

Н. А. ЮДАЕВ

### БИОСИНТЕЗ АНСЕРИНА

(Представлено академиком А. И. Опариным 29 XI 1951)

После того как нами было доказано (1, 2) присутствие в мышцах различных животных компонентов карнозина —  $\beta$ -аланина и гистидина, мы высказали предположение, что карнозин образуется не путем декарбонирования аспарагил-гистидина (3), а путем синтеза из выше-названных аминокислот. Впоследствии были получены экспериментальные данные, говорящие в пользу этого предположения (4).

Однако относительно путей образования метилированного гомолога карнозина — ансерина сколько-нибудь убедительных данных в литературе нет. Утверждения отдельных авторов (5) о возникновении ансерина из карнозина в результате метилирования последнего не имеют под собой достаточной экспериментальной основы. Обнаружение незначительного процента ансерина с меченой метильной группой у кроликов, получавших в течение 28 дней с пищей дейтерометионин (6), не является доказательством метилирования карнозина, так как метилированию в этом случае мог подвергаться гистидин, используемый при синтезе ансерина. Все это заставило нас сделать попытку доказать возможность образования ансерина путем конденсации  $\beta$ -аланина и метилгистидина.

Поскольку неизвестно, в каком органе происходит образование ансерина и какие условия необходимы для его синтеза, мы сочли целесообразным провести эксперимент на целом животном. Как и в случае биосинтеза карнозина (4), нами были использованы молодые кролики (12—16 дней), интенсивно образующие ансерин; им вводился под кожу гидролизированный ансерин. Препарат ансерина выделялся нами из мышц кролика по ртутному методу (7). Гидролиз ансерина проводился в 15% серной кислоте в течение 18—20 час. с обратным холодильником на голлом огне. Освобождение от серной кислоты производилось при помощи раствора гидроокиси бария. Полнота гидролиза проверялась хроматографически.

Вводилось по 3—4 мл 8—12% раствора гидролизованного ансерина в течение 3 суток. Через сутки после последней инъекции животные убивались. Мышцы задних конечностей подвергались обработке, как нами описано ранее (4). 10 мл водного экстракта (соответствующего 2 г ткани) обрабатывались 5-кратным объемом 96° этилового спирта. После освобождения от выпавшего при этом некоторого количества белка к спиртовому раствору добавлялось 2 мл 10% раствора  $HgSO_4$  в 5%  $H_2SO_4$ . На следующий день осадок отделялся центрифугированием, взвешивался в 10 мл воды и разлагался сероводородом в течение 2 час. при частом помешивании. После освобождения от сернистой ртути фильтрат упаривался до 2 мл и подвергался хроматографированию, как нами описано ранее (8).

Всего нами поставлено 6 опытов. Полученные результаты совершенно однозначны — во всех случаях инъекция гидролизованного ансерина приводила к отчетливо выраженному нарастанию дипептида в мышцах опытного кролика по сравнению с контрольным (см. рис. 1).

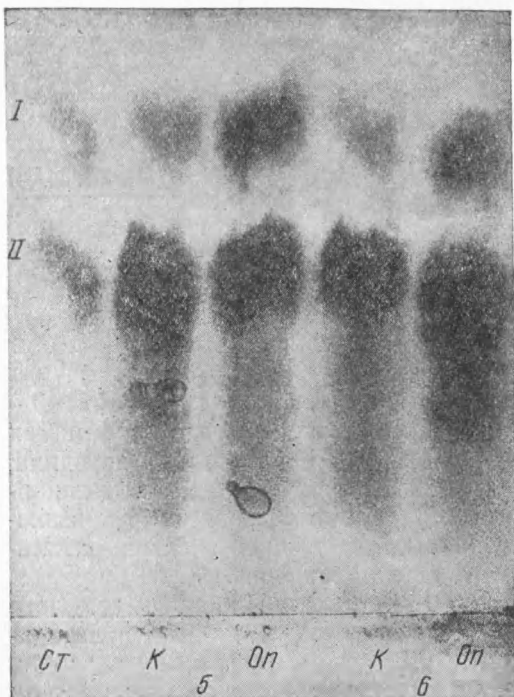


Рис. 1. Увеличение количества ансерина в мышцах кроликов под влиянием инъекции гидролизата ансерина. *Ст* — стандарты: *I* — ансерин 9 µг, *II* — карнозин 9 µг; *К* — контрольный кролик; *Оп* — опытный кролик; *5, 6* — номера опытов

Хотя приведенная фотография хроматограммы с полной убедительностью демонстрирует нарастание ансерина в мышцах опытных кроликов, представлялось важным дать количественное выражение этих изменений. Так как в настоящее время нет чисто химических надежных методов определения ансерина, мы применили для этой цели метод распределительной хроматографии на бумаге. Для определения ансерина этим методом на фильтровальную бумагу (ватман № 1) наносились различные количества стандарта ансерина (от 3 до 20 γ), а рядом — различные количества исследуемого раствора. После обычной обработки хроматограммы производилось сравнение пятен, получавшихся от исследуемого вещества, с пятнами-стандартами. Проведя несколько определений для одного и того же образца, мы рассчитывали процент отклонения. В наших

опытах отклонение не превышало 5—8%. Данные, полученные с помощью этого метода, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Нарастание ансерина в мышцах кроликов в результате инъекции гидролизата ансерина в мг %

Дата опыта	Ансерин		Возраст кролика в днях	Кол. введенн. гидролизата ансерина в мг	Сухой остаток мышц в %	
	контр.	опыт			контр.	опыт
12 II 1951 . . . . .	16	28	12	570	17,9	17,8
12 II 1951 . . . . .	19	28	12	570	18,0	18,1
12 II 1951 . . . . .	18	33	12	1100	19,1	18,9
24 II 1951 . . . . .	29	57	14	1200	18,9	18,5
8 VI 1951 . . . . .	38	76	16	830	19,5	19,4
8 VI 1951 . . . . .	29	66	16	900	20,2	18,8

Отсутствие изменений количества карнозина и аминокислот не дает основания даже частично объяснить отмеченное увеличение ансерина в мышцах опытных кроликов изменением в содержании воды в резуль-

тате инъекции гипертонического раствора гидролизата дипептида. Определение сухого остатка мышц контрольных и опытных кроликов также говорит против такой возможности.

Таким образом, ранее нами впервые была доказана возможность образования карнозина в результате конденсации  $\beta$ -аланина и гистидина. Данные настоящей статьи являются доказательством возможности синтеза ансерина из  $\beta$ -аланина и метилгистидина. Предпринятые нами попытки обнаружить возникновение ансерина из карнозина не увенчались успехом. Инъекция в течение 3 дней 700 мг метионина под кожу 12—13-дневным кроликам не вызвала заметных изменений в содержании карнозина и ансерина. Нам не удалось также вызвать сдвиг в сторону ансерина путем повторной инъекции молодым кроликам карнозина.

Согласно данным П. Г. Гаркави, метилирование карнозина за счет метионина и *in vitro* не происходит в тех условиях, в которых метилируются гликоциамин и этаноламин.

Приношу благодарность проф. С. Е. Северину за постоянное внимание и помощь в работе.

Поступило  
29 XI 1951

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. А. Юдаев, ДАН, 70, 279 (1950). <sup>2</sup> Н. А. Юдаев, ДАН, 71, 717 (1950). <sup>3</sup> В. С. Гулевич, Zs. physiol. Chem., 73, 435 (1911). <sup>4</sup> Н. А. Юдаев, ДАН, 72, 1099 (1950). <sup>5</sup> А. Н. Паршин, ДАН, 73, 531 (1950). <sup>6</sup> J. Schenck, S. Simmonds, M. Cohn, S. Stevens and V. du Vigneaud, Journ. Biol. Chem., 149, 355 (1943). <sup>7</sup> Н. П. Мешкова и С. Е. Северин, Практикум по биохимии животных, 1950. <sup>8</sup> Н. А. Юдаев, ДАН, 67, 1069 (1949).