



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 9 * № 1 * 1983

УДК 577.152.411'105

ЭФФЕКТИВНЫЙ ИНГИБИТОР ДЕКАРБОКСИЛАЗЫ S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИНА

Хомутов Р. М., Завалова Л. Л., Сырку В. И.,
Артамонова Е. Ю.

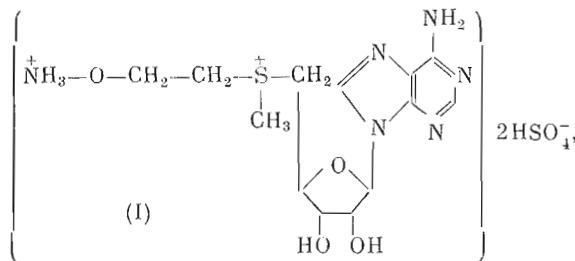
Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Хомутов А. Р.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР, Москва

В последние годы показано важное значение полиаминов, спермицина, спермина и их предшественника путресцина в процессах клеточного роста [1]. Начальным этапом их биосинтеза является декарбоксилирование орнитина и S-аденозилметионина (Met(Ado)). Для первой из этих реакций известен ряд специфических ингибиторов, влияние которых на синтез ДНК и опухолевый рост обусловлено подавлением образования путресцина [2, 3]. Хотя в биосинтезе полиаминов скорость определяющей стадии является, по-видимому, декарбоксилирование S-аденозилметионина, а не орнитина [4], для Met(Ado)-декарбоксилазы до сих пор не удавалось найти достаточно эффективных и избирательных ингибиторов. Наиболее активные из известных, производные гуанидина, действовали, как правило, в концентрациях порядка 1–0,01 мМ, а на клеточном уровне в основном неспецифически [5].

Мы предлагаем использовать для регулирования биосинтеза полиаминов новый ингибитор Met(Ado)-декарбоксилазы, S-(5'-дезоксиадено-зил-5')–S-метил-β-тиоэтилгидроксиламин синтезу и ферментативным испытаниям которого и посвящается эта работа.



Алкилированием N-защищенного O-(β-меркаптоэтил)гидроксиламина * 5'-дезокси-5'-хлораденозином с последующим снятием защиты с аминооксигруппы получен S-(β-аминооксиэтил)-5'-дезокси-5'-тиоаденозин (II). R_f 0,55 (TCX, Cellulose F₂₅₄, Merck) в системе изопропанол — конц. аммиак — вода, (7 : 1 : 2); 0,76 в системе *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 12 : 3 : 5 (A); E_{Ado} 1,35 (бумага FN-18, муравьиная кислота — уксусная кислота — вода (2 : 8 : 90), pH 2,0; 40 В/см — система Б). В стандартных условиях синтеза солей сульфония производное (II) превращено в соединение (I). R_f 0,52 (система A), E_{Ado} 1,61 (система Б).

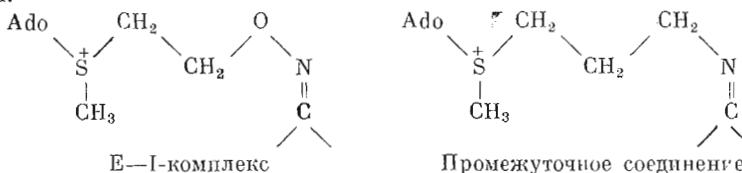
Частично очищенную Met(Ado)-декарбоксилазу (КФ 4.1.1.50) из *E.coli* получали согласно [6]; активность фермента определяли в основном по методу [7] с некоторыми изменениями, используя в качестве субстрата S-аденозил-[1-¹⁴C]метионин (60 Ки/моль, Amersham, Англия). Исследование влияния соединений (I) и (II) на декарбоксилазу проводилось посредством преинкубации фермента с ингибиторами.

* Синтезу серосодержащих производных гидроксиламина будет посвящено отдельное сообщение.

Торможение Met(Ado)-декарбоксилазы соединением (I) развивалось во времени, изменяясь от I_{50} 100 нМ (преинкубация 1 мин) до I_{50} 10 нМ (преинкубация 30 мин), что приближалось к эквимольному соотношению фермента и ингибитора и было на несколько порядков эффективнее, чем действие известных ингибиторов декарбоксилазы. Субстрат не восстанавливал активности обработанного ингибитором фермента, что являлось дополнительным подтверждением необратимого характера торможения. Субстрат защищал фермент от действия ингибитора, что с учетом низкой активности соединения (II) (I_{50} 0,1 мМ, преинкубация 30 мин) свидетельствовало о строго специфическом характере взаимодействия соединения (I) с ферментом.

Met(Ado)-декарбоксилаза, простетической группой которой является ковалентно связанный с белком остаток пирувата, ингибируется обычными карбонильными реагентами в 10^{-3} молярной концентрации, в том числе каналином и гидроксиламином [6, 7]. Однако соединение (I), представляющее собой О-замещенный гидроксиламин, действовало на несколько порядков эффективнее. С другой стороны, полученный нами гидразон S-аденозил-S-метилтиогликолевого альдегида заметно ингибировал фермент лишь в концентрациях 10–50 мКМ.

Учитывая всю совокупность данных, вероятным объяснением особенностей действия производного (I) может быть близость строения фермент-ингибиторного комплекса и промежуточного соединения ферментативной реакции.



Для использования соединения (I) как регулятора биосинтеза полиаминов *in vivo* принципиальное значение приобретала избирательность его действия, т. е. неспособность ингибирования других ферментов, чувствительных к карбонильным реагентам. Мы показали, что производное (I) ингибировало аспартатаминонтрасферазу из сердца свиньи (получена по методике [8]) слабее, чем простые О-алкилгидроксиламины. Аналогично можно ожидать, что и орнитиндекарбоксилаза, также являющаяся пиридоксалевым ферментом, будет малочувствительна к производному (I), что открывает дополнительные возможности для исследования клеточных функций полиаминов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jänne J., Pöösö H., Raina A. Biochim. et biophys. acta, 1978, v. 473, № 3/4, p. 241–293.
2. Metcalf B. W., Berg P., Danzin C., Jung M. J., Casava P., Vevert J. P. J. Amer. Chem. Soc., 1978, v. 100, № 8, p. 2551–2553.
3. Inone H., Kato Y., Takigawa M., Adacki K., Takeda Y. J. Biochem. (Tokyo), 1975, v. 77, № 4, p. 879–893.
4. Pegg A., Hibasami H. In: Transmethylation. Elsevier North Holland Inc., 1979, p. 105–116.
5. Hölttä E., Korpela H., Hovi T. Biochim. et biophys. acta, 1981, v. 677, № 1, p. 90–102.
6. Wickner R. B., Tabor C. W., Tabor H. J. Biol. Chem., 1970, v. 245, № 8, p. 2132–2139.
7. Pöösö H., Sinervirta R., Janne J. Biochem. J., 1975, v. 151, № 1, p. 67–73.
8. Хурс Е. Н., Северин Е. С., Диксон Г. Б., Хомутов Р. М. Молекулярн. биология, 1976, т. 10, № 4, с. 897–906.

Поступило в редакцию 6.VII.1982

EFFECTIVE INHIBITOR OF S-ADENOSYLMETHIONINE-DECARBOXYLASE

КОНОМУТОВ Р. М., ЗАВАЛОВА Л. Л., ШИРКУ В. И., АРТАМОНОВА Е. Ю.,
КОНОМУТОВА А. Р.

*Institute of Molecular Biology and N. D. Zelinsky Institute
of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

S-(5'-Deoxy-5'-adenosyl)-methylthioethylhydroxylamine was synthesized and proposed as a means for polyamine biosynthesis regulation. It manifested powerful and specific inhibition of S-adenosylmethionine-decarboxylase from *E. coli* which could be due to similarity between the enzyme complexes with the inhibitor (EI) and the reaction intermediate (ES).