табл. 2) показывают, что для реакции торможения ацетилхолинэстеразы характерна высокая чувствительность к индукционному влиянию; это проявляется в высоком значении соответствующей константы $\rho^* = 3,96 \pm 0,22$. Сопоставление величин $\lg k_{II}^0$ и ϕ с соответствующими значениями в уравнении (3) свидетельствует о том, что включение в реакционную серию соединений с электроотрицательными группами не меняет значения этих констант (рис. 3). После учета вклада индукционного влияния в константах ингибирования точки для алкильных и электроотрицательных заместителей ложатся на общую прямую, что является подтверждением единого механизма взаимодействия углеводородных и электроотрицательных заместителей с активной поверхностью ацетилхолинэстеразы.

Таким образом, уравнение (1) хорошо описывает зависимость ингибирующей активности фосфорорганических ингибиторов от строения углеводородных и незаряженных электроотрицательных заместителей. Найденные для реакционной серии $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SX}$ значения ρ^* и ϕ открывают возможность выделения вклада ион-ионного взаимодействия на фоне гидрофобного и индукционного влияний в реакции торможения ацетилхолинэстеразы с заряженными ингибиторами этой серии.

В ряде случаев для выделения «неэлектронных» эффектов в специфичности действия сериновых эстераз использовался метод нормирования констант скоростей ферментативной реакции с использованием соответствующих констант щелочного гидролиза [30—34]. ρ -Член при этом сокращается лишь при условии равенства ρ -констант для обеих реакционных серий. Как видно из табл. 2, в данном случае это равенство не соблюдается и ρ^* для ферментативной реакции почти в 2 раза превышает ρ^* для реакции щелочного гидролиза.

Различающиеся значения реакционных констант позволяют предполагать различия в строении соответствующих активированных состояний. При анализе этих различий предположим, что чувствительной к изменению электрофильности атома фосфора стадией при взаимодействии ацетилхолинэстеразы с ингибиторами согласно схеме [35, 36]



является образование фосфорил-фермента, EI' , и что найденное из корреляции бимолекулярных констант $k_{II} = \frac{k_2}{K_I}$ значение ρ^* относится именно к этой стадии.

Согласно теории индукционного эффекта, величина ρ^* определяется следующим соотношением [38—41]:

$$\rho^* = \frac{\alpha^* (\sigma_Y^* - \sigma_{Y^*}^*)}{2,3 \cdot RT}, \quad (5)$$

где α^* — универсальная индукционная постоянная, численно равная 2,61 [41], σ_Y^* и $\sigma_{Y^*}^*$ — индукционные постоянные реакционного центра в исходном и активированном состояниях. В качестве реакционного центра в исследованной серии ингибиторов выступает группа $(C_2H_5O)_2P(O)S-$, для которой из значения pK_a 7,73 [2] аммониевой группы соединения $(C_2H_5O)_2P(O)SC_2H_4N(CH_3)_2H^+$ получим $\sigma_Y^* = 2,20^*$.

При полном разрыве связи с отщепляющейся группой в активированном состоянии $\sigma_{Y^*}^*$ может быть приравнена к индукционной постоянной заместителя $-S^-$. Можно полагать, что при неполном разрыве $P-S$ -связи $\sigma_{Y^*}^*$ имеет промежуточное значение между σ_Y^* и σ^* для $-S^-$. Из данных равновесий в водной среде для заместителя $-S^-$ в работе [41] получена $\sigma^* = -0,42$. В случае реакции торможения ацетилхолинэстеразы для $\sigma_{Y^*}^*$ в уравнении (5) в настоящей работе получено значение 0,1, которое близко к σ^* для $-S^-$ и тем самым указывает на практически полный разрыв $P-S$ -связи в переходном состоянии.

Для реакции щелочного гидролиза получим $\sigma_{Y^*}^* = 1,0$. Согласно приведенным выше соображениям, это свидетельствует о неполном разрыве связи в активированном состоянии.

* Значение σ_Y^* мало зависит от структуры заместителей у атома фосфора: из данных в работе [2] имеем $\sigma_Y^* = 2,13$ для группы $(C_2H_5O)(CH_3)P(O)S-$ и $\sigma_Y^* = 2,16$ для группы $(\text{изо-}C_3H_7O)(CH_3)P(O)S-$. Расчет этих величин проводили по формуле

$$\sigma_Y^* = \frac{pK_a^0 - pK_a^{Y(CH_2)_n}}{\rho^* z^n},$$

где для диссоциации кислот $Y(CH_2)_nN(CH_3)_2H^+$ в воде при 25° $\rho^* = 3,94$, $pK_a = 9,73$ и $z = 0,48$ [42].

Соединения $(C_2H_5O)_2P(O)SC_nH_{2n+1}$ с $n = 4-8$ синтезированы из хлорангидрида диэтилфосфорной кислоты и соответствующих меркаптидов натрия. Физические константы полученных соединений согласуются с соответствующими величинами работы [19]. Синтез и свойства фосфорорганических ингибиторов $(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_mSC_2H_5$ с $m = 1-6$ описаны нами ранее [43].

Препараты ингибиторов очищали методом жидкостной хроматографии на колонке с силикагелем [44] и хранили при 4° .

Использовали препарат ацетилхолинэстеразы яда кобры *Naja naja oxiana* (КФ 3.1.1.7), очищенный гель-хроматографией, с удельной активностью $180 \text{ мкмоль} \cdot \text{мин}^{-1} \text{ мг}^{-1}$ белка (концентрация ацетилхолина $2,2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$, рН 7,5; 0,15 М водный раствор KCl). Ранее показано, что каталитические свойства фермента яда кобры сходны со свойствами ацетилхолинэстеразы эритроцитов [45, 46].

Подистый ацетилхолин марки ч. использовали после трехкратной перекристаллизации из смеси абсолютного этанола и диэтилового спирта. Препарат *n*-хлормеркурибензойной кислоты фирмы «Chemapol» (Чехословакия) очищали как описано ранее [47]. Остальные реактивы: КОН марки х. ч. и KCl марки ос. ч.

Исходные растворы ацетилхолинэстеразы с концентрацией активных центров $10^{-6}-10^{-7} \text{ М}$ готовили растворением препарата фермента в 0,15 М водном растворе KCl и хранили при температуре 4° . В этих условиях активность фермента в течение месяца практически не менялась.

Фосфорорганические ингибиторы растворяли в 0,15 М водном растворе KCl и точную концентрацию их в растворе определяли описанным ранее методом спектрофотометрического титрования [47]. Обработка ингибиторов раствором щелочи не привела к изменению ингибиторной активности, что было принято как доказательство отсутствия высокоактивных ингибирующих примесей в использованных препаратах [48].

Кинетику торможения ацетилхолинэстеразы измеряли по убыли активности фермента в псевдомономолекулярных условиях при более чем 1000-кратном избытке ингибитора.

Фосфорилирование фермента проводили в термостатированной при 25° кювете рН-стата в 0,15 М растворе KCl при рН 7,5. Предварительно в кювете термостатировали 5 мл раствора ингибитора с известной концентрацией, доводили значение рН до 7,5 и прибавляли 0,01—0,009 мл запасного раствора фермента. Через различные промежутки времени к реакционной смеси добавляли 0,05 мл 0,2 М водного раствора субстрата. Остаточную активность фермента оценивали по начальной скорости ферментативного гидролиза ацетилхолина при рН 7,5 титрованием образующейся в этой реакции кислоты 0,01 М раствором КОН. Измерения проводили в атмосфере очищенного от углекислого газа воздуха.

Наблюдаемые псевдомономолекулярные константы скорости ингибирования (k_i) определяли из наклонов зависимостей $\lg v_i$ от t согласно уравнению

$$\lg v_i = \lg v_0 - \frac{k_i}{2,3} t, \quad (6)$$

где v_0 — скорость ферментативного гидролиза субстрата в отсутствие ингибитора и v_i — скорость ферментативного гидролиза субстрата после реакции ацетилхолинэстеразы с ингибитором в течение времени t . За ходом реакции торможения наблюдали до глубины превращения не менее 60%. Все полученные зависимости в координатах $\lg v_i - t$ описывались прямыми, при этом в ряде случаев реакцию доводили до 98—99% глубины превращения. Полученные экстраполяцией значения $\lg v_0$ в пределах погрешностей определения совпадали с экспериментальными значениями.

Бимолекулярные константы торможения ацетилхолинэстеразы (k_{II}) были найдены из наклонов прямых в координатах k_1 — $[I]_0$ согласно уравнению

$$k_1 = a_0 + k_{II} [I]_0, \quad (7)$$

где $[I]_0$ — начальная концентрация ингибитора в реакционной смеси и a_0 учитывает спонтанную инактивацию фермента. В условиях эксперимента, использованных в настоящей работе, спонтанная инактивация фермента не была обнаружена и a_0 в уравнении (7) равна нулю.

Константы скорости щелочного гидролиза фосфорорганических тиоэфиров определяли с применением ранее описанной спектрофотометрической методики [49].

Кинетические измерения активности ацетилхолинэстеразы проводили на рН-стате фирмы «Radiometer» (Дания, комплект TTT1d/SBR2c/ABU1c), спектрофотометрические измерения — на спектрофотометре «Perkin — Elmer-402», используя термостатированные 1-см квадратные кварцевые кюветы. Вычисления кинетических констант и статистическую обработку экспериментальных данных по методу наименьших квадратов осуществляли на ЭВМ «Наири-2».

ЛИТЕРАТУРА

1. Fukuto T. R., Metcalf R. L., March R. B. (1955) J. Amer. Chem. Soc., 77, 3670—3671.
2. Tammelin L. E. (1958) Kem. tidskr., 70, 157—181.
3. Heath D. F. (1961) Biochem. Pharmacol., 6, 244—251.
4. Волкова Р. И., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И., Магazanик Л. Г., Мaстриюкова Т. А., Михельсон М. Я., Рожкова Е. К., Фруентов Н. К., Яковлев В. А. (1961) Вopr. мед. химии, 7, 250—259.
5. Kitz R. J., Ginsburg S., Wilson I. B. (1967) Molec. Pharmacol., 3, 225—232.
6. Кабачник М. И., Абдувахaбов А. А., Агабекова И. И., Бресткин А. П., Волкова Р. И., Годовиков Н. Н., Годына Е. И., Михайлов С. С., Михельсон М. Я., Розенгарт В. И., Розенгарт Е. В., Ситкевич Р. В. (1970) Успехи химии, 39, 1050—1073.
7. Holmstedt B. (1963) in Handbuch der Experimentellen Pharmacologie (Koelle G. B., ed.), vol. 15, p. 428—485, Springer, Berlin — Göttingen — Heidelberg.
8. Голиков С. Н., Розенгарт В. И. (1964) Холинэстеразы и антихолинэстеразные вещества, с. 31—61, 105—131, «Медицина», Л.
9. Яковлев В. А. (1965) Кинетика ферментативного катализа, с. 138—240, «Наука», М.
10. Fukuto T. R., Metcalf R. L. (1956) J. Agr. and Food Chem., 4, 930—935.
11. Aldridge W. N., Davison A. N. (1952) Biochem. J., 51, 62—70.
12. Aldridge W. N. (1954) Chem. and Ind., 473—476.
13. Metcalf R. L., Fukuto T. R. (1962) J. Econ. Entomol., 55, 340—345.
14. Годовиков Н. Н., Годына Е. И., Кабачник М. И., Михельсон М. Я., Розенгарт Е. В., Яковлев В. А. (1963) Докл. АН СССР, 151, 1104—1108.
15. Бресткин А. П., Годовиков Н. Н., Годына Е. И., Кабачник М. И., Михельсон М. Я., Розенгарт Е. В., Яковлев В. А. (1964) Докл. АН СССР, 158, 880—883.
16. Hansch C., Deutsch E. W. (1966) Biochim. et biophys. acta, 126, 117—128.
17. Aaviksaar A., Paris J., Palm V. (1971) Organic Reactivity, 8, 817—832.
18. Айвазян С. А. (1968) Статистическое исследование зависимостей, с. 62—114, «Металлургия», М.
19. Bracha P., O'Brien R. D. (1968) Biochemistry, 7, 1555—1559.
20. Gazzard M. F., Sainsbury G. L., Swanston D. W., Sellers D., Watts P. (1974) Biochem. Pharmacol., 33, 751—752.
21. Heath D. F., Vandekar M. (1957) Biochem. J., 67, 187—201.
22. Fukuto T. R., Metcalf R. L., March R. B., Maxon M. G. (1955) J. Econ. Entomol., 48, 347—349.
23. Metcalf R. L. (1955) Organic Insecticides, p. 259, Interscience Publ., Inc., N. Y.
24. Ярв Я. Л., Аавиксаар А. А., Годовиков Н. Н., Морозова Н. А. (1972) Реакц. способн. орг. соедин., 9, 813—829.
25. Мaстриюкова Т. А., Кабачник М. И. (1969) Успехи химии, 38, 1751—1782.
26. Пальм В. А., Пюсса Т. О., Нуммерт В. М., Тальвик И. В. (1973) Реакц. способн. орг. соедин., 10, 243—267.
27. Тафт Р. У. (1960) в кн. Пространственные эффекты в органической химии (под ред. Ньюмена М. С.), с. 562—686, Изд-во иностр. лит., М.
28. Fujita T., Iwasa J., Hansch C. (1971) J. Amer. Chem. Soc., 86, 5175—5178.

29. Hansch C., Leo A., Unger S. H., Kim K. H., Nikitiani D., Lien E. J. (1973) *J. Med. Chem.*, **16**, 1207—1216.
30. Bender M. L., Kezdy F. J. (1965) *Annual Rev. Biochem.*, **34**, 49—76.
31. Becker E. L. (1967) *Biochim. et biophys. acta*, **147**, 289—296.
32. Ingles D. W., Knowles J. R. (1967) *Biochem. J.*, **104**, 369—378.
33. Сикк П. Ф., Аавиксаар А. А., Годовиков Н. Н., Морозова Н. А., Пальм В. А. (1970) *Реакц. способн. орг. соедин.*, **7**, 986—1001.
34. Кабачник М. И., Годовиков Н. Н. (1971) *Докл. АН СССР*, **196**, 348—351.
35. Main A. R., Iverson F. (1966) *Biochem. J.*, **100**, 525—531.
36. Reiner E., Aldridge W. N. (1967) *Biochem. J.*, **105**, 171—179.
37. Suszkiw J. B. (1971) *Anal. Biochem.*, **44**, 321—324.
38. Пальм В. А. (1967) *Основы количественной теории органических реакций*, с. 57—69, 89—172, «Химия», Л.
39. Hine J. (1960) *J. Amer. Chem. Soc.*, **82**, 4877—4880.
40. Sager W. F., Ritchie C. D. (1961) *J. Amer. Chem. Soc.*, **83**, 3498—3503.
41. Коппель И. А., Карельсон М. М., Пальм В. А. (1973) *Реакц. способн. орг. соедин.*, **10**, 497—514.
42. Коппель И. А., Карельсон М. М., Пальм В. А. (1974) *Реакц. способн. орг. соедин.*, **11**, 99—119.
43. Ярв Я. Л., Аавиксаар А. А., Лобанов Д. И., Годовиков Н. Н. (1976) *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 2, 426—428.
44. Ярв Я. Л., Аавиксаар А. А. (1976) *Изв. АН ЭстССР, Химия, геол.*, **25**, вып. 2.
45. Сийгур Э. П., Аавиксаар А. А., Абдувахабов А. А., Илометс Т. Я. (1975) *Реакц. способн. орг. соедин.*, **11**, 861—868.
46. Mounter L. A. (1958) *Biochem. J.*, **56**, 122—128.
47. Лавгелъ Ю., Ярв Я., Аавиксаар А. (1974) *Уч. зап. Тарт. ун-та*, **332**, 172—178.
48. Maglothlin J. A., Wilson I. B. (1974) *Biochemistry*, **13**, 3520—3527.
49. Ярв Я. Л., Аавиксаар А. А. (1971) *Реакц. способн. орг. соедин.*, **8**, 965—980.

Поступила в редакцию
12.XI.1975

LEAVING GROUP INDUCTIVE EFFECT IN THE REACTION OF [ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS WITH ACETYLCHOLINESTERASE

JÄRV J. L., AAVIKSAAR A. A., GODOVIKOV N. N.,
LOBANOV D. I.

*Tartu State University, Institute of Cybernetics, Academy
of Sciences of the Estonian SSR, Tallin, Institute of Organo
Element Compounds, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The second-order rate constants of the inhibition of acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7, AChE) by organophosphorus thioesters of the general formula $(C_2H_5O)_2P(O)SX$, where $X = -C_nH_{2n+1}$ ($n = 4-8$) and $-(CH_2)_mSC_2H_5$ ($m = 1-6$) were determined at 25° and pH 7.5 in 0.15 M KCl. The AChE-inhibiting activity of the compounds has been described by means of the correlation equation $\lg k_{II} = \lg k_{II}^0 + \rho^* \sigma_X^* + \phi \pi_X$, where $\rho^* \sigma_X^*$ and $\phi \pi_X$ are the contributions of inductive effect and hydrophobicity of a substituent X. The values $\lg k_{II}^0 = -1.2$, $\rho^* = 4.0$ and $\phi = 0.58$ were obtained. The rate constants for the alkaline hydrolysis of the inhibitors were measured and the linear correlation between $\lg k_{OH}$ and σ^* -constants was obtained. The reaction constant ρ^* for the alkaline hydrolysis was 1.8-fold lower than that for the phosphorylation of AChE. The differences in the structures of activated complexes for these reactions are discussed.