



УДК 577.152 : 577.15.02

ЭФФЕКТ КАТИОННОГО ЗАРЯДА ОТЩЕПЛЯЮЩЕЙСЯ ГРУППЫ
В РЕАКЦИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ
С АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗОЙЯрв Я. Л., Лавиксаар А. А., Годовиков Н. Н.,
Лобанов Д. И.

Тартуский государственный университет, ЭстССР;
Институт кибернетики Академии наук ЭстССР, Таллин;
Институт элементоорганических соединений
Академии наук СССР, Москва

Измерены бимолекулярные константы скорости торможения ацетилхолинэстеразы (КФ 3.1.1.7) ингибиторами $[(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5]CH_3SO_4^-$ ($n = 1-6$) и на основании уравнения $\lg k_{II}^X = \lg k_{II}^0 + \rho^*\sigma_X^* + \phi\pi_X + \theta_X$ рассчитаны вклады положительного заряда отщепляющейся части ингибиторов (θ) в ингибирующую активность соединений. Для ингибитора с $n = 1$ эффект заряда близок к нулю, а для остальных соединений θ не зависит от n и равна 3,6. Высказано предположение, что основная роль анионного центра в определении специфичности действия ацетилхолинэстеразы (более чем 90% от величины θ) заключается в компенсации «антигидрофобности» катионного заместителя, связанной с невыгодностью введения заряженной группы ингибитора в гидрофобную область активного центра фермента.

В предыдущем сообщении [1] было показано, что влияние строения неионной алифатической отщепляющейся части $-SX$ фосфорорганических ингибиторов $(C_2H_5O)_2P(O)SX$ на бимолекулярные константы скорости фосфорилирования активного центра ацетилхолинэстеразы (КФ 3.1.1.7) в широком интервале изменения длины заместителя X описывается корреляционным уравнением

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

где $\rho^*\sigma_X^*$ и $\phi\pi_X$ — вклады индукционного влияния и гидрофобности заместителя.

В настоящей работе изучено взаимодействие ацетилхолинэстеразы с метилсульфометилатами O,O -диэтил- S -(ω)-этилмеркаптоалкил)тиофосфатов $[(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5]CH_3SO_4^+$ ($n = 1-6$) с целью выяснения, какую роль в специфичности торможения фермента играет «анионный пункт» [2—5] в его активном центре. Обозначая через θ специфический эффект взаимодействия заряженного заместителя с анионным центром ацетилхолинэстеразы, корреляционное уравнение можно написать в виде

$$\lg k_{II}^X = \lg k_{II}^0 + \rho^*\sigma_X^* + \phi\pi_X + \theta_X. \quad (2)$$

Полученные нами ранее [1] значения $\lg k_{II}^0 = -1,2$, $\rho^* = 4,0$ и $\phi = 0,58$ позволяют определить величины θ .

Ингибирование ацетилхолинэстеразы соединениями
 $[(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5]CH_3SO_4^-$

n	$k_{II}^X, M^{-1} c^{-1}$	θ_X	$\rho^* \sigma_X^* / \theta_X$
1	$(4,62 \pm 0,18) \cdot 10^5$	0,3	29
2	$(5,05 \pm 0,10) \cdot 10^4$	3,5	1,3
3	$(1,30 \pm 0,09) \cdot 10^3$	3,7	0,58
4	$(1,41 \pm 0,07) \cdot 10^2$	3,6	0,30
5	$(8,00 \pm 0,30) \cdot 10$	3,6	0,15
6	$(7,80 \pm 0,50) \cdot 10$	3,6	0,07

$$\theta_X \text{ рассчитан по уравнению } \theta_X = \lg k_{II}^X - \lg k_{II}^0 - \rho^* \sigma_X^* - \varphi^{\pi} X.$$

Для соединений с $n = 2$ и 3 экспериментально полученные значения k_{II} (таблица) близки к соответствующим величинам, рассчитанным из имеющихся в литературе [4—7] констант I_{50} для ацетилхолинэстераз из различных источников. Индукционные постоянные заместителей $(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5$ вычислены по формуле

$$\sigma^* = z^{(n-1)} \sigma^*_{CH_2S^+(CH_3)C_2H_5},$$

где $z = 0,5$ и $\sigma^*_{CH_2S^+(CH_3)C_2H_5} = 2,20$ [8]. Константа гидрофобности $(\pi_{S^+(CH_3)C_2H_5} = -4,35)$ заимствована из работы П. Сикк и др. [9], величины $\pi_{(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5}$ рассчитаны с использованием значения $\pi_{CH_2} = 0,50$ [10].

Известно, что антиацетилхолинэстеразная активность соединений $[(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_2S^+(C_2H_5)R]R_2SO_4^-$ [6] и $[(C_2H_5O)(CH_3)P(O)S(CH_2)_2S^+(CH_3)R]CH_3SO_4^-$ [11] зависит от гидрофобности алкильного радикала R. При этом константы φ для этих реакционных серий совпадают с соответствующими величинами для тех же ингибиторов с незаряженными заместителями в отщепляющейся части. Это свидетельствует о том, что сульфониновая группа участвует во взаимодействии заместителя с гидрофобной областью активного центра ацетилхолинэстеразы.

Как видно из таблицы, $\theta > 0$ для всех изученных соединений, т. е. введение катионного заряда в отщепляющуюся часть ингибиторов приводит к специфическому увеличению их ингибирующей активности. В случае наиболее реакционноспособного соединения с $n = 1$ вклад θ , однако, мало отличается от нуля и экспериментально найденное значение $\lg k_{II}$ практически совпадает с расчетным значением из двухпараметрового уравнения (1). Для соединений с $n \geq 2$ величина θ имеет постоянное значение 3,6 независимо от длины полиметиленовой цепочки, разделяющей атом сульфониновой серы и реакционный центр. Эти факты невозможно объяснить только на основе простой электростатической модели, в которой влияние заряда рассматривается как результат кулоновского взаимодействия между ионами в фермент-ингибиторном комплексе.

Для сравнения значений вкладов индукционного влияния ионного заместителя и специфического эффекта заряда в определении ингибирующей активности катионных ингибиторов в таблице приведены отношения $\rho^* \sigma_X^* / \theta_X$. В случае ингибиторов с $n \geq 3$ θ превышает вклад индукционного эффекта. В соединениях с $n = 1$ и 2 , наоборот, более важное значение имеет высокая электрофильность атома фосфора как результат индукционного влияния ионного заместителя, что в основном и определяет высокую ингибирующую активность этих соединений.

При учете гидрофобности отщепляющейся группы ингибиторов использовали π -константы заместителей и тем самым изучаемый ферментативный процесс сопоставляли с распределением соединений в модельной системе

вода — октанол. Отрицательные значения констант гидрофобности ионных заместителей [10] связаны с энергетической невыгодностью переноса заряженной группы из воды в гидрофобную фазу. В работе [9] было показано, что вклад положительного заряда в π -константы ониевого заместителей не зависит от природы заряженного атома (N или S) и может быть рассмотрен как аддитивный инкремент «антигидрофобного» влияния заряда. В этом случае для ониевого заместителя $Z^+(R)_i$ можно написать

$$\pi_{Z^+(R)_i} = \sum_i (\pi_R)_i + \pi_+, \quad (3)$$

где π_+ характеризует аддитивный вклад заряженного атома Z^+ . Величину π_+ можно определить из данных работы [9], в которой сопоставлением π -констант аммониевых и сульфониевых групп с π для соответствующих углеводородных структурных аналогов было получено равенство $\pi_{S^+} - \pi_C = \pi_{N^+} - \pi_C = -6,2$. Используя $\pi_C = 0,5$, получим для π_+ значение $-5,7$.

Применительно к ферментативным реакциям π_+ дает возможность расчета в $\lg k_{II}$ вклада «антигидрофобного» влияния ониевого атома, который равен $\phi\pi_+$ и является количественной мерой невыгодности переноса ионного заряда из воды в гидрофобную область активного центра фермента. В случае ферментов с гидрофобными участками в активном центре введение ионного заряда в гидрофобный заместитель реагента должно уменьшить его способность взаимодействовать с активной поверхностью фермента, что и наблюдается в опыте с α -химотрипсином [12—14]. Скорость ферментативной реакции при этом снижается в результате введения в молекулу реагента как катионной, так и анионной группы [13].

При сопоставлении величины эффекта «антигидрофобности» со значениями θ в реакции ацетилхолинэстеразы с изученными фосфорорганическими ингибиторами выясняется, что в этом случае «антигидрофобное» влияние заряда полностью скомпенсировано ($\theta - |\phi\pi_+| > 0$) и способности катионных и незаряженных реагентов взаимодействовать с активным центром фермента сопоставимы. В этой связи можно сказать, что основная роль анионного центра в определении специфичности действия ацетилхолинэстеразы заключается в компенсации антигидрофобности катионного заместителя, так как $\phi\pi_+ = -3,3$ составляет более чем 90% от θ (исключением является соединение $[(C_2H_5O)_2P(O)SCH_2S^+(CH_3)C_2H_5]CH_3SO_4^-$, для которого $\theta - |\phi\pi_+| < 0$). Этот вывод не связан с какими-либо предположениями о механизме специфического эффекта заряда, а вытекает из формального сопоставления эффектов строения. Экспериментальную проверку изложенных соображений можно провести путем количественного анализа эффектов заряда в реакциях с участием ферментов, имеющих «чисто гидрофобные» активные центры, а также изучением каталитических свойств ацетилхолинэстеразы, обработанной необратимыми ингибиторами анионного центра [15]. Имеющиеся [16] данные допускают сопоставление активностей нативного и алкилированного ферментов в реакции с фосфорорганическим ингибитором $[(C_2H_5O)_2P(O)SC_2H_4N^+(C_2H_5)_2H]HO_2CCO_2^-$ (амитоном). При блокировании анионного центра ацетилхолинэстеразы бимолекулярная константа скорости ее реакции с амитоном уменьшалась в 913 раз [16], что дает $\theta \approx 3$. Это достаточно хорошо согласуется с вышеприведенными соображениями.

Мы полагаем, что компенсация указанного вклада «антигидрофобности» является следствием нейтрализации зафиксированного в гидрофобном окружении отрицательного заряда анионного центра при его взаимодействии с катионной группой отщепляющейся части ингибитора, что формально эквивалентно выведению ионного заряда из гидрофобной фазы. Помимо этого эффекта величина θ может включить и другие составляющие, в частности вклад кулоновского взаимодействия между анионным центром и

Ингибирование ацетилхолинэстеразы соединениями
 $[(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5]CH_3SO_4^-$

n	$k_{II}^X, M^{-1} c^{-1}$	θ_X	$\rho^* \sigma_X^*/\theta_X$
1	$(4,62 \pm 0,18) \cdot 10^5$	0,3	29
2	$(5,05 \pm 0,10) \cdot 10^4$	3,5	1,3
3	$(1,30 \pm 0,09) \cdot 10^3$	3,7	0,58
4	$(1,41 \pm 0,07) \cdot 10^2$	3,6	0,30
5	$(8,00 \pm 0,30) \cdot 10$	3,6	0,15
6	$(7,80 \pm 0,50) \cdot 10$	3,6	0,07

$$\theta_X \text{ рассчитан по уравнению } \theta_X = \lg k_{II}^X - \lg k_{II}^0 - \rho^* \sigma_X^* - \varphi \pi_X.$$

Для соединений с $n = 2$ и 3 экспериментально полученные значения k_{II} (таблица) близки к соответствующим величинам, рассчитанным из имеющихся в литературе [4—7] констант I_{50} для ацетилхолинэстераз из различных источников. Индукционные постоянные заместителей $(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5$ вычислены по формуле

$$\sigma^* = z^{(n-1)} \sigma_{CH_2S^+(CH_3)C_2H_5}^*$$

где $z = 0,5$ и $\sigma_{CH_2S^+(CH_3)C_2H_5}^* = 2,20$ [8]. Константа гидрофобности $(\pi_{S^+(CH_3)C_2H_5} = -4,35)$ заимствована из работы П. Сикк и др. [9], величины $\pi_{(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5}$ рассчитаны с использованием значения $\pi_{CH_2} = 0,50$ [10].

Известно, что антиацетилхолинэстеразная активность соединений $[(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_2S^+(C_2H_5)R]RSO_4^-$ [6] и $[(C_2H_5O)(CH_3)P(O)S(CH_2)_2S^+ \cdot (CH_3)R]CH_3SO_4^-$ [11] зависит от гидрофобности алкильного радикала R. При этом константы φ для этих реакционных серий совпадают с соответствующими величинами для тех же ингибиторов с незаряженными заместителями в отщепляющейся части. Это свидетельствует о том, что сульфониновая группа участвует во взаимодействии заместителя с гидрофобной областью активного центра ацетилхолинэстеразы.

Как видно из таблицы, $\theta > 0$ для всех изученных соединений, т. е. введение катионного заряда в отщепляющуюся часть ингибиторов приводит к специфическому увеличению их ингибирующей активности. В случае наиболее реакционноспособного соединения с $n = 1$ вклад θ , однако, мало отличается от нуля и экспериментально найденное значение $\lg k_{II}$ практически совпадает с расчетным значением из двухпараметрового уравнения (1). Для соединений с $n \geq 2$ величина θ имеет постоянное значение 3,6 независимо от длины полиметиленовой цепочки, разделяющей атом сульфониновой серы и реакционный центр. Эти факты невозможно объяснить только на основе простой электростатической модели, в которой влияние заряда рассматривается как результат кулоновского взаимодействия между ионами в фермент-ингибиторном комплексе.

Для сравнения значений вкладов индукционного влияния ионного заместителя и специфического эффекта заряда в определении ингибирующей активности катионных ингибиторов в таблице приведены отношения $\rho^* \sigma_X^*/\theta_X$. В случае ингибиторов с $n \geq 3$ θ превышает вклад индукционного эффекта. В соединениях с $n = 1$ и 2 , наоборот, более важное значение имеет высокая электрофильность атома фосфора как результат индукционного влияния ионного заместителя, что в основном и определяет высокую ингибирующую активность этих соединений.

При учете гидрофобности отщепляющейся группы ингибиторов использовали π -константы заместителей и тем самым изучаемый ферментативный процесс сопоставляли с распределением соединений в модельной системе

вода — октанол. Отрицательные значения констант гидрофобности ионных заместителей [10] связаны с энергетической невыгодностью переноса заряженной группы из воды в гидрофобную фазу. В работе [9] было показано, что вклад положительного заряда в π -константы ониевого заместителей не зависит от природы заряженного атома (N или S) и может быть рассмотрен как аддитивный инкремент «антигидрофобного» влияния заряда. В этом случае для ониевого заместителя $Z^+(R)_i$ можно написать

$$\pi_{Z+(R)_i} = \sum_i (\pi_{R})_i + \pi_+, \quad (3)$$

где π_+ характеризует аддитивный вклад заряженного атома Z^+ . Величину π_+ можно определить из данных работы [9], в которой сопоставлением π -констант аммониевых и сульфониевых групп с π для соответствующих углеводородных структурных аналогов было получено равенство $\pi_{S^+} - \pi_C = \pi_{N^+} - \pi_C = -6,2$. Используя $\pi_C = 0,5$, получим для π_+ значение $-5,7$.

Применительно к ферментативным реакциям π_+ дает возможность расчета в $\lg k_{II}$ вклада «антигидрофобного» влияния ониевого атома, который равен $\phi\pi_+$ и является количественной мерой невыгодности переноса ионного заряда из воды в гидрофобную область активного центра фермента. В случае ферментов с гидрофобными участками в активном центре введение ионного заряда в гидрофобный заместитель реагента должно уменьшить его способность взаимодействовать с активной поверхностью фермента, что и наблюдается в опыте с α -химотрипсином [12—14]. Скорость ферментативной реакции при этом снижается в результате введения в молекулу реагента как катионной, так и анионной группы [13].

При сопоставлении величины эффекта «антигидрофобности» со значениями θ в реакции ацетилхолинэстеразы с изученными фосфорорганическими ингибиторами выясняется, что в этом случае «антигидрофобное» влияние заряда полностью скомпенсировано ($\theta - |\phi\pi_+| > 0$) и способности катионных и незаряженных реагентов взаимодействовать с активным центром фермента сопоставимы. В этой связи можно сказать, что основная роль анионного центра в определении специфичности действия ацетилхолинэстеразы заключается в компенсации антигидрофобности катионного заместителя, так как $\phi\pi_+ = -3,3$ составляет более чем 90% от θ (исключением является соединение $[(C_2H_5O)_2P(O)SCH_2S^+(CH_3)C_2H_5]CH_3SO_4^-$, для которого $\theta - |\phi\pi_+| < 0$). Этот вывод не связан с какими-либо предположениями о механизме специфического эффекта заряда, а вытекает из формального сопоставления эффектов строения. Экспериментальную проверку изложенных соображений можно провести путем количественного анализа эффектов заряда в реакциях с участием ферментов, имеющих «чисто гидрофобные» активные центры, а также изучением каталитических свойств ацетилхолинэстеразы, обработанной необратимыми ингибиторами анионного центра [15]. Имеющиеся [16] данные допускают сопоставление активностей нативного и алкилированного ферментов в реакции с фосфорорганическим ингибитором $[(C_2H_5O)_2P(O)SC_2H_4N^+(C_2H_5)_2N]HO_2CCOO^-$ (амитоном). При блокировании анионного центра ацетилхолинэстеразы бимолекулярная константа скорости ее реакции с амитоном уменьшалась в 913 раз [16], что дает $\theta \approx 3$. Это достаточно хорошо согласуется с вышеприведенными соображениями.

Мы полагаем, что компенсация указанного вклада «антигидрофобности» является следствием нейтрализации зафиксированного в гидрофобном окружении отрицательного заряда анионного центра при его взаимодействии с катионной группой отщепляющейся части ингибитора, что формально эквивалентно выведению ионного заряда из гидрофобной фазы. Помимо этого эффекта величина θ может включать и другие составляющие, в частности вклад кулоновского взаимодействия между анионным центром и

катионным заместителем. В использованных условиях ингибирования (0,15 М солевой раствор) величина кулоновского вклада имеет, по-видимому, заниженное значение, так как в зависимостях бимолекулярных констант фосфорилирования фермента заряженными ингибиторами от ионной силы наблюдается отрицательный солевой эффект [17—18]. В связи с этим более подробный анализ физического содержания обнаруженного специфического эффекта заряда следует отложить до получения экспериментальных данных, допускающих количественный учет солевого эффекта в реакциях ингибирования ацетилхолинэстеразы. Исследования в этом направлении нами ведутся.

Экспериментальная часть

Синтез и свойства фосфорорганических ингибиторов

$[(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_n\overset{+}{S}(CH_3)C_2H_5]CH_3SO_4^-$ ($n = 1-6$) описаны ранее [20]. Использовали очищенный гель-хроматографией препарат ацетилхолинэстеразы яда кобры *Naja naja oxiana* (КФ 3.1.1.7) с удельной активностью 180 моль/мин·мг (рН 7,5; 0,15 М КСl, $2,3 \cdot 10^{-3}$ М ацетилхолинхлорида). Остальные реактивы и приготовление растворов описаны в предыдущей работе [1].

Концентрацию исходных растворов ингибиторов с $n = 1-3$ контролировали титрованием их раствором ацетилхолинэстеразы с точно установленным содержанием фермента [21], применяя метод Берри [22] с той разницей, что искомой величиной являлась концентрация ингибиторов. Концентрации ингибиторов с $n = 4-6$ (а также с $n = 3$ для проверки методики) определяли спектрофотометрическим титрованием [23].

Кинетику торможения ацетилхолинэстеразы измеряли по убыли активности фермента в псевдомономолекулярных условиях при не менее чем 50-кратном избытке концентрации ингибиторов. Фосфорилирование фермента проводили в термостатированной при 25° ячейке рН-метра ЛПМ-60М (рН 7,5; 0,15 М КСl), где предварительно термостатировали 5 мл раствора ингибитора. С помощью микробюретки доводили рН раствора до 7,5 и прибавляли 0,1—0,5 мл запасного раствора фермента. Через различные промежутки времени из реакционной смеси отбирали пробы в ячейку рН-ста (Radiometer, Дания, комплект ТТТ1d/SBP2c/ABU1), разбавляя при этом реакционную смесь не менее чем в 50 раз. Остаточную активность фермента в этих пробах оценивали по начальной скорости ферментативного гидролиза ацетилхолина ($2,3 \cdot 10^{-3}$ М) при рН 7,5 и 25° титрованием образующейся в этой реакции кислоты 0,01 М раствором КОН. Наблюдаемые псевдомономолекулярные константы скорости ингибирования (k_I) определяли из наклона зависимости $\lg v_t$ от t согласно уравнению

$$\lg v_t = \lg v_0 + \frac{k_I t}{2,303}, \quad (4)$$

где v_t — скорость ферментативного гидролиза ацетилхолина после реакции фермента с ингибитором в течение времени t . Бимолекулярные константы скорости ингибирования (k_{II}) найдены из наклонов прямых в координатах k_I^{-1} и $[I]_0$ согласно уравнению

$$k_I^{-1} = k_{II} [I]_0 + a_0, \quad (5)$$

где $[I]_0$ — концентрация ингибитора в реакционной смеси. Полученные в этих координатах экспериментальные зависимости проходили через начало координат, т. е. a_0 в уравнении (5) равнялась нулю. Рассчитывали среднеквадратичные отклонения констант скорости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ярв Я. Л., Аавиксаар А. А., Годовиков Н. Н., Лобанов Д. И. (1976) *Биоорганическая химия*, **2**, 978—986.
2. Кабачник М. И., Годовиков Н. Н. (1971) *Докл. АН СССР*, **196**, 384—351.
3. Волкова Р. И., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И., Магазаник Л. Г., Матрюкова Т. А., Михельсон М. Я., Рожкова Е. К., Фруентов Н. К., Яковлев В. А. (1964) *Вопр. мед. химии*, **7**, 250—259.
4. Heath D. F. (1961) *Biochem. Pharmacol.*, **6**, 244—251.
5. Tammelin L.-E. (1958) *Kem. tidskr.*, **70**, 157—181.
6. Heath D. F., Vandekar M. (1957) *Biochem. J.*, **67**, 187—201.
7. Fukuto T. R., Metcalf R. L., March R. B., Maxon M. G. (1955) *J. Econ. Entomol.*, **48**, 347—349.
8. Ярв Я. Л., Аавиксаар А. А., Годовиков Н. Н., Морозова Н. А. (1972) *Реакц. способн. орг. соед.*, **9**, 813—839.
9. Сикк П., Аавиксаар А., Абдувахабов А. (1976) *Изв. АН Эст.ССР. Химия, геология*, № 4.
10. Hansch C., Leo A., Unger S. H., Kim. K. H., Nikitiani D., Lien E. J. (1973) *J. Med. Chem.*, **16**, 1207—1216.
11. Leo A., Hansch C., Elkins D. (1971) *Chem. Revs.*, **71**, 525—616.
12. Сикк П. Ф., Аавиксаар А. А., Годовиков Н. Н., Морозова Н. А., Пальм В. А. (1970) *Реакц. способн. орг. соед.*, **7**, 986—1001.
13. Hawkins M. J., Knowles J. R., Wilson L., Witcher D. (1967) *Biochem. J.*, **104**, 762—769.
14. Becker E. L. (1967) *Biochem. et biophys. acta*, **147**, 289—296.
15. Froede H. C., Wilson I. B. (1974) in *The Enzymes* (Boyer P. D., ed.), vol. 5, pp. 87—114.
16. O'Brien R. D. (1969) *Biochim. J.*, **113**, 713—719.
17. Уэбб Л. (1967) *Ингибиторы ферментов и метаболизма*, 758—781, «Мир», М.
18. Бресткин А. П., Шатаева Т. А. (1975) *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 1538—1544.
19. Михайлов С. С., Розенгарт В. И. (1967) *Реакц. способн. орг. соед.*, **4**, 931—946.
20. Ярв Я. Л., Аавиксаар А. А., Лобанов Д. И., Годовиков Н. Н. (1976) *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 426—428.
21. Ярв Я. Л., Аавиксаар А. А., Годовиков Н. Н., Лангель Ю. Л., Паст У. Э. (1976) *Биохимия*, **41**, 827—835.
22. Berry W. K. (1951) *Biochem. J.*, **49**, 615—620.
23. Лангель Ю., Ярв Я., Аавиксаар А. (1974) *Уч. зап. Тартуского гос. ун-та*, вып. 332, 172—178.

Поступила в редакцию
29.VI.1976

LEAVING GROUP CATIONIC CHARGE EFFECT IN THE REACTION OF ORGANOPHOSPHORUS INHIBITORS WITH ACETYLCHOLINESTERASE

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

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

The second-order rate constants of acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7) inhibition by organophosphorus compounds $[(C_2H_5O)_2P(O)S(CH_2)_nS^+(CH_3)C_2H_5]CH_3SO_4^-$ ($n = 1-6$) have been determined at 25.0° C and pH 7.50 in 0.15 M KCl solution. Leaving group cationic charge effects θ in equation $\lg k_{II}^X = \lg k_{II}^0 + \rho^* \sigma^*_X + \phi \pi_X + \theta_X$ have been calculated making use of $\lg k_{II}^0$, ρ^* and ϕ for the reaction series $(C_2H_5O)_2P(O)SX$ (Bioorganic Chemistry (1976) **2**, 978).¹ For the inhibitor with $n = 1$ the charge effect θ was near zero. For other inhibitors θ had a constant value 3.6, independently of the length of polymethylene chain between sulphonium atom and reaction centre. It has been suggested that the main role of acetylcholinesterase anionic site is to compensate cationic substituent «antihydrophobicity» which is the result of energetically unfavourable transference of charged group from water to enzyme active site hydrophobic region.