

УДК 577.1

© 1991 г.

S-АЛКИНИЛОВЫЕ ЭФИРЫ ТИОКИСЛОТ ФОСФОРА КАК ИНГИБИТОРЫ ХОЛИНЭСТЕРАЗ И ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА

*Бресткин А. П., Вихрева Л. А., Годовиков Н. Н.,
Жуковский Ю. Г., Кабачник М. И., Моралев С. Н.,
Розенгарт В. И., Шерстобитов О. Е.*

В обзоре приведены данные по антихолинэстеразной активности 58 специально синтезированных эфиров тиокислот фосфора, содержащих в тиоэфирной группе ацетиленовую связь. Установлено, что соединения, содержащие ацетиленовую группировку в β - и особенно в α -положении тиоэфирного радикала, проявляют ингибирующее действие во много раз большее, чем их предельные (насыщенные) прототины. При этом в результате взаимодействия ацетиленовых фосфорорганических ингибиторов с ферментами образуется фосфорилированный фермент, как и в случае взаимодействия с насыщенными прототипами. Показано, что ацетиленовые фосфорорганические ингибиторы обладают высокой биологической активностью, как для млекопитающих, так и для членистоногих. При замене фосфорильного кислорода ($=P=O$) на серу ($=P=S$) токсичность ацетиленовых фосфорорганических ингибиторов для млекопитающих резко понижается, а для членистоногих меняется мало, что открывает возможности получения высокоизбирательных инсектоакарицидов. Обсуждается механизм антиферментного действия ацетиленовых ФОИ и механизм детоксикации диэтил-S-гексинилдитиофосфата.

Библиография — 44 ссылки.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1744
II. Методы синтеза ацетиленовых фосфорорганических ингибиторов	1746
III. Антихолинэстеразная активность ацетиленовых фосфорорганических ингибиторов	1752
IV. Токсичность ацетиленовых фосфорорганических ингибиторов	1769
V. Заключение	1773

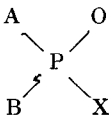
I. ВВЕДЕНИЕ

Среди веществ, влияющих на передачу нервного возбуждения в холинэргических синапсах, значительное место занимают производные (эфиры, амиды и др.) кислот фосфора, многие из которых применяются в качестве инсектоакарицидов. Их биологическое действие состоит, главным образом, в ингибировании ацетилхолинэстеразы (АХЭ) — фермента, осуществляющего гидролиз ацетилхолина (АХ) — медиатора нервного возбуждения. Хорошо известно [1], что под влиянием нервного импульса АХ попадает в синаптическую щель и обратимо адсорбируется на рецепторе, что приводит к возбуждению иннервируемой клетки. Благодаря гидролизующему действию АХЭ рецептор освобождается от АХ и переходит в исходное состояние, получая способность воспринимать следующую порцию медиатора. При ингибировании АХЭ освобождение рецептора от АХ происходит очень медленно, только посредством диффузии,

и передача нервных импульсов нарушается, что вызывает серьезные расстройства в жизнедеятельности организмов.

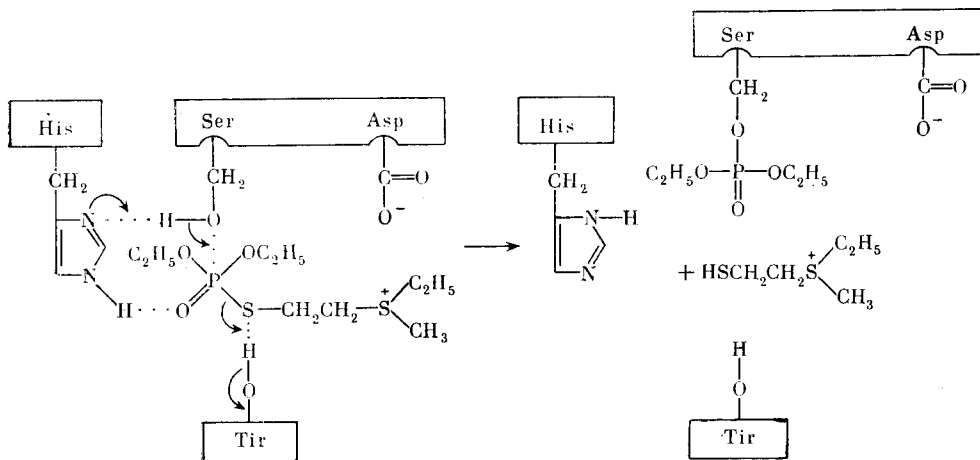
Кроме нервной ткани, холинэстеразы (ХЭ) содержатся в эритроцитах и сыворотке крови многих животных, в мышечной ткани и др. Имеется несколько разновидностей ХЭ, которые отличаются друг от друга не только по субстратной специфичности — способности гидролизовать холиновые эфиры карбоновых кислот, но и по чувствительности к ингибиторам [2, 3].

К фосфорорганическим ингибиторам (ФОИ) холинэстераз относятся многие производные фосфорных, фосфоновых и фосфиновых кислот общей формулы:



где А и В — различные или одинаковые заместители при атоме фосфора (алкильные, алкоксильные, амидные, арильные и др.), а Х — остаток неорганической или органической кислот (фтористоводородной, синильной, фенолов, меркаптанов и др.).

Доказано [4], что при взаимодействии с холинэстеразами эти ингибиторы фосфорилируют гидроксил серина, входящий в состав эстеразного пункта каталитического центра фермента. Согласно существующим представлениям [5], активирование гидроксила серина, необходимое для протекания этого процесса, происходит при непосредственном участии ФОИ по схеме



Приведенная схема объясняет, почему тионовые ФОИ не фосфорилируют эти ферменты: в отличие от кислорода атом серы не способен образовывать прочную водородную связь [4, 5].

Образующийся фосфорилированный фермент является довольно прочным соединением. Спонтанное дефосфорилирование протекает крайне медленно. Значительное дефосфорилирование, иногда приводящее почти к полному восстановлению каталитической активности холинэстераз (реактивация), осуществляется лишь с помощью ароматических или алифатических оксимов [6].

В активном центре холинэстераз на расстоянии 4–5 Å от эстеразного пункта имеется анионный пункт, взаимодействие с которым ониевого группировок субстратов и фосфорорганических ингибиторов ускоряет их сорбцию на активной поверхности фермента. Предположительно [1]

анионный пункт представляет собой карбоксилат-анион двухосновной аминокислоты — аспарагиновой или глутаминовой, включенной в полипептидную цепь фермента. И эстеразный, и анионный пункты окружены гидрофобными участками, на которых осуществляется гидрофобная сорбция углеводородных радикалов субстратов или ингибиторов, способствуя тем самым более быстрому протеканию соответствующих процессов [7].

Антихолинэстеразная (антиХЭ) активность ФОИ, количественно характеризуется бимолекулярной константой скорости ингибирования фермента (k_{11}). Помимо условий взаимодействия ингибитора с холинэстеразами (рН, ионная сила, температура и состав реакционной среды) она зависит от природы фермента, а также от строения отщепляемой группировки и заместителей А и В [7, 8].

Наличие ониевого атома в β -положении тиоалкильного радикала, например в препарате Гд-42 $(C_2H_5O)CH_3P(O)SCH_2CH_2\dot{S}(C_2H_5)CH_3$, обуславливает чрезвычайно высокую анХЭа, иногда в тысячи раз превышающую активность его неионного аналога $(C_2H_5O)CH_3P(O)SCH_2CH_2SC_2H_5$ [1, 2]. Большое влияние на анХЭа оказывает гидрофобная сорбция. Так, величины k_{11} ингибирования АХЭ эритроцитов человека соединениями $(C_2H_5O)CH_3P(O)SC_nH_{2n+1}$ и $(C_nH_{2n+1}O)CH_3P(O)SC_nH_{2n+1}$ возрастают в сотни раз при увеличении n с 1 до 7 [7].

Недавно [9, 10] было показано, что значительного увеличения в анХЭа ФОИ можно достичь введением ацетиленовой группировки в тиоэфирный радикал. В некоторых случаях такие S-алкиниловые эфиры тиокислот фосфора по ингибирующей активности превосходят свои насыщенные аналоги в тысячи и миллионы раз. Некоторые из них сильнее ингибируют ХЭ членистоногих, чем ХЭ млекопитающих, что является одной из причин избирательной токсичности. Большой практический интерес представляют S-алкиниловые эфиры диалкилдитиофосфорной кислоты, которые приобретают антиХЭ активность в результате превращения их в эфиры монотиофосфорной кислоты под действием микросомальных монооксидаз. Такие дитиофосфаты проявляют очень высокую избирательную токсичность по отношению к членистоногим и тем самым являются перспективными инсектоакарицидами [11].

В настоящее время по ацетиленовым ФОИ уже накопился относительно большой экспериментальный материал [9—17], который может быть использован для дальнейшего изучения анХЭа и токсичности этого нового чрезвычайно интересного класса биологически активных веществ. Приведенные в этом обзоре данные намечают пути целенаправленного поиска высокоизбирательных инсектоакарицидов; они также представляют интерес для выяснения механизма взаимодействия ацетиленовых ФОИ с ХЭ.

II. МЕТОДЫ СИНТЕЗА АЦЕТИЛЕНОВЫХ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ

S-Алкиниловые эфиры тиофосфорной и дитиофосфорной кислот были синтезированы с помощью специально разработанных для этого исследования методов [13—15, 18—28].

S-Бутиниловые эфиры тиокислот фосфора, содержащие тройную связь в β -положении и функциональную группу в ω -положении тиоэфирного радикала, были получены следующим путем. Сначала взаимодействием натриевых или калиевых солей соответствующих монотиокислот фосфора с 5-кратным избытком 1,4-дихлорбутина в спирте получены ω -хлорбутиновые эфиры этих кислот [18] (табл. 1)

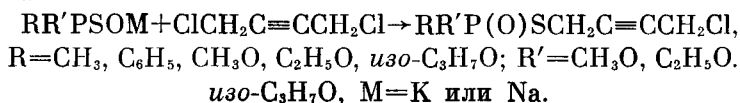


Таблица 1

 ω -Хлорбутиновые эфиры тиокислот фосфора $RR'P(O)SCH_2C\equiv CCH_2Cl$ [18, 19]

R	R'	Выход, %	$T_{кип}, ^\circ C$ ($1 \cdot 10^{-1}$ мм рт. ст.)	d_4^{20}	n_D^{20}	Брутто-формула
CH ₃	C ₂ H ₅ O	72,5	122–123	1,2605	1,5283	C ₇ H ₁₂ ClO ₂ PS
CH ₃	C ₃ H ₇ O	71,3	131–133	1,1918	1,5233	C ₈ H ₁₄ ClO ₂ PS
CH ₃ O	CH ₃ O	45,5	128–130	1,3015	1,5163	C ₆ H ₁₀ ClO ₃ PS
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	56,5	127–130	1,2441	1,5080	C ₈ H ₁₂ ClO ₂ PS
<i>нзо</i> -C ₃ H ₇ O	<i>нзо</i> -C ₃ H ₇ O	52	118–120	1,1635	1,4940	C ₁₀ H ₁₈ ClO ₃ PS
C ₆ H ₅	C ₂ H ₅ O	48	162–163	1,2593	1,5721	C ₁₂ H ₁₄ ClO ₂ PS

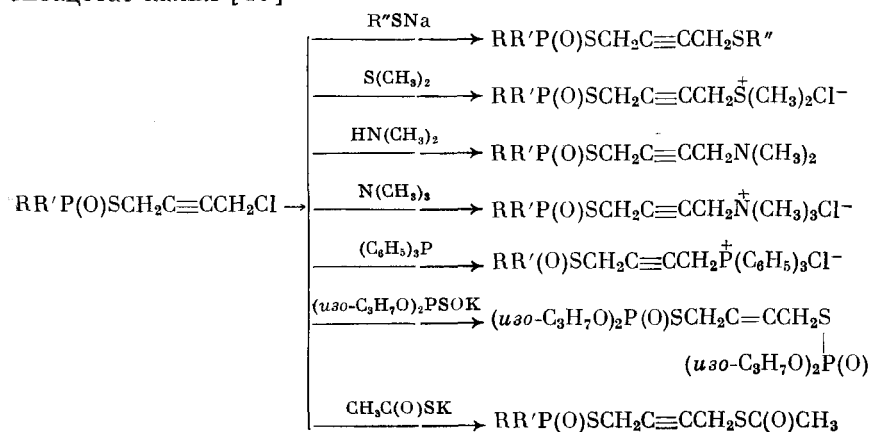
Таблица 2

 ω -Замещенные S-бутиновые эфиры тиокислот фосфора $RR'P(O)SCH_2C\equiv CCH_2R''$ [19, 20]

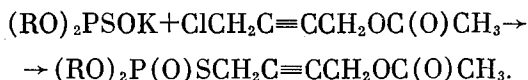
R	R'	R''	Выход, %	$T_{кип}, ^\circ C$ ($1 \cdot 10^{-3}$ мм рт. ст.)	d_4^{20}	n_D^{20}	Брутто-формула
CH ₃	C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ S	24	125–130	1,1538	1,5335	C ₉ H ₁₇ O ₂ PS ₂
CH ₃	C ₃ H ₇ O	C ₂ H ₅ S	21	136–137	1,1319	1,5260	C ₁₀ H ₁₉ O ₂ PS ₂
CH ₃	C ₄ H ₉ O	C ₂ H ₅ S	20	140–145	1,1018	1,5198	C ₁₁ H ₂₁ O ₂ PS ₂
CH ₃	C ₂ H ₅ O	CH ₃ C(O)S	65	см *	1,1993	1,5248	C ₉ H ₁₉ O ₃ PS ₂
CH ₃	C ₂ H ₅ O	$[(CH_3)_2\overset{+}{S}]Cl^-$	81	Вязкое масло	—	—	C ₉ H ₁₈ O ₂ ClPS ₂
CH ₃	C ₂ H ₅ O	$[(CH_3)_3\overset{+}{N}]Cl^-$	90	155–157	—	—	C ₁₀ H ₂₁ O ₂ NCIP
CH ₃ O	CH ₃ O	C ₂ H ₅ S	25	122–124	1,2005	1,5245	C ₈ H ₁₅ O ₃ PS ₂
CH ₃ O	CH ₃ O	CH ₃ C(O)S	65	см *	1,2552	1,5260	C ₈ H ₁₃ O ₄ PS ₂
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ S	31	135–137	1,1548	1,5162	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ PS ₂
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	C ₄ H ₉ S	90	см *	1,1110	1,5012	C ₁₂ H ₂₃ O ₃ PS ₂
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	$[(CH_3)_2\overset{+}{S}]Cl^-$	75	Стеклообразное	—	—	C ₁₀ H ₂₀ O ₃ ClPS ₂
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	$[(CH_3)_2\overset{+}{N}]Cl^-$	25	120–121	1,1045	1,4927	C ₁₀ H ₂₀ O ₃ NPS
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	$[(CH_3)_3\overset{+}{N}]Cl^-$	88	189–190 **	—	—	C ₁₁ H ₂₃ ClO ₃ NPS
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	CH ₃ C(O)S	71	см *	1,1994	1,5195	C ₁₀ H ₂₇ O ₄ PS ₂
CH ₃ O	CH ₃ O	CH ₃ C(O)O	60	см *	1,2206	1,4970	C ₈ H ₁₃ O ₅ PS
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	CH ₃ C(O)O	75	см *	1,1744	1,4860	C ₁₀ H ₁₇ O ₅ PS

* Очищались на хроматографической колонке с силикагелем; ** $T_{пл}$.

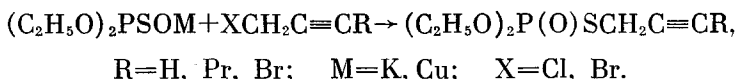
Последние, путем взаимодействия с различными нуклеофильными реагентами, были превращены в соответствующие ω -замещенные S-бутиновые эфиры моно thiokислот фосфора (табл. 2). В качестве нуклеофильных реагентов использовали алкилмеркаптиты натрия, диметилсульфид, диметиламин, триметиламин, трифенилфосфин, диалкилтиофосфат или тиоацетат калия [19]



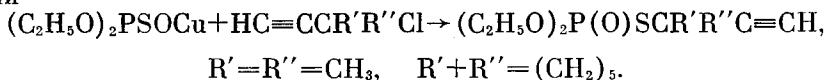
О,О-Диметил- и О,О-диэтил-S-(4-ацетоксибут-2-инил) тиофосфаты (табл. 2) получены взаимодействием (4-хлорбут-2-инил)ацетата с диметил- или диэтилтиофосфатом калия [20]



S-Пропаргилловые эфиры диэтилтиофосфорной кислоты получены взаимодействием О,О-диэтилтиофосфатов калия или одновалентной меди с соответствующими пропаргилгалогенидами [12, 21]

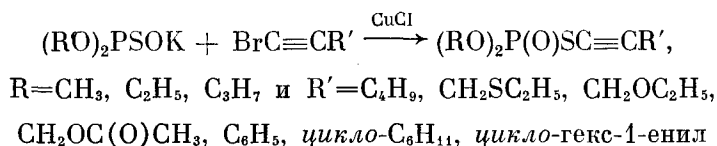


Стерически затрудненные S-пропаргилловые эфиры диэтилтиофосфорной кислоты получены взаимодействием соли одновалентной меди диэтилтиофосфорной кислоты со стерически затрудненными пропаргилхлоридами

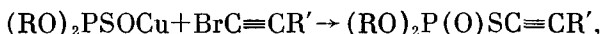


S-Этинические эфиры диалкилтиофосфорных кислот получены тремя методами:

а) взаимодействием калиевых солей О,О-диалкилтиофосфорных кислот с замещенными этинилбромидами в присутствии эквимольных количеств однохлористой меди [22] (табл. 3).

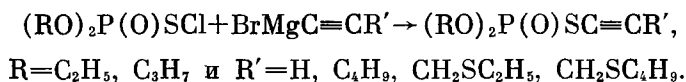


б) взаимодействием солей одновалентной меди О,О-диалкилтиофосфорных кислот с замещенными этинилбромидами [23] (табл. 4)

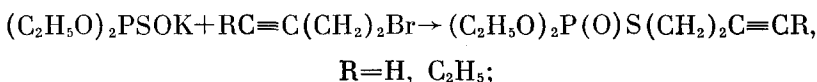


$R=C_2H_5$ и $R'=C_4H_9$, *трет*- C_4H_9 , $CH_2CH_2SC_2H_5$, *цикло*- C_6H_{11} , 1-окси-циклогексил, 1-ацетоксициклогексил;

в) взаимодействием диалкоксифосфорилсульфенхлоридов с замещенными этинилмагнийбромидами [24] (табл. 5)



S-Алкиниловые эфиры диэтилтиофосфорной кислоты, содержащие ацетиленовую связь в γ -положении тиоэфирного радикала, были синтезированы алкилированием диэтилтиофосфата калия соответствующими бромалкинами



Алкилтиозамещенные S-бутиновые эфиры О,О-диалкилдитиофосфорных кислот, содержащие тройную связь в β -положении тиоэфирного радикала, получены аналогично соответствующим эфирам монотиокислот

S-Этильные эфиры диалкилтиофосфорных кислот $(RO)_2P(O)SC\equiv R'$ [22, 23]



R	R'	Выход, %	d_4^{20}	n_D^{20}	Брутто-формула
CH ₃	CH ₂ SC ₂ H ₅	75	1,3365	1,5130	C ₇ H ₁₃ O ₃ PS ₂
CH ₃	C ₄ H ₉	78	1,1175	1,4845	C ₈ H ₁₅ O ₃ PS
CH ₃	CH ₂ OC ₂ H ₅	80	1,0575	1,4940	C ₇ H ₁₃ O ₄ PS
CH ₃	CH ₂ OC(O)CH ₃	75	1,3091	1,4989	C ₇ H ₁₁ O ₅ PS
CH ₃	C ₆ H ₅	70	1,2667	1,5780	C ₁₀ H ₁₁ O ₃ PS
CH ₃	цикло-C ₆ H ₁₁	71	1,1279	1,5002	C ₁₀ H ₁₇ O ₃ PS
CH ₃		75	1,2078	1,5425	C ₁₀ H ₁₅ O ₃ PS
C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₂ H ₅	70	1,1648	1,4980	C ₉ H ₁₇ O ₃ PS ₂
C ₂ H ₅	C ₄ H ₉	76	1,0758	1,4705	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ PS
C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₄ H ₉	81	1,1925	1,5155	C ₁₁ H ₂₁ O ₃ PS ₂
C ₂ H ₅	CH ₂ OC ₂ H ₅	85	1,1482	1,4820	C ₉ H ₁₇ O ₄ PS
C ₂ H ₅	CH ₂ OC(O)CH ₃	81	1,2190	1,4859	C ₉ H ₁₅ O ₅ PS
C ₂ H ₅	C ₆ H ₅	72	1,2123	1,5640	C ₁₂ H ₁₅ O ₃ PS
C ₂ H ₅		80	1,1235	1,5225	C ₁₂ H ₁₉ O ₃ PS
C ₃ H ₇	CH ₂ OC(O)CH ₃	82	1,1860	1,4904	C ₁₁ H ₁₉ O ₅ PS
C ₃ H ₇	C ₆ H ₅	71	1,1515	1,5370	C ₁₄ H ₁₉ O ₃ PS

Таблица 4

S-Этильные эфиры диэтилтиофосфорной кислоты $(C_2H_5O)_2P(O)S-C\equiv X$ [23]

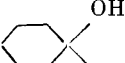

X	Выход, %	d_4^{20}	n_D^{20}	Брутто-формула
C ₄ H ₉	60	1,0750	1,4700	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ PS
трет-C ₄ H ₉	70	1,0432	1,4860	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ PS
CH ₂ CH ₂ SC ₂ H ₅	60	1,1470	1,5120	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ PS ₂
цикло-C ₆ H ₁₁	80	1,1063	1,4965	C ₁₂ H ₂₁ O ₃ PS
	81	1,1595	1,5055	C ₁₂ H ₂₁ O ₄ PS
	76	1,1394	1,4900	C ₁₄ H ₂₃ O ₃ PS

Таблица 5

S-Этильные эфиры тиофосфорных кислот $(RO)_2P(O)SC\equiv CX$ [12, 24]



R	X	Выход, %	Т _{кип.} °C (1·10 ⁻³ мм рт. ст.)	d_4^{20}	n_D^{20}	Брутто-формула
C ₂ H ₅	H	21	72-76	1,2108	1,4683	C ₆ H ₁₁ O ₃ PS
C ₃ H ₇	H	25	85-87	1,1273	1,4650	C ₈ H ₁₅ O ₃ PS
C ₄ H ₉	H	20	98-100	1,0337	1,4580	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ PS
C ₂ H ₅	C ₄ H ₉	30	100-104	1,0750	1,4688	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ PS
C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₂ H ₅	22	105-108	1,1639	1,4912	C ₉ H ₁₇ O ₃ PS ₂
C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₄ H ₉	19	—	1,1925	1,5150	C ₁₁ H ₂₁ O ₃ PS ₂
C ₂ H ₅	S(O)P(OC ₂ H ₅) ₂	18	—	1,1344	1,4892	C ₁₄ H ₂₈ O ₆ P ₂ S ₂

S-Этильные эфиры диалкилдитиофосфорных кислот $(RO)_2P(S)SC\equiv C-X$ [27, 28]

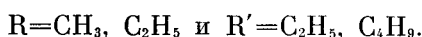
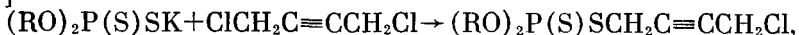
R	X	Выход, %	d_4^{20}	n_D^{20}	Брутто-формула
CH ₃	C ₄ H ₉	78	1,1540	1,5215	C ₈ H ₁₅ O ₂ PS ₂
CH ₃	CH ₂ SC ₂ H ₅	75	1,2384	1,5670	C ₇ H ₁₃ O ₂ PS ₃
C ₂ H ₅	C ₄ H ₉	81	1,0797	1,5140	C ₁₀ H ₁₉ O ₂ PS ₂
C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₂ H ₅	85	1,0271	1,5486	C ₉ H ₁₇ O ₂ PS ₃
C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₄ H ₉	70	1,1545	1,5426	C ₁₁ H ₂₂ O ₂ PS ₃

Таблица 7

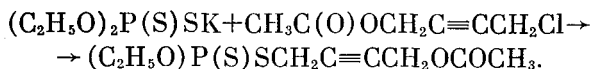
Этильные эфиры диалкилдитиофосфорных кислот $(RO)_2P(S)SC\equiv C-X$ [27, 28]

R	X	Выход, %	d_4^{20}	n_D^{20}	Брутто-формула
CH ₃	C ₄ H ₉	80	1,1540	1,5225	C ₁₉ H ₁₅ O ₂ PS ₂
CH ₃	C ₆ H ₅	80	1,2920	1,6215	C ₁₀ H ₁₁ O ₂ PS ₂
CH ₃	цикло-C ₆ H ₁₁	68	1,1638	1,5460	C ₁₀ H ₁₇ O ₂ PS ₂
CH ₃		85	1,2306	1,5840	C ₁₀ H ₁₅ O ₂ PS ₂
C ₂ H ₅	C ₄ H ₉	85	1,0790	1,5140	C ₁₀ H ₁₉ O ₂ PS ₂
C ₂ H ₅	C ₆ H ₅	78	—	1,5925	C ₁₂ H ₁₅ O ₂ PS ₂
C ₂ H ₅	цикло-C ₆ H ₁₁	71	1,1191	1,5335	C ₁₂ H ₂₁ O ₂ PS ₂
C ₂ H ₅		90	1,1764	1,5635	C ₁₂ H ₁₉ O ₂ PS ₂
C ₃ H ₇	C ₆ H ₅	80	1,1695	1,5735	C ₁₄ H ₁₉ O ₂ PS ₂
C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	90	1,1498	1,5700	C ₁₆ H ₂₃ O ₂ PS ₂

фосфора через промежуточные ω-хлорбутиновые эфиры этих кислот [25, 26]



О,О-Диэтил-3-(4-ацетоксибут-2-инил)дितिофосфат получен взаимодействием (4-хлорбут-2-инил)ацетата с О,О-диэтилдитиофосфатом калия [20]

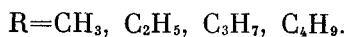
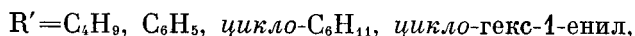


S-Этильные эфиры диалкилдитиофосфорных кислот получены двумя методами:


а) взаимодействием диалкокситиофосфорилдисульфидов с ацетилендами лития [27] (табл. 6)



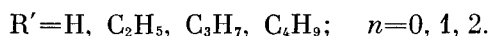
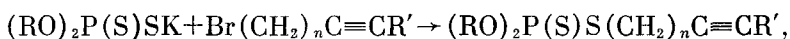
б) взаимодействием одновалентных медных солей О,О-диалкилдитиофосфорных кислот с замещенными этинилбромидами [28] (табл. 7)



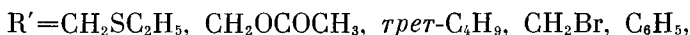
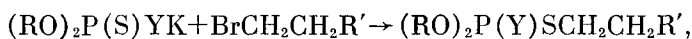
S-Алкиловые эфиры диэтилтио- и дитиофосфорных кислот $(C_2H_5O)_2P(Y)SCH_2CH_2-X$ [28]

X	Y	Выход, %	d_4^{20}	n_D^{20}	Брутто-формула
$CH_2SC_2H_5$	O	80	1,1378	1,4920	$C_9H_{21}O_3PS_2$
$CH_2OCOCCH_3$	O	70	1,1440	1,4620	$C_9H_{19}O_5PS$
<i>трет</i> - C_4H_9	O	90	1,0058	1,4610	$C_{10}H_{23}O_3PS$
CH_2Br	O	71	1,3420	1,4930	$C_7H_{16}O_3PSBr$
C_6H_5	O	78	1,1097	1,5170	$C_{12}H_{19}O_3PS$
<i>цикло</i> - C_6H_{11}	O	70	1,0462	1,4802	$C_{12}H_{25}O_3PS$
	O	70	1,0677	1,4925	$C_{12}H_{23}O_3PS$
$CH_2SC_2H_5$	S	80	1,1161	1,5212	$C_9H_{21}O_2PS_3$
$CH_2OCOCCH_3$	S	70	1,1570	1,4995	$C_9H_{19}O_4PS_2$

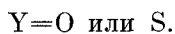
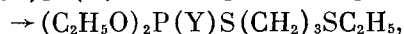
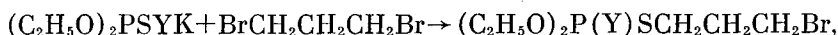
S-Алкильные эфиры диэтилдитиофосфорной кислоты, содержащие тройную связь на различном расстоянии от атома фосфора, получены взаимодействием O,O-диэтилдитиофосфата калия с соответствующими бромалкинами [28]



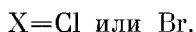
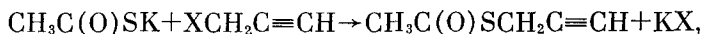
S-Алкиловые эфиры O,O-диалкил-тио и дитиофосфорных кислот получены взаимодействием соответствующих алкилгалогенидов с калиевыми солями этих кислот (табл. 8)



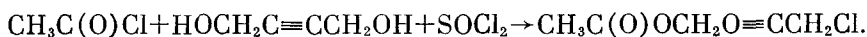
Синтез O,O-диэтил-S-(3-этилтиопропил)-тио- и дитиофосфатов осуществлен следующим путем. Сначала взаимодействием калиевых солей диэтил-тио- и дитиофосфорных кислот с 1,3-дибромпропаном получены O,O-диэтил-S-(3-бромпропил)-тио- или дитиофосфаты. Последние при действии на них этилмеркаптида натрия образуют соответствующие S-этилтиопропиловые тиоэфиры



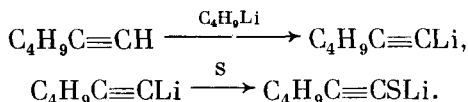
S-Пропаргилтиоацетат получен при действии бромистого или хлористого пропаргила на тиоацетат калия [29]



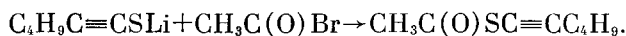
(4-Хлорбут-2-инил)ацетат получен в одну стадию с выходом 65% реакцией 1,4-бутиндиола с хлористым ацетилом, а затем с хлористым тионилем [20]



S-(Гекс-1-инил)тиоацетат получен в одну стадию следующим путем [30]. Сначала взаимодействием свежеприготовленного раствора бутиллития в эфире с 1-гексином получен (гекс-1-инил)литий, который затем превращен действием серы в соответствующий меркапид лития



Последний при взаимодействии с бромистым ацетилом дает S-(гекс-1-инил)тиоацетат



III. АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ АЦЕТИЛЕНОВЫХ ФОСФОРГАНИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ

Источниками ферментов служили частично очищенные водорастворимые препараты ацетилхолинэстеразы эритроцитов человека (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы сыворотки крови лошади (БуХЭ), а также гомогенат мозга белых мышей (ХЭ мыши), гомогенат голов мух *Musca domestica* L. (ХЭ мухи), гомогенаты целых особей свекловичной тли *Aphis fabae* Scop. и злаковой тли *Schizaphis graminum* Rond. (ХЭ тли) и паутинового клеща *Tetranychus urticae* Koch (ХЭ клеща). Скорости холинэстеразного гидролиза ацетилтиохолина (АТХ) до (v_0) и после (v_i) воздействия различных ингибиторов определяли при 25° С и рН 7,5 методом Эллмана [31]. В опытах с ХЭ тли реактив Эллмана добавляли после остановки ферментативной реакции [32]. Бимолекулярную константу (k_{II}) скорости взаимодействия холинэстераз с ФОИ определяли при 25° С и рН 7,5 известным методом [7,8] и вычисляли по формуле:

$$k_{II} = \frac{2,303}{t[I]} \lg \frac{v_0}{v_i} (\text{M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}),$$

где v_i — скорость ферментативного гидролиза АТХ после t мин инкубации ХЭ с ФОИ в концентрации $[I]$, во много раз превышающей концентрацию активных центров фермента; v_0 — скорость ферментативного гидролиза АТХ в отсутствие ФОИ. Константу скорости щелочного гидролиза ФОИ (k_{OH}) определяли при 25° С и рН 9,2 известным методом [14].

1. S-Бутилильные эфиры тиокислот фосфора, содержащие ацетиленовую связь в β-положении тиоэфирного радикала

Исследовались эфиры O,O-диалкилтиофосфорной кислоты — $(\text{RO})_2 \cdot \text{P}(\text{O})\text{SCH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{R}'$, где $\text{R}=\text{CH}_3$, C_2H_5 , C_3H_7 , а $\text{R}'=\text{Cl}$, OH , SC_2H_5 , SC_4H_9 , $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, $\text{SC}(\text{O})\text{CH}_3$ и $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$ (табл. 9) и эфиры O-этилтиофосфоновых кислот $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})\text{RP}(\text{O})\text{SCH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{R}'$, где $\text{R}=\text{CH}_3$, C_6H_5 , а $\text{R}'=\text{Cl}$, SC_2H_5 , $\text{SC}(\text{O})\text{CH}_3$, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$ (табл. 10). В этих соединениях ацетиленовая группировка находится примерно на таком же расстоянии от атома фосфора, как и сульфониевый атом серы в препарате Гд-42 (формулу см. выше). Предполагалось, что эта высокореакционноспособная группировка может взаимодействовать с анионным пунктом холинэстераз и тем самым влиять на ингибирующую активность этих соединений.

Для объективной оценки влияния ацетиленовой группировки на антихолинэстеразную (антиХЭ) активность соединений параллельно проводились опыты с насыщенными прототипами некоторых ацетиленовых ингибиторов. Количественно это влияние оценивалось величиной «ацетиленового эффекта» (q), показывающего, во сколько раз бимолекуляр-

Антихолинэстеразная активность (k_{II} , $M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) ацетиленовых ФОИ
 $(RO)_2P(O)SCH_2C \equiv CCH_2R'$ и их насыщенных прототипов $(RO)_2P(O)SCH_2CH_2CH_2CH_2R'$
 (номера соединений с индексом «а») [8, 9]

№ соединения	ФОИ		Антихолинэстеразная активность ФОИ					
	R	R'	АХЭ	БухЭ	ХЭ мыши	ХЭ мухи	ХЭ св. тли (свекло- вичной)	ХЭ клеща
(I)	CH ₃	Cl	2,8 · 10 ⁵ (28)	7,2 · 10 ⁵ (36)	6,2 · 10 ⁴ (8)	1,3 · 10 ⁶ (19)	4,8 · 10 ⁵ (23)	3,5 · 10 ⁵ (125)
(II)	C ₂ H ₅	Cl	2,6 · 10 ⁵ (10)	5,8 · 10 ⁵ (3)	8,9 · 10 ⁴ (12)	2,5 · 10 ⁶ (37)	1,0 · 10 ⁵ (3)	6,5 · 10 ⁴ (1,6)
(III)	CH ₃	SC ₂ H ₅	3,2 · 10 ⁵ (270)	1,0 · 10 ⁶ (1000)	3,3 · 10 ⁵ (140)	7,0 · 10 ⁶ (580)	2,9 · 10 ⁶ (2000)	3,8 · 10 ⁶ (7600)
(IV)	C ₂ H ₅	SC ₂ H ₅	2,1 · 10 ⁵ (260)	2,9 · 10 ⁶ (60)	1,1 · 10 ⁵ (48)	3,2 · 10 ⁶ (640)	1,5 · 10 ⁴ (7)	6,5 · 10 ⁵ (810)
(V)	C ₂ H ₅	SC ₄ H ₉	3,6 · 10 ⁶	2,1 · 10 ⁷	2,8 · 10 ⁵	—	—	2,5 · 10 ⁵
(VI)	CH ₃	OC(O)CH ₃	1,4 · 10 ⁵	1,4 · 10 ⁵	1,0 · 10 ⁵	3,0 · 10 ⁵	1,8 · 10 ⁵ 1,4 · 10 ²	2,8 · 10 ⁵
(VII)	C ₂ H ₅	OC(O)CH ₃	1,4 · 10 ⁵	3,3 · 10 ⁵	1,5 · 10 ⁵	4,5 · 10 ⁵	6,5 · 10 ⁵	2,7 · 10 ⁵
(VIII)	CH ₃	SC(O)CH ₃	4,4 · 10 ⁵	5,0 · 10 ⁵	2,9 · 10 ⁵	5,5 · 10 ⁵	1,8 · 10 ⁵	1,7 · 10 ⁶
(IX)	C ₂ H ₅	SC(O)CH ₃	6,8 · 10 ⁵	5,2 · 10 ⁶	3,8 · 10 ⁵	1,5 · 10 ⁷	1,3 · 10 ⁵	1,2 · 10 ⁶
(X)	C ₃ H ₇	SC(O)CH ₃	3,0 · 10 ⁶	3,8 · 10 ⁷	3,2 · 10 ⁶	4,0 · 10 ⁶	6,0 · 10 ⁵	1,3 · 10 ³
(XI)	C ₂ H ₅	OH	2,9 · 10 ⁴	2,9 · 10 ⁵	2,0 · 10 ⁵	2,2 · 10 ⁶	4,8 · 10 ⁶	4,0 · 10 ⁵
(XII)	C ₂ H ₅	N ⁺ (CH ₃) ₃ Cl ⁻	1,5 · 10 ⁶	1,0 · 10 ⁷	1,8 · 10 ⁶	—	—	1,7 · 10 ⁷
(Ia)	CH ₃	Cl	1,0 · 10 ⁴	2,0 · 10 ⁴	7,8 · 10 ³	7,7 · 10 ⁴	2,1 · 10 ⁴	2,8 · 10 ³
(IIa)	C ₂ H ₅	Cl	2,7 · 10 ⁴	1,7 · 10 ⁵	7,7 · 10 ³	6,7 · 10 ⁴	3,4 · 10 ⁴	4,0 · 10 ⁴
(IIIa)	CH ₃	SC ₂ H ₅	1,2 · 10 ³	1,0 · 10 ³	2,3 · 10 ³	1,2 · 10 ⁴	1,3 · 10 ³	5,0 · 10 ²
(IVa)	C ₂ H ₅	SC ₂ H ₅	8,0 · 10 ²	4,8 · 10 ⁴	2,3 · 10 ³	5,0 · 10 ³	2,2 · 10 ³	8,0 · 10 ²

Примечание. В скобках даны величины ацетиленового эффекта q ($q = k_{II}$ ацетиленового ФОИ/ k_{II} насыщенного прототипа).

Таблица 10

Антихолинэстеразная активность (k_{II} , $M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$)
 ацетиленовых ФОИ $R(C_2H_5O)P(O)SCH_2C \equiv CCH_2R'$ и их насыщенных прототипов
 $R(C_2H_5O)P(O)SCH_2CH_2CH_2CH_2R'$ (номера соединений с индексом «а») [9]

№ соединения	ФОИ		Антихолинэстеразная активность ФОИ					
	R	R'	АХЭ	БухЭ	ХЭ мыши	ХЭ мухи	ХЭ св. тли	ХЭ клеща
(XIII)	CH ₃	Cl	3,1 · 10 ⁶ (62)	2,1 · 10 ⁶ (1500)	9,3 · 10 ⁶ (140)	1,0 · 10 ⁹ (21 000)	6,6 · 10 ⁶ (51)	9,0 · 10 ⁵ (4,5)
(XIV)	C ₆ H ₅	Cl	4,0 · 10 ⁵ (50)	2,2 · 10 ⁵ (8)	4,7 · 10 ⁴ (9)	1,0 · 10 ⁵ (31)	9,0 · 10 ⁶ (310)	2,7 · 10 ⁴ (11)
(XV)	CH ₃	SC ₂ H ₅	6,6 · 10 ⁶ (41)	1,3 · 10 ⁶ (20)	2,9 · 10 ⁷ (260)	1,1 · 10 ⁹ (38 000)	5,3 · 10 ⁷ (590)	2,5 · 10 ⁷ (1200)
(XVI)	C ₆ H ₅	SC ₂ H ₅	6,2 · 10 ⁵ (31)	1,8 · 10 ⁶ (8)	4,6 · 10 ⁴ (38)	4,4 · 10 ⁵ (44)	5,6 · 10 ⁶ (670)	1,1 · 10 ⁵ (85)
(XIIIa)	CH ₃	Cl	5,0 · 10 ⁴	1,4 · 10 ³	6,7 · 10 ⁴	4,8 · 10 ⁴	1,3 · 10 ⁵	2,2 · 10 ⁵
(XIVa)	C ₆ H ₅	Cl	8,0 · 10 ³	2,7 · 10 ⁴	5,4 · 10 ³	3,2 · 10 ³	2,9 · 10 ⁴	2,4 · 10 ³
(XVa)	CH ₃	SC ₂ H ₅	1,6 · 10 ⁵	6,4 · 10 ⁴	1,1 · 10 ⁵	2,9 · 10 ⁴	9,0 · 10 ⁴	2,1 · 10 ⁴
(XVIa)	C ₆ H ₅	SC ₂ H ₅	2,0 · 10 ⁴	2,2 · 10 ⁵	1,2 · 10 ³	1,0 · 10 ⁴	8,4 · 10 ³	1,3 · 10 ³

Примечание. В скобках даны величины ацетиленового эффекта q .

ная константа скорости ингибирования холинэстераз ацетиленовым соединением больше таковой константы ингибирования его насыщенным прототипом.

Как следует из данных табл. 9 и 10, исследованные ацетиленовые соединения (I)–(IV) и (XIII)–(XVI) обладают более высокой антиХЭ

активностью по сравнению с их насыщенными прототипами. Эта закономерность прослеживается для всех без исключения соединений и количественно варьируется в очень широких пределах, в зависимости от природы фермента и строения ингибитора. По величинам ацетиленового эффекта этилмеркаптозамещенные тиофосфаты (III) и (IV) превосходят хлорзамещенные соединения (I) и (II). Это связано с тем, что ингибирующая активность у ацетиленовых ФОИ практически не зависит от природы заместителя, а у насыщенных прототипов хлорзамещенные соединения обладают более высокой анХЭа по сравнению с этилмеркаптозамещенными. Характерно, что строение фосфорильной части молекулы ингибитора оказывает меньшее влияние на ацетиленовый эффект: для ХЭ мыши, ХЭ мухи и АХЭ наблюдается относительная близость величин q как для хлорзамещенных эфиров диметил- и диэтилтиофосфорных кислот (I) и (II), так и для этилмеркаптозамещенных этих кислот (III) и (IV). Для других ХЭ диметилтиофосфаты по величинам q немного превосходили соответствующие диэтилтиофосфаты.

Для соединений (V)–(XII) не было насыщенных прототипов. Опыты с ними дали дополнительные сведения о связи между строением ацетиленовых ФОИ и их антиХЭ активностью. Эфиры диметил- и диэтилтиофосфорной кислот с заместителем — $\text{OS}(\text{O})\text{CH}_3$ (VI) и (VII) проявили близкую ингибирующую активность по отношению к каждой из исследованных ХЭ, как это имело место и в опытах с хлор- и этилмеркаптозамещенными этих кислот. Не наблюдалось существенного различия и в их антиХЭ активности по отношению к различным ХЭ. Например, величина константы ингибирования у соединения VI для наиболее чувствительной ХЭ мухи равна $3,0 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, а для наименее чувствительной ХЭ мыши $1,0 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, т. е. различие всего в три раза.

Напротив, у ацетиленовых ФОИ с заместителем $\text{SC}(\text{O})\text{CH}_3$ (VIII–X) проявляется четко выраженная зависимость их ингибирующей активности и от строения фосфорильной части молекулы для каждой ХЭ, и от природы ХЭ для каждого соединения. Так, ХЭ млекопитающих и ХЭ тли оказались наиболее чувствительными к эфиру дипропилтиофосфорной, а ХЭ мухи — к эфиру диэтилтиофосфорной кислоты. В отличие от других ферментов ХЭ клеща проявляла крайне низкую чувствительность к эфиру дипропилтиофосфорной кислоты (X) $k_{\text{II}} = 1,3 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, что в 30 000 раз меньше k_{II} для БухЭ — $3,8 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$. Обнаружено большое различие в чувствительности исследованных ХЭ к диэтилтиофосфату с заместителем OH (XI); при ингибировании АХЭ $k_{\text{II}} = 2,9 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, а при ингибировании ХЭ тли $4,8 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$.

По отношению к ХЭ млекопитающих бутилмеркаптопроизводное (V) обладает более высокой антиХЭ активностью, чем этилмеркаптопроизводное (IV). Следовательно, в этом случае кроме ацетиленовой группировки положительное влияние на антиХЭ активность оказывает и увеличение длины углеводородного радикала, обеспечивающего гидрофобную сорбцию на соответствующем участке каталитического центра фермента. Соединение (XII), имеющее триметиламмониевую группировку, по своей антиХЭ активности в реакции с ХЭ мыши превосходит все другие соединения, за исключением соединения (X). Чувствительность других ХЭ к соединению (XII) мало отличается от чувствительности к некоторым электронейтральным ацетиленовым ФОИ.

В отношении избирательности ингибирующего действия исследованных ацетиленовых ФОИ следует отметить две общие закономерности. а) Среди ферментов млекопитающих наиболее чувствительной к каждому из исследованных ФОИ оказалась БухЭ, что находится в соответствии с многочисленными литературными данными о более высокой ингибирующей активности фосфатов по отношению к БухЭ, чем к АХЭ [2].

б) Среди же ферментов членистоногих большей чувствительностью к исследованным ФОИ за малым исключением обладает ХЭ мухи.

Как следует из данных табл. 10 у тиофосфонатов также наблюдается резкое повышение анХЭа при введении ацетиленовой группировки в молекулу ФОИ. Так, для метиловых эфиров (XIII) и (XV) величины k_{II} по отношению к ХЭ мухи оказались исключительно высокими ($10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) и эти соединения можно считать высокоизбирательными ингибиторами данного фермента. Столь огромное, по сравнению с насыщенными прототипами (XIIIa) и (XVa), повышение антиХЭ активности нельзя объяснить более высокой фосфорилирующей способностью ацетиленовых соединений, так как введение ацетиленовой группировки в β -положение тиоалкильного радикала повышает константу скорости щелочного гидролиза лишь в 5–6 раз. Следует отметить, что насыщенные метилтиофосфонаты сильнее ингибируют не ХЭ мухи, а другие ХЭ: соединение (XIIIa) — ХЭ тли и ХЭ клеща, а соединение (XVa) — ХЭ мыши и АХЭ.

В отличие от тиофосфатов у метилтиофосфонатов (XIII) и (XV) природа заместителя оказывала не столь четкое влияние на ацетиленовый эффект: при взаимодействии этих соединений с АХЭ, ХЭ мухи и ХЭ мыши величина q мало зависит от природы заместителя, для ХЭ тли и ХЭ клеща величина q больше при взаимодействии этих ферментов с этилмеркаптозамещенными, а БуХЭ — с хлорзамещенными соединениями.

S-Бутильные эфиры фенилтиофосфоновой кислоты (XIV) и (XVI) по сравнению с подобными эфирами метилтиофосфоновой кислоты (XIII) и (XV) за малым исключением оказались менее сильными ингибиторами исследованных ХЭ. Например, большое различие к эфирам этих кислот наблюдается у ХЭ клеща для всех трех заместителей. Особенно велико различие в чувствительности ХЭ мух к соединениям с заместителями Cl и SC_2H_5 : для хлорзамещенных (XIII) и (XIV) это различие в 10 000 раз, а для этилмеркаптозамещенных (XV) и (XVI) в 2500 раз.

Тиоэфиры фенилтиофосфоновой кислоты уступают соответствующим метилтиофосфонатам и по величинам ацетиленового эффекта: для большинства исследованных ХЭ величины q не превышают 50 (табл. 10), и только для ХЭ тли они были относительно большими: 310 у хлорзамещенного соединения и 670 у этилмеркаптозамещенного. Как и в случае метилтиофосфонатов, влияние заместителей на ацетиленовый эффект фенилтиофосфонатов проявляется по-разному для исследованных ХЭ: для ХЭ членистоногих и ХЭ мыши величина q выше у этилмеркаптозамещенного (соединения (XIV) и (XV)), для АХЭ величина q наоборот больше у хлорзамещенного, а для БуХЭ различие в величинах q этих соединений отсутствует.

В связи с приведенными в этом разделе экспериментальными данными возникает вопрос относительно положения ацетиленовой группировки в S-бутильном радикале, обеспечивающего наибольшую антиХЭ активность. Ацетиленовая группировка с ее высокой π -электронной плотностью может взаимодействовать по типу образования π -комплекса не только с карбоксильной группой анионного пункта ХЭ, но и с другими группами: спиртовыми, аминогруппами и др. Поэтому оптимальное влияние ацетиленовой группировки может проявляться не обязательно при β -положении.

2. S-Алкиниловые эфиры диэтилтиофосфорной кислоты с различным положением ацетиленовой группировки в тиоэфирном радикале

Исследовалась антиХЭ активность двух рядов соединений общей формулы $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SX}$ (табл. 11). В соединениях (XVII)–(XIX) первого ряда группировки X является гексинильный радикал C_6H_9 , в кото-

Антихолинэстеразная активность (k_{II} , $M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) ФОИ строения $(C_2H_5O)_2P(O)SX$ с различным положением ацетиленовой группировки в тиоэфирном радикале [10, 12]

№ соединения	ФОИ	Антихолинэстеразная активность ФОИ					
	X	АХЭ	БуХЭ	ХЭ мыши	ХЭ мухи	ХЭ св. тли	ХЭ клеща
(XVII)	$C \equiv CC_4H_9$	$9,5 \cdot 10^6$ (2500)	$1,0 \cdot 10^8$ (3100)	$7,1 \cdot 10^6$ (7100)	$1,5 \cdot 10^6$ (169 000)	$4,6 \cdot 10^7$ (6600)	$6,0 \cdot 10^7$ (8600)
(XVIII)	$CH_2C \equiv CC_3H_7$	$1,4 \cdot 10^4$ (3,7)	$1,0 \cdot 10^6$ (30)	$7,0 \cdot 10^3$ (7,0)	$3,0 \cdot 10^5$ (34)	$1,7 \cdot 10^4$ (2,4)	$4,0 \cdot 10^4$ (5,7)
(XIX)	$CH_2CH_2C \equiv CC_2H_5$	$4,0 \cdot 10^3$ (1)	$1,2 \cdot 10^5$ (3,6)	$6,6 \cdot 10^3$ (6,6)	$1,1 \cdot 10^5$ (12,3)	$1,7 \cdot 10^4$ (2,4)	$3,0 \cdot 10^4$ (4,3)
(XX)	$C \equiv CH$	$2,3 \cdot 10^7$ (82 000)	$5,6 \cdot 10^7$ (210 000)	$2,2 \cdot 10^7$ (220 000)	$3,8 \cdot 10^8$ (2 700 000)	$1,4 \cdot 10^7$ (140 000)	$4,8 \cdot 10^7$ (480 000)
(XXI)	$CH_2C \equiv CH$	$2,2 \cdot 10^5$ (3000)	$4,0 \cdot 10^5$ (600)	$7,0 \cdot 10^4$ (1400)	$1,2 \cdot 10^5$ (3000)	$1,5 \cdot 10^4$ (500)	$6,3 \cdot 10^4$ (300)
(XXII)	$CH_2CH_2C \equiv CH$	$4,0 \cdot 10^3$ (6,3)	$2,4 \cdot 10^4$ (4,9)	$1,7 \cdot 10^3$ (5,0)	$1,1 \cdot 10^4$ (0,6)	$2,0 \cdot 10^3$ (0,7)	$2,6 \cdot 10^3$ (0,09)
(XXIII)	$C(CH_3)_2C \equiv CH$	$6,6 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^5$	$5,9 \cdot 10^4$	$8,5 \cdot 10^5$	$9,0 \cdot 10^4$ *	—
(XVIIa)	C_6H_{13}	$3,8 \cdot 10^3$	$3,3 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^3$	$8,9 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^3$
(XXa)	C_2H_5	$2,7 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$
(XXIa)	C_3H_7	$0,7 \cdot 10^2$	$0,7 \cdot 10^3$	$0,5 \cdot 10^2$	$0,4 \cdot 10^2$	$0,3 \cdot 10^2$	$2,0 \cdot 10^2$
(XXIIa)	C_4H_9	$6,4 \cdot 10^2$	$4,9 \cdot 10^3$	$2,9 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^4$	$3,0 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^4$

* В опыте использована ХЭ злаковой тли.

Примечание. В скобках даны величины ацетиленового эффекта q .

ром ацетиленовая группировка находилась в α -, β - или γ -положениях по отношению к тиоэфирной группе, т. е. $X = -C \equiv CC_4H_9$, $-CH_2C \equiv CC_3H_7$, $-CH_2CH_2C \equiv CC_2H_5$. В соединениях (XX)–(XXII) второго ряда изменялись и положение ацетиленовой группировки и длина S-алкинилового радикала: $X = -C \equiv CH$, $-CH_2C \equiv CH$, $-CH_2CH_2C \equiv CH$. Изучалась антиХЭ активность насыщенных прототипов этих соединений. Для трех соединений первого ряда насыщенным прототипом является соединение $(C_2H_5O)_2P(O)SC_6H_{13}$, а у каждого соединения второго ряда свой индивидуальный прототип.

Как следует из данных табл. 11, ингибиторы с α -положением ацетиленовой связи обладают наивысшей антиХЭ активностью. По способности ингибировать ХЭ они не уступают таким сильным ФОИ, как ониевые соединения, например метилсульфометилату О,О-диэтил-S-[β -(фенилметил-амино)этил]тиофосфата [35]. У этого соединения k_{II} при ингибировании АХЭ равна $2,5 \cdot 10^7 M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, а при ингибировании БуХЭ — $6,8 \cdot 10^7 M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$. Соединение (XX) при ингибировании АХЭ дает такую же величину константы $2,3 \cdot 10^7 M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, а соединение (XVII) при ингибировании БуХЭ дает даже большую величину $1,0 \cdot 10^8 M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ (табл. 11).

Перемещение ацетиленовой связи в тиоалкиниловом радикале из α - в β -положение приводит к резкому снижению констант скорости ингибирования исследованных ХЭ, достигающему двух–трех порядков (табл. 11). В соответствии с этим резко уменьшаются и величины ацетиленового эффекта. Если у соединения (XVII) из первого ряда с α -положением ацетиленовой связи величины q составляют тысячи, а при ингибирования исследованных ХЭ, достигающему двух-трех порядков ацетиленовой связи (соединение (XVIII)) q находится в интервале 2,4–34.

У соответствующих соединений второго ряда также наблюдается большая разница в величинах q . Так, у соединения (XX) величина q при ингибировании ХЭ мух достигает $2,7 \cdot 10^6$, а у соединения (XXI) с β -по-

ложением ацетиленовой связи, q равно 3000. В соединениях и первого, и второго ряда дальнейшее перемещение тройной связи в γ -положение тиоэфирного радикала оказывает менее выраженное влияние.

Преставляет интерес сравнить антиХЭ активности соединений (XVII) и (XX), а также соединений (XVIII) и (XXI). Замена атома водорода в соединении (XX) на радикал C_4H_9 (соединение (XVII)) привело к повышению ингибирующей активности по отношению к ХЭ членистоногих и БуХЭ, тогда как по отношению к ХЭ мыши и АХЭ вызвала даже небольшое понижение этой активности. Малоэффективной оказалась замена ацетиленового водорода в соединении (XXI) на радикал C_3H_7 (соединение XVIII) и замена двух других атомов водорода в алкилтиольном остатке этого соединения на метильные радикалы (соединение (XXIII)). Здесь также наблюдается небольшое понижение антиХЭ активности по отношению к АХЭ. Характерно, что по отношению к ХЭ членистоногих соединение (XXII) с γ -положением ацетиленовой связи является даже более слабым ингибитором, чем его насыщенный прототип: величины $q < 1$.

3. S-Алкиниловые эфиры диалкилтиофосфорных кислот, содержащие гидрофобную или ониевую группировку в алкиольном радикале

Исследовались ФОИ общей формулы $(RO)_2P(O)SC\equiv CR'$ с ациклическими гидрофобными группировками $R' = C_4H_9$, $CH_2SC_2H_5$, $CH_2SC_4H_9$, $CH_2CH_2SC_2H_5$, $CH_2SC(O)CH_3$, $CH_2OC(O)CH_3$, $CH_2OC_2H_5$, $CH_2OC_3H_7$, $CH_2OC_4H_9$, $CH_2CH(COOC_2H_5)_2$, а $R = CH_3$, C_2H_5 , C_3H_7 , C_4H_9 (табл. 12). В опытах с этими соединениями изучалась зависимость их антиХЭ активности от строения радикала R' , способного к гидрофобной сорбции на соответствующих участках активной поверхности фермента. Кроме того, сравнение антиХЭ активности веществ с различными R , но с одинаковыми R' дало возможность оценить влияние строения фосфорильной группировки ФОИ. Эти же вопросы исследовались и в опытах с соединениями, содержащими циклические гидрофобные группировки R' : фенильную, циклогексилильную и циклогексилную, и радикалы $R = CH_3$, C_2H_5 (табл. 13). Влияние ониевого группировки исследовалось в опытах с ингибитором $(C_2H_5O)_2P(O)SC\equiv CCH_2CH_2S(CH_3)C_2H_5$ (табл. 12).

Как следует из данных табл. 12 замена атома водорода ацетиленовой группы в алкиольном радикале соединения (XX) на различные ациклические гидрофобные группировки приводит к заметному повышению антиХЭ активности по отношению к БуХЭ. Лишь заместители $-CH_2CH(COOC_2H_5)$ и $-CH_2SC_4H_9$ не повышают, а немного уменьшают ингибирующее действие на эту ХЭ (соединения (XXXV) и (XXXVII)). По отношению к другим ХЭ заместитель в большинстве случаев снижает, либо не изменяет анХЭ.

Например, соединение (XXXVIII) ингибирует эти ХЭ не сильнее, а слабее соединения (XX). В этом случае гидрофобная *трет*-бутильная группировка не способствует, а, по-видимому, мешает сорбции молекулы ацетиленового ингибитора на активной поверхности фермента. Только немногие заместители повышали антиХЭ активность ингибитора для некоторых ХЭ. Так, соединение (XX) уступает по антиХЭ активности соединениям (XVII) и (XXXVII) в опытах с ХЭ мух, свекловичной тли и паутинного клеща, соединению (XXVII) — в опытах с ХЭ тли и клеща, а соединению (XXXVIII) — в опытах с ХЭ мухи и тли.

Замена атома водорода в соединении (XX) на фенильный (соединение (XLIV)) и циклогексенильный (соединение (XLV)) радикалы приводит к повышению антиХЭ активности для БуХЭ и к понижению для ХЭ мыши, ХЭ тли и АХЭ (табл. 13). По отношению к ХЭ мухи соеди-

Антихолинэстеразная активность (k_{II} , $M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) ацетиленовых ФОИ $(RO)_2P(O)SC \equiv CR'$ и их насыщенных прототипов $(RO)_2P(O)SCH_2CH_2R'$ (номера соединений с индексом «а») [10, 11, 15]

№ соединения	ФОИ		Антихолинэстеразная активность ФОИ					
	R	R'	АХЭ	БухЭ	ХЭ мыши	ХЭ мухи	ХЭ св. тли	ХЭ клеща
(XX)	C_2H_5	H	$2,3 \cdot 10^7$ (820 000)	$5,6 \cdot 10^7$ (210 000)	$2,2 \cdot 10^7$ (220 000)	$3,0 \cdot 10^8$ (2 700 000)	$1,4 \cdot 10^7$ (140 000)	$4,8 \cdot 10^7$ (480 000)
(XXIV)	C_3H_7	H	$1,5 \cdot 10^7$	$4,0 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^8$	—	—	—
(XXV)	C_4H_9	H	$6,2 \cdot 10^5$	$5,7 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^8$	—	—	—
(XXVI)	CH_3	$CH_2OC(O)CH_3$	$9,3 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^8$	$3,4 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^7 *$	$4,8 \cdot 10^7$
(XXVII)	C_2H_5	$CH_2OC(O)CH_3$	$1,7 \cdot 10^7$ (68 000)	$8,5 \cdot 10^8$ (610 000)	$5,0 \cdot 10^7$ (500 000)	$2,1 \cdot 10^8$ (210 000)	$3,0 \cdot 10^9 *$ (30 000 000)	$1,6 \cdot 10^9$ (10 000 000)
(XXVIII)	C_3H_7	$CH_2OC(O)CH_3$	$1,9 \cdot 10^7$	$3,6 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^7$	$5,7 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^7 *$	$8,0 \cdot 10^4$
(XXIX)	CH_3	$CH_2SC_2H_5$	$2,0 \cdot 10^7$	$5,1 \cdot 10^7$	—	—	—	—
(XXX)	CH_3	$CH_2OC_2H_5$	$7,3 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^7$	—	—	—	—
(XXXI)	C_2H_5	$CH_2OC_2H_5$	$1,0 \cdot 10^9$	$3,4 \cdot 10^9$	—	—	—	—
(XXXII)	C_2H_5	$CH_2OC_3H_7$	$2,1 \cdot 10^7$	$2,2 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^8$	$2,5 \cdot 10^8$	$1,6 \cdot 10^7$
(XXXIII)	C_2H_5	$CH_2OC_4H_9$	$5,7 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^8$	$6,1 \cdot 10^7$	$2,6 \cdot 10^9$	$1,7 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^7$
(XXXIV)	C_3H_7	$CH_2OC_4H_9$	$6,5 \cdot 10^7$	$9,8 \cdot 10^8$	$6,7 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^9$	$4,8 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^6$
(XXXV)	C_2H_5	$CH_2CH(COOC_2H_5)_2$	$4,5 \cdot 10^6$	$3,0 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^6$	—	$3,5 \cdot 10^7 *$	—
(XVII)	C_2H_5	C_4H_9	$9,5 \cdot 10^6$ (2 500)	$1,0 \cdot 10^8$ (3 000)	$7,1 \cdot 10^6$ (7 100)	$1,5 \cdot 10^9$ (169 000)	$4,6 \cdot 10^7$ (6 600)	$6,0 \cdot 10^7$ (86 000)
(XXXVI)	C_2H_5	$CH_2SC_2H_5$	$7,3 \cdot 10^6$ (4 000)	$2,1 \cdot 10^8$ (5 200)	$5,0 \cdot 10^8$ (7 100)	$5,2 \cdot 10^8$ (55 000)	$5,0 \cdot 10^7$ (500 000)	$5,0 \cdot 10^7$ (50 000)
(XXXVII)	C_2H_5	$CH_2SC_4H_9$	$2,3 \cdot 10^7$	$1,0 \cdot 10^7$	$1,0 \cdot 10^7$	$1,0 \cdot 10^9$	$7,5 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$
(XXXVIII)	C_2H_5	$C(CH_3)_3$	$1,7 \cdot 10^7$ (14 000)	$2,8 \cdot 10^8$ (80 000)	$2,0 \cdot 10^6$ (5 000)	$7,0 \cdot 10^6$ (11 000)	$1,8 \cdot 10^7 *$ (11 000)	—
(XXXIX)	C_2H_5	$CH_2CH_2SC_2H_5$	$1,7 \cdot 10^7$ (21 000)	$6,3 \cdot 10^7$ —	$2,0 \cdot 10^7$ (8 700)	$1,5 \cdot 10^8$ (30 000)	$1,3 \cdot 10^7 *$ (6 000)	—
(XL)	C_2H_5	$CH_2CH_2S^+(CH_3)_2C_2H_5$	$4,0 \cdot 10^6$ (220)	$4,5 \cdot 10^7$ —	$1,2 \cdot 10^7$ (520)	$3,0 \cdot 10^8$ (3 300)	$4,8 \cdot 10^7 *$ (900)	—
(XXa)	C_2H_5	H	$2,7 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$
(XXVIIa)	C_2H_5	$CH_2OC(O)CH_3$	$2,5 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^2 *$	$1,0 \cdot 10^2$
(XVIIa)	C_2H_5	C_4H_9	$3,8 \cdot 10^3$	$3,3 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^3$	$8,9 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^2$
(XXXVIa)	C_2H_5	$CH_2SC_2H_5$	$1,8 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$9,6 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^3$
(XXXVIIIa)	C_2H_5	$C(CH_3)_3$	$8,0 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^2$	$6,2 \cdot 10^2$	$1,6 \cdot 10^2 *$	—
(XXXIXa)	C_2H_5	$CH_2CH_2SC_2H_5$	$8,0 \cdot 10^2$	—	$2,3 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^3 *$	—
(XLa)	C_2H_5	$CH_2CH_2S^+(CH_3)_2C_2H_5$	$1,8 \cdot 10^4$	—	$2,3 \cdot 10^4$	$9,0 \cdot 10^4$	$5,3 \cdot 10^4 *$	—

* В опытах исследовалась ХЭ алаковой тли.

Примечание. В скобках даны величины ацетиленового эффекта q .

Таблица 13

Антихолинэстеразная активность (k_{II} , $M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) ацетиленовых ФОИ
 $(RO)_2P(O)SC \equiv CR'$ и их насыщенных прототипов $(RO)_2P(O)SCH_2CH_2R'$
 (номера соединений с индексом «а») [9, 12]



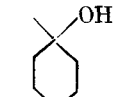
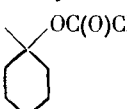

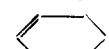
№ соединения	ФОИ		Антихолинэстеразная активность ФОИ				
	R	R'	АХЭ	БухЭ	ХЭ мыши	ХЭ мухи	ХЭ зл. тли
(XLI)	CH ₃	C ₆ H ₅	$1,8 \cdot 10^5$ (1 800)	$1,3 \cdot 10^7$ (16 000)	$5,5 \cdot 10^5$ (5 500)	$7,3 \cdot 10^7$ (20 000)	$5,0 \cdot 10^5$ (5 000)
(XLII)	CH ₃		$6,4 \cdot 10^5$ (1 500)	$1,9 \cdot 10^7$ (240)	$6,4 \cdot 10^5$ (4 300)	$1,6 \cdot 10^8$ (3 900)	$2,3 \cdot 10^5$ (300)
(XLIII)	CH ₃	цикло-C ₆ H ₁₁	$2,0 \cdot 10^8$ (2 000 000)	$2,2 \cdot 10^9$ (1 500 000)	$1,0 \cdot 10^8$ (1 000 000)	$2,3 \cdot 10^9$ (300 000)	$1,5 \cdot 10^8$ (1 500 000)
(XX)	C ₂ H ₅	H	$2,3 \cdot 10^7$ (82 000)	$5,6 \cdot 10^7$ (210 000)	$2,2 \cdot 10^7$ (220 000)	$3,0 \cdot 10^8$ (2 700 000)	$1,4 \cdot 10^7$ * (140 000)
(XLIV)	C ₂ H ₅	C ₆ H ₅	$9,0 \cdot 10^6$ (2 100)	$1,3 \cdot 10^8$ (10 000)	$7,9 \cdot 10^6$ (10 000)	$1,4 \cdot 10^8$ (14 000)	$8,0 \cdot 10^6$ (27 000)
(XLV)	C ₂ H ₅		$8,5 \cdot 10^6$ (450)	$4,3 \cdot 10^8$ (1 400)	$3,3 \cdot 10^6$ (400)	$7,0 \cdot 10^8$ (1 300)	$9,5 \cdot 10^5$ (53)
(XLVI)	C ₂ H ₅	цикло-C ₆ H ₁₁	$3,1 \cdot 10^8$ (18 000)	$1,2 \cdot 10^9$ (19 000)	$8,0 \cdot 10^8$ (670 000)	$8,0 \cdot 10^8$ (24 000)	$1,4 \cdot 10^9$ (400 000)

Таблица 13 (окончание)

№ соединения	ФОИ		Антихолинэстеразная активность ФОИ				
	R	R'	АХЭ	БуХЭ	ХЭ мыши	ХЭ мухи	ХЭ эл. тли
(XLVII)	C ₂ H ₅		8,0·10 ⁶	2,3·10 ⁸	9,0·10 ⁵	1,2·10 ⁸	9,0·10 ⁷
(XLVIII)	C ₂ H ₅		3,0·10 ⁶	4,8·10 ⁷	4,1·10 ⁶	7,5·10 ⁸	5,2·10 ⁶
(XLIX)	C ₃ H ₇	C ₆ H ₅	1,8·10 ⁷	1,8·10 ⁸	1,3·10 ⁷	3,6·10 ⁸	4,4·10 ⁷ *
(XLIa)	CH ₃	C ₆ H ₅	1,0·10 ²	8,0·10 ²	1,0·10 ²	3,7·10 ³	1,0·10 ²
(XLIIa)	CH ₃		4,3·10 ²	8,0·10 ⁴	1,3·10 ²	4,3·10 ⁴	7,7·10 ³
(XLIIIa)	CH ₃	цикло-C ₆ H ₁₁	1,0·10 ²	1,5·10 ³	1,0·10 ²	8,0·10 ³	1,0·10 ²
(XXa)	C ₂ H ₅	H	2,7·10 ²	2,7·10 ²	1,0·10 ²	1,1·10 ²	1,0·10 ² *
(XLIVa)	C ₂ H ₅	C ₆ H ₅	4,3·10 ³	1,3·10 ⁴	8,0·10 ²	1,0·10 ⁴	3,0·10 ²
(XLVa)	C ₂ H ₅		1,9·10 ⁴	3,1·10 ⁵	1,5·10 ⁴	5,5·10 ⁵	1,8·10 ⁴
(XLVIa)	C ₂ H ₅	цикло-C ₆ H ₁₁	1,7·10 ⁴	6,3·10 ⁴	1,2·10 ³	3,3·10 ⁴	3,3·10 ³

* В опытах использована ХЭ свекловичной тли.

Примечание. В скобках даны величины ацетиленового эффекта q.

нение (XLIV) оказалось менее сильным, а соединение (XLV) более сильным ингибитором, чем соединение (XX). Замена же водорода у ацетиленовой связи в соединении (XX) на циклогексильный радикал (соединение (XLVI)) сопровождается значительным усилением ингибирующей активности в отношении всех исследованных ХЭ. Для ХЭ тли величина k_{II} у этого соединения равна $1,4 \cdot 10^9 \text{ М}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, что на два порядка больше, чем у соединения (XX). Характерно, что соединения (XLVII) и (XLVIII), в циклогексильный радикал которых введены соответственно группы $-\text{OH}$ и $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ обладают во много раз меньшей антиХЭ активностью по сравнению с соединением (XLVI).

Если при замене ацетиленового атома водорода в соединении на гидрофобные заместители во многих случаях наблюдалось уменьшение k_{II} , то при аналогичных заменах атома водорода в насыщенном прототипе (XXa) всегда происходило существенное повышение величин k_{II} (соединения (XVIIa), (XXXVa), (XXXVIIIa), (XXXIXa), (XLa), (XLIVa), (XLVa), (XLVIa)), по-видимому, за счет увеличения скорости сорбции ингибиторов на активной поверхности ХЭ, обусловленного гидрофобной сорбцией заместителей на соответствующих гидрофобных участках этой поверхности. В отличие от ацетиленовых соединений, у их насыщенных прототипов с циклическими заместителями (табл. 13, соединения XXIVa, XLVa, XLVIa) наиболее сильным ингибитором по отношению ко всем ХЭ является циклогексенильное производное (XLVa), а не циклогексильное соединение (XLVIa), хотя производные с циклогексильными радикалами обладают большей гидрофобностью.

Возможно, отмеченное различие в эффективности заместителей объясняется тем, что при сорбции многих ацетиленовых соединений на ферментах эти заместители не контактируют с гидрофобными участками активной поверхности: линейная ацетиленовая группировка иначе ориентирует ацетиленовое соединение на ферменте по сравнению с ориентацией насыщенного аналога. И, вообще, создается впечатление, что взаимодействие с анионным пунктом активного центра ХЭ не играет в случае ацетиленовых ФОИ большой роли в процессе ингибирования.

Из приведенных в табл. 12 и 13 данных видно, что величины ацетиленового эффекта колеблются в очень широких пределах и зависят как от структуры соединений, так и от источника фермента. Как уже отмечалось выше, очень высоки величины q у соединения (XX). Замещение атома водорода у ацетиленовой группировки этого соединения на радикалы различной структуры, как правило, приводит к уменьшению величины q . Только при замещении атома водорода на циклогексильный радикал (соединение (XLVI)) имеет место повышение q при ингибировании ХЭ мухи и ХЭ тли. Обращает на себя внимание отсутствие корреляции между изменением величины k_{II} и q для ацетиленового аналога. Например, при замене атома водорода в соединении (XX) на циклогексильный радикал (соединение (XLVI)) величина k_{II} для ХЭ мухи увеличивается почти в три раза ($3 \cdot 10^8 \text{ М}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ и $8 \cdot 10^8 \text{ М}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ соответственно), а величина q уменьшается более чем в 100 раз (2 700 000 и 24 000 соответственно). Такая же картина наблюдается при замене атома водорода в соединении (XX) на бутильный радикал (соединение (XVII)) при ингибировании БухЭ и ХЭ членистоногих. Эти расхождения между изменениями k_{II} и q обусловлены тем, что замена атома водорода на некоторые радикалы у насыщенного прототипа (XXa) вызывает увеличение k_{II} в большее число раз, чем аналогичная замена у ацетиленового соединения (XX). Например, замена на циклогексильный радикал (соединение (XLVI)) у ацетиленового соединения (XX) приводит к увеличению k_{II} для ХЭ мухи менее чем в три раза, а замена водорода на

этот радикал (соединение (XLVIa)) у насыщенного соединения (XXa) приводит к увеличению k_{II} для этого же фермента в 300 раз.

На примере нескольких рядов соединений была исследована зависимость ингибирующей способности от длины алкильных радикалов в фосфорильной части молекулы ФОИ. Прежде всего следует отметить, что исследованные эфиры диметилтиофосфорной кислоты, как ацетиленовые ((XXVI), (XXX), (XLI)–(XLIII)), так и насыщенные ((XLIa), (XLIIa), (XLIIIa)), в большинстве случаев проявляют меньшую антиХЭ активность, чем их диэтильные гомологи (XXVII), (XXXI), (XLIV), (XLV), (XLVI), (XLIVa), (XLVa) и (XLVIa). Только в случае циклогексильных производных (XLIII) и (XLVI) и только в отношении ХЭ мухи и БуХЭ соотношение обратное. Эти два соединения по своей анХЭа значительно превосходят все известные ацетиленовые ФОИ. Дальнейшее удлинение алкильных радикалов в фосфорильной части молекулы ФОИ приводит к разным результатам в зависимости от фермента и от строения радикала R' у ацетиленовой группы. При исследовании ряда ацетиленовых ФОИ с $R'=H$ (соединения (XX), (XXIV), (XXV)) обнаружено, что наибольшей активностью по отношению к ХЭ мыши и АХЭ обладает диэтилтиофосфат, а по отношению к БуХЭ — дипропилтиофосфат. Это совпадает с результатами, полученными ранее для АХЭ и БуХЭ в опытах с соединениями $(RO)_2P(O)SC_2H_4N^+(CH_3)_2C_6H_{11}$, где $R=C_2H_5$, C_3H_7 , C_4H_9 и $(RO)_2P(O)SC_2H_4S^+(CH_3)_2C_2H_5$, где $R=C_2H_5$, C_3H_7 [34]. Характерно, что и ХЭ злаковой тли оказалась более чувствительной к диэтилтиофосфатам [35].

Однако в ряду ФОИ с $R'=CH_2OC(O)CH_3$ диэтилтиофосфат (XXVII), по сравнению с диметилтиофосфатом (XXVI) и дипропилтиофосфатом (XXIII), более активный ингибитор всех ХЭ, кроме АХЭ. Среди соединений с $R'=CH_2OC_4H_9$ эфир диэтилтиофосфорной кислоты (соединение (XXXIII)) сильнее ингибирует ХЭ клеща, дипропилтиофосфорной (соединение (XXXIV)) — БуХЭ и ХЭ тли; а ХЭ мыши, ХЭ мухи и АХЭ были одинаково чувствительны к обоим ФОИ. Дипропильное производное (соединение (XLIX)) из ряда ФОИ с $R'=C_6H_5$ во всех случаях было более сильным ингибитором ХЭ, чем диэтильное производное (XLIV).

Таким образом, анХЭа соединений зависит и от природы фермента, и от структуры молекулы ФОИ, как в фосфорильной, так и отщепляемой ее части.

Необычным оказалось изменение анХЭа при превращении ацетиленового соединения (XXXIX) с сульфидной серой в производное (XL) с сульфониевой серой. В этом случае катионная группа обуславливает понижение величины k_{II} для ХЭ теплокровных и незначительное повышение (в 2–4 раза) для ХЭ мухи и ХЭ тли, в то время как константа скорости щелочного гидролиза для сульфониевого производного во много раз выше таковой для сульфидного ($2,9 \cdot 10^{-1}$ и $4,4 \cdot 10^{-4}$ мин $^{-1}$ соответственно).

Характерно, что для всех ХЭ ацетиленовый эффект у соединения с сульфидной серой (XXXIX) значительно выше, чем у производного с сульфониевой серой (XL). Это связано с тем, что в опытах с насыщенными прототипами замена сульфидной серы (соединение (XXXIXa)) на сульфониевую (соединение (XLa)) приводит к усилению антиХЭ активности по отношению ко всем ХЭ: константы k_{II} возрастают в 10–25 раз. Константа щелочного гидролиза увеличивается при этом в 75 раз.

Невысокий эффект при введении ониевой группировки в значительной мере объясняется тем, что в соединениях (XL) и (XLa) ониевый атом расположен от фосфорилмеркаптогруппы на значительно большем расстоянии ($-CH_2CH_2CH_2CH_2S^+=$), по сравнению с оптимальным расстоянием ($-CH_2CH_2S^+=$), например в упомянутом выше препарате Гд-42.

Константы скорости щелочного гидролиза ($k_{\text{ОН}}$, мин^{-1}) ацетиленовых ФОИ
 $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SR}$ и их насыщенных прототипов
 (номера соединений с индексом «а») [12–14]

ФОИ		$k_{\text{ОН}}$, мин^{-1}	ФОИ		$k_{\text{ОН}}$, мин^{-1}
№ соеди- нения	R		№ соеди- нения	R	
(XVII)	$\text{C}\equiv\text{CC}_4\text{H}_9$	$1,2 \cdot 10^{-3}$ (150)	(XX)	$\text{C}\equiv\text{CH}$	$2,2 \cdot 10^{-3}$ (290)
(XVIIa)	C_6H_{13}	$8,0 \cdot 10^6$	(XXa)	CH_2CH_3	$7,7 \cdot 10^{-6}$
(XVIII)	$\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CC}_3\text{H}_7$	$2,2 \cdot 10^{-5}$ (2,7)	(XXXVI)	$\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{SC}_2\text{H}_5$	$2,9 \cdot 10^{-4}$ (17)
(XIX)	$\text{C}_2\text{H}_4\text{C}\equiv\text{CC}_2\text{H}_5$	$2,0 \cdot 10^{-5}$ (2,6)	(XXXVIa)	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SC}_2\text{H}_5$	$1,7 \cdot 10^{-5}$
(XLV)	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}_6\text{H}_5$	$4,4 \cdot 10^{-3}$ (115)	(XXXIX)	$\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{SC}_2\text{H}_5$	$4,4 \cdot 10^{-4}$ (81)
(XLVa)	$\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	$3,8 \cdot 10^{-5}$	(XXXIXa)	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SC}_2\text{H}_5$	$5,4 \cdot 10^{-6}$
(XLV I)	$\text{C}\equiv\text{CC}_6\text{H}_{11}\text{-цикло}$	$2,4 \cdot 10^{-3}$ (70)	(XL)	$\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{S}^+(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$	$2,9 \cdot 10^{-4}$ (740)
(XLVIa)	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_{11}\text{-цикло}$	$3,4 \cdot 10^{-5}$	(XLa)	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}^+(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$	$3,9 \cdot 10^{-4}$

Примечание. В скобках даны величины ацетиленового эффекта q .

В случае ацетиленового ФОИ определенную роль играет также и жесткость S-алкинилового радикала. А возможно, справедливо предположение об отсутствии или малой роли взаимодействия с анионным пунктом ХЭ для всей группы ацетиленовых ФОИ.

4. Анализ механизма антихолинэстеразного действия ацетиленовых ФОИ

а) Щелочной гидролиз

Представляется чрезвычайно важным вопрос о механизме взаимодействия ацетиленовых ФОИ с холинэстеразами. Можно было думать, что ацетиленовая группа, оказывающая электроноакцепторный эффект, повышает электрофильность атома фосфора и тем самым повышает фосфорилирующую способность соединения. Достаточно надежной мерой этой способности фосфорорганических ингибиторов является константа скорости их щелочного гидролиза ($k_{\text{ОН}}$). Проведенные опыты показали, что величины $k_{\text{ОН}}$ ацетиленовых ФОИ действительно выше, чем их предельных прототипов (табл. 14). Особенно они высоки у соединений с ацетиленовой связью в α -положении: у соединения (XX) $k_{\text{ОН}} = 2,2 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$, а у его насыщенного прототипа (XXa) эта константа в 290 раз меньше.

Однако такое усиление фосфорилирующей способности количественно никак не соответствует огромным величинам ацетиленового эффекта при ингибировании ХЭ, составляющим у того же соединения (XX) от 82 000 для АХЭ до 2 700 000 для ХЭ мух (табл. 11). Кроме того, наблюдаемое колоссальное различие в величинах ацетиленового эффекта у одного и того же соединения для разных ХЭ не может быть объяснено изменением $k_{\text{ОН}}$.

На первый взгляд несоответствие между ацетиленовыми эффектами в реакции щелочного гидролиза и в реакции взаимодействия с ХЭ может являться поводом предполагать иной механизм необратимого

ингибирования ферментов ацетиленовыми ФОИ: например не фосфорилирование, а алкилирование активного центра. Хорошо известно [36], что производные α -пропинамина необратимо ингибируют моноаминоксидазы именно в результате алкилирования этого фермента. Однако такое предположение встречает серьезное возражение. Ранее установлено [7], что при увеличении тиоалкильного радикала от SCH_3 до SC_7H_{15} в соединениях $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})\text{CH}_2\text{P}(\text{O})\text{SR}$ антиХЭ активность значительно возрастает, а величины $k_{\text{он}}$ практически не изменяются. Это было объяснено тем, что величина бимолекулярной константы скорости взаимодействия ФОИ с ХЭ определяется, главным образом, скоростью образования возрастанием k_{II} и $k_{\text{он}}$ при замене в S-алкильном радикале этидией взаимодействия, а не скоростью фосфорилирования, являющегося второй стадией. По аналогии, очевидно, и наблюдаемое несоответствие между возрастанием k_{II} и $k_{\text{он}}$ при замене в S-алкильном радикале этиленовой группировки на ацетиленовую могло быть объяснено значительным ускорением сорбции ацетиленового ФОИ на активной поверхности ХЭ. Это возрастание скорости сорбции не может быть одинаковым для разных ХЭ, отличающихся строением активного центра.

б) Изменение антихолинэстеразной активности ацетиленовых ФОИ при различных воздействиях

Специальные проведенные исследования показали [36] наличие у ацетиленовых ФОИ свойств, характерных для типичных ФОИ. Одним из таких характерных свойств является потеря способности ФОИ необратимо ингибировать ХЭ при замене фосфорильного кислорода на атом серы, что обсуждалось во введении. Установлено [11], что в отличие от соединения (XVII) его дитиоаналог $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{S})\text{SC}\equiv\text{CC}_4\text{H}_9$ не ингибирует ХЭ. Не обладает антиХЭ активностью и другое ацетиленовое дитиопроизводное $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{P}(\text{S})\text{SC}\equiv\text{CC}_4\text{H}_9$.

Наблюдается большое сходство между ацетиленовыми и обычными ФОИ в характере изменения величин k_{II} при изменении pH и воздействии тетраалкиламмониевых ионов.

Влияние тетраалкиламмониевых ионов на бимолекулярную константу скорости взаимодействия АХЭ с ФОИ исследовали при 25° С и pH 7,5 и оценивали по величине ингибиторной константы K_i [37], которую находили из уравнения



$$k_{\text{II}, i} = k_{\text{II}} \frac{1}{(1 + [\text{I}]/K_i)},$$

где $[\text{I}]$ — концентрация обратимого ингибитора. Экспериментальные точки, нанесенные на график в координатах $1/k_{\text{II}} - [\text{I}]$ ложатся на прямую, отсекающую на оси абсцисс отрезок, равный $(-K_i)$.

Влияние pH на скорость взаимодействия холинэстераз с ФОИ исследовали при различных его значениях: от 3 до 11.

Зависимость величин k_{II} от pH при ингибировании АХЭ ацетиленовым соединением и его насыщенным прототипом выражается симбатными кривыми, а величины pH-оптимума на этих кривых весьма близки и находятся в интервале pH 7–8 (рис. 1). В опытах с АХЭ установлено [38], что исследованные тетраалкиламмониевые ионы в равной степени понижают взаимодействие этого фермента с ацетиленовыми ФОИ (XXXIX) и (XLIV) и с их насыщенными аналогами (XXXIXa) и (XLIVa), значения K_i оказались практически одинаковыми для исследованных тетраалкиламмониевых ионов (табл. 15). Очевидно, изменения конформации и степени ионизации функциональных групп активной поверхности фермента, происходящие при изменении pH или под дейст-

Константы обратимого ингибирования (K_i , М) АХЭ эритроцитов крови человека тетраалкиламмониевыми ионами при взаимодействии фермента с ацетиленовыми ФОИ или их насыщенными прототипами [38]

№ соединения	Формула	K_i , М		
		$(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$	$(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+$	$(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+$
(XXXIX)	$(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SC}\equiv\text{CC}_2\text{H}_4\text{SC}_2\text{H}_5$	$1,2 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \cdot 10^{-3}$	$5,1 \cdot 10^{-5}$
(XXXIXa)	$(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{S}(\text{CH}_2)_4\text{SC}_2\text{H}_5$	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$5,6 \cdot 10^{-5}$
(XLIV)	$(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SC}\equiv\text{C}-$ 	$4,0 \cdot 10^{-3}$	$3,3 \cdot 10^{-3}$	$7,2 \cdot 10^{-5}$
(XLIVa)	$(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SC}_2\text{H}_4-$ 	$6,1 \cdot 10^{-3}$	$5,0 \cdot 10^{-3}$	$6,0 \cdot 10^{-5}$

вием тетраалкиламмониевых ионов, одинаково сказываются на взаимодействии холинэстераз с ацетиленовыми ФОИ и их насыщенными прототипами. Это свидетельствует о том, что введение ацетиленовой связи в молекулу ФОИ не изменяет основные черты механизма ингибирования ХЭ.

в) Реактивация

Бимолекулярную константу скорости реактивации (k_{II} , реакт $\text{M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) определяли при 25°C и pH 7,5 и рассчитывали по формуле:

$$k_{II, \text{реакт}} = 2,303/\tau [R] \lg(v_0 - v_i)/(v_0 - v_\tau),$$

где v_0 — исходная скорость ферментативного гидролиза субстрата, v_i — остаточная скорость гидролиза после взаимодействия фермента с ФОИ, v_τ — скорость гидролиза субстрата после τ мин взаимодействия заингибированного фермента с реактиватором в концентрации $[R]$. В этой формуле величина $(v_0 - v_i)$ прямо пропорциональна исходному количеству фосфорилированного фермента, а $(v_0 - v_\tau)$ — количеству фосфорилированного фермента, оставшемуся после частичной реактивации за время τ . В качестве реактиватора использовали 1,1-триметилен-бис-(4-пиридинальдоксим)дибромид (ТМБ-4) [38].

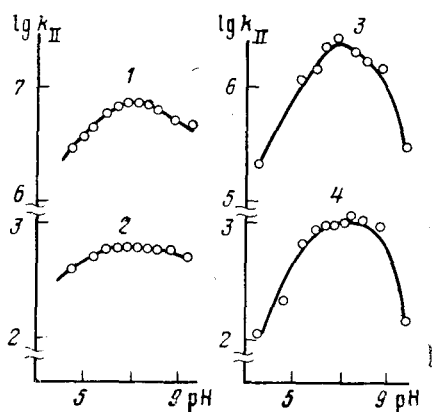


Рис. 1. Зависимость скорости взаимодействия АХЭ с ФОИ от pH; 1 — $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SC}\equiv\text{CC}_2\text{H}_4\text{SC}_2\text{H}_5$, 2 — $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{C}_2\text{H}_4\text{SC}_2\text{H}_5$, 3 — $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SC}\equiv\text{CC}_6\text{H}_{11}\text{-цикло}$, 4 — $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_{11}\text{-цикло}$

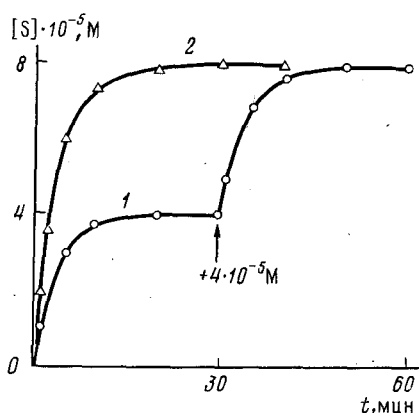


Рис. 2. Холинэстеразный гидролиз субстрата $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{SC}\equiv\text{CC}_4\text{H}_9$ (S) при различных начальных концентрациях: $8 \cdot 10^{-5}$ М (1); $4 \cdot 10^{-5}$ М (2) с последующим добавлением новой порции субстрата (указано стрелкой) [38]

Бимолекулярные константы скорости реактивации $k_{II, p}$ заингибированной ацетилхолинэстеразы
(реактиватор – ТМБ-4 – 1,1-триметилен-бис-(4-пиридинальдоксим)дибромид) [38]

Ингибитор $(C_2H_5O)P(O)R$			Ингибитор $(CH_3O)_2P(O)R$		
№ соедине- ния	R	$k_{II, p},$ $M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$	№ соеди- нения	R	$k_{II, p},$ $M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$
(XLVI)	$SC \equiv C - \text{C}_6\text{H}_{10}$	$0,82 \cdot 10^4$	(XLIII)	$SC \equiv C - \text{C}_6\text{H}_8$	$1,1 \cdot 10^4$
(XXXIX)	$SC \equiv CC_2H_4SC_2H_5$	$1,0 \cdot 10^4$	(XLIV)	$SC \equiv C - \text{C}_6\text{H}_4$	$1,4 \cdot 10^4$
(XXXIXa)	$SCH_2-CH_2C_2H_4SC_2H_5$	$0,97 \cdot 10^4$			
Параоксон	$O - \text{C}_6\text{H}_4 - NO_2$	$0,92 \cdot 10^4$	Метилпа- раоксон	$O - \text{C}_6\text{H}_4 - NO_2$	$1,2 \cdot 10^4$

Наиболее убедительным доказательством фосфорилирования ХЭ при действии на них ацетиленовых ФОИ являются результаты опытов по реактивации АХЭ, ингибированной различными ФОИ. Как следует из данных табл. 16, АХЭ, заингибированная производными диэтилфосфорной кислоты: как ацетиленовыми ингибиторами (XXXIX) и (XLVI), так и насыщенным прототипом (XXXIXa), а также хорошо известным ФОИ параоксоном, реактивируются под действием ТМБ-4 с одинаковыми скоростями. Наблюдаемая близость констант скорости реактивации свидетельствует о том, что в результате взаимодействия АХЭ с этими весьма различными по своей аНХЭа соединениями образуется фосфорилированный фермент одинакового строения $E-O-P(O)(C_2H_5O)_2$. Аналогичные результаты получились и в опытах с ацетиленовыми производными диметилфосфорной кислоты (XLIII) и (XLV) и метилпараоксоном. В этом случае константы скорости реактивации немного выше, чем в опытах с производными диэтилфосфорной и диэтилфосфорной кислот.

**г) Антихолинэстеразная активность
триметилгексиниламмониевых ионов**

Полученные данные дали основание считать, что инактивация холинэстераз и при действии ацетиленовых ФОИ наступает вследствие этерификации гидроксила серина соответствующей фосфорной кислотой. Опыты, казалось бы, подтвердили первоначальный вывод, что происхождение ацетиленового эффекта следует искать во влиянии ацетиленовой связи на первой стадии ингибирования – на скорость образования фермент-ингибиторного комплекса. Поэтому была исследована возможность взаимодействия тройной $C \equiv C$ -связи со структурами, расположенными либо в районе анионного пункта фермента, либо поблизости от фосфорилированного гидроксила серина [12].

Известно, что тетраалкиламмониевые ионы относятся к числу обратных ингибиторов ХЭ. Причем предполагается с большой вероятностью, что их действие осуществляется путем сорбции за счет образования прочных ионных пар с карбоксилат-анионом анионного пункта фермента. Предстояло выяснить, оказывает ли тройная связь упрочняющее действие на сорбцию такого рода. Были исследованы четвертичные аммониевые ионы, содержащие алкинильные группы [14]. Однако проведенные опыты по ингибированию АХЭ и БуХЭ такими четвертичными аммониевыми ионами (табл. 17) показали, что введение ацетиленовой связи в любое положение гексильного радикала (соединение (LIII)) практически не влияет на способность триметилгексиниламмониевых

Антихолинэстеразная активность (I_{50} , М) триметилгексиниламмониевых ионов, с различным положением ацетиленовой связи в гексинильном радикале, и их насыщенного прототипа [14]

№ соединения	Ингибитор формула	I_{50} , М	
		АХЭ	БухЭ
(L)	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}\text{C}\equiv\text{CC}_4\text{H}_9\text{Br}^-$	$1,0 \cdot 10^{-3}$	$2,7 \cdot 10^{-3}$
(LI)	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CC}_3\text{H}_7\cdot\text{Br}^-$	$3,0 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$
(LII)	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}\text{C}_2\text{H}_4\text{C}\equiv\text{CC}_2\text{H}_5\cdot\text{Br}^-$	$1,1 \cdot 10^{-3}$	$7,4 \cdot 10^{-2}$
(LIII)	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}\text{C}_6\text{H}_{13}\text{Br}^-$	$2,1 \cdot 10^{-3}$	$6,5 \cdot 10^{-3}$
(LIV)	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}\cdot\text{Br}^-$	$3,5 \cdot 10^{-3}$	$7,5 \cdot 10^{-3}$
(LV)	$(\text{CH}_3)_3\overset{+}{\text{N}}\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}\cdot\text{I}^-$	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$1,5 \cdot 10^{-2}$

ионов (соединения (L)–(LII)) обратимо тормозить каталитическую активность ферментов. Такие же величины I_{50} получены в опытах с триметилпропиналаммониевыми солями (LIV) и (LV). Следовательно, участок связывания ацетиленовой группировки отсутствует в районе анионного пункта ХЭ.

Таким участком связывания может быть гидроксил тирозина, наличие которого в эстеразном пункте холинэстераз предполагается многими авторами [1]. Это предположение будет рассмотрено ниже.

д) Холинэстеразный гидролиз ацетиленовых субстратов

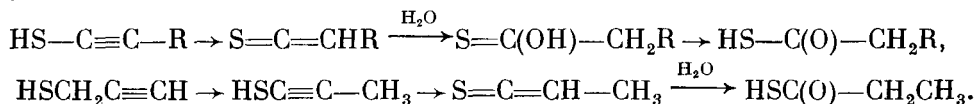
Выше мы отмечали, что ацетиленовые ФОИ, как и типичные ФОИ, фосфорилируют активный центр ХЭ. Далее, опыты с аммониевыми солями показали, что ацетиленовая группировка не оказывает никакого влияния на процесс, происходящий в районе анионного пункта фермента. И все же ацетиленовый эффект (q) налицо! Можно сделать два альтернативных предположения: либо ацетиленовая группа ускоряет образование фермент-ингибиторного комплекса, сорбируясь на активной поверхности фермента не в районе анионного пункта, а в другом месте, но так, что эта сорбция весьма существенно улучшает стерические условия атаки атомом фосфора серинового гидроксила фермента; либо тройная связь непосредственно принимает участие в фосфорилировании фермента, т. е. в самом элементарном акте взаимодействия, существенно снижая его энергию активации, но не изменяя конечного результата. В обоих случаях оставалось неясным, что происходит с S-алкинильным радикалом после разрыва тиоэфирной связи. Остается ли он связанным с ферментом или переходит в реакционную среду? Тот факт, что константы скорости реактивации АХЭ, заингибированной ацетиленовыми ФОИ, практически равны константам скорости реактивации АХЭ, заингибированной их насыщенными прототипами, не исключает возможности образования продукта взаимодействия ацетиленовой связи с каким-либо участком активной поверхности фермента. Если под действием реактиватора скорость освобождения АХЭ от остатка S-алкинильного радикала значительно больше скорости дефосфорилирования, то наличие продукта взаимодействия этого радикала с ферментом никак не отразится на величине константы скорости реактивации.

Проведенные опыты по реактивации фермента убедительно показали, что ацетиленовые ФОИ, как и обычные ФОИ, фосфорилируют холинэстеразы, но они не дают ответа на поставленный вопрос о судьбе S-алкинилового радикала.

Возникают большие методические трудности для обнаружения в реакционной среде ацетиленового меркаптана или продукта его превращения в опытах по ингибированию ХЭ ацетиленовыми ФОИ. В этих опытах концентрация активных центров ХЭ в реакционной среде обычно не превышает $1 \cdot 10^{-9}$ М и поэтому возможная концентрация S-алкинилового радикала или продукта его превращения не может быть больше указанной величины. Это в тысячи раз меньше той минимальной концентрации HS-групп, которая может быть определена современными химическими методами.

Для выяснения поставленного вопроса исследовалось [38] взаимодействие холинэстераз с S-алкиниловыми эфирами тиоуксусной кислоты: $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{SCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ (соединение (LVII)) и $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{SC}\equiv\text{CC}_6\text{H}_5$ (соединение (LVIII)).

Если бы ацетиленовая группировка образовывала с ферментом прочный комплекс, то тогда эти соединения являлись бы необратимыми ингибиторами. Проведенные же опыты показали, что оба соединения хотя и медленно, но гидролизуются под действием и АХЭ, и БУХЭ. Реактив Элмана, в присутствии которого проходил ферментативный гидролиз, указывал на образование в реакционной среде соединения с HS-группировкой. Этим соединением мог быть или ацетиленовый меркаптан, который взаимодействовал с реактивом Элмана в момент отщепления от молекулы субстрата, или продукт его превращения. Контрольные опыты, в которых реактив Элмана прибавляли после окончания ферментативного гидролиза, также показали наличие продукта с HS-группировкой. Когда такая реакционная смесь защищалась от доступа кислорода воздуха, то концентрация HS-групп оставалась практически неизменной в течение длительного времени. Следовательно, из неустойчивого S-алкинилового радикала, отщепляемого от молекулы субстрата или от молекулы ацетиленового ФОИ, образуется прочный продукт с HS-группировкой. Возможно, превращение S-алкинилового радикала происходит по схемам:



Очевидно, такие продукты превращения S-алкинилового радикала получают и при щелочном гидролизе как ацетиленовых ФОИ, так и ацетиленовых субстратов.

Как установлено в опытах по щелочному гидролизу ацетиленовых ФОИ и субстратов [38], количество микромолей щелочи, израсходованных на нейтрализацию образующихся продуктов, почти в два раза превышало количество микромолей взятых в опыты соединений, т. е. щелочь связывалась не только соответствующей фосфорной или уксусной кислотой, но и продуктом превращения ацетиленового меркаптана. Согласно полученным данным по кислотным свойствам, этот продукт значительно превосходит обычные меркаптаны, что является подтверждением приведенной схемы.

Далее было установлено [38], что в процессе ферментативного гидролиза ацетиленового субстрата каталитическая активность холинэстераз не изменяется. Как следует из рис. 2, после того, как под действием БУХЭ полностью гидролизовалось взятое количество соединения (LVIII), новая порция этого соединения, добавленная в реакционную

среду в той же концентрации, гидролизруется с той же скоростью: величины тангенса угла наклона кривых в координатах «концентрация образующегося тиолового продукта — время» в начальные периоды ферментативного гидролиза двух порций субстрата оказались равными. Аналогичные результаты были получены в опытах с соединением (LVII). Следовательно, продукты ферментативного гидролиза не вызывают необратимого ингибирования каталитической активности фермента.

Таким образом, по отношению к холинэстеразам S-алкиниловые эфиры тиоуксусной кислоты ведут себя только как субстраты. Низкая скорость их ферментативного гидролиза скорее всего обусловлена медленной десорбцией образующихся меркаптанов. Очевидно, среди многочисленных примеров холинэстеразного гидролиза различных эфиров карбоновых кислот, гидролиз ацетиленовых субстратов является тем редким случаем, в котором скорость ферментативного гидролиза лимитируется десорбцией продукта реакции [39].

IV. ТОКСИЧНОСТЬ АЦЕТИЛЕНОВЫХ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ

Метод определения токсичности ФОИ для белых мышей при подкожном введении, а также метод определения контактной токсичности для свекловичной тли *Aphis fabae* Scop., жука рисового долгоносика *Calandra oryzae* L., имаго и личинок 4-го возраста колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say., личинок 2-го возраста клопа Подизуса *Podisus maculiventris* Say. и паутинного клеща *Tetranychus urticae* Koch описана ранее [15]. Токсичность для мышей характеризовали величиной ЛД₅₀ — дозой вещества, в мг/кг, вызывающей гибель 50% особей, а токсичность для членистоногих — величиной СК₅₀ — концентрацией вещества, в мг/л, вызывающей гибель 50% особей, также через 24 ч после воздействия ФОИ.

Для токсикологического исследования использовалась лишь небольшая часть соединений, приведенных в табл. 12 и 13: преимущественно это были соединения с высокой антиХЭ активностью (табл. 18). Объектами токсического воздействия этих соединений являлись белые мыши, свекловичные тли, рисовые долгоносики и паутинные клещи. Как следует из данных табл. 18, исследованные S-этинильные эфиры диалкилтиофосфорной кислоты обладают высокой инсектицидной активностью, в некоторых случаях превосходящей эталоны (хлорофос — для жука, карбофос — для тли) в 10–100 раз. В то же время их насыщенные прототипы оказались малотоксичными для членистоногих. Таким образом, введение в молекулу ФОИ ацетиленовой связи в α -положении по отношению к фосфорилмеркаптогруппе приводит к значительному усилению антиХЭ активности и инсектицидных свойств. Эффективность такого усиления зависит от строения ФОИ, и у каждого соединения проявляется по-разному для исследованных членистоногих.

Общепризнано, что основной причиной токсического действия фосфорорганических инсектоакарицидов является ингибирование ХЭ [40]. Однако прямая связь между токсичностью фосфоорганических веществ и их ингибирующей активностью, по отношению к ХЭ данного представителя членистоногих или млекопитающих, существует в тех довольно редких случаях, когда исследуются вещества близкие по строению. Отсутствие такой связи обусловлено главным образом различиями в потерях вещества во время его перемещения от места поступления в организм к синаптической ХЭ и неодинаковыми превращениями в ходе метаболизма [40, 41].

Как следует из табл. 12 и 13 среди S-этинильных эфиров диэтилтиофосфорной кислоты наиболее сильным ингибитором ХЭ являются соединения

Токсичность S-этильных эфиров диалкилтио- и диалкилдитиофосфорной кислот
 $(RO)_2P(Y)SC\equiv CX$ и их насыщенных прототипов $(RO)_2P(Y)SCH_2CH_2X$
 (номера соединений с индексом «а») [15]

№ соедине- ния	ФОС		ЛД ₅₀ , мг/кг мыши		СК ₅₀ , мг/л					
					свекл. тля		жук		паут. клещ	
	R	X	Y=O	Y=S	Y=O	Y=S	Y=O	Y=S	Y=O	Y=S
(LVI)	CH ₃	C ₄ H ₉	2,7 (175)	470	4 (15)	60	30 (0,7)	20	100 (10)	1000
(XXIX)	CH ₃	CH ₂ SC ₂ H ₅	9,2 (42)	390	57 (1)	53	500 (0,8)	400	300 (1,3)	400
(XVII)	C ₂ H ₅	C ₄ H ₉	0,45 (470)	235	45 (0,7)	30	200 (0,5)	90	10 (30)	300
(XXXVI)	C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₂ H ₅	3,5 60	210	45 (0,8)	39	100 (2)	200	10 (40)	400
(XXXVII)	C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₄ H ₉	2,4 (192)	460	48 (3)	150	150 (2)	300	200 (1,5)	300
(XXVII)	C ₂ H ₅	CH ₂ OC(O)CH ₃	0,5 (540)	270	12 (12)	150	700 (10)	7000	700 (4)	3000
(XLVI)	C ₂ H ₅	C ₆ H ₁₁ -цикло	1,2 (416)	500	0,1 (1)	0,1	3 (0,3)	1	7 (7)	50
(XLIV)	C ₂ H ₅	C ₆ H ₅	8,2 (57)	465	50 (2,4)	120	300 (3,3)	1000	100 (1)	100
(XVIIa)	C ₂ H ₅	C ₄ H ₉	160 (2,5)	400	*	*	*	*	*	*
(XXXVIa)	C ₂ H ₅	CH ₂ SC ₂ H ₅	24 (12,5)	300	*	*	*	*	*	*
(XXVIIa)	C ₂ H ₅	CH ₂ OC(O)CH ₃	210 (1,9)	400						
Эталон		хлорофос	—		—		300		—	
		карбофос			30		—		—	
		метафос			—		—		20	

* Соединения малотоксичны для членистоногих; гибель тест-объектов от концентрации 500 мг/л для клещей и 100 мг/л для тлей составляет только 5–10%.

Примечание. В скобках даны величины тионового эффекта T [для млекопитающих $T = \text{ЛД}_{50}(Y=S)/\text{ЛД}_{50}(Y=O)$, а для членистоногих $T = \text{СК}_{50}(Y=S)/\text{СК}_{50}(Y=O)$].

(XXVII) и (XLVI), тогда как по токсическому действию на мышей соединение (VLVI) (табл. 18) уступает соединению (XVII), а по токсическому действию на клещей соединение (XXVII) уступает соединениям (XVII), (XXXVI), (XXXVII), хотя по антиХЭ активности эти соединения слабее соединения (XXVII) в 30–80 раз. Лишь для тлей соблюдается удовлетворительная связь между антиХЭ активностью исследованных веществ и их токсичностью.

Поскольку токсичность исследованных эфиров тиофосфорной кислоты для мышей относительно велика, то эти соединения не удовлетворяют современным требованиям для высокоизбирательных инсектоакарицидов. Известно, что замена в ФОИ фосфорильной группы ($P=O$) на тиофосфорильную ($P=S$) приводит к уменьшению токсичности вследствие того, что тионовые производные лишены антиХЭ активности и их токсическое действие в организме реализуется только после ферментативной окислительной десульфурации, которая у разных видов животных протекает с разной скоростью [40, 41]. Эта реакция обеспечивается системой микросомальных монооксигеназ с цитохромом P-450 в качестве центрального звена. Обычно этот процесс совершается значительно быстрее у членистоногих, чем у млекопитающих, обладающих относительно низкой активностью этих ферментов [41]. Вследствие этого замена фосфорильной груп-

пы в ФОИ на тиофосфорильную выраженно снижает их токсичность для млекопитающих и тем самым повышает избирательность их действия на членистоногих. Нагляднее всего избирательная токсичность соединений в этом случае оценивается (табл. 18) по величинам «тионового эффекта» (T), представляющего собой отношение токсичности тионового соединения ($LD_{50;S}$ и $CK_{50;S}$) к токсичности его кислородного аналога ($LD_{50;O}$ и $CK_{50;O}$).

Были синтезированы и исследованы 8 ацетиленовых и 3 насыщенных производных дитиофосфорных кислот, являющиеся аналогами тиольных монотиосоединений [15]. В тексте они будут упоминаться под номером оксонового соединения с индексом «S». Их токсичность и величины тионового эффекта приведены в той же табл. 18. Исследованные тионовые производные по токсичности различаются друг от друга даже в большей степени, чем кислородные аналоги. Так, для жуков токсичность соединения (XLVI, S) характеризуется величиной $CK_{50;S}$, а токсичность соединения (XXVII, S) величиной $CK_{50;S}=7000$ мг/л.

Чрезвычайно важным и неожиданным был тот факт, что при замене в ацетиленовых соединениях фосфорильной группы на тиофосфорильную токсичность для членистоногих изменяется крайне мало, а для млекопитающих сильно снижается. Некоторые ацетиленовые производные дитиофосфорной кислоты оказались в сотни раз менее токсичными для мышей, чем соответствующие производные монотиофосфорной кислоты: у соединений (XVII), (XXVII) и (XLVI) величина тионового эффекта больше 400. Для млекопитающих столь резкое падение токсичности ФОИ при замене фосфорильного кислорода на серу наблюдается впервые. В отличие от ацетиленовых соединений насыщенные аналоги характеризуются значительно меньшими величинами тионового эффекта: значения T от 2 до 12, что свойственно обычным фосфорорганическим инсектоакарицидам.

Для членистоногих во многих случаях величина тионового эффекта находится в интервале от 0,5 до 1. Тионовый эффект, равный 1, можно было бы трактовать как результат полного превращения дитионата в тионат вследствие окислительной десульфурации под действием некоторых изоформ цитохрома P-450. Но, видимо, такое допущение неправомерно. Ему противоречат величины тионового эффекта меньше 1. Столь низкие значения тионового эффекта можно объяснить наличием кроме окислительной десульфурации еще и процессов разрушения, которые катализируются как оксидазами, так и другими ферментами [41]. Низкие значения тионового эффекта были обнаружены для соединений (LVI) и (LVI, S) в опытах с другими представителями членистоногих — колорадским жуком и клопом Подизусом. Как следует из табл. 19 во всех случаях величина тионового эффекта была меньше 1 особенно в опытах с Подизусом ($T=0,09$).

Для выяснения механизма тионового эффекта для ацетиленовых фосфорорганических соединений изучено [38] взаимодействие соединений общей формулы: $(C_2H_5O)_2P(Y)R$, где $R=C\equiv CC_2H_5$, $SC\equiv CC_2H_5$; $aY=O, S$, а также их насыщенных прототипов с цитохромом P-450 микросом из печени крыс линии Вистар и из брюшек комнатных мух. Влияние ФОИ на цитохром P-450 изучали по методике [17].

Из табл. 20 видно, что после инкубации микросомальных фракций цитохрома P-450 печени крыс в присутствии НАДФН имеет место его деструкция только под действием ацетиленовых тиоэфиров моно- и дитиофосфорной кислоты (XXXVII) и (XXXVII, S), а в случае цитохрома P-450 брюшек мух деструкция идет также и под действием предельного соединения — S-гексилдитиофосфата (XXXVII, S). Аналогичный S-гексилмонотиофосфат (XXXVIIa), так же как и эфиры фосфоновых кислот (LVII) и (LVIIa), не имеющие тиольной группы, не действуют на ис-

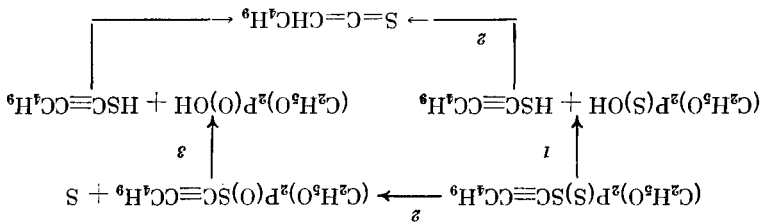
Таблица 19
Токсичность ($CH_3O)_2P(Y)SC\equiv CC_4H_9$ соединений ($CH_3O)_2P(Y)SC\equiv CC_4H_9$ для корпоратского жука и клопа Подпиза [41]

Y	CH_3O , мг/л		клоп Подпиз	
	корпоратский жук		личинка II возраста	
	имато	личинка IV возраста		
O	1900	1500	75	(0,09)
S	(0,42) 790	(0,7) 1050	6,5	

Взаимодействие соединений $(C_2H_5O)_2P(Y)R$ с цитохромом P-450 [17]

Фос		Снижение содержания цитохрома P-450, %	
№ соединения	R	Y	в микросомах печени крыс
(XXXVII, S)	$SC\equiv CC_4H_9$	S	22,2±2,5
(XXXVII, S)	$SC\equiv CC_4H_9$	O	22,2±1,7
(XXXVIIa, S)	$SCH_2CH_2C_4H_9$	S	0
(LVI)	$C\equiv CC_4H_9$	O	0
(LVIIa)	$CH_2CH_2C_4H_9$	O	0
			в микросомах брышек мух
(XXXVII, S)	$SC\equiv CC_4H_9$		60±6,5
(XXXVIIa, S)	$SCH_2CH_2C_4H_9$		27,5±4,5
(LVI)	$C\equiv CC_4H_9$		10,5±3,7
(LVIIa)	$CH_2CH_2C_4H_9$		0

содержание микросомальной фракции цитохрома P-450. Очевидно, действующим образом оказывают не сами соединения. Одним из наиболее вероятных путей превращения аэтиленовых тиоэфиров может считаться разрыв тиоэфирной связи под действием некоторых изоформ цитохрома P-450. При этом из тиоэфиров с предельным радикалом R образуется обычный меркаптан. В случае же ацетиленовых тиоэфиров образуются меркаптаны неустойчивы и легко превращаются в тиокетены, как это показано на схеме:



Способность тиокетенов реагировать с любыми веществами, содержащими подвижный атом водорода, хорошо изучена [17]. Поэтому, можно допустить, что образующийся в результате метаболизма исследованных ацетиленовых соединений (XXXVII) и (XXXVIIa, S) бутилтиокетен взаимодействует с соответствующими рупинировками цитохрома P-450, находящимися в районе гема, вызывая тем самым его дегрегацию. Из литературы известно [42], что деструкция цитохрома P-450 наблюдается в случаях присоединения органических соединений с непредельными связями к протопорфиновым кольцам гема. Таким образом, образующийся тиокетен, вызывая дегрегацию монооксигеназы, снижает скорость детоксикации ацетиленовых ФОИ и тем самым способствует сохранению их токсич-

ности. При дезактивации насыщенных аналогов (XXXVIIa) и (XXXVIIa, S) образуются предельные меркаптаны, не способные деструктировать фермент.

Другим путем метаболизма тионовых эфиров кислот фосфора является процесс их активации, а именно процесс окислительной десульфурации. Он осуществляется также в системе микросомальных монооксигеназ, но по-видимому, иными изоформами цитохрома Р-450. При этом образуется атом серы, который, как полагают, способен ковалентно связываться с активным центром цитохрома, вызывая его деградацию [43]. Действительно, диэтил-S-гексилдитиофосфат (XXXVIIa, S) проявляет деструктирующее действие на цитохром Р-450 брюшек мух. Этим действием в данном случае может обладать только атом серы, образующийся в процессе окислительной десульфурации этого соединения, так как другой метаболит — гексилмеркаптан не должен оказывать деградирующего действия на цитохром, что следует из опытов с соединением (XXXVIa). Вместе с тем, из табл. 20 видно, что соединение (XXXVIIa, S) не обладает деструктирующим действием на семейство изоформ цитохрома Р-450 печени крыс, что свидетельствует, очевидно, о незначительном содержании изоформы, осуществляющей окислительную десульфурацию в микросомах печени крыс по сравнению с микросомами брюшек мух.

Таким образом, цитохром Р-450 насекомых способен активировать исследуемые дитиопроизводные, а цитохром Р-450 крыс — мало для этого приспособлен.

Изложенные соображения логично объясняют, почему соединение (XXXVII) в равной степени снижает содержание цитохрома Р-450 в микросомах печени крыс и в микросомах брюшек мух, а соединение (XXXVII, S) значительно сильнее действует на цитохром Р-450 в микросомах брюшек мух.

Таким образом, введение тиоэтильной группы в молекулу ФОИ, имеющую фосфорильную группу, приводит к высокой токсичности не только за счет повышения антихолинэстеразной активности, но и за счет снижения скорости их детоксикации, как следствие деструкции определенных изоформ цитохрома Р-450. Эти процессы в организмах млекопитающих и членистоногих протекают примерно с одинаковыми скоростями.

Процессы активации S-этильных эфиров диалкилдитиофосфорной кислоты под действием определенных изоформ цитохрома Р-450 в организмах млекопитающих и членистоногих протекают с различными скоростями. Причем у членистоногих эти процессы протекают с большей скоростью, чем у млекопитающих. По-видимому, эти факторы являются главными в проявлении наблюдаемого нами тионового эффекта.

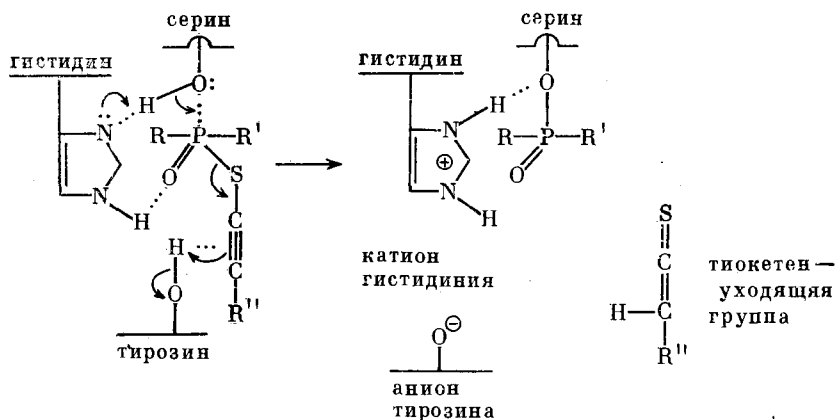
В. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показывают, что тиоэфиры моно thiокислот фосфора, содержащие ацетиленовую связь в тиоэфирной группе представляют собой новый класс фосфорорганических ингибиторов, обладающих очень высокой антихолинэстеразной активностью.

Анализ механизма взаимодействия этих ФОИ с ХЭ приводит к выводу, что роль ацетиленовой группировки при этом заключается в значительном ускорении или образования фермент-ингибиторного комплекса, который затем переходит в фосфорилированный фермент, или элементарного акта фосфорилирования, приводящего к тому же фосфорилированному ферменту. По поводу первого предположения надо отметить, что пока нет четких данных о местоположении участка связывания. Можно только принять, что он находится не в районе анионного центра, а на небольшом расстоянии от эстеразного центра. Участок связывания, вероятно, нельзя считать

строго закрепленным, его местоположение может варьировать в известных пределах при взаимодействии фермента с ингибиторами различного строения, что вытекает из известной теории Кошланда [44] о наведенном соответствии активного центра фермента строению субстратов и ингибиторов при их взаимодействии. О правомерности этого заключения свидетельствует тот факт, что ФОИ с β -положением ацетиленовой связи также характеризуются высокими значениями ацетиленового эффекта. Например, соединение (XV) — $\text{CH}_3(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})\text{P}(\text{O})\text{SCH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_2\text{SC}_2\text{H}_5$ при взаимодействии с ХЭ членистоногих дает константы скорости ингибирования k_{II} от $2,5 \cdot 10^7$ до $1,1 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ и величины ацетиленового эффекта q от 590 до 38 000. Следовательно, участок связывания ацетиленовой группировки на активной поверхности фермента доступен не только для соединений с α -положением ацетиленовой связи, но и для соединений с β -положением. В последнем случае, очевидно, имеются определенные затруднения, поскольку расположение функциональных участков связывания на активной поверхности фермента, соответствующее соединениям с α -положением ацетиленовой связи, не будет соответствовать соединениям с β -положением.

По поводу второго предположения можно, например, себе представить расширенную схему фосфорилирования эстеразного пункта фермента, включающую не только гидроксильную группу серина, имидзольный цикл гистидина и фенольный гидроксил тирозина, но и ацетиленовую группировку ингибитора, образовавшую π -комплексную связь с протоном тирозина



Удлинение цепи сопряжения, в которой происходит передача протона от тирозина к ацетиленовой группе и от серина к гистидину и дальний перенос электронной пары от азота гистидина к кислороду тирозина, должно резко снизить энергию активации фосфорилирования. Возможно, что при такой ориентации ФОИ в момент атаки сорбция на анионном пункте ХЭ теряет свое значение. Разумеется, в результате такого процесса должен образовываться нормально фосфорилированный фермент, но скорость его образования должна быть существенно выше.

Не исключено, что эти два предположения не противоречат одно другому. Все зависит от времени (момента) образования π -комплекса фенольного гидроксила тирозина с ацетиленовой π -связью.

Влияние ацетиленовой связи сильно зависит от строения соединения. Очень высокой антиХЭ активностью обладает соединение (XX) — наиболее простое из исследованных ацетиленовых ФОИ — $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{SC}\equiv\text{CH}$. Замещение ацетиленового водорода в этом соединении различными угле-

водородными радикалами в большинстве случаев не увеличивает, а уменьшает анХЭа по отношению ко многим ХЭ. Мало эффективным оказался заместитель с сульфониевой группировкой. Следовательно, ацетиленовые ФОИ с указанными выше заместителями ориентируются на каталитическом центре фермента не лучшим образом. Как известно [44], комплиментарность молекулы ингибитора активной поверхности фермента, которая в конечном счете и обуславливает «продуктивную» сорбцию, в общем виде зависит от согласованности различных видов их взаимодействия: ион-ионного, ион-дипольного, диполь-дипольного, гидрофобного, а в нашем случае и от ориентации ацетиленовой группировки. При согласованности этих взаимодействий сорбированная молекула ФОИ ориентируется на активном центре так, что атом фосфора и сериновый гидроксил фермента пространственно сближены и наступает фосфорилирование. При «несогласованных» взаимодействиях молекула ингибитора располагается так, что атом фосфора и сериновый гидроксил пространственно разобщены, ацетиленовая связь не может участвовать и фосфорилирование затруднено.

Характерным для ацетиленовых ФОИ является высокая физиологическая активность и избирательность действия. Последняя в отношении членистоногих резко повышается при замене в них фосфорильной группы на тиофосфорильную. Токсичность для мышей при этом снижается иногда в сотни раз, тогда как у ФОИ без ацетиленовой группировки снижается не более, чем в 20 раз [40]. Токсичность же ацетиленовых ФОИ для членистоногих при этом изменяется очень мало и в ряде случаев наблюдается противоположный эффект: токсичность эфиров дитиофосфорной кислоты превосходит токсичность эфиров монотиофосфорной кислоты.

Столь необычные свойства ацетиленовых фосфорорганических соединений требуют дальнейшего изучения особенностей метаболизма этих соединений в организмах млекопитающих и членистоногих.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кабачник М. И., Бресткин А. П., Михельсон М. Я. // IX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии. Доклад на пленарном заседании. М.: Наука, 1965.
2. Brestkin A. P., Brick I. L., Grigor'eva G. M. // Intern. Encyclop. Therap. Sec. 85. 1973. V. 1. P. 241.
3. Розенгарт В. И., Шерстобитов О. Е. Избирательная токсичность фосфорорганических инсектоакарицидов. Л.: Наука, 1978. 173 с.
4. Aldridge W. N. // Biochem. J. 1950. V. 46. P. 451.
5. Brestkin A. P., Rosengart E. V. // Nature. 1965. V. 205. P. 338.
6. Wilson I. B., Ginsburg S. // Biochem. Pharmacol. 1958. V. 1. P. 200.
7. Кабачник М. И., Абдувахатов А. А., Агабекова И. И. и др. // Успехи химии. 1970. Т. 39. С. 1050.
8. Бресткин А. П., Брик И. Л., Волкова Р. И. и др. // Биохимия. 1970. Т. 35. С. 382.
9. Вихрева Л. А., Пудова Т. А., Годовиков Н. Н. и др. // Химия физиологически активных веществ. Нальчик: Изд. Кабардино-балкарский Государственный университет, 1980. С. 118.
10. Балашова Е. К., Бресткин А. П., Вихрева Л. А. и др. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1982. Т. 18. № 4. С. 325.
11. Вихрева Л. А., Годовиков Н. Н., Розенгарт В. И. и др. // Докл. АН СССР. 1987. V. 295. № 6. С. 1487.
12. Балашова Е. К., Бресткин А. П., Жуковский Ю. Г. и др. // Докл. АН СССР. 1983. Т. 272. № 2. С. 503.
13. Годовиков Н. Н., Вихрева Л. А., Бабашева К. К. и др. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1983. С. 1602.
14. Годовиков Н. Н., Вихрева Л. А., Балашова Е. К. и др. // Там же. 1986. С. 1864.
15. Годовиков Н. Н., Вихрева Л. А., Дарищева А. Л. и др. // Там же. 1987. № 1. С. 170.
16. Розенгарт В. И., Балашова Е. К., Бресткин А. П. и др. // Химия и применение фосфорорганических соединений. Л.: Наука, 1987. С. 189.
17. Вихрева Л. А., Неделькина С. В., Соломенникова И. В. и др. // Докл. АН СССР. 1988. Т. 302. № 3. С. 731.
18. А. С. 607414 СССР // Б. И. 1979. № 26.
19. Годовиков Н. Н., Вихрева Л. А., Пудова Т. А., Кабачник М. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1980. № 11. С. 2588.

20. Годовиков Н. Н., Вихрева Л. А., Пудова Т. А., Кабачник М. И. // Там же. 1984. № 4. С. 911.
21. Вихрева Л. А., Пудова Т. А., Годовиков Н. Н., Кабачник М. И. // Там же. 1985. № 5. С. 1101.
22. Годовиков Н. И., Вихрева Л. А., Бабашева К. К. и др. // Там же. 1983. № 7. С. 1662.
23. Вихрева Л. А., Пудова Т. А., Бабашева К. К. и др. // Докл. АН СССР. 1984. Т. 274. № 4. С. 822.
24. А. С. 772154 СССР // Б. И. 1982. № 30.
25. А. С. 671281 СССР // Б. И. 1980. № 7.
26. А. С. 677398 СССР // Б. И. 1981. № 13.
27. Пат. 3019159 США // СА. 1962. V. 56. 15367b.
28. Бабашева К. К. Синтез, антихолинэстеразная и инсектоакарицидная активность S-этиниловых эфиров диалкилтио- и дитиофосфорных кислот // Дис. ... канд. хим. наук. М.: ИХЭОС АН СССР, 1984.
29. Старшинова Л. А., Шелковников С. А., Вихрева Л. А. и др. // Хим.-фарм. журн. 1989. С. 1306.
30. Brandsma L. // Preparative acetylenic chemistry. Amsterdam, London, New York, 1971. P. 69.
31. Ellman G., Courtney K. D., Andres V. Jr., Teatherstone R. M. // Biochem. Pharmacol. 1961. V. 7. № 1. P. 88.
32. Brestkin A. P., Maizel E. B., Moralev S. N. et al. // Insect. Biochem. 1985. V. 15. № 2. P. 309.
33. Бресткин А. П., Брик И. Л., Гинецинская Л. И. и др. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1968. № 9. С. 2070.
34. Бресткин А. П., Годовиков Н. Н. // Успехи химии. 1978. Т. 47. С. 1609.
35. Brestkin A. P., Khovanskikh A. E., Maizel E. B. et al. // Insect. Biochem. 1986. V. 16. № 4. P. 701.
36. Горкин В. З. Аминоксидазы и их значение в медицине. М.: Наука, 1981.
37. Григорьева Г. М. // Биохимия. 1965. Т. 30. Вып. 2. С. 415.
38. Бресткин А. П., Жуковский Ю. Г., Моралёв С. Н. и др. // Биоорганич. химия. В печати.
39. Бресткин А. П., Жуковский Ю. Г., Мурашкина С. К. и др. // Докл. АН СССР. 1977. Т. 232. С. 1438.
40. О'Брайн Р. Д. // Токсичные эфиры кислот фосфора. М.: Мир, 1964. С. 631.
41. Wilkinson C. F., Murrey M. Drug metabolism rev. 1984. V. 15 (5, 6). P. 897.
42. Furukawa N., Sato M., Suzuki Y. Biochem. Pharmacol. 1986. V. 35. № 6. P. 1019.
43. Koshland D. E. // Adv. Enzymol. 1960. V. 22. P. 45.
44. Розенгарт В. И., Шестобитов О. Е. // Избирательная токсичность фосфорорганических инсектоакарицидов. Л.: Наука, 1978. С. 171.

Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова
АН СССР, Москва