

А. Н. ПАРШИН и Т. А. ГОРЮХИНА

ФЕРМЕНТАТИВНОЕ РАСЩЕПЛЕНИЕ *l*-МЕТИЛГИСТИДИНА

(Представлено академиком К. М. Быковым 4 III 1952)

Хотя метилгистидин как один из компонентов молекулы ансерина известен с 1929 г. (1), а в 1944 г. разработан даже и метод его синтеза (2), тем не менее работ, касающихся изучения обмена этой аминокислоты в животной и растительной клетке, в литературе почти не имеется. Описано только, что метилгистидин не расщепляется ферментами печени (3) и не заменяет в питании гистидина для поддержания роста крыс (4). Последнее обстоятельство можно объяснить только таким образом, что процесс деметилирования метилгистидина не имеет места в животном организме, чем и обуславливается невозможность его превращения в гистидин. В то же время обратный процесс — метилирование гистидина и его переход в метилгистидин — с достаточной убедительностью установлен нашими прежними исследованиями, показавшими, что резкое уменьшение общего количества карнозина и ансерина в мышечной ткани кроликов, наступающее после прививки опухоли Броун-Пирса, устраняется, если таким животным вводить подкожно гистидин (5).

Судя по опытам с дейтериометионином, донатором метильной группы при метилировании гистидина является метионин (6). Однако до сих пор остается нерешенным вопрос — переходит ли перенос метильной группы метионина непосредственно на молекулу гистидина или образование метилгистидина осуществляется путем метилирования карнозина и превращения последнего в ансерин. Неизвестно также, в каком органе происходит синтез метилгистидина. Правда, изучение других реакций трансметилирования в организме млекопитающих делает вероятным образование метилгистидина в печени.

Настоящее исследование является первой попыткой более детального изучения процессов ферментативного превращения метилгистидина в животном организме.

Методика. Опыты *in vitro* производились с кашицами печени и коркового слоя почек кошек. В опытные сосудики прибора Варбурга бралось 400 мг кашицы печени или почки, 2,1 мл раствора Рингер-Кребса, рН 8,4, содержавшего 4 мг метилгистидина. В контрольные сосудики метилгистидин не добавлялся. Инкубация продолжалась 3 часа при температуре 38°. Белки осаждались 1 мл 14% трихлоруксусной кислоты. В трихлоруксусных фильтратах определялся аммиак по Фолину при вытеснении содой и едким натром, аминный азот по Ван-Слайку в тех же пробах после отгонки аммиака. В опытах на животных метилгистидин вводился подкожно, а в суточной моче исследовался общий азот по Кьельдалю, мочевины уреазным способом, аммиак по Фолину, аминоказот медным способом (7), диазотела — диазореакцией в видоизменении Мешковой. Для собирания мочи крысы весом 100 г помещались в специально приспособленные стеклянные воронки. В ста-

канчики, в которые стекала моча, добавлялся хлороформ. *l*-метилгистидин получен нами при гидролизе ансерина 25% серной кислотой.

Результаты наших опытов представлены в табл. 1 и 2. Как и предыдущим авторам (3), нам не удалось обнаружить какое-либо расщепление метилгистидина в печени (табл. 1). В то же время в кашицах почек наблюдается ясно выраженное окислительное дезаминирование метилгистидина, судя по увеличению поглощения кислорода, образованию аммиака и уменьшению аминокислоты. Из наших данных видно также, что на одну молекулу метилгистидина потребляется 1/2 моля кислорода. Этот факт служит существенным подтверждением окислительного дезаминирования метилгистидина в почках. Одинаковое количество аммиака, получающееся при вытеснении содой и едким натрием, равным образом говорит в пользу образования аммиака за счет отщепления α -аминогруппы метилгистидина. Наблюдающееся же некоторое несоответствие между количеством вытесняемого аммиака и уменьшением аминокислоты, по всей вероятности, объясняется параллельно идущим синтезом аминокислот из кетокислот и аммиака.

Таблица 1

Кашница	Взвешено метилгистидина, мг	N-NH ₂ , мг	Найдено, мг		Найдено N-NH ₂ , мг	Поглощение O ₂ в величинах QO ₂			Расщепление метилгистидина в %
			H ₂ SO ₄	NaOH		контроль	опыт	разница	
Печень	4	0,33	0	0	0,33	4,31	4,38	0,07	
	4	0,33	0	0	0,33	3,0	2,95	-0,05	
Почка	4	0,33	0,050	0,050	0,20	6,90	7,34	0,44	40
	4	0,33	0,063	0,063	0,20	4,50	5,54	1,04	40
	4	0,33	0,025	0,025	0,20	5,16	5,76	0,60	40
	4	0,33	0,037	0,037	0,20	5,50	5,80	0,30	40

Еще более интенсивное ферментативное расщепление метилгистидина наблюдается в опытах на животных (крысы), причем азот выводится с мочей преимущественно в форме мочевины (табл. 2). Только около 20% введенной аминокислоты выделяется с мочей в неизменном виде. Наряду с повышением количества мочевины в моче крыс после подкожного введения метилгистидина, наступает одновременно заметное увеличение выделения диазотел, т. е. веществ, дающих положительную диазореакцию. Последнее обстоятельство, как нам представляется, заслуживает пристального внимания. Дело в том, что диазореакцию дают только те производные имидазола, у которых в имидазольном кольце имеется незамещенный водородный атом у азота в положении 1. При замещении данного водорода любым радикалом диазореакция становится отрицательной. Поэтому метилгистидин, в отличие от гистидина, не дает диазореакции. В связи с этим повышенное выведение с мочей диазотел после подкожного введения метилгистидина крысам рассматривается нами как первое указание на процесс деметилирования имидазольного ядра. Остается, однако, пока неясным, подвергается ли процессу деметилирования непосредственно сама молекула метилгистидина или удаление метильной группы из имидазольного кольца наступает после дезаминирования α -аминогруппы и образования соответствующего нового соединения. Мы разделяем последнее допущение. Трудно что-либо сказать сейчас и о характере продукта дезаминирования метилгистидина. Все же, поскольку отщепление α -аминогруппы метилгистидина протекает с поглощением кислорода, образование здесь метилуроканиновой или метилимидазолмолочной кислоты исключается, и наи-

более вероятным соединением можно считать, пожалуй, метилимидазол-пировиноградную кислоту.

Однако несомненно, что как дезаминирование метилгистидина, так и деметилирование продукта его распада происходит в почках. Это

Таблица 2

Введено метилгистидина, мг	Общий азот мочи, мг	Азот мочевины, мг	N—NH ₂ , мг		N—NH ₂ , мг	Диазотела, мг	Распад метилгистидина в %
			Na ₂ CO ₃	NaOH			
0	64,0	41,0	5,0	5,0	1,42	0,66	
20	84,0	63,0	4,9	4,9	1,64	0,74	86
0	31,0	19,0	1,5	1,5	0,69	0,50	
20	51,0	33,0	3,6	3,6	1,33	0,90	60
0	36,0	29,0	0,37	0,4	0,89	0,44	
20	43,0	34,0	1,4	1,4	1,44	0,89	66
0	92,0	71,0	11,4	11,4	0,92	0,57	
20	104,0	72,0	13,0	13,1	1,28	0,86	78
0	28,0	21,0	1,0	1,1	0,52	0,67	
20	60,0	37,0	5,1	5,1	0,83	2,90	80

подтверждается не только инактивностью ферментов печени в отношении метилгистидина, но и образованием диазотел при подкожном введении и при расщеплении этой аминокислоты кашицей коркового слоя почек. Одновременно приведенные данные служат косвенным доказательством высказанного выше предположения об образовании метилгистидина в печени. Метилирование гистидина в печени делает также вероятным, что и синтез карнозина и ансерина осуществляется в этом же органе. С такого рода допущением согласуются и наши прежние данные о неразрывной связи между ферментативными превращениями гистидина и биологическим синтезом карнозина и ансерина⁽⁵⁾. Таким образом, небольшое изменение химической структуры вещества, в данном случае замещение водородного атома, находящегося у азота в положении 1 в имидазольном кольце, на метильную группу, резко сказывается на механизме ферментативных превращений гистидина и метилгистидина в животном организме.

Как известно, распад гистидина, согласно нашим исследованиям^(8, 9), начинается в печени, где происходит его дезаминирование под влиянием специфической дезаминазы. В результате этой реакции, не связанной с присутствием кислорода, гистидин количественно переходит в урোকаниновую кислоту, которая, в свою очередь, при действии другого фермента печени урোকаниназы превращается в новое соединение не выясненного еще строения. Продукт превращения урোকаниновой кислоты расщепляется дальше ферментами почек, причем образуется, по нашим предварительным результатам, γ -аминокротоновая или γ -аминомасляная кислота. Заметим попутно, что если эти данные подтвердятся, биогенез карнитина в животном организме будет выяснен. Наличие метильной группы в имидазольном кольце обуславливает, как мы видели, совершенно иной путь энзиматических реакций метилгистидина. Прежде всего, распад метилгистидина в организме протекает менее интенсивно, чем гистидина. Этим объясняется, вероятно, довольно значительное количество метилгистидина, обнаруживаемое в нормальной и патологической моче и даже в моче кошек⁽¹⁰⁾, расщепляющих гистидин с наибольшей скоростью по сравнению с другими животными. Далее, гистидиндезаминаза инактивна в отношении метилгистидина. Распад данной аминокислоты — окислительное дезаминирование и деметилирование продукта ее превращения — обнаруживается только в поч-

ках. Следовательно, меняется не только характер, но и место ферментативных превращений. Мы не сомневаемся, что дальнейшее изучение механизма ферментативного распада метилгистидина позволит выяснить многие вопросы, касающиеся также обмена гистидина, карнозина и ансерина.

Институт онкологии
Академии медицинских наук СССР
Ленинград

Поступило
29 II 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Н. Паршин, Усп. хим., **10**, 688 (1941). ² W. Sakami and D. W. Wilson, Journ. Biol. Chem., **154**, 215 (1944). ³ S. Edlbacher u. J. Kraus, Zs. physiol. Chem., **191**, 255 (1933). ⁴ W. Sakami and D. W. Wilson, Journ. Biol. Chem., **154**, 223 (1944). ⁵ А. Н. Паршин и Т. А. Горюхина, ДАН, **77**, 665 (1951). ⁶ J. R. Schenk, S. Simmonds, M. Cohn, C. M. Stevens and V. du Vigneaud, Journ. Biol. Chem., **149**, 355 (1943). ⁷ C. G. Pope and M. F. Stevens, Biochem. Journ., **33**, 1070 (1939). ⁸ А. Н. Паршин, ДАН, **58**, 1419 (1947). ⁹ А. Н. Паршин и Т. А. Горюхина, Биохимия, **15**, 499 (1950). ¹⁰ J. M. Searle and R. G. Westall, Biochem. Journ., **48**, 50 (1951).