



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 57.05; 547.241

1-АМИНОЭТИЛФОСФОНИСТАЯ КИСЛОТА — НОВЫЙ ИНГИБИТОР
ПОЛИКЕТИДНОГО ПУТИ БИОСИНТЕЗА ПРИРОДНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ

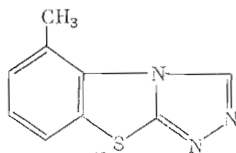
Холутов Р. М., Хурс Е. Н., Джавахия В. Г. *,
Воинова Т. М. *, Ермолинский В. С. *

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва;

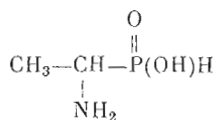
* Всесоюзный научно-исследовательский институт
фитопатологии Госагропрома СССР

Одним из важных биосинтетических процессов является превращение S-ацильных производных коэнзима А (часто ацетил- и малонил-СоА) в поли-β-кетометиленовые соединения, — $(\text{CHRCO})_n$ — (n обычно равно 4–8), последующие трансформации которых приводят к обширному и разнообразному классу природных соединений, обычно называемых, как и их структурные предшественники, поликетидами. Энзимология биосинтеза поликетидов практически не изучена, и одним из немногих исключений является мультиферментный комплекс гриба *Penicillium patulum*, катализирующий образование 6-метилсалициловой кислоты из ацетил- и малонил-СоА [1, 2]. Сведения о превращениях в ходе поликетидогенеза основываются главным образом на структурных соображениях, выделении и идентификации промежуточных соединений с использованием меченых предшественников. Поэтому принципиальное значение приобретает изыскание и использование веществ, способных избирательно влиять на определенные этапы биосинтеза. Для поликетидов известны единичные примеры применения такого подхода, одним из которых является ингибирование меланиногенеза у микромицетов некоторыми гетероциклическими соединениями, наибольшей активностью из которых обладает трициклазол [3]. Вместе с тем попытки создания аналогов трициклазола на основе традиционных представлений о зависимости действия от строения пока не привели к соединениям, сравнимым с ним по активности, и с иной специфичностью [4].

Нами найдено, что 1-аминоэтилфосфонистая кислота (АЭФК) ингибирует ранние этапы биосинтеза поликетидов, и в этой работе приводятся данные сравнительного с трициклазолом изучения действия этого вещества на гриб *Pyricularia oryzae* Cav *.



5-метил-1,2,4-триазоло [3,4-*b*]
бензотриазол (трициклазол)



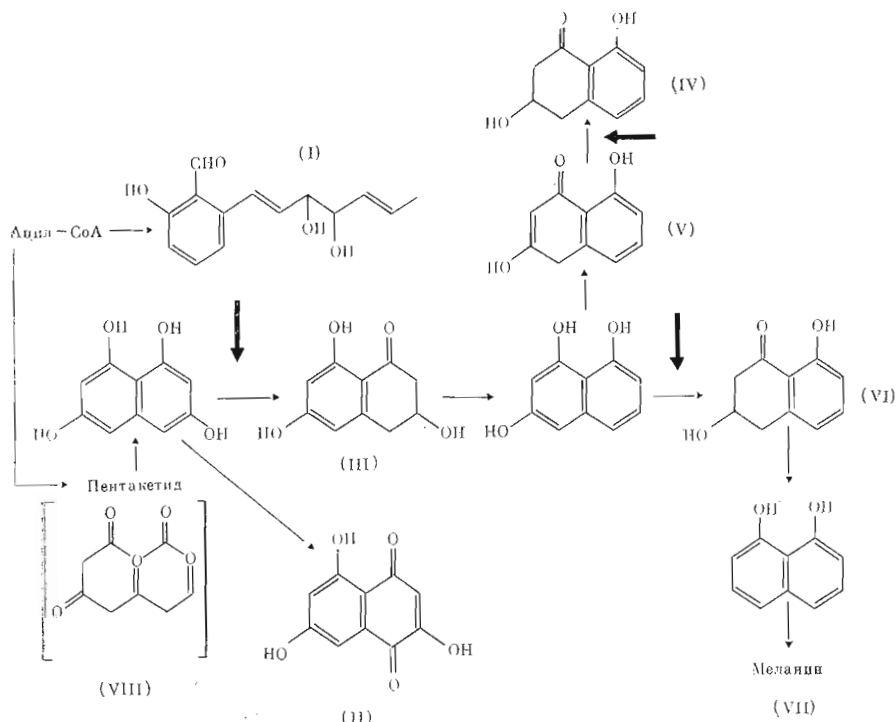
1-аминоэтилфосфонистая кислота
(АЭФК)

* Гриб является возбудителем пирикулярриоза, основного заболевания риса а трициклазол — важным средством для борьбы с ним.

АЭФК принадлежит к новому биологически активному классу аналогов природных аминокислот, аминокислотам [5–7], некоторые представители которого были недавно выделены из природных источников [8]. Синтез осуществлен по новой реакции оксимов – взаимодействием альдоксима с фосфорноватистой кислотой [6, 9].

Методики культивирования *P. oryzae*, выделения и идентификации метаболитов описаны ранее [10]. Оценка действия веществ на прорастание конидий, рост мицелия и пигментацию гриба проводилась аналогично описанному [11]. В работе использовали приготовленную на дистиллированной воде минимальную питательную среду следующего состава: NaNO_3 (30 мМ), KH_2PO_4 (10 мМ), MgSO_4 (2 мМ), биотин (5 мкг/л), тиамин (0,2 мг/л), сахара (0,5%) и агар «Difco» (1,5%). Полная среда дополнительно содержала стандартный набор аминокислот и азотистых оснований.

В стандартных условиях трициклазол подавлял рост мицелия и прорастание конидий в концентрациях 400 и 200 мкг/мл (здесь и далее приводятся минимальные подавляющие концентрации – МПК). Изменение серой окраски колоний гриба на розовую наступало при МПК, на два порядка меньших, что сопровождалось выделением в культуральную жидкость соединений (II) и (V) в результате торможения трициклазолом синтеза интермедиатов меланиногенеза, сциталона (III) и вермелона (VI), как показано на схеме. При этом не нарушалось образование фитотоксичного пирикулола (I), одного из конечных веществ гептакетидного пути, тогда как остальные вещества схемы были структурно связаны с пентакетидом (VIII). В целом картина воздействия трициклазола на рост и пигментацию гриба соответствовала описанной в работе [12].



Предполагаемый путь биосинтеза меланина и других поликетидов у *P. oryzae* [3, 13]. Жирные стрелки указывают на стадии, которые ингибируются трициклазолом. (I) – пирикулол, (II) – флавиолин, (III) – сциталон, (IV) – 3,4-дигидро-3,4,8-тригидрокси-1(2H)-нафталинон, (V) – 2-гидрокси-нафталинон, (VI) – вермелон, (VII) – 1,8-дигидрокси-нафталин, (VIII) – пентакетид

В отличие от трициклазола АЭФК не была фунгитоксична даже в концентрациях порядка 1000 мкг/мл и более, а для конидиогенеза МПК была равна 10 мкг/мл. Под действием АЭФК мицелий полностью обесцвечивался

(МПК 10 мкг/мл), что свидетельствовало о блокировании ранних стадий меланиногенеза. Добавление сциталона (III), интермедиата биосинтеза меланина, приводило к восстановлению темно-серой окраски мицелия; следовательно, АЭФК прерывал синтез пигмента до стадии образования сциталона. Гриб, выросший на среде с АЭФК, не продуцировал ни одного из ароматических соединений, представленных на схеме, включая пирикулол (I). Таким образом, АЭФК ингибировал образование общего для пента- и гептакетидных путей предшественника.

Другие особенности действия АЭФК были выявлены в опытах на минимальной среде. Исключение стандартного набора аминокислот из состава среды не сказывалось на действии трициклазола ни в качественном, ни в количественном отношении, что вполне соответствовало блокированию им поздних стадий вторичного метаболического пути. В этих условиях АЭФК сильно подавлял рост мицелия и прорастание конидий (МПК 5 и 1 мкг/мл соответственно). Следовательно, действие АЭФК оказывалось связанным и с метаболизмом определенных аминокислот, что являлось одной из первопричин как угнетения роста, так и нарушения синтеза пигмента. Тем самым появилась возможность определить конкретную стадию и механизм действия АЭФК, что и будет рассмотрено в последующих сообщениях. Здесь же можно отметить, что избыток *L*-аланина полностью снимал эффекты, вызываемые АЭФК.

Таким образом, осуществлено до сих пор не описанное избирательное блокирование ранних стадий поликетидогенеза, для чего впервые использовано воздействие на метаболические связи между ацетатными путями биосинтеза и обменом аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Light R. J., Hager L. P. // Arch. Biochem. and Biophys. 1968. V. 125. № 2. P. 326–329.
2. Dimroth P., Walter H., Lynen F. // Eur. J. Biochem. 1970. V. 13. № 1. P. 98–103.
3. Yamaguchi I. // J. Pestic. Sci. 1982. V. 7. № 3. P. 307–316.
4. Inoue S., Uematsu T., Kato T., Ueda K. // Pestic. Sci. 1985. V. 16. № 5. P. 589–598.
5. Birjukov A. J., Osipova T. J., Khomulov R. M. // FEBS Lett. 1978. V. 91. № 2. P. 246–247.
6. Хомутов Р. М., Осипова Т. И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1978. № 8. С. 1951–1952.
7. Baylis E. K., Campbell C. D., Dingwall Y. G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1984. P. 2845–2853.
8. Seto H., Sasaki T., Imai S., Tsuruoka T., Ogawa H., Satoh A., Inoue S., Niida T., Otake N. J. // Antibiot. 1984. V. 36. № 1. P. 96–99.
9. Бирюков А. И., Осипова Т. И., Хомутов Р. М., Хурс Е. Н. Аминофосфонистые кислоты для ингибирования метаболизма и способ их получения. А. с. 717062 СССР. Б. И. 1980. № 7. С. 123.
10. Воинова Т. М., Вавилова Н. А., Терехова В. А., Деблова З. И., Джавахия В. Г., Дьяков Ю. Т. // Бюл. науки. 1984. № 1. С. 78–82.
11. Джавахия В. Г., Яковлев А. Г., Каграманов В. Н. // Миколог. и фитопат. 1980. Т. 14. № 6. С. 507–509.
12. Tokousbalides M. C., Sisler H. D. // Pesticide Biochem. Physiol. 1978. V. 8. № 1. P. 26–32.
13. Bell A. A., Wheeler M. H. // Ann. Rev. Phytopathol. 1986. V. 24. № 3. P. 411–451.

Поступила в редакцию
20.IV.1987

INHIBITION OF THE POLYKETIDE BIOSYNTHESIS BY 1-AMINOETHYLPHOSPHONOUS ACID

KHOMULOV R. M., KHURS E. N., DZHAVAHIA V. G.*, VOINOVA T. M.*,
ERMOLINSKY B. S.*

Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow;
** All-Union Research Institute of Phytopathology, Moscow Region*

1-Aminoethylphosphonous acid inhibits melaninogenesis in *Pyricularia oryzae* Cav. fungi, blocking biosynthesis of all aromatic precursors of melanine, as well as the phytotoxine pyriculone formation. On a minimal medium, containing no amino acids, 1-aminoethylphosphonous acid inhibits the fungi growth 100 times more efficiently than fungicide tricyclazole but its inhibitory effect is reduced by *L*-alanine.