

Е. А. ЛИБЕРМАН, Л. М. ЦОФИНА, А. И. АРЧАКОВ,  
В. М. ДЕВИЧЕНСКИЙ, И. И. КАРУЗИНА, А. В. КАРЯКИН

## ЛИПОФИЛЬНЫЕ АНИОНЫ — НОВЫЙ КЛАСС ИНГИБИТОРОВ РЕАКЦИИ ГИДРОКСИЛИРОВАНИЯ

(Представлено академиком Ю. А. Овчинниковым 4 VII 1974)

Для выяснения механизма гидроксилирования в микросомах печени изучалось влияние тетрафенилбора ( $\text{TB}^-$ ), фенилдикарбаундекаборана ( $\text{ФКБ}^-$ ) и некоторых других липофильных анионов на скорость реакции деметилирования третичных метилзамещенных аминов. Липофильные анионы накапливаются в липосомах и бислогических мембранах и хорошо проникают через липидные мембраны (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>). В работе (<sup>3</sup>) была высказана гипотеза, что при передаче электронов от НАДФ-Н через цитохром  $\text{P}_{450}$  к кислороду внутри мембран эндоплазматического ретикулума возникают локальные электрические поля: «плюс» в районе железа гема  $\text{P}_{450}$  и «минус» — на кислороде, фиксированном в мембране. В этом расположенном поперек мембраны локальном поле электроны эффективно передаются на цитохром  $\text{P}_{450}$  от НАДФ-Н-специфичного флавопротеина через цитохром  $\text{b}_5$  (<sup>4</sup>). Если эта гипотеза верна, то проникающие анионы должны экранировать поле положительных зарядов и тормозить передачу электронов на цитохром  $\text{P}_{450}$  от цитохрома  $\text{b}_5$  или других переносчиков и, следовательно, ингибировать гидроксилирование.

Микросомную фракцию выделяли так, как описано ранее (<sup>5</sup>). При получении фракции индуцированных микросом животным в течение 3 дней вводили фенobarбитал в дозе 80 мг на 1 кг веса. Микросомальный белок измеряли по методу Лоури и др. (<sup>6</sup>) в присутствии 0,1% дезоксихолата натрия с использованием кристаллического сыровоточного бычьего альбумина в качестве стандарта. Скорость N-деметилирования диметиланилина (ДМА) определяли по образованию формальдегида [<sup>7</sup>].  $K_m$  и  $V_{\max}$  реакции деметилирования ДМА определяли по методу Лайнвивера — Бэрка (<sup>8</sup>). Спектральные изменения, возникающие при связывании субстратов деметилирования, липофильных катионов и анионов с цитохромом  $\text{P}_{450}$ , регистрировали на спектрофотометре «Хитачи-356» по двухлучевой схеме (<sup>9</sup>). Степень восстановления и скорость окисления цитохрома  $\text{b}_5$  и восстановления  $\text{P}_{450}$  измеряли по двухволновой схеме, регистрируя разницу оптической плотности ( $\Delta D$ ) при 408—424 нм для  $\text{b}_5$  и при 450—475 нм в присутствии СО для  $\text{P}_{450}$  (<sup>4</sup>). Анаэробно создавали системой: 100 мкмол. на 1 мл глюкозы + 25 ед. на 1 мл глюкозооксидазы.

Поглощение микросомной мембраной проникающих липофильных анионов  $\text{ФКБ}^-$  и  $\text{TB}^-$  определяли с помощью фосфолипидной мембраны, которая измеряла концентрацию свободных анионов в ячейке, куда добавлялась суспензия микросом (<sup>2</sup>). При концентрации микросом 1 мг белка в 1 мл и  $10^{-5}M$   $\text{TB}^-$  или  $\text{ФКБ}^-$  в растворе большая часть липофильных анионов поглощается микросомами из-за высокого коэффициента распределения ( $> 10^4$ ), равного отношению концентрации анионов в микросомах к концентрации свободных анионов в растворе при равновесии. Коэффициент распределения для  $\text{ФКБ}^-$  примерно на полпорядка выше, чем для  $\text{TB}^-$ . Это, по-видимому, связано с меньшими размерами аниона  $\text{ФКБ}^-$ , что позволяет ему ближе подойти к области положительных концов диполей, расположенных в гидрофобном слое на границах мембрана/вода.