

УДК 615.31:547:857:616

©Коллектив авторов

НЕКОТОРЫЕ ИНГИБИТОРЫ ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ

Л.Г. Погосян, Л.С. Нерсесова, М.Г. Газарянц, З.С. Мкртчян, Ж.И. Акопян*

Институт молекулярной биологии Национальной Академии наук РА, Асратяна, 7,
Ереван, 0014 Армения; тел./факс: +37410281626, +37410282061;
эл. почта: lina-edu@mail.ru, imb@sci.am

ПНФ катализирует обратимую реакцию фосфоролиза пуриновых дезокси- и рибонуклеозидов с образованием (d)Rib-1-Р и соответствующих оснований. ПНФ играет ведущую роль в усвоении клеткой нуклеозидов и нуклеотидов, в поддержке иммунного статуса организма. Целью большинства исследований ПНФ является выявление высокоэффективных ингибиторов фермента, производных пуриновых нуклеозидов, используемых в медицине в качестве иммуносупрессоров. Последние необходимы для создания селективного Т-клеточного иммунодефицитного статуса организма при трансплантации органов и тканей.

Работа посвящена изучению влияния некоторых синтетических производных пуриновых нуклеозидов на активность высокоочищенной ПНФ из селезенки кролика, а также здоровых и опухолевых тканей лёгких и почек человека. Исследовали аналоги пуриновых нуклеозидов, модифицированные по различным положениям как гетероциклического основания, так и углеводного остатка. Обнаружены соединения, такие как 8-меркаптоацикловир, 8-бром-9-(3,4-гидроксibuтил) гуанин, которые эффективно тормозили ПНФ, которые могут быть предложены для дальнейшего изучения в качестве иммуносупрессоров при трансплантации органов и тканей.

Ключевые слова: пуриннуклеозидфосфорилаза, активность, субстраты, ингибиторы, опухолевые ткани, лекарственные препараты.

ВВЕДЕНИЕ. Пуриннуклеозидфосфорилаза (пуриннуклеозид: ортофосфатрибозилтрансфераза: КФ 2.4.2.1) является важнейшим ферментом пуринового метаболизма, который способствует утилизации пуриновых оснований. Фермент катализирует обратимую реакцию фосфоролиза пуриновых (дезокси-) рибонуклеозидов с образованием (d)Rib-1-Р и соответствующих оснований, которые служат основным источником синтеза пуринов в клетке. Большой интерес

* - адресат для переписки

к исследованиям пурииннуклеозидфосфорилазы (ПНФ) вызван рядом причин: во-первых, обнаружением генетических мутантов с пониженной или отсутствующей ферментативной функцией, связанной с иммунодефицитными состояниями; во-вторых, стремлением расшифровать субстрат-связывающий центр ПНФ для конструирования эффективных ингибиторов этого фермента, необходимых для создания в ряде случаев иммунодефицитных состояний, как, например, при трансплантации органов и тканей, в-третьих, ПНФ используется для энзиматического синтеза биологически активных соединений с выраженными противоопухолевыми и противовирусными свойствами [1, 2].

Потенциальные ингибиторы ПНФаз, в основном, структурные аналоги нуклеозидных субстратов, модифицированные по основанию и/или пентозному компоненту. В настоящее время ведется интенсивный поиск сильных малотоксичных ингибиторов этого фермента, некоторые из которых уже нашли свое применение, например ацикловир, для создания селективного Т-клеточного иммунодефицитного статуса организма при трансплантации органов и тканей, а также в химиотерапии [3, 4].

Настоящая работа посвящена поиску эффективных ингибиторов ПНФ среди производных пурииннуклеозидов. Для достижения данной цели была поставлена следующая задача: исследовать взаимодействие ПНФ из селезенки кролика с различными группами аналогов пурииннуклеозидов, с целью выбора из них наиболее эффективных для исследования последних в качестве возможных ингибиторов ПНФ из здоровых и опухолевых тканей почек и легких человека, доступность которых ограничена.

МЕТОДИКА. Гуанозин, дезоксигуанозин, инозин, гуанин, ксантиноксидаза (уд. активность - 1 Е/мг) производства фирмы "Serva" (Германия); аденозин, додецилсульфат натрия (DS-Na) – "Sigma" (США); Rib-I-P – "Calbiochem" (США); DEAF-целлюлоза DE-32 – "Whatman" (Англия); глицерин – "Merck" (Германия); орцин, кумасси R-250 – "Ferak" (Германия); 7-метилгуанин, 7-метилюнозин – "Pharmacia" (Швеция); NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , NaOH, NaCl, соляная и уксусная кислоты, сульфат аммония (все – осч) – "Реахим" (Россия).

ПНФ получали в высокоочищенном виде из опухолевых и здоровых тканей лёгких и почек человека, а также из селезенки кролика методом биоспецифической аффинной хроматографии [5]. Было исследовано 52 аналога пуриновых нуклеозидов – потенциальных модуляторов активности фермента, модифицированных по различным точкам как гетероциклического основания, так и углеводного остатка. Они были синтезированы и любезно предоставлены нам группой академика А. Нолу из Института органической химии и биохимии АН Чехии, лабораторией синтетических лекарственных средств Института органического синтеза АН Латвии (Рига). Ациклические аналоги гуанозина, синтезированные в Швеции и апробированные на эритроцитарной ПНФ в лаборатории биофизики и биохимии Варшавского Университета, любезно предоставлены профессором А. Bzowska.

Определение ферментативной активности. Активность ПНФ определяли спектрофотометрическим методом, который основан на изменении оптического поглощения вследствие различий в молекулярной адсорбции субстрата и продукта. Реакцию фосфоролиза проводили при 37°C; за единицу ферментативной активности принимали количество фермента, катализирующее превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин. При использовании инозина в качестве субстрата, фосфоролитическую активность определяли по приросту гипоксантина, количество которого контролировали согласно Калькару в сопряженной системе с ксантиноксидазой по увеличению поглощения при 293 нм, вследствие образования мочевой кислоты, принимая коэффициент экспозиции равным $12,5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, если же субстратом служил гуанозин, то по приросту гуанина [6]. Измерения проводили на двухлучевом спектрофотометре Specord UV VIS

(Германия) с термостатируемой кюветой при 37°C. Для инозина и гипоксантина $\Delta E = 0,69 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при $\lambda = 280 \text{ нм}$; для гуанозина и гуанина $\Delta E = 5,3 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при $\lambda = 258 \text{ нм}$. Объем реакционной смеси составлял 2 мл. Реакционная смесь состояла из 25 мМ раствора субстрата в Na-P-буфере, 1 мМ раствор ингибитора в том же буфере, 50 мМ раствора Na-P-буфера и раствор фермента ПНФ в Na-P-буфере в соотношении 1:1.

Изучение влияния производных нуклеозидов на активность ПНФ. Определение субстратной активности аналогов. Все аналоги нуклеозидов были предварительно проверены на субстратную активность, используя метод определения активности ПНФ по различию молярной абсорбции аналога и основания, так как известно, что субстратная активность аналогов исключает их способность к ингибированию фермента [7]. Поэтому, для создания эффективных ингибиторов фермента, интерес представляли соединения, не обладающие субстратными свойствами. Все соединения были изучены в качестве возможных ингибиторов. Концентрация аналога в реакционной смеси, содержащей 50 мМ Na-фосфата (pH 7,0), была 0,1 мМ. Соединения, ингибирующие ПНФ более чем на 25%, были проверены на инертность по отношению к ксантиноксидазе, которая входит в состав реакционной смеси в случае использования в качестве субстрата – инозина. Для прошедших и этот тест соединений определяли константы ингибирования [6].

Определение влияния аналогов нуклеозидов на ксантиноксидазную активность. Исследуемая смесь содержала 50 мкМ гипоксантин и 0,005 Е/мл ксантиноксидазы в 50 мМ Na-фосфатном буфере (pH 7,0) при 37°C. Скорость реакции определяли спектрофотометрически при 293 нм в присутствии и отсутствии 100 мкМ аналога.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Взаимодействие аналогов пуриновых нуклеозидов с ПНФ. Для целенаправленного конструирования эффективных ингибиторов ПНФ, которые представляют интерес как возможные лекарственные препараты, нами был проведен скрининг синтетических аналогов пуриновых нуклеозидов с целью обнаружения их субстратных, ингибиторных свойств и выявления таких структурных факторов, которые способствовали бы повышению ингибиторной активности вновь синтезированных соединений. Эти соединения должны отвечать следующим требованиям: быть высокоспецифичны, метаболически инертны и малотоксичны. Все изученные нами аналоги не являлись субстратами ПНФ. В силу ограниченной доступности тканей человека, предварительные исследования были проведены с использованием фермента из селезенки кролика, поскольку у высших животных и человека фермент кодируется единичным генным локусом. Было исследовано 52 аналога природных субстратов: аденозина, инозина, гуанозина. В работе мы представляем свойства 25 соединений, ингибирующих активность ПНФ более чем на 25%.

Взаимодействие аналогов пуриновых нуклеозидов с ПНФ из селезенки кролика. Аналоги аденозина, в которых рибозный фрагмент в положении 9 замещен ациклическим остатком, не проявили субстратных и ингибиторных свойств. Это объясняется тем, что аденин и его нуклеозиды не являются природными субстратами ПНФ, а введение ациклического заместителя в положение 9 молекулы аденина не приводит к появлению сродства фермента к этим аналогам.

Среди производных инозина необходимо выделить соединения, у которых ациклические остатки при N9 гетероцикла имитируют $\text{C}'_1\text{-C}'_2\text{-C}'_3$ фрагмент рибозы (таблица 1). Эти соединения являются наиболее сильными ингибиторами по сравнению с другой группой аналогов, где ациклические остатки имитируют $\text{C}'_1\text{-O}'_5\text{-C}'_4$ фрагмент рибозы. Это указывает на важность $\text{C}'_1\text{-C}'_2\text{-C}'_3$ фрагмента рибозы в процессе связывания фермента с исследуемым аналогом. Длина и степень разветвления ациклического заместителя также важны для связывания аналогов.

ИНГИБИТОРЫ ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ

Таблица 1. Ингибирование ПНФ ациклическими производными инозина, где гидроксильный заместитель имитирует C₁'-C₂'-C₃' фрагмент рибозы.

N	Соединения	% ингибирования	K _i (мкМ)
1	9-(RS)-(2,3-дигидроксипропил) гипоксантин	22	Не определена*
2	9-(RS)-(дигидроксибутил) гипоксантин	24	*
3	9-(L-трео)-(2,3,4-тригидроксибутил) гипоксантин	33	310
4	9-(DL-эритро)-(2,3,4-тригидроксибутил) гипоксантин	26	510
5	1-дезоксигуанидин-9-ил-L-арабитол	20	*
6	9-(S)-(3,4-дигидроксибутил) гипоксантин	45	160
7	3'-О-метил-9-(RS)-(2,3-дигидроксипропил) гипоксантин	19	*
8	1-дезоксигуанидин-9-ил-L-рибитол	21	*
9	1-дезоксигуанидин-9-ил-L-ксицитол	23	*
10	3-(гипоксантин-9-ил) 2-гидроксипропановая кислотаNa ⁺	28	420

Примечание. * - K_i не определена, т.к. степень ингибирования меньше 25%. Здесь и в таблицах 2-5 число определений каждого показателя (n) равно 5.

У соединений другой группы аналогов, где ациклические остатки имитируют C₁'-O₅'-C₄' фрагмент рибозы, процент ингибирования обычно варьировал в пределах всего лишь 2-18% и не представлял интереса для дальнейших исследований. Исключения составляли два соединения: первое - с процентом ингибирования 39 и химической формулой $-\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, второе - с процентом ингибирования 28 и химической формулой $-\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, к которым фермент проявил наиболее сильное сродство. Это связано с введением в ациклический радикал концевых двух метильных групп в одном случае, и бензильной группы - во втором. Полученные результаты совпадают с данными, которые сообщались ранее в литературе для эритроцитарной ПНФ человека о повышении ингибиторной активности (K_i = 150 мкМ) при введении бензильной группы в ациклический аналог инозина [6]. Аналогичное производное гуанозина характеризуется K_i = 0,2 мкМ.

Ациклические производные гуанозина ингибируют фермент в несколько раз сильнее, чем производные инозина, т. к. аминогруппа в положении С2 в молекуле гуанозина повышает сродство к ферменту. Ингибиторные свойства ациклических производных гуанозина, представленные в таблице 2, свидетельствуют о большей эффективности гуанозиновых ингибиторов над инозиновыми, причём все они обладают конкурентным характером ингибирования фосфоролитической реакции, катализируемой ПНФ. Соединения 13 и 15 - наиболее сильные из этой группы аналогов.

Таблица 2. Ингибиторные свойства ациклических производных гуанозина.

N	R	% ингибирования	K _i (мкМ)
11	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OH	65	61
12	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ Cl	71	30
13	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ SCH ₂ CH(CH ₃) ₂	82	18
14	CH ₂ CH ₂ NHCH ₂ CH ₂ OH	43	138
15	CH ₂ CH ₂ NH-CH(CH ₂ OH) ₂	95	2,3

Ранее для эритроцитарной ПНФ было показано, что ингибиторные свойства ациклических аналогов гуанозина значительно возрастают при дополнительной модификации гетероцикла в положении С8, поэтому далее были исследованы именно эти аналоги [8-10].

Из таблицы 3 видно, что у всех соединений этой группы очень выраженная ингибирующая способность. Соединение 17 – меркаптоацикловир ингибирует ПНФ в 10 раз эффективнее, чем ацикловир (соединение 11), который уже применяется в медицине [11].

Таблица 3. Ингибиторные свойства ациклических аналогов гуанозина, модифицированных по С8 положению пуринового кольца.

N	R ₁	R ₂	% ингибирования	K _i (мкМ)
16	Br	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OH	86	9
17	SH	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OH	89	6
18	SH	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ SH	83	14
19	Br	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ -Cl	92	3,7
20	SH	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ -Cl	85	9,2
21	Cl	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ -Cl	91	4,5

Введение брома в положение 8 гетероцикла в сочетании с группой хлора, введенной в ациклический заместитель рибозы (соединение 19), обеспечивает лучшее ингибирование (более чем в 2 раза), по сравнению с аналогом 16, где только Br, или аналогом 20, где меркаптогруппа с хлором. Исходя из вышесказанного, дальнейшее исследование С8-замещенных ациклонуклеозидов представляется наиболее перспективным.

ИНГИБИТОРЫ ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ

Взаимодействие аналогов пуриннуклеозидов с ПНФ из опухолевых и нормальных тканей легких и почек человека. Ингибиторное действие наиболее эффективных из вышеисследованных ациклических аналогов гуанозина (препаратов 13, 15, 16 и 19) было исследовано на активность ПНФ как здоровых, так и опухолевых тканей легких и почек человека. Как следует из данных таблицы 4, эти аналоги одинаково эффективно ингибируют как опухолевую ПНФ, так и фермент из здоровых тканей, при этом значения $K_i^{\text{каж}}$ для исследуемых ферментов почти не разнятся от таковых для ПНФ из селезенки кролика.

Таблица 4. Ингибиторное действие ациклических аналогов гуанозина на ПНФ из здоровых и опухолевых тканей лёгких и почек человека.

N	R ₁	R ₂	K _i ^{каж} мкМ почки		K _i ^{каж} мкМ легкие	
			опух.	норм.	опух.	норм.
13	-	CH ₂ OCH ₂ H ₂ SCH ₂ CH(CH ₃) ₂	18	17	14	14
15	-	CH ₂ CH ₂ NH-H(CH ₂ OH) ₂	2,4	2,2	2,3	2,1
16	Br	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OH	8,6	9,1	9	9,4
19	Br	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ Cl	3,2	3,5	3,4	3,7

Проведён также предварительный скрининг наиболее эффективных ациклических аналогов гуанозина, апробированных совместно с польскими коллегами на эритроцитарной ПНФ человека [12], с целью оценки их ингибиторных свойств по отношению к ПНФ из опухолевых и нормальных тканей лёгких и почек человека (табл. 5).

Таблица 5. Ингибиторное действие ациклических аналогов гуанозина на ПНФ из нормальных и опухолевых тканей лёгких и почек и эритроцитов человека.

N п/п	Аналоги	K _i мкМ эритр	K _i ^{каж} мкМ почки		K _i ^{каж} мкМ легкие	
			опух.	норм.	опух.	норм.
22	9-(4-гидроксibuтил) гуанин	52	32	69	52	84
23	9-(3,4-гидроксibuтил) гуанин	21	4,2	6,7	9,3	5,2
24	7-метил-9-(3,4- гидроксibuтил) гуанин	43	>200	300	210	110
25	8-бром-9-(3,4- гидроксibuтил) гуанин	3,7	0,5	2,3	4,4	2,8

Реакцию ингибирования проводили в 50 мМ фосфатном буфере, рН 7,0 при 25°C. В качестве варьируемого субстрата использовали инозин. Из 10 исследованных соединений наиболее значимыми являются 4 аналога (табл. 5),

которые эффективнее ингибируют фермент из опухолевой ткани, чем из здоровой. Среди последних наибольший интерес представляет соединение 25, которое в 5 раз более эффективно ингибировало опухолевый фермент почки по сравнению с ферментом из здоровой почки, что служит основанием для более тщательного его изучения в дальнейшем.

Таким образом, данные исследования аналогов субстратов свидетельствуют о том, что: наличие кето-группы является необходимым для связывания с ПНФ; ациклические производные гуанозина ингибируют фермент в несколько раз сильнее, чем инозина; длина и степень разветвления ациклического заместителя имеют большое значение; С8-замещенные ациклические производные гуанозина наиболее эффективные ингибиторы ПНФ, особенно при сочетании в радикалах атомов хлора с бромом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. ПНФ является важнейшим ферментом пуринового метаболизма, играет ведущую роль в поддержке иммунного статуса организма. Он используется для энзиматического синтеза биологически активных соединений с выраженными противоопухолевыми и противовирусными свойствами. Изменения уровня активности ПНФ в различных органах и тканях человека могут быть использованы в качестве специфического диагностического теста при ряде заболеваний, особенно, связанных с иммунодефицитными состояниями; так, уровни активности ПНФ, предложены в качестве дополнительных маркеров при диагностике вариантов острого лейкоза [6]. Основной целью большинства исследований ПНФ является выявление высокоэффективных ингибиторов фермента, аналогов пуриновых нуклеозидов, используемых в медицине в качестве лекарственных препаратов – иммуносупрессоров. Последние необходимы для создания селективного Т-клеточного иммунодефицитного статуса организма при трансплантации органов и тканей.

В нашей работе изучено влияние некоторых синтетических производных пуриновых нуклеозидов на активность ПНФ из селезенки кролика и из здоровых и опухолевых тканей легких и почек человека.

Исходя из результатов исследований, которые показали зависимость ингибирования фермента производными нуклеозидов от природы заместителей в их пуриновом цикле, а также от структуры ациклических остатков, замещающих рибозу, можно сделать следующие выводы:

- Ациклические производные гуанозина ингибируют фермент сильнее, чем производные инозина.
- Длина и степень разветвления ациклического заместителя имеют большое значение для ингибирования.
- С8 замещённые ациклические производные гуанозина – более эффективные ингибиторы ПНФ, особенно при сочетании в радикалах атомов хлора с бромом.

Таким образом, клиническое использование ингибиторов ПНФ указывает на важность и перспективность исследований как самого фермента, так и, в особенности, соединений, регулирующих его активность. Проведенные в 90-х годах исследования, направленные на выявление новых, клинически важных ингибиторов, инициировали программу по созданию базы данных существующих ингибиторов с целью их моделирования [13]. Учитывая высокую активность ПНФ в человеческих тканях, предполагается, что ингибитор должен иметь значение K_i в наномолярном диапазоне, чтобы можно было рассматривать возможность его применения в клинике [14]. Чтобы получить 99,9% торможение в условиях *in vivo* требуются биологически активные ингибиторы с величиной K_i равной примерно 10^{-8} М. Однако, лучшие ингибиторы ПНФ, используемые в настоящее время в клинических целях, имеют величину K_i только в пределах 10^{-7} М [15, 16].

Поиск новых эффективных и специфических ингибиторов ПНФ остаётся актуальным вопросом для лечения ряда патологий.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bantia S., Ananth S.L., Parker C.D., Horn L.L., Upshaw R.* (2003) Intern. Immunopharmacol., **3**(6), 879-887.
2. *Galmarini C.M.* (2006) IDrugs, **9**(10), 712-722.
3. *Morris P.E., Elliott A.S., Walton S.P., Williams C.H., Montgomery J.A.* (2000) Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, **19**, 379-404.
4. *Farutin V., Masterson L., Andricopulo A.D., Cheng J., Riley B., Hakimi R., Frazer J.W., Cordes E.H.* (1999) J. Med. Chem., **42**, 2422-2431.
5. *Погосян Л.Г., Акопян Ж.И.* (2003) Биол. журн. Армении, **1-2**(55), 29-32.
6. *Bzowska A., Kulikowska E., Shugar D.* (2000) Pharmacol. Therapeut., **88**, 349-425.
7. *Stoychev G., Kierdaszuk B., Shugar D.* (2002) Eur. J. Biochem., **269**(16), 4048-4057.
8. *Wierzchowski J., Bzowska A., Stepniak K., Shugar D.* (2004) Z. Naturforsch. [C], **59**(9-10), 713-725.
9. *Wierzchowski J., Stepniak K., Bzowska A., Shugar D.* (2005) Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, **24** (5-7), 459-464.
10. *Bantia S., Kilpatrick J.M.* (2004) Curr. Opin. Drug. Discov. Devel., **7**(2), 243-247.
11. *Filgueira de Azevedo W. Jr., Canduri F., Marangoni dos Santos D., Pereira J.H., Dias M.V., Silva R.G., Mendes M.A., Basso L.A., Palma M.S., Santos D.S.* (2003) Biochem. Biophys. Res. Commun., **309**(4), 917-922.
12. *Bzowska A., Pogosian L., Ananiev A.V., Kulikowska E., Shugar D.* (1995) Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, **14**, 517-520.
13. *Evans G.B., Furneaux R.H., Lewandowicz A., Shramm V.L., Tyler P.C.* (2003) J. Med. Chem., **46**(15), 3412-3423.
14. *dos Santos D.M., Canduri F., Pereira J.H., Vinicius Bertacine Dias M., Silva R.G., Mendes M.A., Palma M.S., Basso L.A., de Azevedo W.F., Santos D.S.* (2003) Biochem Biophys Res Commun., **308** (3), 553-559
15. *Ray A.S., Olson L., Fridland A.* (2004) Antimicrob. Agents Chemother., **48**(4), 1089-1095.
16. *Hikishima S., Hashimoto M., Magnowska L., Bzowska A., Yokomatsu T.* (2007) Bioorg. Med.Chem.Lett., **17**, 4173-4177.

Поступила: 12. 10. 2009.

SOME INHIBITORS OF PURINE NUCLEOSIDE PHOSPHORYLASE

L.H. Pogosian, L.S. Nersesova, M.G. Gazariants, Z.S. Mkrtchian, J.I. Akopian

Institute of Molecular Biology of NAS RA, Laboratory of Molecular Enzymology, Hasratyan st., 7,
Yerevan, 0014 Republic of Armenia; tel.: +37410281572; e-mail: lina-edu@mail.ru, imb@sci.am

Purine nucleoside phosphorylase (PNP) catalyzes reversible phosphorolysis of purine deoxy- and ribonucleosides with formation (d)Rib-1-P and corresponding bases. PNP plays a leading role in the cell metabolism of nucleosides and nucleotides, as well as in maintaining the immune status of an organism. The major aim of the majority of studies on the PNP is the detection of highly effective inhibitors of this enzyme, derivatives of purine nucleosides used in medicine as immunosuppressors, which are essential for creating selective T-cell immunodeficiency in a human body for organ and tissue transplantation.

The present work is devoted to the study of the effects of some synthetic derivatives of purine nucleosides on activity of highly purified PNP from rabbit spleen and also from human healthy and tumor tissues of lung and kidneys. Purine nucleoside analogues modified at various positions of both the heterocyclic base and carbohydrate residues have been investigated. Several compounds, including 8-mercapto-acyclovir, 8-bromo-9-(3,4-hydroxy-butyl)guanine, which demonstrated potent PNP inhibition, could be offered for subsequent study as immunosuppressors during organ and tissue transplantation.

Key words: purine nucleoside phosphorylase, activity, substrates, inhibitors, tumor tissues, medicinal preparations.