

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.159+547.1'128

ТОРМОЖЕНИЕ АКТИВНОСТИ ХОЛИНЭСТЕРАЗ НЕРВНОЙ ТКАНИ ЛЯГУШКИ И ТИХООКЕАНСКОГО КАЛЬМАРА КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКИМИ АММОНИЕВЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

БРЕСТКИН А. П., РОЗЕНГАРТ Е. В., ВИНЯР Т. Н.,
АБРОСИМОВА А. Т., ВОРОНКОВ М. Г.

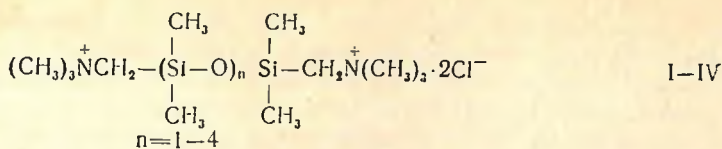
Холинэстеразы высоко чувствительны к ингибирующему действию тетраалкиламмониевых соединений, которые взаимодействуют с аннионным центром каталитической поверхности этих ферментов [1]. Среди этой группы эффекторов обнаружено большое число физиологически активных соединений и лекарственных веществ.

В большинстве случаев тетраалкиламмониевые соединения являются специфическими ингибиторами холинэстераз нервной ткани разных животных. Однако, как показали проведенные нами исследования [2—4], холинэстеразы мозга лягушки и зрительных ганглиев тихоокеанского кальмара обладают более низкой и качественно иной чувствительностью к некоторым аммониевым соединениям, что, видимо, связано с особенностями структуры каталитической поверхности этих ферментов.

Недавно проведено комплексное исследование холинэргической эффективности аммонийсодержащих кремнийорганических соединений, оказавшихся специфическими ингибиторами бутирилхолинэстеразы слюенной крови лошади [5].

Представляло интерес изучить группу кремнийорганических соединений—триметиламмонийметилтриметилсилан- и α , ω -бис (триметиламмонийметил) олигодиметилсилоксангалогенидов—в качестве обратимых ингибиторов холинэстераз мозга лягушки и зрительного ганглия тихоокеанского кальмара, что может дать дополнительную информацию о свойствах ферментов нервной ткани этих животных. Источником холинэстераз служили центрифугаты водного гомогената (45 мг/мл) ткани мозга лягушки [3] и водного гомогената (3 мг/мл) ткани зрительного ганглия тихоокеанского кальмара *Todarodes pacificus* [4].

В качестве ингибиторов изучены α , ω -бис (триметиламмонийметил) олигодиметилсилоксандихлориды (I—IV), синтезированные по Данилову и соавт. [5], триметил (триметилсилилметил) аммониййодид (V), полученный по [6], α , ω -бис (триметиламмонийметил) алкандиййодиды (VI—VIII) [7] и тетраметиламмониййодид (IX) («Chemapol», ЧССР).



Активность холинэстераз определяли методом Элмана. Реакционная смесь объемом 2,0 мл содержала $5 \cdot 10^{-4}$ М раствор 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты) («Koch-Light», Англия) в 0,05 М фосфатном буфере, pH 7,5, а также растворы субстрата, йодида ацетилтихолина («Chetapol», СССР), ингибитора и ферментного препарата. Изменение экстинкции наблюдали в кювете фотоэлектроколориметра ФЭКН-57 при 413 нм при 25°. Измерение количества подвергшегося гидролизу субстрата проводили по калибровочной кривой [3].

Эффективность обратимых ингибиторов оценивали по величине обобщенной ингибиторной константы $\bar{K}_i$ [3]. При конкурентном типе торможения $\bar{K}_i = K_i$, при смешанном типе $1/\bar{K}_i = 1/K_i + 1/K'_i$, где K_i и K'_i ингибиторные константы конкурентного и неконкурентного типов торможения, которые определяли графически методом [3].

Кинетические параметры процесса торможения холинэстеразной активности кремнийорганическими соединениями приведены в таблице, где также представлены данные по ингибированию этих ферментов соединениями ряда α, ω -бис (триметиламмонно) алкандийодидов (VI—VIII) и тетраметиламмониййодидом (IX). Так как длина олигомерной цепи силоксанов (I—IV) возрастала у следующего члена по сравнению с предыдущим на 2 звена, то в полиметиленовом ряду рассмотрены соединения с $m=5, 7$ и 9 (соединение с $m=11$ нами не исследовалось). Сравнение этих двух рядов может быть только формальным, так как неизвестны роль структурных различий при замене в межаммониевой цепи метиленовых групп на силоксановые и эффект обрамления олигосилоксановой цепи метильными группами при взаимодействии этих ингибиторов с активным центром различных холинэстераз.

Для холинэстеразы мозга лягушки все силоксановые производные (I—IV) оказались близкими по силе обратимыми ингибиторами конкурентного и конкурентно-смешанного типов действия (величины K_i значительно ниже величины K'_i), тогда как эффективность их углеродных аналогов (VI—VIII) существенно возрастала при удлинении межаммониевой цепи. Из сравнения ингибиторной активности этих двух рядов следует, что при минимальной длине цепи силоксановые производные

Таблица

Антихолинэстеразная эффективность ($p\bar{K}_i = -\lg \bar{K}_i$) α , ω -бис (триметиламмонно-метил) олигодиметилсилоксандихлоридов (I—IV) и α , ω -бис (триметиламмонно) алкандийодидов (VI—VIII), триметил (триметилсилилметил) аммонийиодида (V) и тетраметиламмонийиодида (IX)

Соед.	п или m	Холинэстераза лягушки				Холинэстераза кальмара			
		тип торм.	$K_i \cdot M$	$K'_i \cdot M$	$p\bar{K}_i$	тип торм.	$K_i \cdot M$	$K'_i \cdot M$	$p\bar{K}_i$
I	1	C	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$3,4 \cdot 10^{-4}$	4,03	C	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$3,6 \cdot 10^{-4}$	3,99
II	2	K	$2,0 \cdot 10^{-4}$	—	3,70	C	$1,8 \cdot 10^{-5}$	$3,4 \cdot 10^{-5}$	4,93
III	3	K	$1,2 \cdot 10^{-4}$	—	3,92	C	$1,7 \cdot 10^{-5}$	$4,1 \cdot 10^{-5}$	4,92
IV	4	C	$5,8 \cdot 10^{-5}$	$7,7 \cdot 10^{-4}$	4,26	C	$1,6 \cdot 10^{-5}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	4,85
V		K	$5 \cdot 10^{-4}$	—	3,23	K	$4,8 \cdot 10^{-4}$	—	3,32
VI	5	C	$2,2 \cdot 10^{-3}$	$4,8 \cdot 10^{-3}$	2,82	K	$1,8 \cdot 10^{-3}$	—	2,74
VII	7	C	$1,2 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-3}$	3,96	C	$3,2 \cdot 10^{-3}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	2,33
VIII	9	C	$4,5 \cdot 10^{-6}$	$1,8 \cdot 10^{-5}$	5,45	K	$2,6 \cdot 10^{-4}$	—	3,58
IX		K	$8,9 \cdot 10^{-4}$	—	3,05	K	$5,8 \cdot 10^{-3}$	—	2,25

Примечание. Тип торможения—конкурентный (K), смешанный (C).

оказываются значительно более эффективными (преимущество I перед VI в 16 раз). При большем же числе звеньев цепи активными оказываются соединения полиметилового ряда (III оказалось в 34 раза слабее, чем VIII). Эффективность моноаммониевого соединения V была в 3—10 раз ниже, чем у бис-аммониевых соединений I—IV. Интересно, что V и IX оказались практически равноэффективными, хотя объем молекулы V значительно больше: она является C-триметилсилильным производным IX.

Чувствительность холинэстеразы мозга лягушки к I—IV значительно ниже, чем у ацетилхолинэстеразы эритроцитов человека и бутирилхолинэстеразы сыворотки крови лошади [5]. Эти различия не только количественные, но и качественные, что, несомненно, связано с особенностями структуры активного центра фермента лягушки.

Иные результаты получены при исследовании эффективности изученных соединений по отношению к холинэстеразе тихоокеанского кальмара. Во-первых, в ряду α , ω -бис (триметиламмонийметил) олигодиметилсилоксандихлоридов наблюдалось 10-кратное увеличение эффективности при переходе от $n=1$ к $n=2$. Аналогичный эффект в полиметиловом ряду отмечался при переходе от $m=7$ к $m=9$. Во-вторых, в отличие от других аммониевых соединений [4] высшие члены силоксанового ряда являются более сильными ингибиторами холинэстеразы кальмара, чем фермента лягушки. В-третьих, изученные кремнийорганические соединения являются обратимыми ингибиторами смешанного типа действия с существенным вкладом неконкурентной составляющей (соизмеримые величины K_i и K_r). В-четвертых, введение триметилсилильной группы в молекулу тетраметиламмония (V и IX) повысило эффективность в 10 раз, а производные силоксанового ряда (I—IV) оказались в 15—20 раз более сильными ингибиторами, чем полиметиловые (VI—VIII).

Все это является еще одним подтверждением своеобразия свойств холинэстеразы тихоокеанского кальмара [4]. Кремнийорганические ингибиторы, проявившие высокую специфичность к бутирилхолинэстеразе лошадиной сыворотки [5], оказались среди изученных аммониевых соединений наиболее эффективными обратимыми ингибиторами фермента этого вида кальмара.

INTERACTION OF NERVOUS TISSUE CHOLINESTERASES OF FROG AND PACIFIC SQUID WITH SILICORGANIC AMMONIUM COMPOUNDS

BRESTKIN A. P., VINIAR T. N., ROZENGART E. V., ABROSIMOVA A. T.,
VORONKOV M. G.

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
USSR Academy of Sciences, Leningrad
Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the USSR
Academy of Sciences, Irkutsk

The interaction of α , ω -bis (trimethylammoniummethyl) oligodimethylsiloxandichlorides (I—IV) and trimethyl (trimethylsilylmethyl) ammonium

iodid (V) with frog brain cholinesterase and optic ganglia cholinesterase of the squid, *Todarodes pacificus*, has been studied. The short chain silicorganic compound I proved to be 16 times more potent inhibitor of frog cholinesterase than its carbonic analog VI. In contrast, the longer chain silicorganic compound III was 34 times less potent than the corresponding carbonic analog VIII. All silicorganic compounds (I—V) were 10—20 times more potent inhibitors of squid cholinesterase than their carbonic analogs (VI—VIII).

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Садыков А. С., Розенгарт Е. В., Абдувахобов А. А., Асланов Х. А. Холинэстеразы. Активный центр и механизм действия. Фан, Ташкент, с. 206, 1976.
2. Бресткин А. П., Виняр Т. Н., Розенгарт Е. В., Данилов А. Ф. Тез. докл. III Всесоюзн. конф. «Физиология и биохимия медиаторных процессов», М., с. 32, 1980.
3. Бресткин А. П., Виняр Т. Н., Розенгарт Е. В. Биохимия, 46, 6, 1042—1048, 1981.
4. Бресткин А. П., Виняр Т. Н., Розенгарт Е. В. Нейрохимия, 1, 1, 28—35, 1982.
5. Данилов А. Ф., Лукомская Н. Я., Першина Л. И., Магазаник Л. Г., Потапьева Н. Н., Розенгарт Е. В., Виняр Т. Н., Кирпиченко С. В., Абросимова А. Т., Кузнецова Э. Э., Воронков М. Г. ДАН СССР, 265, 1, 228—232, 1982.
6. Гуркова С. Н., Гусев А. И., Абросимова А. Т., Алексеев Н. В., Воронков М. Г. ДАН СССР, 260, 5, 1115—1117, 1981.
7. Бресткин А. П., Виняр Т. Н., Розенгарт Е. В. Укр. биохим. ж., 54, 6, 1982.

Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И. М. Сеченова
АН СССР, Ленинград
Иркутский институт органической
химии СО АН СССР

Поступила 11. VI 1982