

А. В. Пурданов

**БИОХИМИЯ
И ФИЗИОЛОГИЯ
ВИТАМИНОВ
И АНТИВИТАМИНОВ**

Сельхозгиз. 1959

А. В. ТРУФАНОВ

Профессор

**БИОХИМИЯ
И
ФИЗИОЛОГИЯ
ВИТАМИНОВ
И
АНТИВИТАМИНОВ**

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

Москва — 1959

ВВЕДЕНИЕ

Основоположителем учения о витаминах следует считать нашего соотечественника Н. И. Лунина. В 1881 году Н. И. Лунин установил, что мыши, получавшие диету, состоящую из отмытого казеина, сахара, растительного масла и солей в том же соотношении, в каком эти вещества находились в молоке, погибали. Мыши, получавшие натуральное молоко, развивались нормально. На основании этого Н. И. Лунин пришел к выводу, что в молоке имеются дополнительные вещества, отсутствие которых приводило к гибели мышей.

В 1912 году Функ предложил назвать эти вещества витаминами, так как молекула первого очищенного вещества этой группы содержала амин. Поскольку химическая природа витаминов оставалась невыясненной, их стали обозначать первыми буквами латинского алфавита. В переводе с латинского *vita amine* означает жизненный амин. Этот термин прочно вошел в обиход, хотя в настоящее время имеет лишь историческое значение. Он связан с выделением первого очищенного вещества этой группы — витамина В₁, содержащего в своей молекуле аминогруппу.

В двадцатых годах нашего века были известны уже четыре витамина: А, В, С и D. Вскоре были открыты еще два витамина Е и К. Из шести этих витаминов витамины В и С растворимы в воде, а остальные четыре витамина — А, D, Е и К нерастворимы в воде, а растворимы в жирах и жировых растворителях. После выделения витамина В оказалось, что в дрожжах и рисовых отрубях присутствует еще другой витамин В, в отличие от первого стабильный к нагреванию. Дальнейшие исследования доказали, что имеется несколько термостабильных витаминов В, по мере

открытия их стали обозначать B_2 , B_6 и РР. Кроме этих витаминов, адсорбируемых глинами и другими грубыми коллоидами, из дрожжей была выделена фракция витаминов, не адсорбируемая последними (витамины G, H). Все эти витамины относили к группе витаминов В. Они растворяются в воде и содержат азот в молекуле, например, витамины B_1 , B_2 , B_6 , B_{12} . В эту группу, кроме того, входят витамины без обозначений буквой В с цифрой, но с обозначением их соответствующей буквой латинского алфавита (витамины РР, G, H, Вc, B_x) или под названием (холин и инозит).

По мере выяснения химического строения витаминов, их стали обозначать не соответствующей буквой латинского алфавита, а сокращенным химическим названием: витамин B_1 —тиамин, B_2 —рибофлавин, B_6 —пиридоксин, РР—никотиновой кислотой, G—пантотеновой кислотой, H—биотином, Вc—фолиевой кислотой, B_x —парааминобензойной кислотой и B_{12} —кобаламином. Поэтому старые обозначения витаминов буквами латинского алфавита постепенно устраняются. Витамины группы В характеризуются еще и тем общим свойством, что они в качестве составных частей входят в простетические группы энзиматических систем, т. е. являются частью биологических катализаторов, управляющих процессами обмена веществ в организме.

Русский ученый В. В. Пашутин еще в 90-х годах прошлого века, на основании работ Н. И. Лунина, указал на связь между витаминами и ферментами, исходя из малого количества тех и других, необходимых для максимального действия. После открытия витаминов, в 1922 г., Н. Д. Зелинский высказал мысль о связи между ферментами и витаминами, так как последние необходимы ферментам как строительный материал. Это подтверждено на витаминах группы В, а также и других витаминах, участвующих в тех или иных энзиматических реакциях.

Однако с открытием химического состава витаминов и их физиологических свойств оказалось, что витамины С и Р, не относящиеся к группе В, также растворимы в воде. Инозит, входящий в состав витаминов В, в своей молекуле не содержит азота и для ряда витаминов группы В еще неизвестны простетические группы, в которых они бы участвовали в качестве составных частей (инозит, холин, витамин B_{12} , тогда как витамины А, С и Е также участвуют

В энзиматических системах и, вероятно, входят в состав их простетических групп. Поэтому объединение вышеуказанных витаминов в группу В является условным и устарелым.

Более рационально объединяются в группы другие витамины, например A_1 , A_2 или D_2 , D_3 , D_4 и т. д. или K_1 , K_2 и т. д., где это объединение основано на близости их химического строения. Прежняя классификация витаминов по растворимости в воде и в жирах также условна, так как некоторые новые производные жирорастворимого витамина К, обладающие активностью последнего, прекрасно растворяются в воде. Некоторые же водорастворимые витамины группы В (никотиновая и парааминобензойная кислоты) гораздо лучше растворяются в эфире, чем в воде.

Единственной общей характеристикой всех витаминов является то, что они необходимы живому организму в минимальных количествах. Но это не совсем точно, ибо известно, что некоторые из витаминов (витамин С, никотиновая кислота) для одних животных являются экзогенными, для других же эндогенными, т. е. веществами, вырабатываемыми в самом организме животного и поэтому не являющимися витаминами.

Особенно быстро наука о витаминах начинает развиваться с конца 20-х годов текущего столетия, после выделения кристаллического витамина С из коры надпочечников. Одновременно с изучением химии витаминов стремились познать механизм действия витаминов в организме как биокатализаторов и определить их роль в практической медицине. Появляется ряд работ по изучению производных витаминов, обладающих обратным действием на живые организмы, так называемых антагонистов витаминов или антивитаминов. В случае заболевания, при необходимости тормозить рост паразита (например, возбудителя малярии) или необластической опухолевой ткани, подобные вещества нашли широкое применение. Так, антагонисты фолиевой кислоты применяются при лечении злокачественных лейкозов, или антагонисты рибофлавина—при лечении малярии.

В настоящее время крайне недостаточно книг, излагающих и обобщающих далеко продвинувшуюся вперед науку о витаминах. Особенно ощущается потребность в книге, в которой подробно были бы описаны физико-химиче-

ские свойства, механизм действия, обмен витаминов и механизм действия антивитаминов.

Данная книга ставит своей задачей возможно полнее и на современном уровне знаний объяснить физико-химические свойства и механизм физиологического действия всех известных витаминов и только частично описать их клиническое применение.

Надеемся, что книга окажет услугу ветеринарам, врачам, биохимикам, биологам и зоотехникам, желающим ознакомиться подробнее с природой и физиологическим действием витаминов.

Глава 1

ВИТАМИН А

В 1909 году Степп (Stepp, 1909) в лаборатории Гофмейстера показал, что кормление мышей хлебом, обезжиренным спиртово-эфирной экстракцией, вызывало их гибель. После добавления к такому хлебу его жирового экстракта этот хлеб становился полноценным продуктом питания. Позднее Мак Коллум и Дэвис (Mac Collum, Davis, 1913, 1914, 1915), Осборн и Мендель (Osborne, Mendel, 1913, 1914, 1915,) установили, что синтетическая пища, лишенная жира или содержащая в качестве жира топленое свиное сало, поддерживала рост молодых крыс только в течение 70—100 дней, после чего их рост прекращался и вес тела начинал падать. Добавление к такому рациону сливочного масла восстанавливало и обеспечивало в дальнейшем нормальный рост животных. Активное начало сливочного масла не разрушалось при омылении масла щелочами и переходило в неомыляемую фракцию. Оно было названо «растворимым в жирах фактором А», а позднее переименовано в «витамин А».

У животных, получавших пищу с недостаточным содержанием в ней витамина А, кроме задержки роста, наблюдались характерные заболевания глаз (ксерофтальмия), отмеченные Осборном и Менделем еще в 1913 году, и повышенная восприимчивость к инфекциям (Steenbock, Sell, Buell, 1921).

В последующем было установлено (Steenbock, 1919; Steenbock, Boutwell, 1920, 1921), что А-витаминной активностью обладают лишь те растительные продукты, которые содержат красновато-оранжевые растительные пигменты—каротиноиды, а именно—каротин. Животные же продукты содержат витамин А. Из них наиболее богаты витамином А жиры печени рыб и морских млекопитаю-

щих. Витаминная активность растительных продуктов обуславливается содержанием в них каротина, а последний в животном организме превращается в витамин А.

Разберем свойства каротина и витамина А, а затем процесс превращения каротина в витамин А в животном организме.

* * *

Впервые каротин был выделен в 1831 году Вакенродером (Wackenroder, 1831) из репы и моркови. В 1837 году Берцелиус (Berzelius, 1837) экстрагированием спиртом выделил из осенних листьев растений желтое красящее вещество, названное им ксантофиллом. Долгое время эти пигменты считали одинаковыми и только русскому ученому Бородину в 1883 году удалось доказать неидентичность обоих пигментов, а также установить, что желтый пигмент, извлеченный из растений, представляет смесь нескольких химически родственных, окрашенных веществ.

В 1907 году Вильштеттер (Willstatter, 1907, 1910) выделил каротин из сушеных листьев крапивы и установил химический состав его, который отвечал формуле $C_{40}H_{56}$. Позднее он доказал, что ксантофилл отличается от каротина наличием двух атомов кислорода и соответствует формуле $C_{40}H_{56}O_2$.

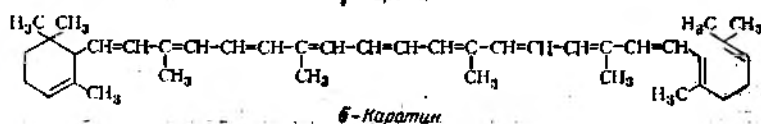
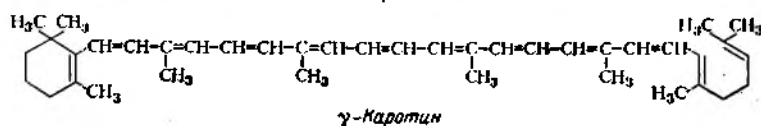
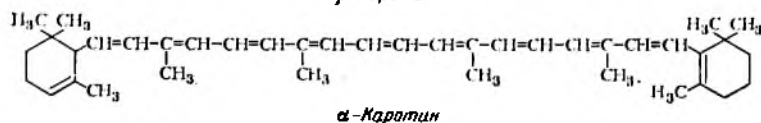
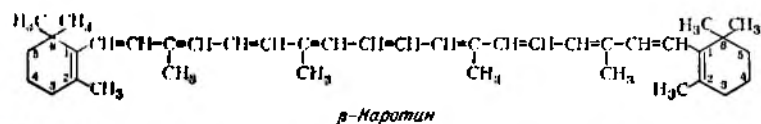
Дальнейшее изучение каротиновых красящих веществ сильно продвинулось вперед благодаря замечательному открытию русского ботаника Цвета. В 1910 году Цвет предложил разделять желтые, оранжевые и красные пигменты методом хроматографической адсорбции, которая в дальнейшем стала одним из наиболее эффективных средств для разделения и очистки веществ в органическом анализе.

Вышеуказанным методом Цвету удалось разделить выделенный им каротин на четыре отдельных пигмента. Дальнейшие исследования каротиновых пигментов, названных каротиноидами, позволили Любименко (1913, 1916) обнаружить в растениях родственный каротину пигмент—ликопин. Позднее Любименко (1924, 1930, 1936) разделил пигменты на желтые—каротиновые и красные—ликопиновые, а каротиновые, в свою очередь, на шесть отдельных пигментов α -каротин, β -каротин и т. д. Карре-ру (Carreg, 1929—1935, 1937), широко использовавшему

хроматографический метод Цвета, в 1930 году удалось разделить изомеры каротина, полученные из моркови, и установить их структурные формулы. В моркови нашли три изомера каротина α -каротин, β -каротин (строение которых было установлено Каррером) и γ -каротин (Куном). При этом β -каротина содержалось 85%, α -каротина 15% и γ -каротина—следы. Из плодов гонокариума Винтерштейн (Winterstein, 1934) выделял четвертый изомер, названный δ -каротином.

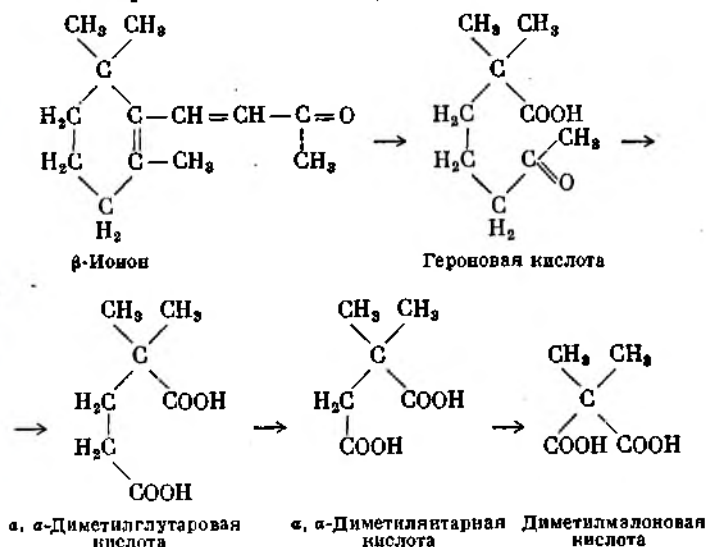
Молекула каротина построена из промежуточной цепи, состоящей из четырех метилбутадиеновых (изопреновых) остатков, попарно расположенных с обеих сторон от центра симметрии молекулы, и двух циклотексановых колец, расположенных в обоих концах цепи. Циклотексановое кольцо имеет три метильные группы, две из них присоединены к шестому углероду кольца, а третья ко второму углероду. При наличии в таком кольце двойной связи в положении 1,2 оно носит название β -иононного, а при расположении той же двойной связи в положении 2,3— α -иононного.

При наличии одинаковых β -иононных колец изомер симметричного строения был назван β -каротином; изомер с одним α -иононным, а другим β -иононным кольцом получил название α -каротина.



Изомер, в котором одно разорванное β -ионное кольцо, т. е. псевдоионная группировка, а другое β -ионное кольцо, получил название γ -каротина, а изомер с псевдоионной группировкой и α -ионным кольцом— δ -каротина. На странице 9 приведены структурные формулы изомеров каротина.

Наличие β -ионного кольца в молекуле каротина было доказано образованием героновой кислоты при окислении каротина озоном, или ряда дикарбоновых кислот при окислении перманганатом. Оба процесса окисления можно изобразить одной следующей схемой:



Физико-химические свойства каротинов

В таблице 1 показаны физико-химические свойства всех природных каротинов.

По отношению к растворителям все изомеры каротина ведут себя одинаково.

Наибольшая растворимость каротина (по данным Михайловниной, 1949) при 25° в сероуглероде (8,4%), затем в хлороформе (6,2%), четыреххлористом углероде (3,9%), бензоле (2,4%), толуоле (2,1%), петролейном эфире (0,38%), ацетоне (0,38%) и в ледяной уксусной кислоте (0,02 %).

Таблица 1

Физико-химические свойства каротинов

Название	Температура плавления	Окраска и форма кристаллов	Угол вращения	Максимум поглощения каротина. окисленного с SnCl_2 в м.р. по Мортону	Коэффициент экстинкции $E_1^1\%$ (E ₁ см)	Спектр поглощения максимума в области м.р. в сероуглероде
α -Каротин	187—188°	Призмы фиолетового цвета	$[\alpha]_{\text{Cd}}^{20} = +36,5^\circ$ в бензоле по Куру	589, 573, 493	В хлороформе при 460 E ₁ см = 1900	511, 478 и 446 по Мортону (Morton, 1942)
β -Каротин	183—184°	Гексагональные призмы оранжево-красного цвета	Оптически неактивны	590, 538, 443 и 465	В хлороформе при 463 E ₁ см = 1900	520, 485, 451 и 318 по Мортону
γ -Каротин	178°	Темно-красные призмы или пучки игл			В гексане при 460 E ₁ см = 634	533, 496 и 463 по Мортону
δ -Каротин	—	—	—	—	—	526, 490, 457 по Винтерштейну (Winterstein, 1934)

$E_1^1\%$ см — коэффициент экстинкции выражает величину поглощения света 1%-ным раствором толщиной 1 см.

В воде каротин практически нерастворим. Очень важна в практике растворимость каротина в растительных маслах.

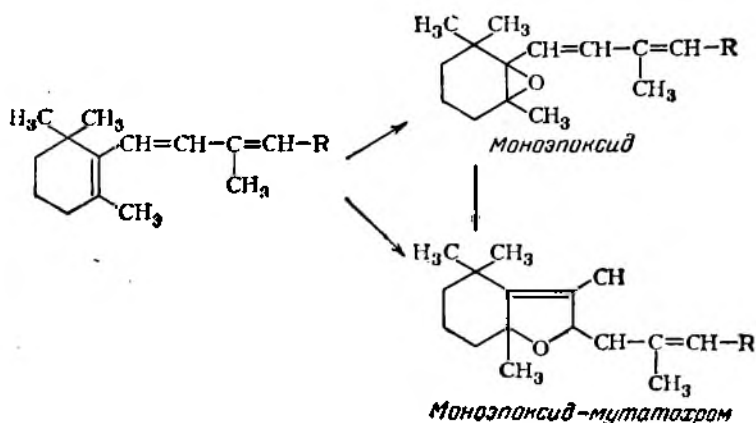
Михайловнина и Савинов (1950) исследовали растворимость каротина в подсолнечном, льняном, рыжиковом, оливковом и арахисовом маслах при 25°, 45° и 60°, а также в маргарине и нашли, что растворимость каротина равна: при 25°—0,2%, при 45°—0,3% и при 60°—0,5%. Следует отметить также, что каротин в маслах дает стойкие пересыщенные растворы.

Каротин особенно чувствителен к окислению, причем окисление каротина кислородом воздуха ускоряется под влиянием света, тепла и металлов. Из тяжелых металлов наибольшее каталитическое влияние оказывает медь, гораздо слабее действуют олово и алюминий. Железо даже при 40° каталитического влияния не оказывает (Савинов и Свищук, 1950). Савинов и Гринберг (1950), пользуясь хроматографическим анализом на колонке с окисью алюминия, изучали первичные продукты окисления каротина и показали, что окисление β -каротина как молекулярным кислородом, так и окислителями (моноперфталевой кислотой) начинается с окисления двойной связи β -иононного кольца.

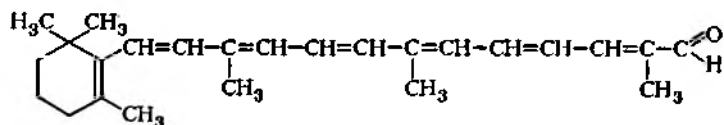
Атом кислорода присоединяется по месту двойной связи. Если при этом образуется трехчленное гетероциклическое кольцо, полученное соединение называется эпоксидом. При окислении в β -каротине одного β -иононного кольца получается β -каротин-моноэпоксид (см. схему), но обычно окисление β -каротина идет дальше и окисляются оба β -иононных кольца с образованием β -каротин-диэпоксида $C_{40}H_{56}O_2$. Последний имеет два максимума поглощения в области 470 и 455 м μ . Однако окисление β -каротина может идти также с образованием более устойчивого пятичленного фураноидного кольца. В таком случае при окислении одного β -иононного кольца в β -каротине получается мутатокром, а при окислении обоих β -иононных колец—ауроокром. Последний в отличие от диэпоксида имеет один максимум поглощения в области 428 м μ .

Мутатокром и ауроокром являются продуктами своеобразной изомеризации β -каротин-моноэпоксида или β -каротин-диэпоксида, сопровождающейся образованием в последних фурановидной группировки.

Схематически это можно представить себе следующим образом:



Из других продуктов первичного окисления каротина следует отметить физиологически активный β -окси-каротин $C_{40}H_{58}O_2$ с поглощением в области 478 и 450 м μ (в петролейном эфире). В этом продукте, так же как и в монооксидах, одно β -иононное кольцо осталось нетронутым, поэтому в нем сохранилась частичная физиологическая активность. Витамин А-эпоксид (Mallein, 1952), образующийся из соответствующего β -каротин-эпоксида, в организме частично может восстанавливаться в витамин А и вследствие этого обладает примерно 4—5%-ной биологической активностью. Более глубокое окисление идет с разрывом углеродной цепи и образованием альдегида β -апо-12-каротиналя (с поглощением в области 483 и 454 м μ) и альдегида β -апо-10-каротиналя (с поглощением в области 442 м μ в том же петролейном эфире). Приведем формулу β -апо-10-каротиналя.



Последние дальше легко окисляются в соответствующие кислоты. Примерно такой же процесс разрушения испытывает и α -каротин при окислении.

β -Каротин легче окисляется в растворе жировых растворителей (бензоле и других), чем в растительных маслах. β -Каротин в анаэробных условиях довольно устойчив. Однако, как нашел Савинов (1950), он может претерпевать ряд стереоизомерных превращений как от действия температуры, так и от света, щелочи (Михайловнина и Савинов, 1951) и кислоты (те же, 1952). Так, при полном отсутствии кислорода раствор каротина в бензоле при 5° в течение 60 дней потерял 2%, а при 20°—8,8% своего первоначального количества. При 50° потери значительно возрастали, составляя 7,5% в течение 24 часов, а при 100° в течение того же времени разрушилось 30% от исходного количества каротина. При 150° в течение трех часов разрушилось 30%, при 200° в течение одного часа—80% вещества.

Исследование действия минеральных кислот (серной и соляной в концентрации 10—20%) и щелочей (5—20% КОН в спирту) на растворы каротина в анаэробных условиях показало сравнительную устойчивость каротина, особенно к щелочам. Кислоты при 100° в течение 24 часов оказывают на β - и α -каротин изомеризирующее действие, при этом получают моно-*cis*-изомеры. В сухом кристаллическом состоянии и в отсутствие кислорода воздуха каротин очень устойчив к нагреванию и свету, но эта устойчивость резко снижается при доступе воздуха.

Следует еще отметить высокую устойчивость β -каротина в лиманных глинах различных лиманов Украинской ССР, где он содержится в количестве 0,15—3,33 мг% сухого веса гряды (Савинов, Михайловнина, Шапиро, 1950, 1951). Эта высокая устойчивость каротина в глинах зависит от сероводородной среды и образования на поверхности защитной пленки, предохраняющей основную массу гряды от окисления.

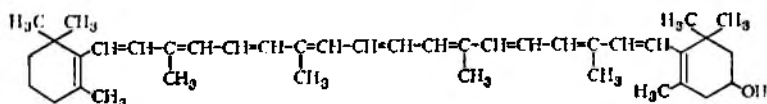
Биологическая активность каротинов и других природных каротиноидов

Биологическая А-витаминная активность каротина зависит от β -иононного кольца и определенной длины цепи, включающей не менее пяти конъюгированных двойных связей.

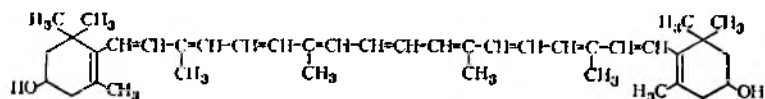
β -Каротин наиболее активен потому, что имеет два β -иононных кольца. α -Изомер в два раза менее активен, чем

β -каротин, так как одно β -иононное кольцо у него заменено α -иононным. γ -Изомер примерно в четыре раза менее активен, чем β -изомер, так как наличие псевдоиононной группировки ослабляет активность, сообщаемую β -иононным кольцом. δ -Изомер почти совсем лишен биологической активности, так как в нем нет β -иононных колец. Отсюда перемещение двойной связи в β -иононном кольце или разрыв этого кольца ведут к потере активности. Аналогично влияет на активность и введение в кольцо гидроксила.

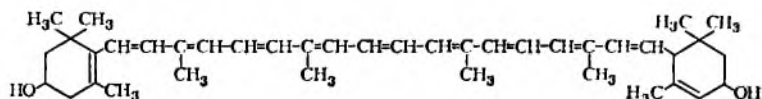
Наиболее распространенными в природе каротиноидами являются каротиноиды, содержащие гидроксил в 4¹ положении циклогексанового кольца, т. е. уже ранее отмеченная нами группа ксантофилла. Из них следует отметить широко распространенный в природе в желтой кукурузе, лепестках одуванчика (Савинов, Гринберг, 1950) и т. д., биологически активный криптоксантин, симметричный каротиноид с гидроксильной группой в одном β -иононном кольце с эмпирической формулой $C_{40}H_{56}O$:



Два других ксантофилла с двумя гидроксильными группами у обоих циклов—это симметричный зеаксантин (пигмент яичного желтка), содержащий два 4¹-окси- β -иононных кольца, с эмпирической формулой $C_{40}H_{56}O_2$:



и несимметрический лютеин (пигмент желтых листьев). Лютеин часто встречается у рыб. Он содержит одно 4¹-окси- β -иононное кольцо, а другое 4¹-окси- α -иононное и имеет эмпирическую формулу, как у зеаксантина, но структурная формула его отличается.



Криптоксантин с одним незамещенным β -иононным кольцом обладает примерно в два раза меньшей активностью, чем β -каротин, а зеаксантин и лютеин, у которых в обоих β -иононных кольцах водороды в положении 4 замещены гидроксилами, лишены витаминной активности.

К ксантофиллам еще относится астаксантин, который встречается в организме рыб и является единственным каротиноидом, выполняющим функции витамина А при развитии лососевых (Glover, Morton, Rosen, 1952).

Из кетопроизводных каротиноидов, у которых в циклогексановом кольце два водорода в 4¹ положении замещены кислородом, следует отметить два биологически активных кето-каротиноида: афанин ($C_{40}H_{34}O$) и миксоксантин ($C_{40}H_{34}O$)—первый с двумя β -иононными кольцами, причем одно из них с кетогруппой, а второе с β -иононным и псевдо-иононным кольцом, в котором имеется кетогруппа. Поэтому оба эти каротина также обладают в два раза меньшей активностью, чем β -каротин.

Из каротиноидов с двумя разорванными псевдоиононными кольцами следует указать на ранее отмеченный широко распространенный в природе ликопин. Ликопин часто встречается в плодах, но не был найден в листьях растений.

На биологическую активность влияет и стереоконфигурация молекулы каротиноида. Так, *cis*-изомеры β - и α -каротина, полученные в результате термической обработки соответствующих β - и α -каротинов, менее активны, чем их естественные *trans*-формы.

Из всех каротинов наибольшей активностью обладает, как и следовало ожидать, β -каротин, у которого оба β -иононных кольца не изменены и который существует в полной *trans*-форме. Если принять активность этого β -каротина за 100, то можно так расположить по убывающим активностям остальные каротины:

β -каротин	100
α -каротин	53
нео- β -каротин U (моно- <i>cis</i> -форма)	38
γ -каротин	28
нео- γ -каротин U (моно- <i>cis</i> -форма)	13

Из остальных каротиноидов активны лишь криптоксантин, афанин и миксоксантин, а из продуктов окислительного распада—мутатоксид, моноэпоксид и β - и α -апо-12-каротинали или β - и α -апо-10-каротинали, т. е. те, ко-

торые по длине боковой цепи соответствуют витамину А или длиннее, но не короче.

Аурохромы, ликопин, зеаксантин и лютеин, у которых оба β -ионных кольца нарушены, лишены биологической активности.

На рыб и птиц ксантофиллы (окси-каротиноиды) оказывают такое же действие, как и β -каротин, так как в теле животных ксантофиллы превращаются в витамин А (Goodwin, 1950). В жире тела и желтке яиц птиц откладываются только те каротиноиды, которые в своем ионном кольце содержат гидроксильную группу, как зеаксантин, криптоксантин и др.

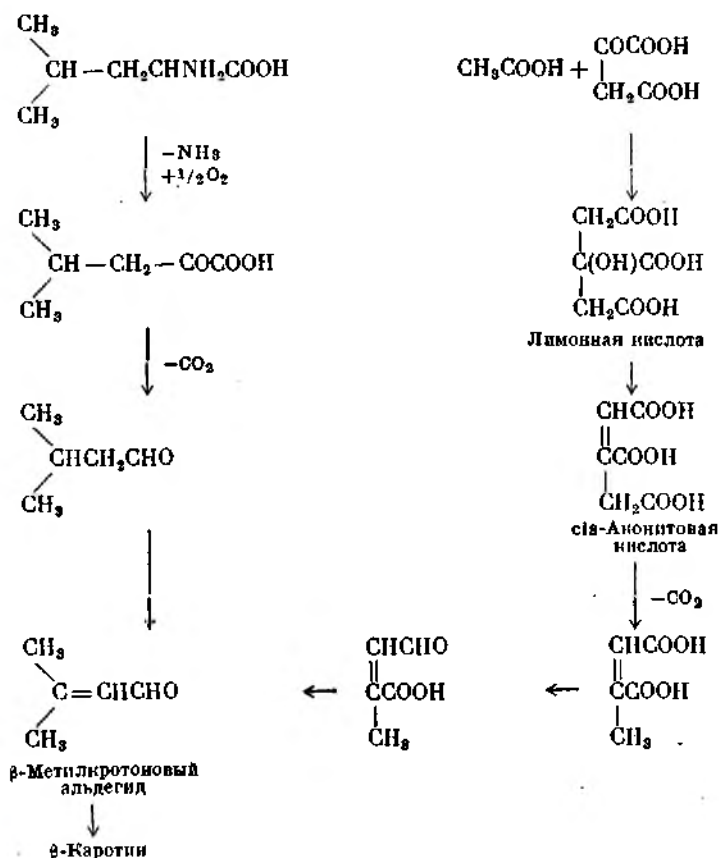
Биосинтез каротинов

Савинов нашел, что грязи довольно богаты каротинами, это отложение каротина в грязях является продуктом биосинтеза бактериями. Из грязей была изолирована гласа *Mucobacterium lactiola*, которая при культивировании на среде из минеральных солей и минерального масла в качестве единственного органического субстрата образовывала каротиноидные пигменты, в том числе и β -каротин.

Из всех исследованных видов *Phycomyces* вид *Ph. graminis* наиболее активно синтезировал β -каротин и при этом в противоположность всем остальным грамположительная гласа *Ph. graminis* синтезировала больше β -каротина, чем грамотрицательная.

Путь образования каротинов у фикомицетов и высших растений один и тот же. Предшественником каротинов у фикомицетов является ликопин—тот же каротиноид, который является основным каротиноидом томатов. α -, β - и γ -Каротины в фикомицетах образуются изомеризацией ликопина. Гудвин (Goodwin, 1952) доказал, что дифениламин тормозит биосинтез ненасыщенных полиенов: ликопина, α -, β - и γ -каротинов. Лейцин же и валин, наоборот, стимулируют образование β -каротина у *Phycomyces*, растущей на среде, содержащей 1% глюкозы. Путь образования каротина пока еще не ясен, однако было доказано, что β -метилкротоновый альдегид, который может образоваться из лейцина или валина, также стимулирует образование каротина у *Phycomyces*. Наконец, повышение содержания глюкозы в среде и добавление апетата

тоже стимулируют каротиногенезис. Добавление меченого ацетата в среду показало, что он вступает в молекулу каротина. Возможное объяснение этому даст образование «активного ацетата» (активным ацетатом в биохимии считается крайне реактивный ацетат, присутствующий в форме ацетилкоэнзима А (см. главу 6, стр. 264), возникающего в результате гликолиза. Активный ацетат, вступая в ли-



моннокислый цикл, образует β -метилкротональдегид. Приводим два вышеуказанных пути образования β -метилкротонного альдегида.

Присутствие каротиновой цепи в хлорофилле указывает на возможность образования каротинов в зеленых

растениях из фитола — продукта разложения хлорофилла. Годисен и Осипова (1947) считают, что в растениях возможно и обратное превращение каротина в фитол. Однако и с учетом современных представлений построение алифатической каротиноидной цепи идет по следующей схеме (Самсонов, 1948).

Изопреп → Фитол → Ликопин → Каротин

В. Любименко установил, что каротин всегда сопутствует хлорофиллу. У высших растений накопление каротина тесно связано с накоплением хлорофилла, а в созревающих плодах исчезновение хлорофилла сопровождается накоплением каротина.

Вильямс (1946, 1953, 1954) в ряде работ установил определенную зависимость между содержанием хлорофилла и каротиноидов в листьях. Он доказал, что падение содержания хлорофилла при пожелтении листьев приводит к параллельному повышению содержания каротина. При образовании каротина в корнеплодах моркови также существует определенная закономерность, показывающая, что накопление каротина в корнеплоде связано с понижением содержания фитоксантинов, а содержание последних повышается в зависимости от разрушения хлорофилла (Вильямс, 1956).

Только вначале вегетационного периода накопление каротина идет параллельно с накоплением хлорофилла. Это происходит вследствие того, что процесс образования хлорофилла вначале вегетации настолько интенсивен, что превращение его в каротин незаметно. Образующийся в листьях каротин переходит в корнеплод и там накапливается.

Все это подтверждает образование каротина из хлорофилла через фитол. В растениях каротин накапливается максимально ко времени цветения и бутонизации, а затем в период увядания содержание каротина в них падает.

Будницкая (1954) доказала биосинтез каротина в течение первых трех суток хранения разрезанных корнеплодов (морковь, бататы). Этот биосинтез повышался при хранении во влажном и темном помещении. Наличие 5% CO_2 стимулировало биосинтез. Очевидно, биосинтез каротина является реакцией организма на раневое повреждение.

Получение каротина

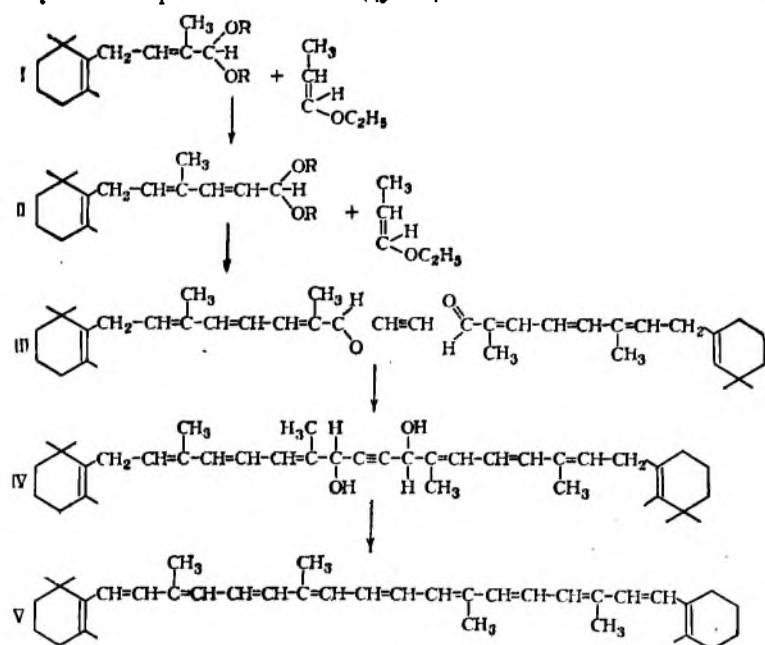
Сырьем для получения каротина могут служить зеленые части растений, где каротину сопутствует хлорофилл (основное из них—листья люцерны) и органы растений, которые лишены хлорофилла (корни моркови, плоды тыквы, ягоды рябины и облепихи и пр.). Получение каротина из сырья первой группы усложняется необходимостью удалять хлорофилл, тогда как из сырья второй группы это получение более просто и поэтому нашло применение.

Наилучшим сырьем для промышленного получения каротина является морковь вследствие высокого содержания каротина—10—12 мг% (из них 85% падает на долю β -каротина и остальные 15%— α -каротина), легкости выделения его из отжатого морковного сока и хорошей сохраняемости.

Получение каротина сводится: 1) к измельчению моркови в мезгу и отжатию сока, 2) к кислой коагуляции белков морковного сока, которые адсорбируют каротин (при подкислении соляной кислотой до pH 4,5 и нагревании до 90°) и 3) к извлечению каротина из белкового осадка органическим растворителем (спирт, эфир), отгонке растворителя и перекристаллизации каротина из бензола. В промышленности (по схеме, применяемой Главвитамином) каротин из белкового осадка извлекается непосредственно растительным маслом и идет в таком виде в употребление. Общий выход каротина, извлеченного растительным маслом, составляет около 50% от содержания в моркови (Шнайдман, 1950).

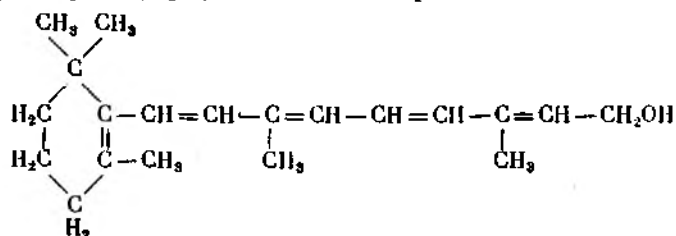
Синтез каротина. За последнее время был также разработан синтетический способ получения β -каротина. Наиболее удачный способ синтеза β -каротина—это удлинение непредельной цепи за счет конденсации β -C₁₄ альдегида (I), полученного по схеме, описанной для синтеза витамина А (см. стр. 30) в форме своего ацетала с виниловым эфиром (Самохвалов, 1956; Isler u. andere, 1956). Таким путем был получен альдегид C₁₆, дальнейшая конденсация ацетала альдегида C₁₆ (II) с виниловым эфиром приводила к образованию альдегида C₁₈ (III). Конденсируя две молекулы β -C₁₈-альдегида с ацетиленом, согласно реакции Гриньяра, получался β -C₃₆-диол (IV), при дегидратации и частичном восстановлении которого образо-

выявился β -каротин (V) (Isler и. andere, 1956). Синтез β -каротина протекает по следующей схеме:



Физико-химические свойства витаминов A_1 и A_2

Параллельно с исследованиями структуры каротина и его изомеров изучалась также структура витамина A_1 . Исследования проводились над концентратами витамина А, полученными из рыбьего жира методом омыления или перегонки в высоком вакууме (0,00001 мм Hg при 137—138°). В результате изучения этих препаратов была установлена (Karrer, Mori, Schopp, 1933) следующая структурная формула витамина A_1 :

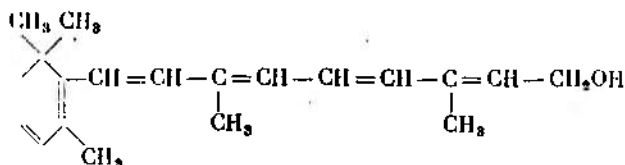


Витамин A_1 кристаллизуется при очень низкой температуре из метанола. Кристаллы светло-желтого цвета, оптически неактивны, температура плавления $63-64^\circ$. Витамин A_1 кристаллизуется также с кристаллизационной водой, температура плавления этих кристаллов $7,5-8^\circ$. Молекулярный вес витамина A_1 286. Витамин A_1 , так же как каротин, относительно термостабилен в отсутствие кислорода. Для витамина A_1 (в хлороформе) характерна полоса в спектре поглощения в области $328\text{ м}\mu$. С хлороформенным раствором треххлористой сурьмы витамин A_1 дает синее окрашивание, характеризующееся спектром поглощения в области $620\text{ м}\mu$. Витамин A_1 нерастворим в воде, растворяется в жирах, хлороформе, бензоле, ацетоне, метиловом спирте и эфире.

Ледерер и Розанова (1937), изучая А-витаминную активность жира печени различных рыб водоемов Советского Союза, обнаружили в 1937 году, что печеночные жиры некоторых видов пресноводных рыб с хлороформенным раствором треххлористой сурьмы давали синее окрашивание с максимумом спектра поглощения не в области $620\text{ м}\mu$, как витамин A_1 , а в области $693\text{ м}\mu$. Дальнейшее исследование (Shantz, 1948, 1950; Karrer, Schneidev, 1950) показали, что жиры таких пресноводных рыб обладали и максимумом поглощения, более сдвинутым в видимую часть спектра, именно в область $351\text{ м}\mu$ вместо $328\text{ м}\mu$, характерной для витамина A_1 . Активная часть фракции, полученная из жира пресноводных рыб, была названа витамином A_2 . Высокоочищенная фракция была подвергнута этерификации с фенолазобензоилхлоридом и полученный эфир витамина A_2 перекристаллизован. Кристаллы оказались светло-оранжевыми призмами с температурой плавления $94-95^\circ$ и эмпирической формулой $C_{33}H_{35}O_2N_2$ (фенолазобензоат витамина A_2). Омылением его получался чистый витамин A_2 в виде вязкого оранжево-желтого масла с двумя максимумами поглощения в ультрафиолетовой части спектра: $351\text{ м}\mu$ ($E = 1460$) и $287\text{ м}\mu$ ($E = 820$). Синее окрашенное вещество, полученное в результате взаимодействия витамина A_2 с $SbCl_3$, обладало одним максимумом поглощения в области $693\text{ м}\mu$ с $E = 4100$.

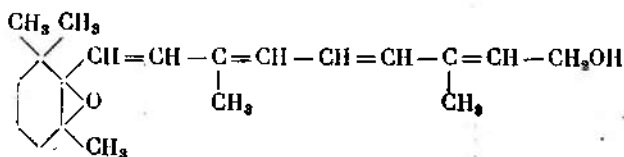
Ангидровитамин A_2 кристаллизуется при -30° из петролейного эфира с температурой плавления $89,5^\circ$. Гидрогенизация его показала наличие в нем 7 двойных связей в отличие от ангидровитамина A_1 , который имел 6 двой-

ных связей. 3,4-Дегидровитамин A_1 —спирт, полученный из 3,4-дегидровитамина A_1 -кислоты, оказался идентичным с витамином A_2 (Farrar, Hamlet, Neubert, Jones, 1951). Эти и дальнейшие исследования (Cama, Dalvi, Morton, Salan, 1952) подтвердили предложенную Мортонем структуру витамина A_2 :



Таким образом оказалось, что печеночные жиры пресноводных рыб содержат больше витамина A_2 , а печеночные жиры морских рыб—витамина A_1 .

Витамины A_1 и A_2 легко окисляются. Будучи растворены в масле, они приобретают значительную устойчивость вследствие наличия антиоксидантов. Продукт первичного окисления витамина A_1 —эпоксид 5,6-витамина A_1 был выделен (Mallein, 1952) из ретинена сетчатки. Он обладал максимумами поглощения в области 275 и 525 м μ , а продукт реакции его с треххлористой сурьмой обладал максимумом в той же области, что и продукт реакции с витамином A_1 = 620 м μ . Он имеет следующее строение:



Биологическая активность витамина А и его производных

Биологическая активность витамина А расценивается в интернациональных единицах. 1 и. е. А-витаминной активности соответствует активности 0,0006 мг β -каротина, или 0,0003 мг витамина A_1 . Однако сравнительная эффективность каротина и витамина A_1 у животных изменяется по мере повышения уровня А-витаминного питания (Китаев, 1951). Если вышеуказанное соотношение активности каротина к витамину A_1 справедливо при минимальном содержании их в диете, то эквивалентность каротина к

итамину A_1 увеличивается при избытке последнего в диете. При скормливания крысам трехкратной минимальной дозы витамина A_1 у них происходило накопление запасов последнего. Эквивалентное же количество запасов витамина A_1 удавалось наблюдать у тех же крыс лишь при пятикратной норме каротина (Guilbert a. oth., 1935, 1937, 1940).

Биологическая витаминная активность витамина A_1 —спирта равна 3 500 000 и. е. или 3 330 000 и. е. (Faggar Hamlet, Neubert, Jones, 1951) в 1 г, а активность витамина A_2 —спирта равна 1 300 000 и. е. в 1 г (Shantz, 1948, 1950; Karger, Schneider, 1950). Замена первичной спиртовой группы витамина A_1 карбоксильной сохраняет в нем ту же биологическую активность.

Синтетически был получен ряд простых и сложных эфиров витамина A_1 и изучена их биологическая активность. В таблице 2 приведены биологические активности ряда эфиров (Розанова, 1941).

Таблица 2

Биологические активности простых и сложных эфиров витамина A_1

Простые эфиры	И. е. в 1 г	Сложные эфиры витамина A_1 — спирта	И. е. в 1 г	И. е. в 1 кры- синой дове
Метиловый 100% чистоты	2 700 000	Ацетат	3 400 000	2,33
Метиловый 60% чистоты	2 000 000	Бутират	2 200 000	1,87
Метиловый 35% чистоты	1 000 000	Пальмитат	1 600 000	1,76
Бутиловый 60% чистоты	300 000	Стеарат	1 500 000	1,86
Фениловый 100% чистоты	180 000	Олеат	2 000 000	2,32
Фениловый 26% чистоты	50 000	Бензоат	1 800 000	1,47
		Сукцинат	2 500 000	1,69
		β -Нафтолат	2 100 000	1,92
		Антрахинон- β -карбоксилат	1 800 000	2,00
		Лаурат	1 700 000	1,62
		Антрахинон- карбоксилат*	1 256 500*	

Из данных таблицы 2 видно, что биологическая активность сложных эфиров витамина A_1 выше, чем простых

* Получен Бурвашевой, испытан Ерофеевой. Биохимия, т. 19, 246, 1954.

эфиров. Из простых эфиров наибольшей активностью обладает метиловый эфир. Кроме того, следует отметить, что при синтезе выход сложных эфиров больше, чем простых, и устойчивость их к окислению выше, чем свободного витамина A_1 —спирта или его простого эфира. Из сложных эфиров наиболее устойчивы сукцинат и ацетат. Поэтому приготавливать и сохранять лучше сложные эфиры витамина A_1 , чем свободный витамин A_1 или его простой эфир.

Изучалась также зависимость биологической активности витамина A_1 от замещения водородов в боковой цепи и окисления двойной связи в кольце, или разрыва самого кольца (в витамине A_2). Следует указать, что только *trans*-изомеры витамина A обладают полной активностью естественного витамина A , тогда как *cis*-изомеры слабо активны.

Отмеченный в предыдущей главе эпоксид-5,6-витамин A_1 , с окисленной двойной связью в кольце, обладал лишь 4—5%-ной активностью витамина A_1 . Очевидно, как таковой, эпоксид-5,6-витамин A_1 не активен, так как A -витаминная активность связана с наличием β -нопоного кольца, но в животном организме он теряет свой эпоксидный кислород, образуя вновь в соответствующем положении двойную связь и превращаясь в витамин A_1 .

Гипервитаминоз А

Большие дозы витамина A токсичны. Жители Арктики часто отмечали токсическое действие печени полярного белого медведя (Rodahl, 1949, 1950). Исследование показало, что в 1 г такой печени содержится от 22 000 до 26 700 и. е. витамина A . Скармливание по 500 мг такой печени ежедневно в течение длительного времени вызывало у крыс гипервитаминоз A .

Это заболевание, похожее на Базедову болезнь, сопровождалось алопецией, спонтанными переломами костей и смертью.

Оказалось, что введение всем животным ежедневно витамина A в дозах, превышающих 50—100 и. е. на 1 г живого веса, вызывает слабые признаки отравления, а в дозах свыше 800 и. е. на 1 г живого веса—смерть через 10 дней. Это свойство витамина A следует учитывать при терапевтическом его применении.

Введение 280 и. е. витамина А ежедневно на 1 г веса тела беременной крысы вызывает частичный аборт, а у остальных эмбрионов—уродства, выражающиеся в отсутствии головного мозга, грыже мозга и мозговых оболочек, пёбной щели, анофтальмии, нарушении образования ушей, недоразвитии мочеотделительной системы, сращении пальцев и катаракте. Кролики более чувствительны к гипervитаминозу А. Поэтому введение беременным самкам доз, превышающих 160 и. е. витамина А на 1 г веса тела вызывало аборт всех эмбрионов, а введение доз, не превышающих 80 и. е. на 1 г веса, давало 50%-ный аборт.

У остальных эмбрионов наблюдались уродства развития лишь в небольшом проценте случаев. Эти уродства выражались в экзофтальмии, отсутствии пальцев и уродствах, аналогичных описанным у крыс (Geroud, Martinet, 1958). При недостатке витамина А, как описывалось раньше разными авторами, беременные крысы также давали эмбрионов с подобными же уродствами.

Пушиные звери (собака, лисица, норка и т. д.) менее чувствительны к повышенным дозам витамина А (Helgebostad, 1955). На них не оказывают отрицательного действия ежедневные дозы в 40 и. е. витамина А на 1 г веса тела и только ежедневные дозы по 200—300 и. е. в течение 2 месяцев оказывают токсическое влияние на щенков и такие же дозы в течение 6—8 недель на собак. При этом возникают симптомы гипervитаминоза А, характеризующиеся: анорексией, атаксической походкой, потерей шерсти, судорогами, хрупкостью костей и гиперплазией в местах соединения диафиза с эпифизом, вследствие чего возникают внезапные переломы. Гистологические исследования костей А-гипervитаминозных щенков обнаружили остео дистрофию. Биохимические исследования показали сильное повышение щелочной фосфатазы в эпифизарных сочленениях (Ludwig, 1954) и во всех исследованных (Rahalkar, Nerurkar, Sahasrabudhe, 1956) тканях: костном мозге, плазме, печени, почках и кишечнике.

Содержание витамина А в жирах рыб и морских животных и получение концентратов витамина А из них

Промышленным сырьем для производства концентратов витамина А служит печень рыб и морских млекопитающих. По содержанию витамина А это сырье занимает

первым место среди известных в природе источников этого витамина.

Первоисточником витамина А печени рыб, как мы уже отмечали раньше, являются каротиноиды (лютеин и астаксантин) зеленых морских водорослей и витамин А планктона. Последние поедаются мелкими рыбами и морскими животными, поступающими, в свою очередь, в пищу более крупным рыбам.

Мацко (1928) и Розанова (1941) изучили содержание витамина А в печени рыб и морских млекопитающих и оказалось, что оно колеблется в широких пределах в зависимости от их вида. Даже для одного и того же вида рыбы концентрация витамина А в печени меняется в зависимости от окружающих условий, причем значительно увеличивается с возрастом. Поэтому витамином А особенно богаты печени рыб долголетних пород. В таблице 3 показано содержание витамина А в жире печени и процентное содержание жира в печени различных рыб и морских млекопитающих.

Таким образом, по данным Розановой, наиболее богатыми источниками витамина А являются печеночные жиры палтуса, тихоокеанского кита, морского окуня и белорыбницы (7000 и. е.).

Однако для выбора рационального сырья также важно иметь в виду вес печени (в % к весу всей рыбы или морского млекопитающего). В этом отношении на первом месте стоит печень акулы (10%), затем трески (6%), кита (4%), палтуса (2%) и окуня с белорыбницей (1,5%). Поэтому наиболее рационально использовать в качестве сырья печени акулы и кита.

Из рыбьего жира витамин А может быть извлечен омылением жира спиртовой щелочью и экстракцией органическим растворителем из неомыляемого остатка.

В 1937—1940 гг. (Ольхин, 1940; Коган, 1945—1947) был разработан промышленный метод молекулярной дистилляции рыбьего жира для получения концентратов витамина А. Достоинством этого метода является высокий выход витамина А в концентрате и возможность использования недистиллированного остатка в виде пищевого технического жира. Работами Когана (1947) и Шипалова (1946) было внесено много технических усовершенствований, как-то: понижение давления до 0,0001 мм ртутного столба в сконструированном ими аппарате типа «падающей

Таблица 3

**Содержание витамина А в жирах рыб и морских
млекопитающих**

Наименование бассейна, в котором водится данное животное	Название рыбы или морского млекопитающего	Содержание	
		жира в печени (в %)	витамина А в 1 г жира (в и. е.)
Северный	Треска	50,0	104—208
»	Скат	30,0	166
»	Акула	25,0	1 000
»	Ерш	8,7	1 100—7 700
»	Морской окунь	8,4—21,6	9 776—20 384
»	Палтус	18—27,8	36 190—81 120
Северный Кандалакша	Тюлень	5,5	7 466
Азово-Черноморский	Осетр	12,6	1 254
»	Белуга	20,0	1 518
»	Севрюга	15,2	2 038
»	Судак	7,1	3 078
»	Сом	11,4	2 912
»	Дельфин	2,2	7 904
Ленинградский	Налим	7,5	998
»	Щука	3,0	1 602
»	Семга	6,6	7 904
»	Лосось	8,4	9 984
»	Налим	60,0	62
»	Нельма	2,6	11 024
Каспийский	Судак	5,7	6 213
»	Осетр	12,0	1 914
»	Белорыбца . . .	7,7	3 245
Тихоокеанский	Кит (кашалот)	3,5	30 000

пленки», при этом разряжении витамин А дистиллируется при температуре от 110 до 200°. Поэтому метод молекулярной дистилляции начинает теперь все больше и больше внедряться в промышленность и вытеснять метод омыления и экстракции.

Синтез витамина А

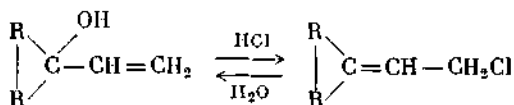
Кроме получения препаратов витамина А из жиров печени рыб и морских млекопитающих, с развитием органической химии все большее значение приобретает синтетическое получение витамина А.

В настоящее время имеется много схем синтеза витамина А, предложенных как за рубежом, так и у нас сотрудниками Всесоюзного научно-исследовательского витаминного института. Однако исходным продуктом для всех схем синтеза витамина А служит β -ионон.

β -Ионон в смеси с α -иононом получают в парфюмерной промышленности, где он имеет большое практическое значение как душистое вещество. В качестве исходного сырья для этих продуктов используется кориандровое масло, добываемое в большом количестве из кориандры (*Coriandrum sativum*).

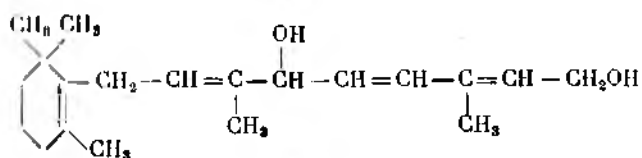
Большинство из многочисленных схем синтеза витамина А, предложенных до настоящего времени, имеют тот недостаток, что в них имеется аллильная перегруппировка, из-за которой под действием кислот двойная связь β -иононного кольца переходит в положение α -иононного кольца, сильно снижая при этом выход биологически активного продукта.

Наличие аллильной перегруппировки было показано в 1952 году Орошником с сотрудниками (Oroshnik, Kartmas, Mebane, 1952) на производных витамина А и промежуточных продуктах его синтеза и советскими исследователями (Левина, 1952; Назаров, Ракчесва и Шмоница, 1952) на простом примере диалкилвинилкарбинола. Под действием хлористого водорода диалкилвинилкарбинол претерпевает при дегидратации следующую аллильную перегруппировку:

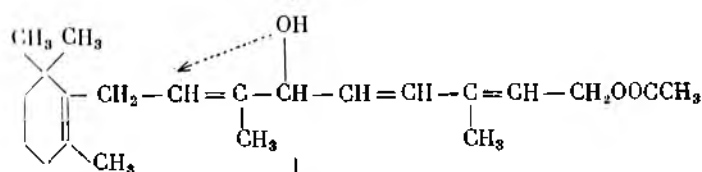


Из всех предложенных схем синтеза витамина А наиболее простой и устраняющей возможность возникновения аллильной перегруппировки с образованием α -иононного кольца является схема швейцарских химиков (Isler, Ronco, Guex, Hindley, Huber, Diaber, Koller, 1947, 1949). Приводим эту схему синтеза витамина А.

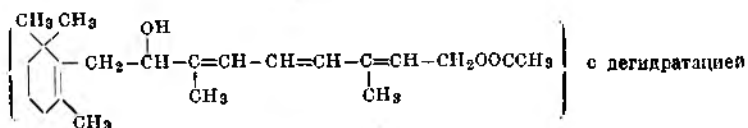
↓ Частичное гидрирование



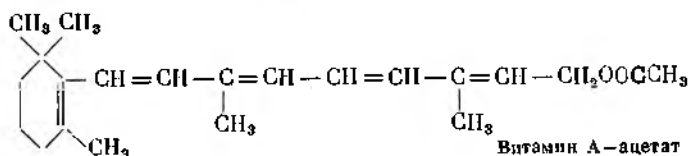
↓ Частичное ацетилирование



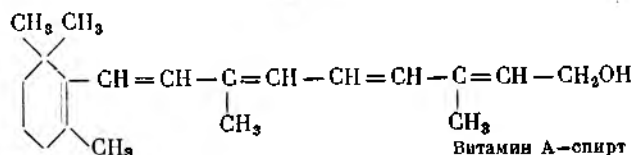
↓ Аллильная перегруппировка



↓

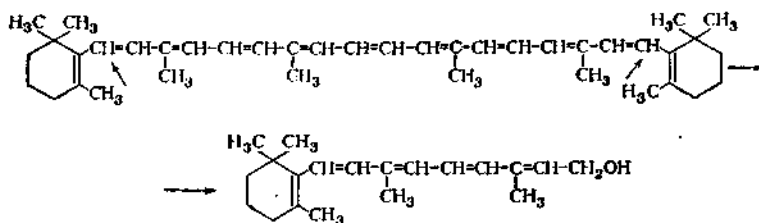


↓ Омыление



Превращение каротина в витамин А

Каротин не обладает активностью витамина А, но при действии системы фермент (известных под названием каротины) в животном организме он быстро превращается в витамин А и становится активным. Это превращение схематически можно было бы изобразить следующей реакцией:



Рассматривая строение молекул β -каротина и двух молекул витамина А, казалось бы, реакцию превращения β -каротина в витамин А можно считать как гидролитическое деление молекулы β -каротина по центральной двойной связи на две молекулы витамина А-алкоголя (как изображено на схеме). Однако, согласно физико-химической теории Цейхмейстера (Zeichmeister и др., 1943) и исследованиям Хунтера (Hunter, Williams, 1945), β -каротин каталитически окисляется в витамин А — альдегид.

Первоначальным местом действия фермента в молекуле β -каротина следует считать крайние двойные связи в прямой цепи (отмеченные на схеме стрелками). Дальнейшие исследования Гловера с сотрудниками (Glover, Goodwin, Morton, 1948) показали, что β -каротин в организме окислительно расщепляется в витамин А — альдегид, а последний легко восстанавливается в витамин А — спирт. Позднее Гловер (Glover, Redlearn, 1954) установил, что β -каротин, очевидно, первоначально подвергается β -окислительному расщеплению по крайней двойной связи с образованием соответствующего β -апо-12'-каротиналя (см. стр. 13 окисление каротина), последний вновь окислительно расщепляется по конечной двойной связи в β -апо-10'-каротиналь и такое ступенчатое отщепление продолжается до образования витамина А — альдегида. Последний, обладая метильной группой в β -положении к карбо-

нильной, в противоположность каротиналям, у которых метил стоит в α -положении и поэтому, согласно данным Вендлера (Wendler a. oth., 1950), не способен в организме к дальнейшему окислению и быстро восстанавливается в витамин А—спирт.

Подобное окислительное расщепление каротинов в витамине А не противоречит различным активностям каротинов, ибо оно может идти либо с одной, либо с другой стороны молекулы каротина. Поэтому при расщеплении одной молекулы β -каротина всегда будет образовываться одна молекула витамина А. При расщеплении же каротинов с одним β -иононным кольцом (α - или γ -каротин) всегда возможно образование из одной молекулы такого каротина, либо одной молекулы активного витамина А, или молекулы неактивного продукта. Поэтому биологическая активность таких каротинов будет ниже, чем β -каротина.

Согласно теории вероятности окислительное расщепление α -каротина возможно в одинаковой степени с обеих сторон молекулы. Поэтому в результате расщепления α -каротина должно образоваться одинаковое количество активного продукта с β -иононным кольцом, т. е. витамина А₁ и не активного продукта с α -иононным кольцом. Вследствие чего активность α -каротина будет равна примерно половине таковой β -каротина.

Подобный механизм превращения β -каротина в организме подтверждается рядом фактов: 1) из кишечника лошади были выделены и хроматографически идентифицированы все промежуточные β -апо-8¹, -10¹- и -12¹-каротины; 2) введение этих каротиналей А-авитаминозным крысам вызывает быстрое превращение их в организме в витамин А и выздоровление животных и 3) одинаковые количества по весу витамина А и β -каротина обладают разной биологической активностью—всегда витамин А в два раза активнее β -каротина.

Работами Друммонда (Drummond, Gilding, Mac Walter, 1934, 1935) было установлено, что каротин, введенный в кровеносную систему животных в форме водноколлоидного раствора, быстро переходит в витамин А и это превращение происходит главным образом в печени.

Однако Балаба в 1940 году показала, что превращение каротина в витамин А может происходить и в щитовидной железе под действием тиреоглобулина. При обработке

коллоидного раствора каротина препаратами йодированного казеина Капланский и Балаба (1946) отметили частичное превращение каротина в витамин А. Влияние йодированного казеина на это превращение идентично действию тиреоглобулина, которое обуславливает ферментативное превращение каротина в витамин А в ткани щитовидной железы. Оно имеет тот же оптимум рН (около 7,3) и инактивируется при кипячении. Наоборот, Лоури (Lowry, 1950) не удалось получить заметного превращения каротина в витамин А как йодированным казеином, так и гомогенатами и срезами щитовидной железы. Однако данные Шанда (1956) ясно показывают стимулирующее действие тироксина на процесс превращения β -каротина в витамин А в тон-

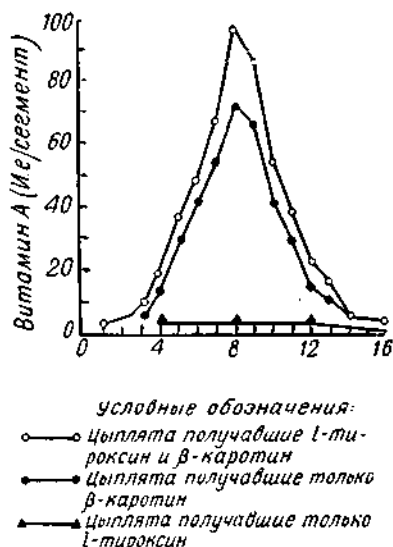


Рис. 1. Характер отложения витамина А в стенке отдела тонкого кишечника цыплят через четыре часа после приема 10 мг каротина в 1 г арахисового масла.

ком кишечнике цыпленка. Поэтому вопрос о превращении каротина в витамин А в щитовидной железе спорный. Скорее местом этого превращения служит стенка тонких кишок и, как указывает Шанда (Chanda, 1956), средняя ее область между 4-м и 12-м сегментами (рис. 1).

Это доказывается еще следующим. Через 1 час после введения каротина А-авитаминозным животным (крысе, свинье, цыпленку) в кишечной стенке у них обнаруживается значительное количество витамина А, тогда как печень еще бедна им и обогащается лишь по прошествии 3 часов после скармливания каротина. Валдман (1957) в своих опытах после скармливания А-авитаминозным цыплятам каротина обнаруживал витамин А в кишечнике уже через 20 минут, тогда как в печени он появлялся лишь

через 40 минут. Значение кишечной стенки подтверждается и опытами Рохлиной и Балаховского (1943), которые показали, что парентерально введенный каротин как и масляном, так и в водноколлоидном растворе «А-авитаминозного» действия на организм крысы не оказывал, тогда как те же дозы как водноколлоидного, так и масляного раствора каротина, введенные перорально, обнаруживали нормальное витаминное действие. Оказалось, что йодированный казеин, вызывающий гипертиреозидизм, способствует превращению β -каротина в витамин А — альдегид или ретинен и тормозит превращение ретинена в витамин А в стенке кишечника крысы (Cama, Pillai, Sundaresan, Venkateshan, 1957). Это доказывается тем, что внутримышечно введенный ретинен одинаково откладывается в печени в виде витамина А, независимо от скормливания йодированного казеина.

Наоборот, гипотиреоидное состояние, вызванное тиомочевой, стимулирует превращение ретинена в витамин А и тормозит превращение β -каротина в витамин А (Cama и др., 1957).

Однако работы Бири (Bieri, Clifford, Pollard, 1954) доказали, что образование витамина А из внутривенно введенного каротина не нарушалось у крыс после удаления у них тонкой кишки, почек, или 60—75% всей печени, а также и после устранения желчного протока. Поэтому в настоящее время следует считать, что переход каротина в витамин А происходит в различных органах (печени, кишечной стенке, щитовидной железе, крови и т. д.) и что желчь не имеет существенного значения в этом превращении.

В 1942 году Стэнбок с сотрудниками (Lease, Krase, Steenboc, Baumann, 1942) нашли, что каротин не переходит в витамин А, если он вводится парентерально в водно-коллоидном растворе. То же самое было получено и в опытах Рохлиной и Балаховского (1943).

Однако, как выяснилось позднее (Fomarelli, Charney, Bernhart, 1946; Eaton, Mattenson, Decker, Helmboldt, Jungherr, 1951; Kowalewski и др., 1951) степень превращения парентерально введенного каротина в витамин А зависит от состояния дисперсности водно-коллоидного раствора. Сильно диспергированная водно-коллоидная суспензия вполне пригодна для парентерального введения.

Клинические проявления недостаточности витамина А

Мы не будем здесь рассматривать А-авитаминоз различных животных, а только опишем вкратце последние данные Мортон и его школы, А-авитаминозы у двух разных организмов, именно у крыс и домашних птиц, а также симптомы недостаточности витамина А у телят.

А-авитаминоз крыс. В 1913 году Мак Коллум (Mac Collum, Davis, 1913) и Осборн и Мендель (Osborn, Mendel, 1913) показали, что отсутствие витамина А в диете вызывает у крыс задержку роста и ксерофтальмию. С тех пор много исследований было проведено в области механизма действия витамина А в зрительном аппарате (см. стр. 43), но все же механизм действия витамина А в целом остался еще не ясен. Даже клиническая картина А-авитаминоза у разных животных начинает выясняться лишь в последние годы.

С момента перевода растущих крыс на диету с недостатком витамина А начинало падать содержание витамина А в печени и по прошествии трех недель оно достигало минимальной величины. В то же время содержание витамина А в крови к этому времени упало только с 11,2 до 10,4 мг%. Однако это содержание начинало быстро падать по прошествии 3½ недель, когда печень уже была истощена запасами витамина А, и достигало нуля к 5-й неделе опыта. Одновременно с падением витамина А в крови начинало понижаться содержание родопсина в пигментном эпителии сетчатки и при этом в палочковом аппарате, наиболее чувствительном к сумеречному зрению. По прошествии 6 недель на диете, лишенной витамина А, когда содержание родопсина в сетчатке понизилось до 50%, начинало падать содержание опсина. С падением опсина было связано начало структурных нарушений сетчатки. Когда содержание опсина понизилось до 50%, что обычно соответствовало концу 8-й недели опыта, отмечались глубокие дегенеративные изменения всей сетчатки с нарушением слоев и разрывом кровеносных сосудов. Ранее таких изменений не наблюдалось (Dowling, Wald, 1958). Одновременно с падением родопсина у опытных животных обнаруживалась ночная слепота (куриная слепота, или геминопсия) и повышался предел зрения, притом пропорционально падению родопсина (Dowling, Wald, 1958). Введение витамина А животным с полной ночной

сменотой быстро восстанавливало зрение, стимулировало рост и содержание витамина А в печени. Транс-изомеры витамина А немедленно восстанавливали зрение, а нео-В (II-cis)-изомер обнаруживал вначале некоторый период отставания, очевидно необходимый для изомеризации в транс-форму, а затем действовал так же, как транс-изомеры.

По прошествии 6—7 недель на диете, лишенной витамина А, крысы обнаруживают сильную потерю в весе. При гистологических исследованиях (Heaton, Lowe, Morton, 1957) органов таких животных нашли желтые печени с небольшими поверхностными желваками. Жировая инфильтрация распространилась в средних и периферических участках печени. Липоиды относились к нейтральным жирам, захватывали паренхиматозные клетки и не откладывались в купферовских. Почки были серовато-зелеными с поверхностными узелковыми утолщениями и резкой жировой инфильтрацией (нейтрального жира). Почки заболевали у крыс даже в ранних стадиях А-авитаминоза, т. е. еще со слабой ксерофтальмией и нормальной печенью.

У 30% А-авитаминозных крыс обнаруживались сильно раздутые желудки, а у 15% А-авитаминозных крыс также и раздутые мочевые пузыри. Это происходило вследствие закупорки пилорического сфинктера и выхода мочеиспускательного канала.

В противоположность прежним исследованиям, инфекция подчелюстной железы охватывала только 1,5% А-авитаминозных крыс.

Исследования неомыляемой фракции различных органов А-авитаминозных крыс при сравнении с контролями обнаруживали резкое накопление в печени липоидных веществ неуставленной природы и названных Мортонем (Heaton, Lowe, Morton, 1955, 1957) веществами SA и SC. Более слабое накопление вещества SA в подчелюстной железе и желудке и вещества SC—в тонком кишечнике. Содержание 7-дегидрохолестерина понижалось в тонком кишечнике и повышалось в мочевом пузыре и коже вокруг глаз.

А-авитаминоз у домашней птицы (кур). Симптомы недостаточности у молодых цыплят. Однонедельные цыплята, получавшие корма, лишенные витамина А, нормально росли, но по прошествии



Рис. 2. Симптомы А-авитаминоза у утку.

18—20 дней у них обнаруживалась слабость ног. При этом вес птиц продолжал повышаться и аппетит не падал. Через 6 дней после появления слабости ног цыплята гибли от атаксии без каких-либо признаков ксерофтальмии. Гистологические исследования обнаружили повреждения только в почках. Почка оказывалась бледными с обильным отложением солей мочевой кислоты в канальцах (Lowe, Morton, Cunningham, Vernon, 1957).

Симптомы недостаточности
в зрелой птицы. Шестнадцатидельные цыплята и курочки получали корма, лишенные витамина А. По прошествии 7 недель у цыплят начались неврологические симптомы: они издавали звуки, напоминающие бульканье во рту, взмахивали крыльями, дыхание затруднилось, цыплята падали (рис. 2). Через 30 секунд припадки проходили и птицы поправлялись, через 5 минут слабость ног проходила и они уже клевали корм. Ни одна курица не имела подобных припадков. Как показано на рисунке 3, у кур наблюдалась слабость ног и часто их находили сидящими и склонившимися к краю клетки. Они также опирались на свои крылья. К этому моменту аппетит кур падал. Несколько позже к подобной атаксии присоединялась и анорексия.

У птиц обоих полов при недостатке витамина А обнаруживают белые участки в трахее, представляющие собой многочисленные чешуйчатые эпителиальные клетки слизистой оболочки. Присци в пищеводе являются пред-

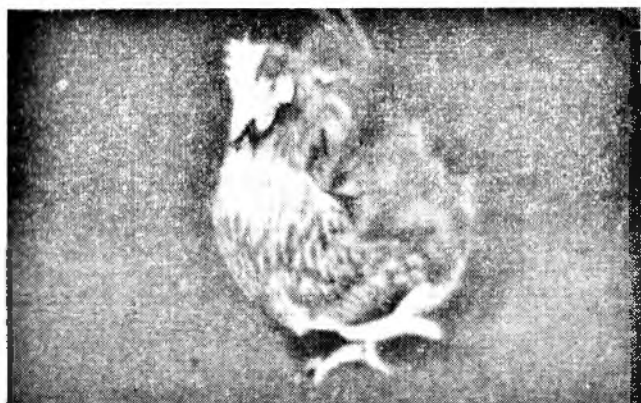


Рис. 3. Курочка с признаками А-авитаминоза.

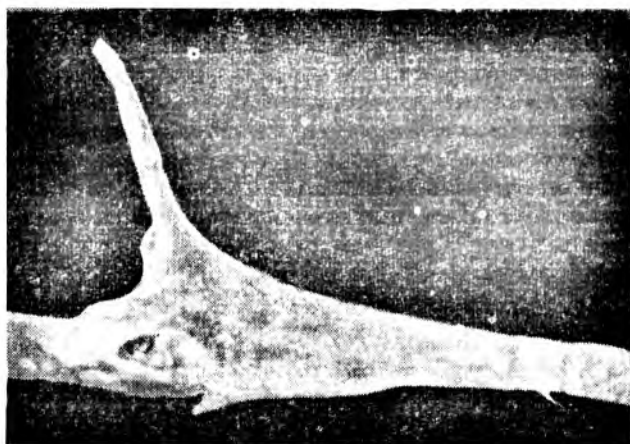


Рис. 4. Пищевод взрослого петуха при недостатке витамина А.

смертным симптомом и характерны для петухов (рис. 4). Предсмертные симптомы: слизь в носовом синусе, дегенерация век глаз с накоплением сырообразного вещества под веками (Lowe и др., 1957).

Петушки с недостатком витамина А имели очень малый гребень (рис. 5) и недоразвитые семенники, а куры

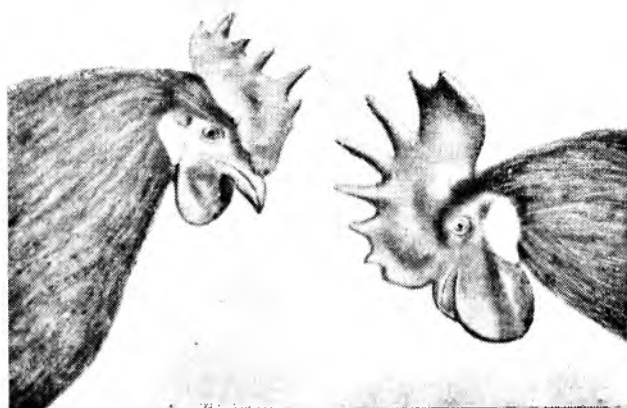


Рис. 5. Гребни здорового (справа) и А-авитаминозного петуха.

с недостатком витамина А—недоразвитые яичники и полное прекращение яйцекладки.

Гистологические исследования внутренних органов А-авитаминозных птиц обнаружили только резкие изменения в почках.

В таблице 4 отмечены вышеуказанные симптомы, которые встречаются у А-авитаминозных петухов и курочек (Lowe и др., 1957).

Таблица 4
Симптомы, наблюдаемые у кур, лишенных витамина А

Симптомы	Число случаев (в %)	
	петухи	курочки
Потеря аппетита	100	100
Припадки, сопровождающиеся затрудни- тельным дыханием	100	0
Слабость ног (непоспособность стоять) . .	33	83
Повреждения век глаза	50	33
Недоразвитость половых органов	100	100
Слизь, закладывающая носовой проход	50	33
Прыщи в пищеводе	83	50
Повреждение трахеи	100	66
Повреждения почек	100	100

В противоположность А-авитаминозным крысам исследование неомыляемой фракции печени как А-авитаминозных цыплят, так и взрослой птицы не обнаружило повышения веществ SA и SC. Подобное же исследование неомыляемой фракции других органов (печени, почек, кишечника, гортани, пищевода) А-авитаминозных цыплят и взрослой птицы по сравнению с контролями также не выявило каких-либо изменений в веществах SA и SC, общих стеринах и 7-дегидрохолестерина (Lowe и др., 1957).

В 1954 г. Вуллейм с сотрудниками (Lamming, Woollam, Millen, 1954) сообщили о стенозе мозгового ликворного протока и вследствие этого гидроцефалии при недостатке витамина А у птиц. Они отмечали (Woollam, Millen, 1955), что повышение давления цереброспинальной жидкости является ранним симптомом недостатка витамина А у цыплят. Очевидно, понижение содержания витамина А в плазме у петушков вызывает утолщение стенок мозгового ликворного протока. В результате этого повышается давление цереброспинальной жидкости, что влечет за собой проявление вышеуказанных неврологических припадков с кратковременной задержкой дыхания.

Гиповитаминоз А у телят. У телят гиповитаминоз А проявляется в заболевании органов дыхания, непрекращающемся поносе, вытекании гнойной жидкости из ноздрей, слезотечении и т. д. (Солун, 1944). Шерсть у таких телят взъерошена, держатся они понуро и всегда при этом наблюдается повышенный процент отхода. А-гиповитаминозное состояние коров в период стельности приводит к рождению нежизнеспособного потомства (Резевская, 1954).

Бист (Beat, 1957) отмечал следующие симптомы у телят, рожденных от коров, получавших недостаточно витамина А с кормом: облизывание, грубая шерсть, водянистые глаза, куриная слепота и опухшие ноги. Хотя пульс, температура и дыхание у таких телят были нормальными, большинство из них не могли подняться. Эти симптомы исчезали, когда телятам стали давать смесь витаминов (куда входил витамин А) и минеральных солей.

С другой стороны, венгерские исследователи (Romváry, Murányi, Kramer, 1956) нашли, что эндотелий у новорожденных телят от коров, получавших корма, бедные

витамином А, проникаем для инфекции (*Bacterium coli*), в результате чего новорожденные телята погибали. В сычуге, кишечнике и лимфатических узлах погибших телят нашли *Bact. coli*. Когда же коровам за 1½ месяца перед отелом стали давать хорошее сено и 4—5 кг моркови ежедневно, в которых содержалось от 45 до 166 мг каротина, все рождавшиеся телята были здоровыми.

Определение степени А-гиповитаминозного состояния у телят. Степень А-гиповитаминозного состояния телят, часто встречающегося в практике, может быть определена количеством недель, которые требуются для того, чтобы у телят, получающих рационы с недостатком каротина и витамина А, содержание витамина А в плазме крови понизилось до 4,0 мг/100 мл. Коэффициент колебания для этого определения 18,6%. Кроме того, степень истощения телят витамином А может быть определена по содержанию витамина А в плазме крови и в печени. Оказалось, что метод определения степени истощения по количеству недель более чувствителен, чем метод определения содержания витамина А в плазме крови телят, которые получали ежедневно дозы большие, чем 110 мкг каротина или 18 мкг витамина А. Указанный метод был также более чувствительный, чем определение по содержанию витамина А в печени у гиповитаминозных телят, получающих ежедневные дозы большие, чем 126 мкг каротина или 22 мкг витамина А (Teichman a. oth., 1957).

Биологическое значение витамина А

Окислительно-восстановительные свойства. В растение роль витамина А выполняет каротин. Каротин, по-видимому, принимает участие в регуляции окислительных процессов в растительной клетке. Это подтверждает наличие оксидазы каротина в растениях (Курсанова, 1938) и торможение каротином в растительных клетках каталитического окисления аскорбиновой кислоты аскорбино-оксидазой (Балаховский, Дроздова, Федорова, 1952). Очевидно, между этими двумя системами аскорбиновая кислота—аскорбино-оксидаза и каротин—каротин-оксидаза есть равновесие, которое и имеет значение в окислительных и дыхательных процессах в растениях. О взаимосвязи между витаминами А и С в животном

организме имеется большое количество работ и большинство из них (Мацко, Графская, Завадовская, 1946; Pirie, Wood, 1946; Mayer, Krehl, 1948; Morehouse, 1952; Eaton и др., 1952) доказывают, что при недостатке у животных витамина А содержание витамина С в органах падает и развиваются типичные симптомы скорбута. Следовательно, и в животных тканях активность аскорбин-оксидазы тормозится витамином А. С другой стороны, связь каротина с хлорофиллом в зеленых органах растений и поглощение им голубых и ультрафиолетовых лучей (Кирсанова, 1944) указывает на участие каротина в фотосинтезе (Балаховский и др., 1952).

Балаховский с сотрудниками (Балаховский и Троицкая, 1952; Дроздова и Балаховский, 1952) показали, что каротин и витамин А способны активировать как молекулярный, так и перекисный кислород и тем самым способствуют окислительным превращениям в организме. Позднее Дроздовой и Балаховским (1955) было доказано, что эта активация наивысшая у каротина и понижается по мере сокращения боковой цепи и уменьшении числа сопряженных двойных связей.

Наличие β -ионного кольца также повышает способность активировать кислород. Однако насколько эта активность связана со специфической витаминной остается еще не ясным.

Роль витамина А в животном организме исключительно велика. Витамин А необходим всем животным как низшим, так и высшим (млекопитающим). Недостаток витамина А в пище вызывает, кроме задержки роста (свойство, присущее большинству витаминов), еще и специфические ему симптомы, из которых главный—нарушение зрительного аппарата.

Так называемая куриная слепота обычно сопровождается кератомализией, часто встречающейся у детей до 5-летнего возраста. Только те случаи кератомализии, при которых развиваются симптомы куриной слепоты, относятся к заболеванию А-авитаминовой недостаточности (Sen, 1954). Поэтому мы подробно остановимся на изложении биохимических процессов зрения, в которых участвует витамин А.

Участие витамина А в зрении. Черкес с сотрудниками в 1950 году указали, что пигментный ретинит, который возникает на почве А-авитаминовой недостаточности, может

быть значительно ослаблен (улучшаются поле зрения и темновая адаптация) введением витамина A_1 . Воинова (1950) в дальнейшем получила еще лучшие результаты одновременным введением с витамином A_1 и никотиновой кислоты как сосудорасширяющего фактора, улучшающего поступление витамина А в сетчатку глаза. Петровская методом люминесцентной микроскопии обнаружила витамин А в палочковом аппарате пигментного слоя сетчатки светоадаптированного глаза и отсутствие его в глазе, адаптированном к темноте. Она также установила, что содержание витамина А в палочковом аппарате у новорожденных животных (крысят) связано с поступлением витамина А в организм и открытие глаза у них может быть ускорено длительным введением витамина А.

При экстракции петролейным эфиром из сетчатки (ретины) животных и морских рыб, Уэйльд (Wald, 1937, 1938) в 1937 году получил новый каротиноид, который он назвал ретиненом. Этот ретинен оказался, как было доказано позднее, витамином A_1 —альдегидом, а ретинен, выделенный тем же исследователем из сетчатки пресноводных рыб, оказался соответственно витамином A_2 —альдегидом.

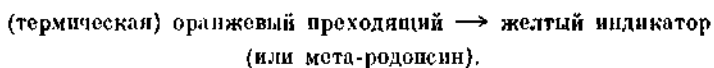
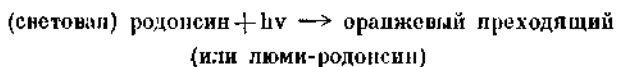
Сетчатка пресноводных рыб имеет пурпуровую окраску, а морских рыб и большинства высших животных она ярко-красного цвета. Это доказывается тем, что у первых зрительный пурпур, или порфиросин, имеет максимум поглощения в области 522 м μ , а у вторых зрительный пурпур, или родопсин,—максимум более сдвинутый в фиолетовую область, т. е. 500 м μ . При освещении порфиросина освобождается ретинен₂ (витамин A_2 —альдегид), а при освещении родопсина—ретинен₁ (витамин A_1 —альдегид).

Зрительный пигмент, порфиросин, характерен для позвоночных, живущих в пресной воде, а родопсин—для морских рыб и млекопитающих. Однако в сетчатке глаз некоторых видов лягушек (*Rana catesbiana*) и жаб (*Xenopus laevis*), а также некоторых рыб (морской миноги, речной форели, лососей) была найдена смесь обоих зрительных пигментов. У *Xenopus laevis* она составляла 70% порфиросина и 30% родопсина (Wald, 1955). У того же животного было найдено следующее отношение содержания витамина A_1 к A_2 : в сетчатке глаза = 5:95; в пигментном слое глаза 12:88 и в печени 68:32. Это указывает, что

в процессе своего развития в пресной воде у этого животного порфиросин был основным зрительным пигментом, но по мере дальнейшей жизни на суше и питания пищей, содержащей витамин A_1 , этот пигмент стал постепенно вытесняться другим зрительным пигментом, характерным для витамина A_1 , т. е. родопсином.

Зрительные пигменты родопсин и порфиросин содержатся в палочковом аппарате. Белки этих пигментов поэтому носят общее название скотопсин в отличие от белка фотопсина—пигмента, находящегося в колбочковом аппарате. Последний пигмент был найден в сетчатке птиц и назван йодопсином. Йодопсин—фиолетовый пигмент с максимум поглощения $\lambda = 562 \text{ м}\mu$. Оказалось, что витамин А йодопсина идентичен с витамином A_1 , родопсина и также связан со своей cis-конфигурацией. В зрительном аппарате птиц преобладает фотопсин колбочек над скотопсином палочек, содержащимся в сетчатке цыплят лишь в незначительном количестве.

В темноте витамин A_1 в сетчатке животных проходит ряд промежуточных стадий. Под действием алкоголь—дегидразы, витамин A_1 —алкоголь окисляется в витамин A_1 альдегид (ретилен). Последний, подвергаясь ряду промежуточных превращений (желтый индикатор и оранжевый преходящий), под влиянием пигментного слоя (Bliss, 1951) соединяется с бесцветным протенином—скотопсином (Wald, 1950, 1951, 1953) и превращается в родопсин. Обратный процесс на свету протекает через те же стадии: родопсин, поглощая световую энергию ($h\nu$), превращается в оранжевый, а последний под действием тепла—в желтый индикатор. Обе реакции можно представить следующим образом:



При -70° оранжевый индикатор был вполне устойчив к интенсивному свету, но быстро обесцвечивался при нагревании до комнатной температуры (Collins, Morton, 1950). Дальнейшее превращение желтого индикатора

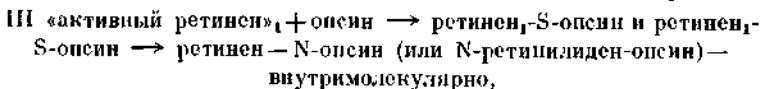
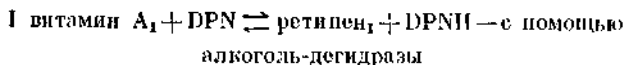
в области 500 мμ (Collins и др., 1954). Последний образуется в результате смещения максимума ретинена в область 385 мμ при связывании его с опсином. Хотя, как указывали Уэйльд и Браун (Wald, Brown, 1952), ретинен связывается с опсином через его SH-группу, эта связь сейчас же претерпевает внутримолекулярное перемещение в связь через посредство атома азота. Поэтому превращение родопсина в желтый индикатор можно рассматривать как образование шиффова основания.

Обратное превращение ретинена₁ в витамин A₁—алкоголь происходит под влиянием ретинен-редуктазы, также присутствующей в сетчатке.

Подобное превращение происходит и с ретином₂ в порфиросине (Cama, Dalvi, Morton, Salah, 1952), желтый индикатор которого соответствует N-3-дегидроретинилиден-опсину (Morton, Pitt, 1955).

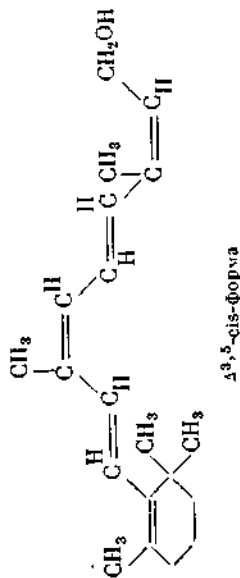
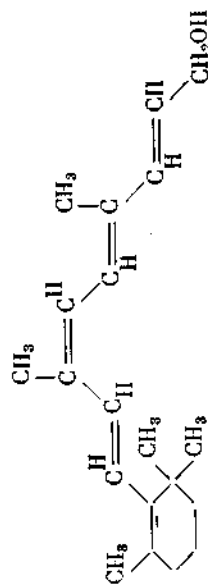
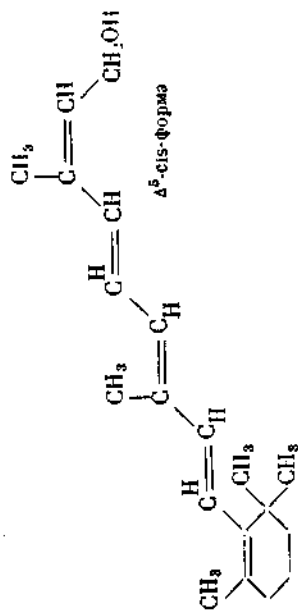
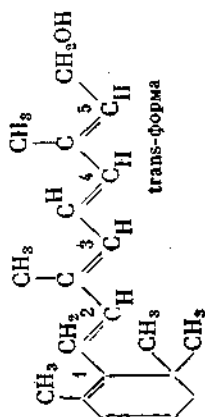
Образование родопсина из добавленного витамина A₁—спирта удавалось воспроизвести в опытах *in vitro* с растертой сетчаткой глаза лягушки или крысы (Collins, Green, Morton, 1953) и быка (Collins, Green, Morton, 1954).

По прошествии 2-часовой инкубации при pH 7,4 и 37° примерно 62% добавленного витамина A₁ связывалось в родопсине. Ретинен₁ оказался таким же активным. Предварительное освещение светом витамина A₁, или ретинена₁, стимулировало регенерацию. Ресинтез родопсина протекал согласно следующим трем стадиям:



где DPN и DPNH представляют соответственно окисленный и восстановленный дифосфопиридиннуклеотиды (см. гл. 4).

Несколько раньше Хуббарт и Уэйльд (Hubbard, Wald, 1951) осуществили синтез родопсина *in vitro* в системе, состоящей из витамина A₁—алкоголя, дифосфо-



наридинпуклеотида, алкоголь-дегидразы и опсина. Однако в этом случае изомеразы отсутствовали и регенерация родопсина шла только с Δ^3 -cis-витамином A_1 .

Хуббард и Уэйльд (Hubbard, Wald, 1949, 1952, 1953) указывали, что из четырех известных в природе cis-trans-изомерных форм витамина A_1 активной для регенерации родопсина является только Δ^3 -cis-форма. Однако Коллинс с сотрудниками (Collins, Green, Morton, 1954) указывали, что для превращения витамина A_1 в родопсин требовалась его trans-форма.

Чтобы яснее представить себе trans-cis превращение витамина A_1 в процессе зрения, на стр. 48 изображены структурно все возможные trans-, cis-изомеры витамина A_1 . Двойные связи в них будем изображать цифрами с индексом Δ возрастающего порядка в зависимости от удаленности от β -иононного кольца.

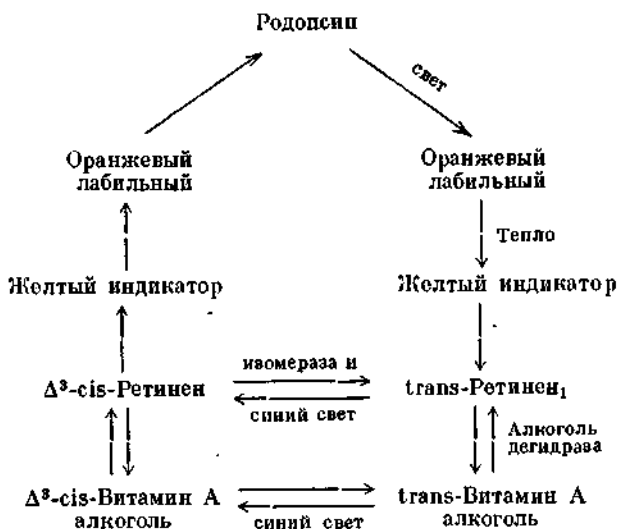
Очевидно, для превращения витамина A_1 в сетчатке глаза необходима стадия изомеризации под действием энзима-изомеразы и полученный «активный ретинен» является неустойчивой Δ^3 -cis-формой. Только эта cis-форма ретинена в момент ее образования способна соединяться с опсином при помощи его сульфгидрильной группы (Wald, Brown, 1952). Поэтому скотопсиновый протеин специфичен к Δ^3 -cis-изомеру ретинена. Изомеризация ретинена, также возможна сине-фиолетовыми лучами света, т. е. той областью спектра (385 м μ), которую он максимально поглощает в водном растворе.

Ретинен всегда освобождается из родопсина в trans-форме и может вступить в соединение с его опсином только после изомеризации в Δ^3 -cis-форму. Поэтому стадия (II) изомеризации ретинена, является необходимой стадией в зрительном процессе.

Алкоголь-дегидраза не специфична к изомерным формам витамина А. Более того, она даже не специфична и к самому витамину A_1 , ибо одинаково окисляет как этиловый спирт, так и витамин A_1 —алкоголь.

Весь биохимический цикл реакций в сетчатке, происходящий в процессе зрения, можно изобразить следующей общей схемой (см. стр. 50).

Те же стадии претерпевает порфириопсин в сетчатке пресноводных рыб и йодопсин в сетчатке птиц в процессе зрения, с образованием trans-ретинена₂ и trans-витамина A_2 .



В таблице 5 представлены спектроскопические данные систем витамина A_1 и A_2 в процессе зрения.

Таблица 5
Спектроскопическое сравнение систем витамина A_1 и A_2

Вещество	Про- теин	Витамин A_1 λ макс. (м μ)	Витамин A_2 λ макс. (м μ)
Витамин (алкоголь) . . .		325	351, 286
Окрашенный с $SbCl_3$ про- дукт витамина		620	693
Ретинен (витамин-альде- гид)		370	385
Окрашенный с $SbCl_3$ про- дукт ретинена		664	730—703
Родопсин	Скотопсин	500	
Порфиросин	Скотопсин		522
Желтый индикатор . . .		365, 440	380, 465
Ретинен, обработанный концентрированной H_2SO_4		450, 525, 570, 664	470, 525, 570
Иодопсин	Фотопсин	562	

Кератинизация и серный обмен. Кроме нарушения зрения, при А-авитаминозе были отмечены также и явления кератинизации. Кератинизация—нормальный биологический процесс, при котором цилиндрический эпителий превращается в плоский, а последний постепенно

ороговевает и превращается в чешуйки, которые отслаиваются от живых эпителиальных образований. Кератинизацией объясняют также и рост волос.

С другой стороны, как указывают Балаховский и Дроздова (1957), витамин А и каротины тормозят каталитическую активность меди окислять цистеин и аскорбиновую кислоту. Они считают, что витамин А тормозит активность катализатора кератинизации. При А-авитаминозе часто наблюдается сопутствующий скорбут, и надо полагать, что катализатор кератинизации обладает свойством разрушать аскорбиновую кислоту, а витамин А, наоборот, способен тормозить его так же, как тормозит каталитическую активность меди—разрушать аскорбиновую кислоту.

Флеш (Flesch, 1953), показал, что у кроликов и мышей витамин А обладает непосредственным локальным и, вероятно, неспецифическим антикератонизирующим действием на эпидермальные клетки вследствие наличия в его молекуле ненасыщенных связей. Подобная кератинизация наступает и в эпителии желез влагалища А-авитаминозных крыс. Оказалось (Kahn, 1954), что половой гормон—эстроген способствовал кератинизации эпителия. Это доказывалось ростом влагалищного эпителия молодых крыс в тканевой культуре с добавленным эстрогеном. Наоборот, добавление к нему витамина А предупреждало ороговение в отсутствие эстрогена и тормозило кератинизацию в присутствии последнего.

Очевидно, изменения, возникающие при кератинизации, связаны с нарушением обмена серусодержащих белков (кератина и др.). Это побудило Балаховского, Воскресенскую и Федорову (1954) исследовать распределение метионина меченого S^{35} в органах и тканях А-авитаминозных и контрольных крыс. Оказалось, что наибольшая радиоактивность обнаруживалась в почках и печени А-авитаминозных крыс, которая примерно в 1,5 раза превышала таковую контрольных крыс. В кишечнике, коже, мышцах и мозге радиоактивность у А-авитаминозных крыс превышала таковую контрольных на 11—20%, а в остальных органах (селезенке, сердце, легком и половых органах) была понижена на 3—13%. Причиной повышенного отложения радиоактивного метионина Балаховский считает пониженную способность А-авитаминозного организма окислять органическую серу в сульфат. Это пред-

положение оправдывается также и в другой работе (Dziewiatowski, 1954), показавшей, что при А-авитаминозе у крыс нарушается и использование костями (бедренной и берцовой) сульфата и фосфата, меченых соответственно S^{35} и P^{32} , для оссификации. Вследствие этого в сыворотке крови А-авитаминозных животных содержание сульфата повышено (2,5 мг%) и приходит к норме после введения им витамина А.

Фосфорный и липондный обмен. Одновременно с неспособностью использовать фосфат для кальцификации костей при А-авитаминозе отмечается накопление его в тканях. Последний частично идет на повышенный фосфоролиз гликогена, обнаруженный Леутским (Леутский, Бруславец, 1950) в печени, а частично на образование фосфатидов ненасыщенных жирных кислот, обнаруженных тем же автором (Леутский, Любович, 1954). Последнее протекает гораздо интенсивнее в тканях (печени, почках и мозге) А-авитаминозных крыс по сравнению со здоровыми.

Отложение ненасыщенных жирных кислот в составе фосфатидов зависит от повышенного окисления первых в тех же тканях при А-авитаминозе (Леутский, Любович, 1952); это подтверждается теорией Балаховского об окислительно-восстановительных свойствах витамина А.

Леутский и Любович (1955) нашли понижение содержания холестерина в печени, надпочечниках и в мозге крыс с недостаточностью витамина А, тогда как в почках оно оставалось неизменным. Так как основным местом синтеза холестерина являются надпочечники и печень, то при авитаминозе А нарушается синтез холестерина и понижается усвояемость, на что указывает повышенное выделение его с калом. Отмеченные рядом авторов (Zimmerman, Cowgill, 1936; Hart, Guilbert, 1937; Guilbert, Miller, Hughes, 1937) дегенеративные изменения в нервной ткани у А-авитаминозных животных возможно являются следствием прогрессирующих потерь холестерина в нервной системе (головном мозге).

Наоборот, скормливание крысам-самцам кормов, содержащих 2% холестерина, понижает отложение витамина А в печени как у молодых, так и у половозрелых самцов. Среднее снижение у молодых самцов составляет 46%, а у взрослых—16% (Green, Horner, Lowe, Morton,

1957). Подобного снижения витамина А в печени крыс с гиперхолестеринемией не оказывает.

Известно, что крысы-самцы обладают гораздо большей потребностью в необходимых ненасыщенных жирных кислотах. Одна из этих жирных кислот—линоленовая—оказалась основной кислотой холестеринавого эфира плазмы (Deuel, Alfin-Slater, Wells, Kryder, Aftergood, 1955; Pfefer, Holman, 1955). Это показывает, что избыточное введение холестерина с пищей вызывает недостаток в указанной жирной кислоте и одновременно вытесняет из печени витамин А, который откладывается там, вероятно, связанный эфирнообразно с той же жирной кислотой.

Связь с эндокринной системой. Существует взаимосвязь между гормонами надпочечных желез, в частности кортизоном, и обменом витамина А. Так, установлено, что кортизон понижает содержание витамина А в печени и почках у крыс и тормозит превращение β -каротина в витамин А (Clark, Colburn, 1955). Это торможение особенно велико при введении животному больших доз кортизона и малых доз β -каротина. В этих случаях содержание витамина А в печени быстро падает до нуля, тогда как содержание β -каротина постепенно возрастает. Предполагается, что подобная же активация гормонов коры надпочечников возникает от действия низких температур и тем объясняется, что крысы на А-авитаминозной диете на холоду скорее теряют свои запасы витамина А, чем те же крысы при комнатной температуре.

При введении небольших доз каротина или витамина А (70—96 мкг в день) гипотиреоидным крысам (гипотиреоз вызывается добавлением в пищу тиоурацила), у них в печени откладывалось больше витамина А, чем у контрольных крыс. Однако при увеличении дозы каротина в 20 раз (1500—2000 мкг в день) это различие исчезало. В то же время при всех дозах каротина содержание витамина А в почках гипотиреоидных крыс-самцов было всегда ниже, чем в почках контрольных крыс (Agrich, Morgan, 1954). Это повышенное отложение витамина А в печени гипотиреоидных крыс можно объяснить скорее пониженным обменом, а следовательно, и меньшим расходом витамина А, чем повышенным всасыванием и превращением каротина в витамин А. Подобное же повышение отложения витамина А в печени и понижение его в почках было отмечено у крыс на ограниченной по калорийности пище,

но содержащей достаточное количество каротина. В более поздних исследованиях (1955) на собаках—животных, более чувствительных к недостатку витамина А, те же авторы показали, что при гипотиреозе усвоение каротина не меняется, но содержание витамина А и каротина в циркулирующей крови значительно повышается.

Прекращение введения каротина в корм лактирующих коров вызывает у них повышение содержания спиртовой формы витамина А в молоке, одновременно отмечается полное исчезновение эфирной формы витамина А в крови таких коров (Chanda, Clapham, Owen, 1952, 1954). Парентеральные и пероральные введения тироксина коровам, получающим обычный корм, повышает содержание в крови как каротина, так и эфирной формы витамина А. Наоборот, тироксин, введенный цыплятам, повышает в основном спиртовую форму витамина А в крови и обеих форм (спиртовой и эфирной) витамина А в печени (Chanda, 1956). Введение тироксина лактирующим коровам повышает содержание витамина А—алкоголя в молоке (Chanda a. oth., 1954). Это объясняется переносом резервов витамина А из печени коровы в молоко, ускоренным тироксином, и превращением в молочной железе эфирной формы витамина А в спиртовую.

Внутривенное введение лактирующим козам каротина или витамина А не повышает содержание последнего в молоке (Mc. Gillivray, Thompson, Worker, 1956, 1957; Mc. Gillivray, Worker, 1957). Хотя сама молочная железа козы и коровы в слабой степени способна превращать каротин в витамин А, но она не может улавливать коллоидные частички каротина, в форме которых последний содержится в водных эмульсиях или дисперсиях, так как мембрана молочной железы непроницаема для коллоидных частичек каротина и витамина А.

Добавление каротина или витамина А в корм повышает оплодотворяемость и снижает самопроизвольные аборт у лошадей (Ocsag, Sreter, 1955), повышает процент оплодотворенных яиц у кур, а следовательно, и выводимость цыплят (Charlet-Lery, Francois, Leroy, 1953), а также и плодовитость у овец (Pierce, 1954). У кастрированных животных отмечается повышенное отложение витамина А в печени (Truscott, 1950, 1951, 1953).

Фармакодинамическое действие. Балаховским (1934, 1935, 1950) было доказано, что каротин и производные

витамина А обладают местными обезболивающими свойствами, не снижая при этом нервной проводимости. Воспользовавшись этим свойством, а также, как указывалось, и свойством ускорять эпителизацию тканей, применяли каротиновую мазь при ожогах. Позднее оказалось, что обезболивающее свойство каротина и производных витамина А связано с их антигистаминовым и антиацетилхолиновым действиями. Из всех производных наиболее активным оказался природный витамин А₁—альдегид или ретинол. Последний в разведении $5 \cdot 10^{-9}$ снимал 50% сокращений мышц, вызываемых гистамином или ацетилхолином. Это указывает, что фармакодинамическое свойство витамина А, очевидно, находится в какой-то связи с его специфической витаминной и кислород-активирующей активностями.

Обмен каротина и витамина А и их усвояемость

У некоторых животных (кролик, свинья, овца) каротин в крови не был найден, тогда как у человека, лошади, коровы каротин всегда содержится в сыворотке крови. Содержание каротина в сыворотке крови может служить показателем интенсивности снабжения животного каротином. При пище, богатой каротином, содержание последнего в сыворотке повышено, у лошади оно соответствует 37—130 мг%, а при бедном снабжении каротином оно понижено (3,1—12,5 мг%). Содержание витамина А в сыворотке находится в обратной зависимости с содержанием каротина. У лошадей содержание витамина в сыворотке достигает 9,1—16,5 мг% (Ocsag, Sreter, 1955). Малое содержание каротина в крови заставляет животное мобилизовать последний для отложения в виде витамина А.

В сыворотке крови здоровых людей содержание каротина колеблется от 50 до 200 мг% и содержание витамина А от 15 до 45 мг% (Ditfelsen, Stoa, 1954). При различных заболеваниях печени—органа, в котором откладываются запасы витамина А, содержание как каротина, так и витамина А в сыворотке меняется, даже при достаточном введении их в организм. При циррозе печени содержание каротина оставалось в норме, а содержание витамина А падало ниже 20 мг%. При желтухе и холецистите, наоборот, содержание каротина понижалось,

а витамина А оставалось в норме. При гепатите и при карциноме печени содержание витамина А и каротина было низким. Несколько более высокие данные содержания витамина А в крови (30—75 мг%) здоровых людей дает Рихерт (Richert, 1956). Максимальной нагрузочной дозой (насыщающей организм) он считает 150 000 и. е. витамина А, которая вызывает максимальное повышение витамина А в крови через 3—4 часа после введения. По прошествии 8—10 часов содержание витамина А в крови возвращается к норме.

При зимнем стойловом содержании коровы обычно получают недостаточно каротина и находятся на А-гиповитаминозном кормлении. Гаэко и Ландау (1958) изучали обмен витамина А и каротина у таких коров и нашли, что во время стойлового содержания, когда корма бедны каротином, выделение витамина А и каротина в молозиве менялось. В среднем такие коровы выделяют с молозивом в течение первого дня после отела 0,3—4,5 мг/л витамина А и 0,3—1,0 мг/л каротина. Затем содержание их постепенно падало и устанавливалось на 6—7-й день после отела. Содержание витамина А в сыворотке крови коров начинало падать за 3—4 недели до отела (с 0,114 мг/л), достигало минимума к 3—5-му дню после отела (до 0,039 мг/л), а затем повышалось и к 24-му дню после отела почти достигало исходного. В то же время содержание каротина в сыворотке крови оставалось как до отела, так и после отела постоянным.

Витамин А откладывается в печени. Однако при ежедневном введении крысам малых доз витамина А (до 30 и. е.) содержание его в почках (35—140 и. е.) становится выше, чем в печени (2,3—42 и. е.). При введении же больших доз (ежедневно около 2000 и. е.) содержание его в печени повышается до 49—3340 и. е., а в почках падает (9,9—17,1 и. е.) (Edev, Moore, 1950). На распределение витамина А во внутренних органах также оказывает влияние пол. В почках самцов витамина А гораздо больше, чем в почках самок, а в печени наоборот (Moore, Sharman, 1950). Самки также лучше сохраняют свои запасы витамина А в печени, чем самцы (Booth, 1950).

В крови витамин А в основном находится в форме спирта, а в печени он откладывается в форме эфира. Энзим, эстерифицирующий витамин А—спирт, был найден не только в печени, но и в других органах: в мышцах, под-

кожной ткани, почках и в пигментном эпителии сетчатки глаза (Krinsky, 1958). Очевидно, в других органах витамина А также откладывается в форме эфира.

При выращивании цыплят при пониженных температурах запасы витамина А в печени повышаются до 14,4 мг%. В печени цыплят, выращенных при обычной температуре, содержится до 10 мг% витамина А (Балдман, 1957).

Содержание витамина А в почках различных животных значительно колеблется. В почках козы и быка его содержится соответственно только 1,25 и. е. и 1,37 и. е. в 1 г, в почках свиньи 4,9 и. е., в почках собаки 11,7 и. е., курицы 12,7 и. е., а в почках кошки 98,5 и. е. в 1 г (Lowe, Morton, Vernon, 1957).

В моче витамина А был найден только у собак, где содержание его колебалось от 14,3 до 235,0 и. е. в суточной моче или 2,5—47,5 и. е. на 100 мл (Worden, Bunjan, Davies, 1955).

Однако у собак, страдавших нефритом и получавших пищу, богатую витамином, выделение витамина А с мочой сильно повышалось.

У людей, больных пневмонией, в моче также был найден витамин А в количестве 90—450 и. е. в 100 мл. Каротин в моче не был обнаружен.

Содержание каротина в кале животных является характерным показателем усвояемости его.

Усвояемость человеком каротина моркови давно изучалась многими авторами (Eriksen, Hoygaard, 1941; Kreula, Virtanen, 1939, 1941, 1947, 1950; Leonhardi, 1947). Были получены довольно сходные результаты. Оказалось, что каротин сырой цельной или грубо растертой моркови плохо усваивается и 95—100% его выделяется с калом. Тонкость растирания повышает усвояемость каротина моркови и процент выделения его с калом понижается до 80—90%. Так же примерно усваивается каротин морковного сока. Хум и Кребс (Hume, Krebs, 1949) нашли, что лучше усваивается каротин консервированной моркови, при этом с калом выделяется 44—76% каротина. Еще лучше усваивается каротин моркови, тонко растертой с оливковым маслом. В таком случае процент выделения каротина с калом составлял только 30—50 (Kreula, 1947, 1950). Наоборот, каротин сухой моркови почти совсем не усваивается и часто выделяется с калом (Krebs, 1950). Варка моркови немного повышает усвояемость

содержащегося в ней каротина, и поэтому в кал переходит от 81 до 98% каротина.

То же следует сказать и об усвояемости каротина в других овощах (шпинате, томате). Из всех овощей лучше всего усваивается каротин свежего желтого картофеля: с калом выделяется только 53,8% каротина, а примерно половина его усваивается (James, Hollinger, 1954). В таблице 6 показана усвояемость каротина различных овощей.

Таблица 6

Усвояемость человеком каротина различных овощей
по выделению последнего с калом

Наименование продукта	Выделено каротина (в % от съоруженного с данным продуктом)	Литературный источник
Морковь сырая грубо растертая	95 99	(Kreula, Virtanen, 1939) (Eriksen, Hoygaard, 1941)
Морковь сырая тонко растертая	80 90	(Kreula, Virtanen, 1939, 1941) (Kreula, 1950)
Морковь вареная	81	(Eriksen, Hoygaard, 1941)
Морковный сок	87—90	(Kreula, 1950)
Морковь сухая	100	(Kreula, 1950)
» консервированная	44—76	(Hume, Krebs, 1949)
» растертая в оливковом масле	43	(Kreula, 1947, 1950)
Шпинат сырой	55	(Eriksen, Hoygaard, 1941)
» »	100	(Kreula, 1950)
» вареный	42	(Eriksen, Hoygaard, 1941)
» консервированный	57—59	(Hume, Krebs, 1949)
Свекла сырая	92	(Leonhardi, 1947)
Томат сырой	43—82	(Kreula, 1950)
Мука из сена	93—100	(Kreula, 1950)
Картофель сырой или вареный	53,8	(James, Hollinger, 1954)

Однако по количеству каротина, выделяемого с калом, нельзя судить об усвоении его. Каротин моркови в большем количестве выделялся с калом, чем перорально вводимый в масляном растворе, однако процент каротина, превращенного в витамин А, в первом случае был более высоким, чем во втором. Это доказывало более высокое

содержание витамина А в печени, почках и сыворотке крови крыс после введения пм каротина моркови по сравнению с каротином, вводимым в масляном растворе (Kramer, Tarjan, 1958).

На усвояемость каротина влияет состав корма. При всех равных условиях замена белка в корме, например казеина или зеина, на лактальбумин или глютеин повышает на 30—75% выделение каротина с калом и понижает отложение его в печени. В печени крыс, получавших в качестве белка казеин, содержалось примерно в 2—5 раз больше витамина А, чем в печени крыс, получавших корма равной калорийности и с одинаковым содержанием общего азота, фосфора и каротина, но с заменой казеина лактальбумином глютеином или зеином (James, Elgindi, 1953). Это указывает, что характер протеина влияет на усвояемость каротина. Казеин по сравнению с злаковыми протеинами, вероятно, обладает большей способностью образовывать с каротином и витамином А комплексы, в форме которых он транспортируется с кровью к печени (Ganguly и др., 1952; Троицкий, Тарасова, 1950, 1955). Это предположение подтверждается более высоким содержанием витамина А в крови крыс, получавших каротин с молочными протеинами, чем в крови крыс, получавших каротин со злаковыми. Характер жира также влияет на усвояемость каротина. Из трех исследованных растительных масел: соевого, арахисового и кунжутного—значительно лучше каротин усваивается с кунжутным маслом, несмотря на то что оно содержит несколько меньше токоферола и каротина, чем соевое (Chou, Marlatt, 1953). Указывалось (Kramke, Lloyd, Fritz, 1952), что лецитин соевых бобов, не повышая стабильности каротинов в диете, улучшает их усвояемость. Однако, как показали другие исследования (Guerrant, Thompson, 1952), это свойство лецитина соевых бобов следует скорее приписать наличию в нем каротиноидов, которые хорошо усваиваются и переходят в животном организме в витамин А.

У овец, страдающих недостатком витамина А, использование каротина нарушено (Diven, Ervin, 1958). Поэтому в корм таким овцам следует вводить рыбий жир или препарат витамина А. В этом случае более эффективен витамин А в форме спирта, чем в форме эфира.

Способ терапевтического введения витамина А. Сельскохозяйственным животным, страдающим от недостаточ-

ности витамина А, необходимо его вводить. Какой же способ введения является наиболее эффективным? Кристенсен с сотрудниками (Christensen, Engelund, Terp, 1958) показали, что внутримышечное введение витамина А в масляном растворе крысам и свиньям вызывает очень медленное рассасывание его и поэтому только очень слабо повышает отложение в печени. Наоборот, внутримышечное введение той же дозы витамина А в виде водной дисперсии тем же животным вызывает быстрое рассасывание и примерно такое же отложение в печени, как и при пероральном введении той же дозы масляного раствора витамина А. Однако в профилактических опытах на крысах однократная доза 100 и. е. витамина А в масляном растворе, введенная внутримышечно, вследствие своего длительного удерживания более эффективна, чем та же доза, введенная перорально или внутримышечно в виде водной дисперсии (Christensen, Engelund, Terp, 1958). Крысы, получившие 100 и. е. масляного раствора витамина А внутримышечно, будучи на А-авитаминозной диете, выжидали в среднем 99 дней, прибавляли 67 г по истечении 9 недель и заболевали умеренно тяжелой ксерофтальмией только по прошествии 18 недель. Крысы же, получившие ту же дозу витамина А перорально или внутримышечно в виде водной дисперсии, жили 68—69 дней, прибавляли в течение 9 недель 36—38 г и заболевали более тяжелой ксерофтальмией в конце 10-й недели. Другое дело при терапии авитаминоза А, когда необходимо быстрое действие витамина А. В этих случаях, как показывают опыты Кристенсена (Christensen, Engelund, Terp, 1958) на крысах с явными признаками авитаминоза А, доза 100 и. е. витамина А действует одинаково, будет ли она введена внутримышечно в масляном растворе или в виде водной дисперсии. В хозяйствах в профилактических целях более эффективно однократное внутримышечное введение скоту масляного раствора витамина А.

При терапевтическом применении препаратов витамина А следует учитывать, что более эффективно он усваивается при пероральном введении в виде водной дисперсии, чем в масляном растворе (Jacobson, Allen, Blake, Homeyer, 1954). Водную дисперсию витамина А готовят, тщательно взбалтывая с молоком несколько капель масляного раствора витамина А. Такая среда имеет и другое преимущество, а именно—наличие антиоксидантов (ви-

гаминна Е и др.) в молоке предохраняет витамин А в кишечнике от разрушения.

Количество витамина А в молоке и масле находится в зависимости от содержания каротина в кормах. В зимнее время, при стойловом содержании коров, они получают меньше каротина с кормами и содержание витамина А в молоке падает. Это падение достигает максимума во второй период стойлового содержания (январь—май), когда витамина А в молоке только 0,18—0,22 мкг/л. Наоборот, в летние и осенние месяцы при пастбищном корме, богатом каротином, содержание витамина А в молоке повышается до 0,32—0,44 мкг/л с максимумом 0,44 мкг/л в ноябре (Давидов, 1958).

В весенние месяцы (март—май) при стойловом содержании коров молоко содержит примерно в два раза меньше витамина А, чем в пастбищный период. Давидову, Гулько и Ермаковой (1956) удалось повысить содержание витамина А в весеннем молоке до 0,35 мкг/кг добавлением в корм коров на стойловом содержании 15 кг подсолнечного силоса в сутки.

По данным Ездаковой (1958), через несколько дней после перевода коров на зеленый корм, состоящий из озимой ржи, овса, клевера, вико-овсяной смеси и турнепса, содержание витамина А в молоке повышалось от 0,237 до 0,421 мкг/л, а каротина от 0,058 до 0,161 мкг/л.

Наибольшее содержание витамина А и каротина в молоке было в июле, когда коров кормили в основном клевером и вико-овсяной смесью.

При скормливания кукурузного силоса содержание витамина А и каротина в молоке больше, чем при скормливания подсолнечникового, соответственно 0,293 мкг/л против 0,245 мкг/л и 0,23 мкг/л против 0,164 мкг/л (Ездакова, 1957, 1958).

На содержание витамина А и каротина большое влияние оказывает порода скота. Так, молоко коров джерсейской породы особенно богато витамином А и каротином. Оно почти в три раза богаче витамином А, чем молоко коров остфризской породы, хотя удой молока последней выше, чем коров джерсейской породы. Поэтому скрещивание животных джерсейской породы со скотом жидкомолочных пород имеет большие перспективы, ибо оно повышает содержание витамина А и каротина в молоке, не снижая при этом удой. В таблице 7 приведены данные

о содержании витамина А и каротина в молоке коров разных пород по месяцам.

Таблица 7

**Содержание витамина А и каротина в молоке
коров разных пород в мкг/л**

Порода	Совхоз «Горня Ленинские»								
	февраль			апрель			июль		
	удой (в кг)	витамин А	каротин	удой (в кг)	витамин А	каротин	удой (в кг)	витамин А	каротин
Джерсей	8	565	222	8	472	102	9	646	391
Помеси (джерсей × ост-фризы)	12	498	182	11	438	91	13	598	335
Остфризы	25	215	137	26	200	36	21	404	245

Продолжение

Порода	Совхоз Камышинской области					
	март			май		
	удой (в кг)	витамин А	каротин	удой (в кг)	витамин А	каротин
Джерсей	8	405	142	6	281	133
Помеси (джерсей × остфризы)	14	185	70	10	235	136
Остфризы	10	Следы	42	10	Следы	63

При переводе коров с рационов, богатых каротином, на рационы с низким содержанием каротина содержание витамина А в молоке падает не сразу. Так, после двухмесячной дачи ежесуточно на голову дойным коровам кормов с содержанием 3,33 мг витамина А (концентрат витамина А и каротин корма) содержание витамина А в молоке достигало 1,01 мг/кг. После прекращения дополнительной дачи витамина А (концентрата витамина) молоко коров через 1½ месяца еще содержало 0,39 мг витамина А в 1 л, а в молоке коров контрольной группы

содержалось 0,195 мг/л (Давидов, Гулько, Ермакова, 1956).

Скармливание концентратов витамина А дойным коровам быстрее и эффективнее повышает содержание витамина А в молоке.

В молозиве свиней, коз, кобыл и овец содержится только витамин А, в молозиве же коров на долю каротина приходится около 20% всей А-витаминной активности. Следует скармливать стельным коровам концентрат витамина А для обогащения им новорожденного молодняка. При достаточном потреблении витамина А значительно повышаются запасы его в печени новорожденных козлят и телят, что делает их более устойчивыми к авитаминозам.

Следует отметить, что молодняк всех сельскохозяйственных животных даже в условиях полноценного кормления маток рождается с небольшими запасами витамина А.

Содержание витамина А в яйцах. Витамин А откладывается в основном в желтке яиц. Содержание витамина А в куриных яйцах зависит от содержания витамина А в кормах и от сезона года. Наиболее богаты витамином А весенние яйца от кур, получавших с рыбьим жиром 800 и. е. витамина А на 100 г рациона. В 1 г желтка таких яиц содержалось около 4,6 мкг витамина А. Яйца, снесенные летом и осенью, содержали меньше витамина А, т. е. 2,73—3,11 мкг в 1 г желтка (Bandemer, Evans, Davidson, 1958).

Опыты по применению каротина и витамина А в животноводстве

Действие каротина и витамина А на продукцию молока и оплату корма. Из опытов Лапшина (1957), проведенных на коровах в совхозах «Коммунарка» (1-й опыт), «Путь новой жизни» (2-й опыт) Московской области, следует, что дача богатых каротином кормов или кристаллического витамина А повышает удой молока на 10—17%, содержание в молоке витамина А, оплату корма, а также позволяет получить крупный и здоровый молодняк. В таблице 8 приведена схема опытов по оплате корма и содержанию каротина и витамина А в молоке коров в зависимости от витаминной активности кормов.

Таблица 8

Опыт	Группа	Всего кормовых единиц (в кг)	Переваримого белка (в г)	Содержание каротина в кормах, поступающих в суточное количество (в мг)	Добавлялось каротина в кормах, поступающих в суточное количество (в мг)	Остаток каротина в кормах, поступающих в суточное количество (в мг)	Живой вес (в кг)	Затрачено на 1 литр 4%-ного молока		Содержание в 1 литре молока	
								кормовых единиц	переваримого белка (в г)	каротина (в мг)	витамина А (в мг)
1	I	14,4	1518	380	—	380	601	1,20	127	0,086	0,115
	II	14,5	1499	670	—	670	—	1,03	106	0,140	0,202
	III	14,4	1518	380	160	700	—	1,07	114	0,113	0,233
2	I	16,0	1916	370	Нет	370	551	0,89	107	0,085	0,120
	II	16,0	1916	370	200	770	564	0,79	95	0,095	0,200
	III	16,0	1916	370	400	1170	559	0,80	97	0,083	0,252

Потребность в витамине А

Потребность в витамине А является условной величиной и сильно колеблется в зависимости от состава кормов и внешних условий. Так, при понижении температуры окружающей среды ниже $+10^{\circ}$ и повышении выше $+30^{\circ}$, а также при беременности и лактации потребность в витамине А повышается. Здесь мы даем литературные данные потребности в витамине А различных животных и человека при средних нормальных условиях питания, внешней среды и физиологического состояния.

Ежедневная потребность в витамине А цыплят 8-недельного возраста выражается 1000 и. е., индюшатам того же возраста требуется в 2—4 раза больше витамина А (2000—4000 и. е.) (Труфанов, Голяркин, 1952).

Ежедневная потребность в каротине сухостойных коров, по Юдиной, 120 мг (Калмыков, Пушкарева, 1951), а для стельных коров, по Попандопуло, 125—175 мг.

Минимальная суточная потребность человека в витамине А или каротине выражается:

а) взрослому человеку или детям от 7 лет требуется 3300 и. е., или 1 мг витамина А, или 2 мг β -каротина;

б) беременной (5—8 месяцев) женщине требуется 6600 и. е., или 2 мг витамина А, или 4 мг β -каротина;

в) кормящей до 7 месяцев матери требуется 8300 и. е., или 2,5 мг витамина А, или 5 мг β -каротина.

Обычное снабжение крупного рогатого скота и овец витамином А за счет содержащегося в сене и кормах недостаточно, особенно в зимнее время при стойловом содержании, поэтому рекомендуется дополнительно вводить им в корм витамин А. Так, каракулевые ягнята для хорошего развития должны еженедельно дополнительно получать 1500—2500 и. е., а взрослые овцы 3500—5000 и. е. витамина А (Тен, 1950). То же следует отметить и в отношении телят. Лечебная парэнтеральная доза витамина А при пигментном ретините (Черкес, Авсрбах, Яковлева, 1950) равна 50 000 — 100 000 и. е. Эта доза улучшает нарушенное поле зрения и явления дезадаптации у больного пигментным ретинитом.

Минимальная суточная потребность поросят равна 6 мкг витамина А на 1 кг веса тела. Если поросят содержали некоторое время на кормах, бедных витамином А, то для восстановления нормального содержания вита-

мина А в плазме крови нужно ежедневно давать 12 мкг и для отложения запасов витамина А в печени 18 мкг на 1 кг веса тела (Shelly, Drouliscos, Loosly, Willman, 1954).

Таблица 9

Суточные нормы витамина А или каротина для сельскохозяйственных животных на 100 кг живого веса и для птицы на 1 голову

Животные	Каротин (в мг)	Витамин А (в тыс. и. е.)
<i>1. Крупный рогатый скот</i>		
Коровы стельные, сухостойные и нетели	30—40	15—20
Коровы дойные, на живой вес	20—30	10—15
Коровы дойные дополнительно на 1 кг молока	10—15	5—7,5
Телята до 6 мес.	20—30	10—15
Молодняк от 6 мес. до 1½ лет	15—20	7,5—10
Взрослый скот на откорме, воле	10	5
Быки-производители в случной период	60—80	30—40
Быки-производители вне случного периода	30—40	15—20
<i>2. Лошади</i>		
Кобылы жеребые и подсосные	30—40	15—20
Жеребята до 6 мес.	20—30	10—15
Молодняк старше 6 мес.	15—20	7,5—10
Лошади рабочие	10—15	5—7,5
Жеребцы-производители в случной период	60—80	30—40
Жеребцы-производители вне случного периода	30—40	15—20
<i>3. Овцы и козы</i>		
Овцематки и козы суягные, подсосные и дойные	20—30	10—15
Молодняк после отъема	15	7,5
Бараны и козлы в случной период	40—60	20—30
Бараны и козлы вне случного периода	20—30	10—15
<i>4. Свиньи</i>		
Матки супоросные	20—30	10—15
Матки подсосные	30—35	15—17,5
Поросята-отъемыши	25—30	12,5—15
Ремонтное и откормочное поголовье	15—20	7,5—10
Хряки-производители в случной период	40—60	20—30
Хряки-производители вне случного периода	20—30	10—15

Животные	Каротин (в мг)	Витамин А (в тыс. и. е.)
5. Кролики		
(на 1 кг живого веса)		
Взрослые кролики	0,4	0,2
Крольчата	0,3	0,15
6. Птица		
Куры взрослые	2—2,5	2—2,5
Птицы взрослые	4—5	4—5
Утки	3—3,5	3—3,5
Гуси	8—10	8—10
Цыплята в возрасте 1—30 дней	0,3	0,3
» » » 30—60 »	0,8	0,8
» » » 60—150 »	1,5	1,5
Индюшата в возрасте 1—30 »	0,4	0,4
» » » 30—60 »	1,0	1,0
» » » 60—150 »	3,0	3,0
Утята в возрасте 1—30 дней	1,5	1,5
» » » 30—150 »	2,5	2,5
Гусята в возрасте 1—30 »	2	2
» » » 30—60 »	4	4
» » » 60—150 »	6	6

В таблице 9 представлена суточная потребность сельскохозяйственных животных в каротине или витамине А. Эти нормы разработаны институтами: Биохимии АН СССР, Животноводства, Птицеводства, Витаминным, Кормов и институтом Кормления сельскохозяйственных животных и утверждены в 1952 г. Межведомственной комиссией Министерства сельского хозяйства СССР. Однако Лапшин (1957) установил, что суточные нормы каротина и витамина А для дойных коров, утвержденные Межведомственной комиссией Министерства сельского хозяйства, занижены, и поэтому он рекомендует такие нормы.

При суточном удое (в л)	Каротина в сутки на 100 кг живого веса (в мг)
До 10	60—120
От 10 до 20 л	120—170
» 20 » 30 »	170—220
» 30 » 40 »	220—270
Свыше 40 л	270—320
Стельным сухостойным коровам	75—80

Содержание каротина в кормах и его А-витаминная ценность

Корма	Количество каротина (мг в 1 кг корма)	Равноценно витамину А (в тыс. п. е.)	
		при кормлении животных	при кормлении птиц
Молодая зелень с преобладанием листьев	60	30	60
Ботва свеклы, моркови, зеленый капустный лист	40	20	40
Морковь красная	70	35	70
Силос ¹ злаково-бобовый (в среднем)	25	12	25
Силос подсолнечниковый (в среднем)	10	5	10
Силос кукурузный (в среднем)	18	9	18
Сено отличное ² в ноябре	50	25	50
Сено отличное ² в марте	35	18	35
Сено хорошее ³ в ноябре	30	15	30
Сено хорошее ³ в марте	20	10	20
Сено среднее ⁴ в ноябре	15	7	15
Сено среднее ⁴ в марте	10	5	10
Сено плохое ⁵ в ноябре	5	2	—
Сено плохое ⁵ в марте	3	1	—
Солома и мякина (в среднем)	2	1	—
Солома просыная	20	10	20
Концентрированные корма (в среднем)	0,6	0,3	0,6
Кукуруза желтая	5	2,5	5

¹ При холодном способе силосования. При горячем силосовании содержание каротина в силосе сильно снижается, на что указывает степень потеря зеленой окраски.

² Из злаковых трав, скошенных в начале колошения, или из бобовых—в начале бутонизации, ярко-зеленого цвета.

³ Из злаковых трав при колошении или из бобовых в начале цветения.

⁴ Из трав при полном цветении.

⁵ Из перестоявших трав после цветения или потерявших зеленую окраску при уборке.

Содержание каротина в обычных кормах недостаточно для коров во время беременности и лактации, вследствие чего запасы витамина А в печени у них в эти периоды истощаются. Поэтому коровам со второй половины стельности и во время лактации необходимо добавлять в корм ежедневно 50 мг каротина на 100 кг корма (Church, Pore, Mac Vicar, 1956).

Для учета количества каротина или эквивалентного ему витамина А, получаемых сельскохозяйственными животными с кормами, в таблице 10 приведено содержание каротина в различных кормах (Витаминные ресурсы, изд. АН СССР, 1954).

Из данных таблицы 10 видно, что каротином богата молодая зелень и осеннее сено из злаковых трав, скошенных в начале колошения, или из бобовых, скошенных в начале бутонизации. По данным Шапошниковой (1957), луговые травы черноземно-суглинистых почв богаче каротином, чем серых подзолистых.

Захарченко (1954) указывает, что кормление зелеными кормами и доброкачественным сеном вполне удовлетворяет потребность крупного рогатого скота в витамине А.

Содержание каротина в кукурузе сильно колеблется в зависимости от сорта, плодородия почвы и степени

Таблица 11

Содержание каротина в зеленой массе различных сортов кукурузы посева 1956 г. (в мг на 1 кг сырой массы)

Сорт	Окраска	Дата взятия пробы	Фаза вегетации	Содержание каротина	
				в листь- ях	во всем расте- нии
ВИР-25	Белая	19/IX	Молочная спе- лость	136	19,8
Миннезота	Желтая	20/IX	То же	114,1	—
Закарпатская	Красная	20/IX	» »	103,1	11,8
Харьковская	Белая	21/IX	» »	122,2	—
Днепропетров- ская	Желтая	21/IX	» »	109,7	13,9
Нордвестен	Красная	22/IX	Молочно-вос- ковая спе- лость	118,4	—

вегетации. Наиболее богаты каротином листья кукурузы. Листья, снятые после наступления осенних заморозков, содержат значительно меньше каротина. Так, до заморозков, листья кукурузы сорта ВИР 25 содержали 93,4 мг каротина на 1 кг сырой массы, а после заморозков они содержали только 48,1 мг. Кукуруза сорта ВИР 25, выращенная в полевых условиях на среднеплодородной почве, содержала 93,4 мг каротина на 1 кг сырой массы, а в 1956 г. на более плодородной почве, где добавили 50 т навоза на 1 га — 136 мг (Мялов, 1957). В таблице 11 на стр. 69 представлены данные о содержании каротина в различных сортах кукурузы.

Глава 2

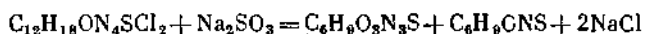
ВИТАМИН В₁ (ТИАМИН)

В 1912 году Казимир Функ изолировал из рисовых отрубей очень активное вещество, которое после введения в ничтожных количествах голубям, питавшимся плесневым рисом, уже через несколько часов полностью исцеляло их от симптомов полиневрита. Это вещество Функ назвал витамином В₁ в отличие от ранее выделенной Степлом липоидной фракции растительных и животных продуктов, содержавшей витамин А. В 1913—1914 годах Функ показал, что в дрожжах, кроме антиполиневритного витамина В, имеется еще и другой водорастворимый витамин В, отсутствие которого задерживает рост животных. Поэтому антиполиневритному витамину было предложено название витамина В₁.

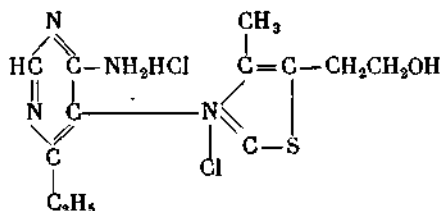
Со времени получения Функом (1912) первых кристаллов витамина В₁ до полного выяснения его химического строения (1936) прошло 24 года. За это время была проделана огромная работа. Наиболее важным толчком в изолировании витамина В₁ было открытие в 1916 году, что витамин В₁ может избирательно адсорбироваться из водных растворов грубыми коллоидами (глинами, углем и др.) и элюироваться едким барием. Пользуясь этим принципом, в 1926 году удалось получить из рисовых отрубей препарат витамина В₁, который в дозе 9 мкг исцелял голубя от полиневрита, а Виндаус (Windaus, Tschesche, 1932) впервые выделил чистый кристаллический витамин В₁, активный на полиневритных голубях в дозе 2,4 мкг.

Выяснение химической природы витамина В₁ принадлежит Вильямсу (Williams, Watterman, Kerestery, Buchman, 1935).

Сульфитным расщеплением витамина B_1 ему удалось изолировать два осколка молекулы витамина и доказать, что один из них был кислой сернистокислой солью пириимидина, а другой—легко растворимым в воде основанием—4-метил-5-оксиптилтазолом. Реакция шла согласно следующему уравнению:



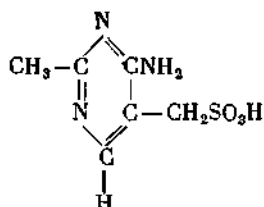
На основании этого в 1935 году Вильямс первоначально предложил витамину B_1 следующее строение:



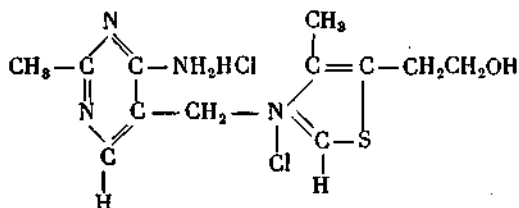
В том же 1935 году Кун с сотрудниками (Kuhn, Vetter, 1935) выделили из дрожжей желтое красящее вещество с голубой флуоресценцией и назвали его тиохромом.

Дальнейшие работы показали, что витамин B_1 может быть превращен в тиохром окислением в щелочной среде. Высказано было также предположение, что тиохром дрожжей произошел вследствие окисления витамина B_1 .

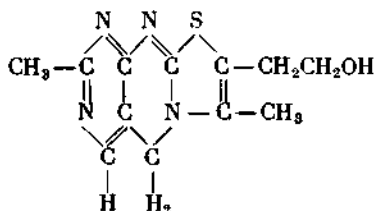
Исследования структуры тиохрома—продукта окисления витамина B_1 —установили строение кислого продукта сульфитного расщепления последнего. Строение этого продукта оказалось следующим:



Поэтому Вильямс (Williams a. oth., 1936, 1937) отказался от первоначального варианта структуры витамина B_1 и предложил ему такую структуру:



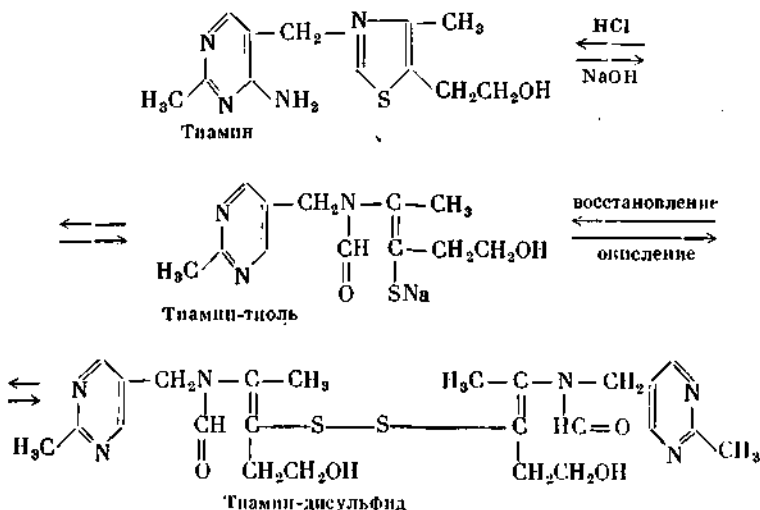
Эта структура [т. е. 2-метил-4-амино-5-(3,4-метил-5-оксиэтил-тиазолиум-хлорид) метил-пиримидин-гидрохлорид] была в дальнейшем подтверждена другими исследователями, а также и синтезом витамина В₁. Витамин В₁ был назван также аневрином или тиамном вследствие наличия в нем серы и аминогруппы. При синтезе тioxрома в 1936 году была доказана следующая его структура:



Физико-химические свойства тиамина

Кристаллический тиамин гидрохлорид представляет собой бесцветные иголки состава $C_{12}H_{17}ON_4S \cdot ClH$ с температурой плавления $249-250^\circ$. Молекулярный вес 336,8. Раствор его в 75%-ном этиловом спирте, подкисленном до 0,005 N соляной кислотой, имеет характерный максимум поглощения в области 245—247 мμ. Тиамин хорошо растворим в воде и в ледяной уксусной кислоте, несколько слабее в этиловом и метиловом спиртах и нерастворим в хлороформе, эфире, бензоле и ацетоне. Он устойчив при кипячении в кислой среде, в щелочной же быстро разрушается даже при незначительном нагревании. Так же относится тиамин и к окислителям в кислой среде; не разрушаясь от действия перекиси водорода, перманганата и озона, он быстро переходит в тioxром от действия тех же окислителей в щелочной среде. При длительном воздействии щелочи на тиамин в анаэробных условиях

происходит разрыв его тиазолового кольца. Полученное соединение — тиамин-тиоль окисляется в тиамин-дисульфид (Zima, Williams, 1940). Реакция обратима и идет согласно следующей схеме:



Как показали данные Эйве (Awe, 1950, 1953, 1954), форма тиамин с разорванным тиазоловым кольцом в незначительном количестве присутствует также и в нейтральной среде. При действии восстановителей, подобных гидросульфиду, на тиамин, согласно данным Каррера (Karrer, Graf, Schukri, 1945), происходит восстановительный разрыв тиазолового кольца. В противоположность предположению Каррера, Липман (Lipman, 1936) полагал, что двойная связь у четвертичного атома азота тиазолового кольца тиамин подвергается гидрированию. Так как продукт восстановления тиамин обладал только $1/15$ активности последнего, то из этого следует (Karrer, Krishna, 1951, 1952), что между тиамин и дигидротиамином, согласно Липману, окислительно-восстановительной системы не существует, а скорее имеется тиол-дисульфидная система, в которой оба компонента имеют одинаковую биологическую активность.

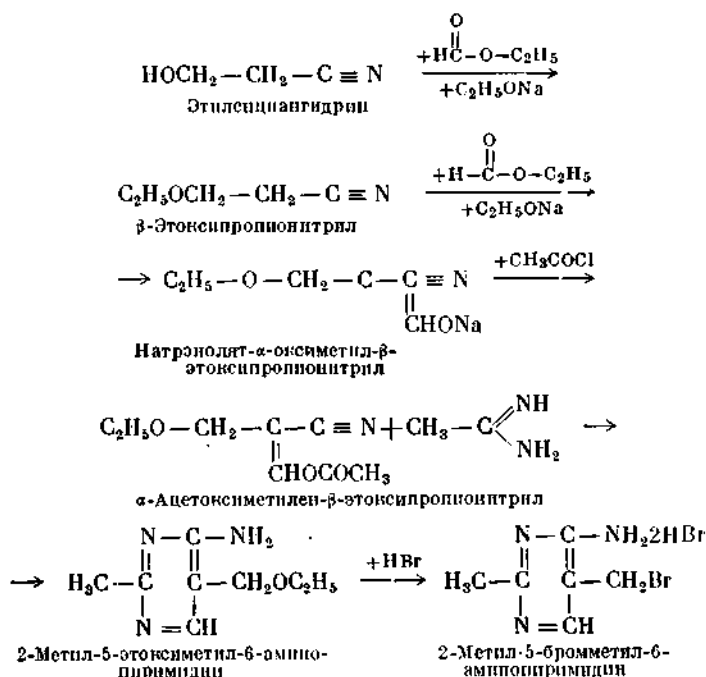
Тиамин осаждается фосфорновольфрамовой, пикриновой кислотами и солями тяжелых металлов. Степень адсорбции тиамин такими коллоидами, как углем, гли-

нами, гидроокисью алюминия и железа, зависит от значения рН. В малоочищенных препаратах тиамин лучше адсорбируется в сильноокислой среде, из чистых растворов — в слабоокислой.

Будучи первичным амином, тиамин обладает выраженными свойствами электролита, в водном растворе соли его ионизированы и при электрофорезе передвигаются к катоду. Основываясь на этом свойстве, Шмук и Ильин (1945) разработали метод получения чистых концентратов тиаминна, подвергая водный раствор дрожжей электродиализу и собирая на катоде витамин В₁.

Синтез тиаминна

Как нашими советскими учеными, так и зарубежными авторами было предложено много различных методов синтеза тиаминна. Однако наиболее совершенным из них следует признать метод проф. Челинцева (1944). Схема синтеза тиаминна по этому методу следующая:



тиазоловое кольцо, или создавать молекулу в целом при условии поступления обоих этих компонентов. Все живые организмы можно распределить на несколько типов по их способности синтезировать тиамин:

- 1) организмы, синтезирующие тиамин;
- 2) организмы, синтезирующие тиамин при наличии пиримидина;
- 3) организмы, синтезирующие тиамин при наличии тиазола;
- 4) организмы, синтезирующие тиамин при наличии пиримидина и тиазола;
- 5) организмы, не синтезирующие тиамин даже при наличии обоих его компонентов.

К первому типу относятся высшие зеленые растения, создающие пиримидин и тиазол и осуществляющие конденсацию их в тиамин. Этой же способностью обладают многочисленные бактерии (*B. coli*, *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. vulgaris*, *B. mesentericus* и др.) и грибки (*Mucor hiemalis*, *Absidia repens* и др.).

Ко второму типу относится многочисленный ряд грибов: *Schizophyllum commune*, *Parasitella simplex*, дрожжевая клетка *Rhodotorula rubra* и др.

К третьему типу относится многочисленная группа дрожжей—флагеллаты и грибок *Mucor Ramanianus*.

К четвертому типу организмов следует отнести грибки *Phycomyces* и некоторые бактерии (*Staphylococcus aureus* и др.).

К пятому типу относятся все высшие животные и многие виды грибов, бактерий и некоторые растительные формы (*Phytophthora cinuamomi*, *Bact. acetylcholini*, *Strigomonas oncopelti*, *St. fasciculata* и др.).

Все виды дрожжей можно разделить на три класса: 1) не требующие или синтезирующие витамины В—дрожжи аутотрофные к витаминам, 2) нуждающиеся в витаминах В—гетеротрофные к витаминам и 3) самая обширная группа, нуждающаяся только в некоторых компонентах витаминов группы В (*Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* и др.). Некоторые виды дрожжей, не способные к биосинтезу тиаминна, как показал Мейсель (1939, 1940, 1941, 1945), синтезируют последний после добавления к ним тиазоловой половины молекулы тиаминна (как в чистом виде, так и в виде растительных экстрактов). Пиримидиновую же часть все дрожжи синтезируют сами.

Создавая анаэробные условия, способствующие брожению дрожжами, удается вызвать интенсивный биосинтез тиамина. Дрожжи издавна считались классическим лечебным средством и широко применялись в народной медицине для лечения заболеваний. Причины, обуславливающие такие свойства дрожжей, были вскрыты лишь за последние десятилетия с развитием учения о витаминах. Установлено, что лечебное свойство дрожжей, как пивных, так и пекарских, связано главным образом с их витаминной активностью. Стоит упомянуть, что в 1 кг сухих пекарских дрожжей содержится 20—66 мг тиамина, 36—40 мг рибофлавина, 280—400 мг никотинамида (витамина РР), а также и другие витамины группы В, а в 1 кг сухих пивных дрожжей — 60—200 мг тиамина, 25—30 мг рибофлавина, 400—500 мг никотинамида и другие витамины В. Выращивая дрожжи в соответствующих условиях, их можно еще более обогатить витаминами и в первую очередь тиамин. Как мы ниже увидим (см. раздел о биокаталитических свойствах тиамин), тиамин дрожжам нужен для построения кокарбоксилазы и другого кофермента, необходимого для декарбоксилирования швевинноградной и других α -кетокислот в процессе брожения. Так как брожение происходит более интенсивно в условиях недостатка кислорода и богатого снабжения питательными веществами, то и потребность в кокарбоксилазе у дрожжей в этих условиях возрастает. Поэтому при выращивании дрожжей в таких условиях, они начинают обильно синтезировать тиамин, из которого образуют необходимые им коэнзимы. Таким образом, образование тиамин в дрожжах и брожение находятся в тесной зависимости (Мейсель, 1941; Одинцова, 1941).

Однако дрожжи, легко образуя пириимидиновое кольцо и связывая его с тиазолом в молекулу тиамин, обладают ограниченной способностью строить тиазоловое кольцо, и оно требуется им в готовом виде. Так, при выращивании дрожжей на зерновом сусле или мелассе, которые в незначительном количестве содержат тиазол, он используется дрожжами, которые в анаэробных условиях начинают интенсивно синтезировать тиамин. Труфанов и Эннатовская (1944, 1946) исследовали и другие источники тиазола. Из трех источников тиазолового кольца: водного экстракта сосновой хвои, зародышей пшеницы и шиповника, наилучшим для биосинтеза тиамин оказался

экстракт сосновой хвои, затем экстракт зародышей пшеницы и только незначительный синтез тиаминна происходил с экстрактом шиповника. Молодые жизнеспособные дрожжи, выращенные в питательной среде с аэрацией, хорошо синтезировали тиамин после перенесения их в анаэробные условия—в среду, содержащую глюкозу, фосфаты калия, аммония и магния и экстракт сосновой хвои или зародышей пшеницы. Это подтверждает данные Мейселя, что наличие кислорода понижает биосинтетическую способность дрожжей образовывать тиамин.

Биосинтез тиаминна стимулируется тиазолом (или источником, содержащим его) не только у дрожжей, но и у многих микроорганизмов и бактерий (грибок *Mucor*, *Ramanianus*, *Flagellata* и др.). Однако наибольшее практическое значение имеет биосинтез тиаминна в дрожжах, ибо в них он наиболее интенсивен и рост дрожжей происходит наиболее быстро и интенсивно. За 2 часа дрожжи обогащаются тиамином примерно в 2,5—3 раза (Труфанов, Эйнатская, 1945, 1946). Организм высших животных не способен к синтезу тиаминна из добавленного тиазола. Между тем Маггио (Maggio, 1950) отметил ограниченную способность тиазола (2-амино-5-метил-тиазол-4-карбоновой кислоты) предохранять голубей от симптомов недостатка тиаминна. Можно предполагать, что это имело место вследствие стимуляции тиазолом биосинтеза тиаминна кишечной флорой.

Биосинтез тиаминна кишечной флорой имеет значение в снабжении животных тиамином и находится в зависимости от качества пищи. Кормление цельной пшеницей (хлеб или мука) способствует лучшему биосинтезу тиаминна в кишечнике крысы, чем кормление рисовой, рыбнорисовой мукой и другими кормами (Balakrishnan, Rajagopalan, 1955). Это доказывалось более интенсивным ростом крыс на цельной пшенице, повышенным выделением тиаминна с мочой, более высоким содержанием тиаминна в печени и значительным количеством микроорганизмов, продуцирующих тиамин в кале.

Биосинтез тиаминна в желудочно-кишечном тракте у жвачных. Особенно интенсивен биосинтез тиаминна в желудке у жвачных, обусловленный главным образом жизнедеятельностью бактерий вида *Flavobacterium vitatum*. Еще Пастёр в 1885 году указывал на выполнение кишечными бактериями жизненно необходимой функции.

Жвачные животные на рационе, содержащем недостаточное количество тиаминна, нормально развивались без проявления признаков недостаточности его. Голуби, получавшие ту же диету, быстро заболевали полиневритом.

Ильрой и Госс (Mac Elroy, Goss, 1940) показали, что содержимое рубца овец, получавших в течение 30 дней корма с недостатком витаминов группы В, было богаче тиамином и рибофлавином, чем соответствующие корма. У коров, получавших в течение 4½ месяцев корма с дефицитом витаминов группы В, состояние здоровья было хорошим и концентрация тиаминна в молоке нормальной.

Хотя местом биосинтеза тиаминна в желудке жвачных в основном служит рубец, биосинтез протекает также и в других отделах желудочно-кишечного тракта. Ниже в таблице 12 представлены данные Поппе (1958), показывающие, как содержание тиаминна падает в желудке в зависимости от перехода от рубца к сычугу (табл. 12).

Таблица 12

Содержание тиаминна в преджелудках и в собственно желудке у жвачных (в мг/кг сухого вещества химуса)

Рацион и отдел желудка	Валух 1		Валух 2		Телка Фергана		Бычок Руслан		Корова Мимоза							
	Рацион (в кг)															
	сено 1,5	концентрат 1,0	турнепс 0,17	сено 1,5	концентрат 1,0	турнепс 0,17	сено 6	турнепс 15	сено 3	концентрат 2,2	свекла 4	силос 4	сено 3	концентрат 3	свекла 20	силос 15
Рацион . . .	3,7			3,7			3,6			4,2					3,9	
Рубец . . .	8,0			6,2			9,5			9,8					8,7	
Сетка . . .	6,8			5,0			5,5			9,4					8,1	
Книжка . . .	6,6			4,6			3,5			6,1					7,2	
Сычуг . . .	3,9			3,7			3,5			5,7					5,5	

Влияние различных сочных кормов на биосинтез тиаминна в пищеварительном тракте молочных коров Поппе (1958) изучал на двух коровах с высокой (5700 кг молока, удой Сурепки № 1) и средней (3300 кг молока, удой Уды № 2) продуктивностью, у которых имелось по два

инических анастомоза—в начале (верхний мост) и в конце (нижний мост) тонкого кишечника. Обе коровы в течение опыта были в хорошем состоянии и отелились. Коровы получали рационы, содержащие в стойловый период около 6 кг сена и 400 г концентратов на 1 кг молока с добавкой различных сочных кормов: I группа кормов—сначала коровам скармливали кукурузный силос и 5 кг сена, затем силос и 2 кг сена; II—вика с овсом; III—кормовая капуста; IV—кормовая свекла и V—картофель.

В таблице 13 представлена динамика тиамина в различных отделах пищеварительного тракта и выделениях.

Таблица 13

Количество тиамина в содержимом различных отделов пищеварительного тракта и в выделениях (в мг/кг сухого вещества химуса)

Ис- следе- мый материал	Группа, № коро- вы		I				II		III		IV		V
	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	№ 1	№ 2	№ 1
Корм	91	60	88	47	75	22	90	58	68	95	44		
Химус верхнего моста	63	35	60	—	77	31	95	40	65	62	52		
Химус нижнего моста	34	27	28	—	38	31	45	37	37	51	42		
Кал	21	21	23	12	25	16	20	12	23	21	23		
Разница между верхним мостом и калом	42	14	37	—	52	15	75	28	42	41	29		
Моча	10	7	12	7	17	12	24	7	17	13	15		
Молоко	11	4	10	3	10	2	8	—	5	8	3		
Всего в выделе- ниях	42	32	45	22	52	30	52	19	45	42	41		

Увеличения содержания тиамина в химусе верхнего моста в зависимости от содержания его в корме не отмечено. Наоборот, в случае дачи животным кормов I группы оно даже значительно ниже. Причиной этого является быстрая всасываемость тиамина в преджелудках. Это подтверждается данными таблицы 13, из которых видно, что уже в сычуге содержание тиамина почти равно содержанию его в корме. Все же при скармливании вико-овся-

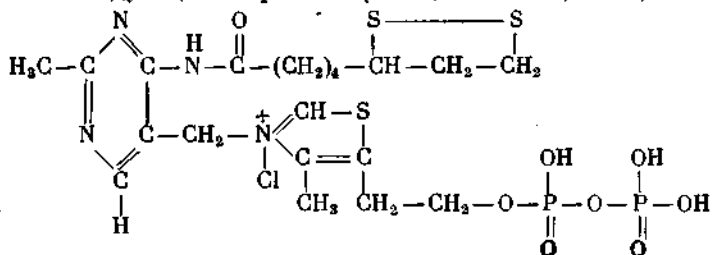
фосфорилирование было показано с препаратом слизистой двенадцатиперстной кишки крысы (Tauber, 1938) и слизистой кишки собаки (Ngu Yen Van Thoi, Roche, 1952, 1953) и *in vitro* в различных тканях животного при инкубации их с тиаминсом (Ochoa, Peters, 1938). Особенно интенсивно синтезирует кокарбоксылазу из тиамина кровь здорового цыпленка даже в опытах *in vitro* (Westenbrink, Steyn—Parve, 1947). Синтез кокарбоксылазы из тиамина протекает с участием адениловой системы, которая служит донатором фосфата. Также имеет место в организме и обратный процесс—дефосфорилирование кокарбоксылазы, например при голодании или зимней спячке (Сопин, 1950). В этом случае равновесие: тиамин + пирофосфат $\rightleftharpoons$ кокарбоксылаза (дифосфотиамин) в печени сдвинуто влево, т. е. в сторону дефосфорилирования.

Гораздо позднее было доказано существование еще и другой коэнзимной формы тиамина, необходимой для окислительного декарбоксылирования α -кетокислот.

В 1933 году Питерс с сотрудниками (Peters, Sinclair, 1933; Peters, Thompson, 1934) нашли, что в мозге авитаминозных голубей содержится большое количество пировиноградной кислоты и добавление тиамина к такому мозгу *in vitro* вызывает удаление последней. Этот процесс происходит с поглощением кислорода (Ogston, Peters, 1936; Peters, 1936). С открытием кокарбоксылазы было установлено (Ochoa, Peters, 1938), что тиамин в мозге голубей фосфорилируется и в виде своего пирофосфорного эфира вызывает окислительное декарбоксылирование пировиноградной кислоты. Это было подтверждено многими исследователями и очень долго считали, что для окислительного декарбоксылирования пировиноградной кислоты, так же как и для ее неокислительного декарбоксылирования, требуется один и тот же кофермент—кокарбоксылаза. Однако в 1948 году О'Кейн и Гунсулус (O'Kane, Gunsalus, 1947, 1948, 1952) нашли, что некоторым молочнокислым и маслянокислым бактериям (*Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Butyribacterium reffgii* и пр.) требуется для окислительного декарбоксылирования пировиноградной кислоты наличие в питательной среде фактора, отличного от известных витаминов или коферментов. Этот фактор содержится в дрожжевых экстрактах и поэтому последние заменяют его. Оказалось, что активный фактор является соединением стабильным к кислот-

ному и щелочному гидролизу и продукт этого гидролиза растворим в органических жирных растворителях. Исследование химического состава продукта гидролиза показало, что это монокарбоновая кислота с $pK = 4,7$, содержащая дисульфидную связь, с эмпирической формулой $C_9H_{11}O_2S_2$. Вследствие своих липоидных свойств это соединение было названо α -липовой кислотой (Reed a. oth., 1952). α -Липовая кислота оказалась идентичной с найденным ранее ростовым фактором молочнокислых бактерий и «протогеном А» простейших (*Tetrahymena gelaii*).

Исследование химического строения α -липовой кислоты и «водорастворимой комплексной» формы ее, в которой она часто встречается в природе, показало, что α -липовая кислота является 4- (α -тетрагидрофурил)-масляной кислотой, а «комплексная» форма ее — амидом α -липовой кислоты и тиаминпирофосфата, т. е. липотиамидапирофосфатом следующего строения (Reed, De Busk, 1952, 1953):



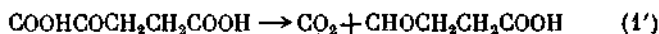
Это строение было подтверждено синтезом липотиамидапирофосфата, который оказался идентичным с липотиамидапирофосфатом, полученным из естественных источников.

Длительное энзиматическое воздействие отщепляет от липотиамидапирофосфата поочередно оба фосфорных остатка и образуется свободный липотиамид, еще не утративший способность растворяться в воде.

Все реакции, катализируемые тиаминовыми коэнзимами, можно представить следующей схемой.

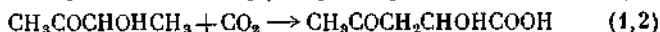
Г р у п п а А. Реакции, образующие ацетальдегид или ацетилметилкарбинол.

1. Образование ацетальдегида и янтарного полуальдегида:

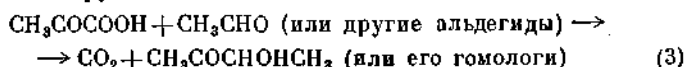


2. Образование ацетилметилкарбинола и его гомологов:

а) из одного пирувата

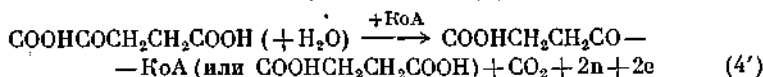
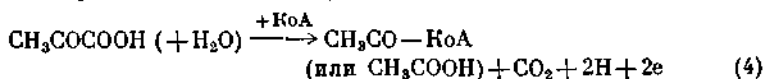


б) из пирувата и альдегида

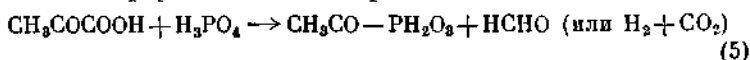


Группа Б. Реакции, образующие ацетат или производные ацетата.

1. Окислительное декарбоксилирование (требующее электронных акцепторов):

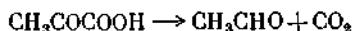


2. Фосфорокластические реакции:



В настоящее время установлено, что все неокислительные реакции (группа А), которые изучены на чистых энзиматических препаратах, требуют в качестве коэнзима тиаминпирофосфат (кокарбоксилазу). Окислительное же декарбоксилирование требует в качестве тиаминового коэнзима липотиамидапирофосфат. Опишем вышеуказанные энзиматические реакции.

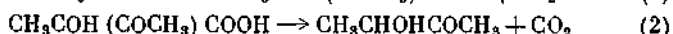
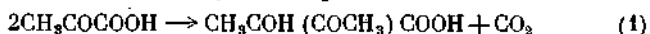
Неокислительные реакции. В животном организме в основном имеет место окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты, которое будет описано ниже. Неокислительное же декарбоксилирование пировиноградной кислоты, катализируемое тиаминпирофосфатом, осуществляется дрожжами и идет согласно следующей реакции:



Из остальных реакций, входящих в группу А, следует отметить образование ацетилметилкарбинола и его гомо-

логов, которые широко распространены в животных организмах, дрожжах и бактериях.

Энзим, синтезирующий ацетилметилкарбинол в дрожжевых экстрактах, был в 1923 году открыт Нейбергом. В настоящее время доказано (Juni, 1952; Berl, Bueding, 1951), что механизмы образования ацетилметилкарбинола в бактериях, дрожжах и животных тканях, хотя и очень близки, но все же несколько отличаются друг от друга. В бактериях, образующих ацетилметилкарбинол (*Aerobacter*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus* и *Serratia marcescens* и другие) две молекулы пировиноградной кислоты конденсируются в промежуточный продукт— α -ацетомолочную кислоту, которая декарбоксилируется в ацетилметилкарбинол согласно следующих реакций:



Реакция (1) образования α -ацетомолочной кислоты очень чувствительна к недостаточности тиамина в организме и стимулируется кокарбоксилазой.

Механизм образования ацетилметилкарбинола энзимами дрожжей и животных тканей не требует промежуточного продукта— α -ацетомолочной кислоты, а протекает при непосредственной конденсации пировиноградной кислоты с ацетальдегидом и одновременном декарбоксилировании согласно следующей реакции:



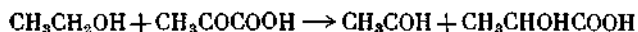
Эта реакция резко стимулируется кокарбоксилазой и ионами магния.

Дрожжи могут использовать для синтеза ацетилметилкарбинола пировиноградную кислоту, из которой они образуют ацетальдегид, чтобы сконденсировать последний в момент его выделения с другой молекулой уже присутствующего ацетальдегида. Дрожжи используют только ацетальдегид, тогда как ткани животного способны использовать также и высшие α -кетокислоты для образования гомологов ацетилкарбинола. Добавленный к животной ткани ацетальдегид реагирует с пировиноградной кислотой или другой α -кетокислотой, образуя ацетилметилкарбинол или соответственный его гомолог с одновременным декарбоксилированием. Последнее также находится в зависимости от энзиматической

системы карбоксилазы. Отсюда вытекает, что первой стадией в распаде пировиноградной кислоты дрожжами будет образование промежуточного продукта—ацетальдегид-энзима, который способен переносить ацетальдегид и легко конденсировать его с другой молекулой ацетальдегида, образуя ацетилметилкарбинол. Поэтому добавление ацетальдегида способствует образованию ацетилметилкарбинола.

Образование ацетилметилкарбинола у ленточных глистов (нематод) также стимулируется кокарбоксилазой и имеет два механизма. Один подобен находящемуся в дрожжах, а другой—в животных тканях.

Обмен этилового спирта в животном организме может идти в результате сопряженной оксидоредукции с пировиноградной кислотой:

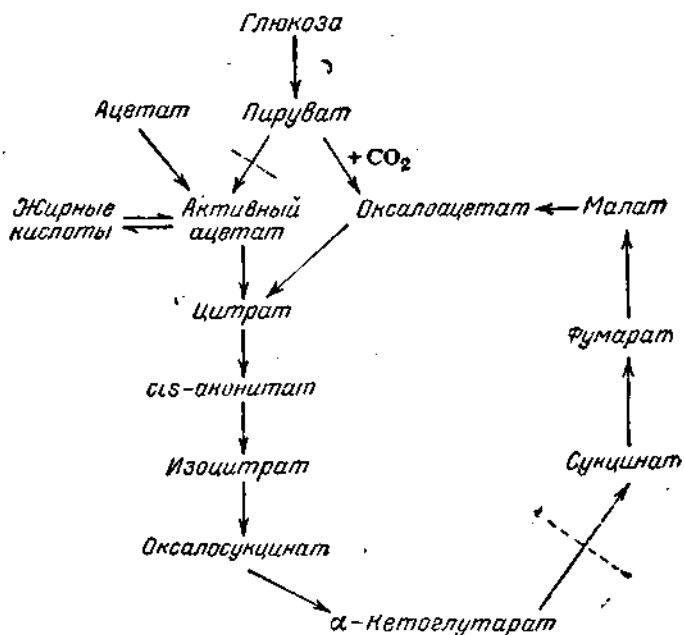


и полученный ацетальдегид конденсируется с другой молекулой пировиноградной кислоты в ацетилметилкарбинол. Это было доказано в опытах *in vitro* (Westerfeld, 1944), в которых добавление тиаминпирофосфата к инкубируемому гомогенату мозга здоровой крысы ускорило процессы вышеуказанных конденсаций пировиноградной кислоты. Наоборот, эти процессы сильно замедлялись при инкубации мозга крысы с недостатком тиамина. В опытах *in vitro* на собаках и голубях с недостатком тиамина обмен пировиноградной кислоты также нарушен и восстанавливается после введения последнего. Вышеуказанная реакция пировиноградной кислоты со спиртом имеет большое значение в обмене спирта в организме и указывает на связь тиамина с алкогольным полиневритом у хронических алкоголиков.

Таким образом, образование ацетилметилкарбинола в животных тканях происходит неокислительным путем.

Реакции окислительного декарбоксилирования и образования ацетата. *Escherichia coli*, освещенная ультрафиолетовыми лучами, утрачивает способность связывать α -липоевую кислоту с пиримидиновой половиной тиамина, в результате чего получается недостаток в α -кетокислотной кооксидазе, необходимой для окислительного декарбоксилирования α -кетокислот. Этот недостаток можно устранить только добавлением цельного липотиамидапирофосфата.

Рост такого микроорганизма, заторможенный отсутствием липотиамидпирофосфата, может быть также восстановлен добавлением «активного ацетата»* и янтарной кислоты. Это указывает, что липотиамидпирофосфат катализирует две реакции в цикле трикарбоновых кислот, как это видно в представленной схеме, т. е. реакции: 1) образования активного ацетата из пировиноградной кислоты и 2) образования янтарной кислоты из α -кетоглutarовой кислоты.

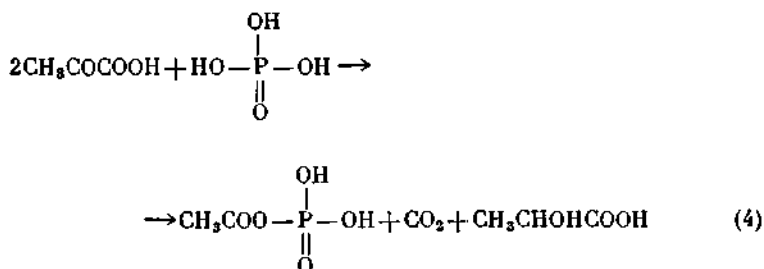


Накопление α -кетоглутарата в мозге голубя также можно объяснить блокированием реакции окислительного декарбоксилирования α -кетоглutarовой кислоты.

Бесклеточные экстракты (Korke, del Campillo, Ochoa, 1951), полученные из *E. coli*, освещенного ультрафиолетовыми лучами, требуют добавления липотиамидпиро-

* «Активный ацетат» — ацетил-КоА, так же как «активный сукцинат» — сукцинил-КоА.

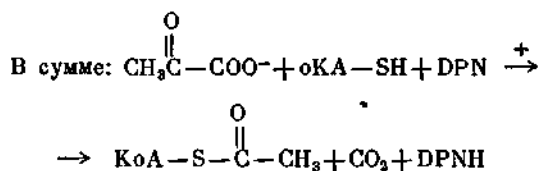
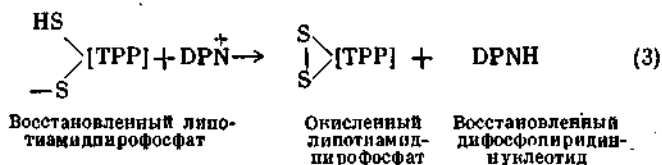
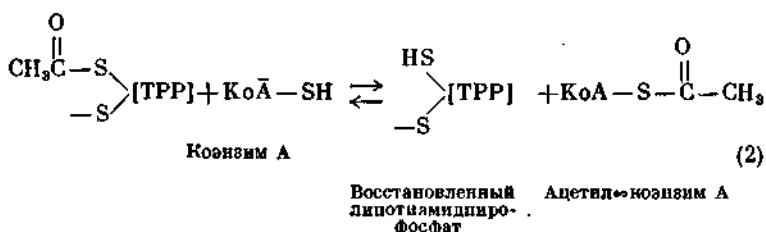
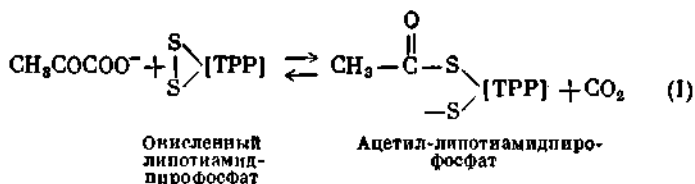
фосфата для способности анаэробно дисмутировать пировиноградную кислоту в ацетил-фосфат, CO_2 и молочную кислоту, т. е. для фосфорокластической реакции:



Никакая другая коэнзимная форма тиамина неспособна заменить липотиамидапирофосфат в этой реакции.

Участие липотиамидапирофосфата в окислительном декарбоксилировании пировиноградной и α -кетоглутаровой кислот было доказано на чистых препаратах пировиноградной оксидазы, полученной из клеток *Escherichia coli* и из грудной мышцы голубя (Sanadi, Littlefield, 1952) и α -кетоглутаровой оксидазы, полученной в 1953 году (Sanadi, Littlefield, 1953) из сердца свиньи. Оказалось, что в процессе очистки препаратов энзим параллельно с повышением активности возрастало и содержание в них липотиамидапирофосфата (Schweet, Cheslock, 1952). Добавление же тиаминпирофосфата к указанным препаратам тормозило (Hager, Fortney, Gnusaluc, 1953) их активности. Никакая другая коэнзимная форма тиамина в этих реакциях также не могла заменить липотиамидапирофосфат. Оказалось, что у реснитчатых простейших (*Tetrahymena pyriformis*) и у бактерий (*Str. faecalis*) имеется энзим, который обратимо отщепляет липоевую кислоту от липотиамидапирофосфата, связанного с апопротеином. Подобный же энзим имеется и в печени голубя (Seaman, Naschke, 1955). Удаление липоевой кислоты адсорбцией на алюминий сильно понижает окисление пирувата и α -кетоглутарата.

Исследования Рида (Reed, 1953) над очищенной апооксидазой пировиноградной кислоты, полученной из клеток *Escherichia coli*, освещенных ультрафиолетом, привели к следующей схеме, предложенной Ридом для механизма каталитического образования «активного ацетила».



Согласно этой схеме, апооксидаза пировиноградной кислоты для образования ацетил-коэнзима А требует три кофактора: коэнзим А, дифосфопиридиннуклеотид и липотиамидпирофосфат. Никакая другая коэнзимная форма тиамина (тиаминпирофосфат или липотиамид) не могла заменить липотиамидпирофосфата. В отсутствие коэнзима А и дифосфопиридиннуклеотида в среде накапливается ацетил-липотиамидпирофосфат. Последний был изолирован из среды, была доказана его структура и стехиометрическое отношение в реакции 1, а также и ее обратимость.

Ацетильная группа ацетил-липотиамидпирофосфата переносится на коэнзим А и может быть использована в форме ацетил-коэнзима А для всех реакций ацетилирова-

ния, которые будут описаны ниже, в главе о биокаталитических свойствах пантотеновой кислоты. Образование ацетил-фосфата из ацетил-липотиамидпирофосфата происходит в присутствии пировиноградной апооксидазы, коэнзима А, ортофосфата и фосфотрансацетилазы (см. схему). Окисление восстановленного липотиамидпирофосфата всегда происходит с помощью окисленного дифосфопиридиннуклеотида (DPN⁺).

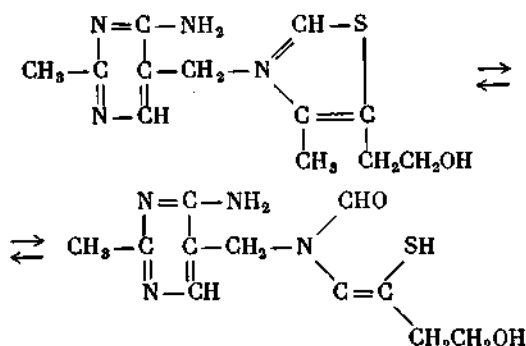
Очищенная α -кетоглутаровая апооксидаза, полученная из клеток того же организма *E. coli*, катализирует реакции подобно таковым (1, 2 и 3), катализируемым пировиноградной апооксидазой, с той лишь разницей, что в данном случае берется в качестве субстрата α -кетоглутаровая кислота и переносится не ацетильная группа, а сукцинильная. Образование сукцинил-липотиамидпирофосфата и перенос сукцинила на коэнзим А идут так же хорошо, как и с ацетиллом.

Как указывалось, при B_1 -авитаминозе происходит накопление пировиноградной, α -кетоглутаровой и других α -кетокислот вследствие расстройства окислительного декарбоксилирования этих кетокислот. У B_1 -авитаминозных крыс Крицман (1943) нашла снижение азотистого обмена, выражающееся в понижении переаминирования глутаминовой кислоты, окислительного дезаминирования природных монокарбоновых аминокислот и резкое затормаживание синтеза ампонокислот путем восстановительного аминирования. Позднее это было подтверждено (Castro, Мопасо, 1956) понижением активности глутамико-щавелевоуксусной аминотрансферазы в органах B_1 -авитаминозных голубей. В свете всех этих современных представлений становятся понятными прежние данные Лаврова и его сотрудников (1928, 1932, 1935, 1937), что при полиневритическом авитаминозе у птиц они обнаруживали отрицательный азотистый баланс, который повышался по мере отягощения полиневрита.

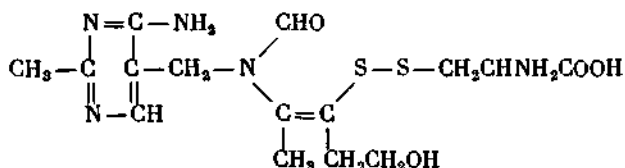
Механизм окислительно-восстановительного действия тиамина

В 1940 году Зима и Вильямс (Zima, Williams, 1940, 1941) указали, что окислительно-восстановительное действие тиамина в энзиматических системах состоит в постоянном обратимом переходе тиамина из своей восстановленной

Энгельгард и Канопкайте (1957) доказали полную инактивность дисульфидной формы кокарбоксылазы как в простом, так и окислительном декарбоксилировании. Тиазоловая форма (с закрытым тиазоловым кольцом) и тиоловая (с разорванным тиазоловым кольцом) обладали одинаковой активностью. Дисульфидная форма приобретала активность только после восстановления цистеином. Таким образом, окислительно-восстановительные превращения кокарбоксылазы в биологических реакциях сводятся только к переходу от тиазоловой формы в тиольную и обратно согласно схеме:



Матсукава и Юруги (Matsukawa, Jurugi, 1953) получили продукт реакции дисульфидной формы тиамин-с цистеином такого строения:



Кроме тиамин-цистеина, аналогичные аллилные, метильные и пропильные гомологи были получены (Matsukawa, Jurugi, Matsuoka, 1952, 1953) из ряда луковичных растений (чеснока и др.).

Сравнительные исследования действия аллитиамина и пропилаллитиамина на рост крыс и цыплят показали, что они обладают такой же активностью, как и свободный тиамин (De Renzo и др., 1954).

Подкожное введение цистеина крысе одновременно с тиамином- S^{35} ускоряло окисление радиотиамина (Розанов, 1958). Это доказывалось повышенным выделением с мочой радиосульфата ($S^{35}O_4$) с 5 до 11% от всей введенной радиоактивной серы за счет понижения выделения «нейтральной». Это указывает, что тиамин в организме подвергается разрыву тиазолового кольца с образованием тиольной формы, которая, реагируя с цистеином, отщепляет SH-группу.

На основании этой окислительно-восстановительной теории тиамина можно представить себе его способность стимулировать фосфорилирование аденозиндифосфата, сопряженное с окислением цитрата или сукцината. Поэтому в печени крыс с недостатком тиамина фосфорилирование аденозиндифосфата и поглощение кислорода для сопряженного окисления указанных субстратов сильно понижено по сравнению с печенью здоровых крыс (Frei, Wermuth, 1955).

Энзиматическое расщепление тиамина

В 1941 году Грин, Карлсон и Эванс (Green, Carlson, Evans, 1941) обнаружили тяжелые симптомы B_{12} -авитаминоза у лисиц, питавшихся полноценной пищей, в которую входило мясо сырого карпа. Лечили лисиц введением больших доз тиамина. Работами Вулли (Woolley, 1941, 1944) и Силок с сотрудниками (Sealock, Livermore, Evans, 1946) было установлено, что в тканях сырого карпа имеется энзим, гидролитически расщепляющий тиамин на тиазоловую и пиримидиновую половины. Энзим активен в пределах pH от 1 до 8 в интервалах от 0° до 37° и состоит из термолabileйной недиализируемой и термостабильной диализируемой части.

В 1942 году Фуйта с сотрудниками (Fujita a. oth., 1944) нашли в двухстворчатых моллюсках энзим, разрушающий тиамин, и назвали его «тиаминазой». Энзим был найден также во внутренностях других видов моллюсков и ракообразных. Позднее (Fujita a. oth., 1952) было показано, что при инкубации тиамина с суспензией кишечных бактерий последний исчезал. Оказалось, что бактерии содержат тиаминазу. В 1948—1949 гг. было установлено (Fujita a. oth., 1952), что кал людей с обычными запорами не содержал тиамина, но был богат тиаминазой. Из этого кала

был выделен микроорганизм, продуцирующий тиаминазу, этот новый вид бактерии рода *Bacillus* был назван *Bacillus thiaminolyticus*.

Независимо от этих исследований, Эванс (Evans, Jones, 1946, 1950, 1952) доказал, что часто наблюдавшиеся случаи отравления скота папоротником (*Pteris aquilina*), напоминающие авитаминоз В₁, были следствием содержания в папоротнике энзима—тиаминазы. Позднее тиаминаза была найдена также и в других видах растений, например в лошадином хвоще (*Equisetum arvense*, E. palustre).

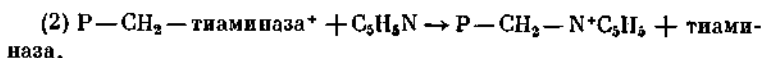
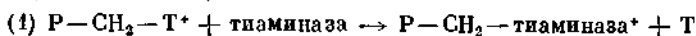
Таким образом, в настоящее время мы знаем четыре источника тиаминазы, именно: тиаминаза рыб, моллюсков, бактерий и зеленых растений. Оказалось, что все эти тиаминазы близки, если не идентичны; они не имеют строго выраженного оптимума pH и инактивируются при нагревании до 100°, хотя тиаминаза папоротника наиболее активна при pH 4,5 (Thomas, Walker, 1949).

Как у нас (Энгельгардт и Татарская, 1948; Татарская, 1952), так и за рубежом (Fujita a. oth., 1952; Fujita a. oth., 1955; Evans, Jones, 1950, 1952) появились работы, указывающие, что ряд ароматических аминов сильно активируют действие тиаминазы любого из вышеуказанных источников. Сюда относится также активирующее действие пиридина и хинолина. Татарская показала, что аминокислоты, особенно имеющие циклическую структуру и содержащие серу, а также дипептид-карнозин и некоторые алкалоиды (никотин, анабазин), сильно активируют тиаминазу.

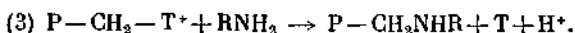
Оказывается, тиаминаза состоит из термостабильной (котаминазы) и термолабильной (апотаминазы) части, обе из них необходимы для энзиматической активности. Термостабильную часть можно заменить ароматическими аминами.

Татарская предполагает, что лабильная связь котаминазы с апотаминазой осуществляется через посредство сульфгидрильной группы белка с аминогруппой кофактора. На основании вышеуказанного, инактивацию тиамин тиаминазой следует теперь представлять как обменную каталитическую реакцию, и как большинство органических реакций она оказывается обратимой. При инкубации бактериальной, либо другой тиаминазы со смесью пиридина (или хинотиамина) с тиазолом получалось большое количество тиамин с освобождением соответствующего количества пиридина или хинолина.

Поэтому по аналогии с механизмом обменных реакций, катализируемых другими ферментами, реакцию расщепления тиамин тиаминазой папоротника можно изобразить так (Kenten, 1957):

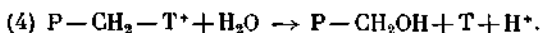


где Р — пиримидиновая, а Т — тиазоловая частицы тиамин. Реакция может быть изображена также:



Количество образующегося в результате реакций 1 и 2—N-(4-амино-2-метилпиримидин-5) метилпиримидина или гетеропиритиамин можно повысить до 95% от присутствующего тиамин добавлением избытка пиридина к очищенному препарату тиаминазы из папоротника (Kenten, 1957).

Однако существует тиаминназа, найденная Фуйтом с сотрудниками (Fujita a. oth., 1954), только в *Bacillus thiaminolyticus*, расщепляющая тиамин гидролитически:



Изучение распространения тиаминазы в природе (Татарская с сотр., 1951) показало, что она распространена главным образом в низших формах животных и растений, где, вероятно, является рудиментом, еще сохранившимся в указанных организмах. Среди растительного мира тиаминназа содержится в папоротниках и хвощах и не найдена у высших цветковых растений. В животном мире тиаминназа распространена в основном среди низших представителей, а из рыб ею богаты лишь пресноводные: карповые и вьюновые и морские: корюшковые и сельдевые (Татарская, 1954).

Фуйта (Fujita, 1954) нашел, что все виды Pteridophyt содержат тиаминназу, а из Angiosperm тиаминназу содержат лишь *Celosia cristata*. Были описаны (Roberts, Evans, Evans, 1949) случаи недостатка тиамин у лошадей, когда их рацион содержал значительную часть папоротника орляка. В данном случае организм не только лишался тиамин, но в результате действия тиаминазы из тиамин образовывался антиотиамин — производное пиритиамин, о котором речь пойдет в следующем разделе.

Биологические антагонисты тиамина

В 1941 году Слободин синтезировал оксианалог витамина В₁, в котором аминогруппа в 4-м положении пиридинового кольца была заменена оксигруппой. Как показали более поздние исследования (Eusebi, Cerecedo, 1949; Daniel, Norris, 1949), окситиамин обладал антипатияминовыми свойствами. Он повышал содержание пировиноградной кислоты в крови крыс и выделение тиамина с мочой, а также задерживал рост животных (Frohman, Day, 1949). Однако характерных клинических симптомов у животных не проявлялось, и они умирали. При замене гидроксильной группы в тиазоловой части окситиамина хлором или бромом антипатияминозное действие окситиамина исчезало. Хлор-окситиамин или бром-окситиамин даже в дозах, в 500 раз превышающих дозы добавленного тиаминана, антипатияминожного действия в опытах на мышцах не обнаруживали.

Еще более сильным антагонистом тиаминана является пиритиамин или неопиритиамин *, т. е. пиридиновый аналог тиаминана [2-метил-4-амино-5-пиримидилметил-(2-метил-3-(β-оксиэтил))-пиридиinium бромид гидробромид с заменой тиазолового кольца в тиаминине пиридиновым (Woolley, 1950, 1951)]. Чистый пиритиамин обладал двумя характерными максимумами поглощения в ультрафиолетовой части спектра в области 237 мμ и 270 мμ. Согласно данным Вуллей (Woolley, 1950, 1951), однократная доза 0,5 мг пиритиамина мышам, получающим ежедневно 4 мгк тиаминана, вызывала через 7—8 дней типичные признаки тиаминовой недостаточности и смерть животного. Большие количества вводимого тиаминана устраняли антипатияминную активность пиритиамина.

Пиритиамин в отличие от окситиамина вызывает неврологические симптомы недостатка тиаминана у мышей и, как

* Чистый пиритиамин был получен только в 1950 году и в отличие от полученного ранее менее активного пиритиамина вследствие загрязнения инертными веществами был назван неопиритиаминном.

Пиритиамин отличается от гетеропиритиамина, образующегося при расщеплении тиаминана тиаминазой, только оксигруппой в 3-м положении пиридиновой части. Устранение последней из молекулы пиритиамина, приводящее к образованию гетеропиритиамина, не влияет на антипатияминовую активность.

указывал Вуллей (Woolley, Marifield, 1952), без изменения содержания пировиноградной кислоты в крови.

Считали, что различие в действии окситиамина и пиритиамина состоит в том, что окситиамин фосфорилируется в организме и связывается с апокарбоксилазой, вытесняя тем самым кокарбоксилазу (Cerecedo, Soodak, Eusebi, 1951), а пиритиамин тормозит фосфорилирование тиамина. Это предположение подтверждалось тем, что в противоположность окситиамину пиритиамин тормозил процесс фосфорилирования тиамина в кокарбоксилазу как системой фосфорилазы печени (Eich, Cerecedo, 1954), так и слизистой кишечника (Cerecedo, Eich, Bresnick, 1954) крысы, а также и большей антивитаминой активностью окситиамин-дифосфата, чем свободного окситиамина. В противоположность пиритиамину и окситиамину окситиамин дифосфат тормозил декарбоксилирование как пировиноградной (Eich, Cerecedo, 1954), так и α -кетомасляной (Eich, Cerecedo, 1955) кислот. Причем торможение не наступало, когда окситиамин-дифосфат вводился через 20 минут после добавления кокарбоксилазы, т. е. когда апокарбоксилаза была уже ею насыщена.

В противоположность данным Вуллея (Woolley, 1951; Woolley, Marifield, 1952), Капо с сотрудниками нашел, что пиритиамин, так же как окситиамин (Steyn — Parke, 1954), вызывал понижение содержания кокарбоксилазы в печени крыс (De Caro, Rindi, Grana, 1954) и повышение пировиноградной кислоты в крови мышей (De Caro, Rindi, Perri, Ferrari, 1956). Причем в равных дозах (0,5 мг) пиритиамин вызывал гораздо более резкое повышение пировиноградной кислоты, чем окситиамин. Различие в действии обоих антивитаминов сводилось к тому, что пиритиамин резко понижал содержание общего тиамина в мозге, практически не изменяя содержание его в печени, тогда как окситиамин значительно понижал содержание его в печени, оставляя неизменным содержание в мозге (De Caro a. oth., 1956). Отсюда становятся понятными неврологические симптомы, вызываемые пиритиамином, и отсутствие их при введении окситиамина.

Резкое различие в отношении токсического действия обоих антивитаминов проявляется на различных стадиях развития эмбриона цыпленка. Тогда как окситиамин менее токсичен в течение более поздних стадий инкубации, пиритиамин одинаково токсичен во всех стадиях развития.

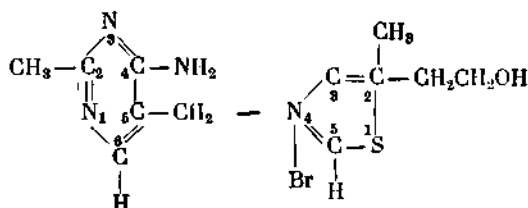
Введение дозы в 0,25—2,0 мг пиритиамина или 0,5—4,0 мг окситиамина в яйцо на 5-й день инкубации смертельно для эмбриона, тогда как та же доза окситиамина на 10—15-й день инкубации не убивает зародыша. Отношения торможения* на 5-й день инкубации тиамину к пиритиамину равно 1:10, а тиамину к окситиамину—1:20. Иное отношение торможения получается при инъекции тех же антивитаминов цыплятам: для пиритиамина это отношение повышается до $\frac{1}{4}$, а для окситиамина понижается до $\frac{1}{200}$ (Naber, Cravens, Baumann, Bird, 1954). Окситиамин причинял лишь тканевую эдему на месте инъекции, тогда как пиритиамин вызывал полиневрит. Последний проявляется у цыплят, вылупленных из яиц, которым инъекцировали пиритиамин в последних стадиях инкубации.

Третий известный антагонист тиамина—2п-бутил-5 (4-метил-5-оксиэтил-тиазолиум-бромид)-метил-6-аминопиримидин гидробромид получается при замене метильной группы в пиримидиновом кольце тиамина бутильной группой (Emerson, Southwick, 1945). Это соединение, введенное крысам и мышам, вызывает у них явления, характерные при недостатке витамина B_1 —задержку роста и полиневрит. Одновременное введение тиамина предупреждает и устраняет указанные явления.

За последнее время были получены и другие анти витаминные соединения (Dornow, Petsch, 1955).

Из известных производных тиамина с синергическим действием отметим 2-метил-тиамин и тиамин-трифосфору кислоту. Первое соединение действует примерно в 200—300 раз, а второе—в 4—5 раз слабее тиамина.

Приводим таблицу 14, в которой показана биологическая активность производных тиамина, замещенных в различных положениях (см. табл. 14).



* Отношение торможения тиамину к пиритиамину или окситиамину является таким максимальным отношением, при котором пиритиамин или окситиамин проявляют еще свое токсическое действие.

Таблица 14

Биологическая активность производных тиамина

Вещество	Положение замещающих групп							Биологическая активность на мышах и крысах
	в пиримидиновом конце			в тиазоловом кольце				
	2	4	6	2	4	5		
Тиамин (витамин B ₁)	CH ₃	NH ₂	H	H	CH ₃		CH ₂ CH ₂ OH	Сильная, антиполиневритная активность
Тиаминпирофосфат (кокарбоксилаза)	CH ₃	NH ₂	H	H	CH ₃		$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \text{OH} \\ \quad \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{OH} \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	То же
Тиамин трифосфат	CH ₃	NH ₂	H	H	CH ₃		$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \text{OH} \quad \text{OH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O} \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	В 4—5 раз слабее, чем предыдущие
Метилтиамин	CH ₃	NH ₂	H	CH ₃	CH ₃		CH ₂ CH ₂ OH	В 200—300 раз слабее, чем тиамин
Дихлоротиамин	Cl	NH ₂	Cl	H	CH ₃		CH ₂ CH ₂ OH	Инактивен
2n-Бутирилтиамин	C ₄ H ₉	NH ₂	H	H	CH ₃		CH ₂ CH ₂ OH	40 частей на 1 часть тиамина вызывает очень слабые признаки витаминной недостаточности

Вещество	Положение замещающих групп						Биологическая активность на мышах и крысах
	в пиримидиновом кольце			в тиазоловом кольце			
	2	4	6	2	4	5	
Окситиамин	CH ₃	OH	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	25 частей на 1 часть тиамина вызывают смерть через 5 недель без типичных признаков полиневрита
Окситиаминмонофосфат	CH ₃	OH	H	H	CH ₃	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}-\text{OH} \\ \\ \text{O} \end{array}$	То же соотношение вызывает смерть через 3 недели
Хлорокситиамин	CH ₃	OH	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	Биологически инактивен
Пиритиамин	CH ₃	NH ₂	H	H	H	Пиридиновое кольцо с теми же заместителями, как в тиамине: $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} \\ \quad \\ \text{C}=\text{C} \\ \quad \\ \text{N} \quad \text{C}=\text{C} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	Однократная доза в 0,5 мг вызывает у мышей, получавших ежедневно 4 мг тиамина через 7—8 дней типичный В ₁ -авитаминоз и смерть или то же действие вызывают 10 частей на 1 часть тиамина через 14—16 дней

Физиологическое действие тиамина

Зависимость V_1 -авитаминоза от состава диеты. Давно известно, что углеводная диета ускоряет симптомы V_1 -авитаминоза, а замена углеводов жиром в диете, лишенной тиамина, наоборот, удлиняет срок проявления симптомов и понижает их тяжесть. Отсюда, предложенный Эвансом (Evans, Lepkovsky, 1929) термин «щадящее тиамин действие жира», который предполагал, что жир понижает использование тиамина в организме. Известно, что тиамин в организме находится в основном в виде своей коэнзимной формы — кокарбоксилазы. Исследования Грубера (Gruber, 1950, 1951, 1953) показали, что голуби на углеводной диете, лишенной тиамина, быстрее использовали свои запасы кокарбоксилазы в одних органах (в сердечной мышце и печени) и медленнее в других (в грудной мышце и в мозге). На жировой диете, лишенной тиамина, голуби скорее теряли свои запасы кокарбоксилазы в грудной мышце и мозге и медленнее в сердечной мышце и печени. Эти исследования с сердечной и грудной мышцами были затем подтверждены Монфортом (Montfoort, 1954, 1955) на активностях пировиноградной и α -кетоглутаровой декарбоксилаз. Тогда как разница в активностях пировиноградной декарбоксилазы в обеих мышцах в течение первых 18 дней на жировой диете, лишенной тиамина, почти отсутствует, она особенно резка на углеводной диете. По прошествии 12 дней содержания голубей на углеводной V_1 -авитаминозной диете активность пировиноградной декарбоксилазы в сердечной мышце падает на 90%, тогда как содержание в течение того же срока на жировой V_1 -авитаминозной диете вызывает только 55%-ное понижение активности указанной декарбоксилазы в той же мышце. То же следует сказать и относительно α -кетоглутаровой декарбоксилазы. Потеря активности ее в обеих мышцах в течение первых 18 дней опыта была гораздо более резкой на углеводной V_1 -авитаминозной диете, чем на той же диете, не содержащей углеводов. Падение активностей обеих декарбоксилаз происходит исключительно за счет истощения запасов тиаминового коэнзима, именно кокарбоксилазы, поскольку определялось анаэробное превращение пировиноградной и α -кетоглутаровой кислот соответственно в ацетилметилкарбинол и янтарный полуальдегид. Герсхофу и Херстеду (Gershoff, Hegsted,

1954) не удалось установить больших потерь тиамина и кокарбоксилазы в печени мышей на углеводной диете, лишенной тиамина, по сравнению с «жировой», потому что различие в составе обеих диет было незначительно. Последняя диета содержала 70,7% сахарозы и 5% жира, а жировая—55,7% сахарозы и 20% жира, тогда как углеводы в предыдущей жировой диете были полностью заменены изокалорийным количеством жира.

Как мы видели, у животных на углеводной B_1 -авитаминозной диете отсутствие тиаминовых коэнзим испытывает в первую очередь сердечная мышца, вследствие этого предсмертные состояния таких животных всегда сопровождаются резким падением пульса (брадикардией) и температуры тела.

Тиамин, кроме биокаталитического действия на углеводный обмен, также способствует всасыванию сахаров в кишечнике человека (Ehrenberg, Brörken, 1953) и тем самым стимулирует поступление их в кровь. Пероральная доза 12 мг тиамина вызывает максимальное всасывание.

Связь с эндокринной системой. Давно известно, что недостаток тиамина у крыс немедленно прекращает эстрогенный цикл (Evans, Bishop, 1922) и вызывает гонадотропную гипофункцию. Более поздние исследования Эванса (Nelson, Evans, 1955) показали, что содержание самок крыс на полноценной синтетической казеино-сахарозной диете, но лишенной тиамина, в течение 1 недели до начала беременности вызывало: 1) снижение рождаемости на 97%, из них мертворожденные животные составляли 21—56%; 2) понижение веса новорожденных и 3) повышение смертности матерей в течение второй половины беременности от 3 до 26%. Удлинение срока содержания на той же диете (11—22 дня) до зачатия приводило к бесплодию и повышало смертность матерей на 53%. При содержании на диете, лишенной тиамина, отмечается наиболее сильное падение аппетита по сравнению с таковым на диетах, лишенных белка или витаминов B_6 , G или B_{12} . Так, потребление пищи на диете с недостатком тиамина падает на 71% по сравнению с потреблением полноценной пищи, тогда как при отсутствии белка или витамина B_6 оно падает лишь на 56%, а при лишении какого-либо из других витаминов—еще меньше (Nelson, Evans, 1951, 1953). Однако при ежедневной инъекции 1—3 мкг эстрона (фолликулина) и 4—6 мг прогестерона крысам, содержащимся в течение 15

дней до зачатия на диете, лишенной тиамина, процесс развития зародышей почти приходит к норме у 96% самок и сильно понижается смертность новорожденных. При введении одного эстрона рождалось 36% живых крыс, одного прогестерона — 80% по отношению к 18% на такой же диете, но без инъекции гормонов.

Инадекватность половых гормонов у крыс самок с недостатком витамина B₁ аналогична таковой, наблюдаемой у крыс с удаленным гипофизом или яичниками. В том и другом случае беременность может быть доведена до конца введением обоих вышеуказанных гормонов. Таким образом, очевидно, что тиамин имеет прямое отношение к женским половым гормонам.

В литературе отмечалось (Mc Harrison, 1919, 1920; Beznák, 1923; Skelton, 1950) влияние тиамина на функцию надпочечных желез. У животных при недостатке тиамина вызывалась гипертрофия надпочечников. Фекете и Прокай (Fekete, Prokai, 1954) показали, что тиамин тормозит способность адреналина вызывать атрофию зубной железы и активировать адренокортикотропный гормон, вероятно, вследствие блокирования в нем групп, образующих пептиды.

В начальных стадиях недостатка тиамина также возникает гипертрофия щитовидной железы, и при дальнейшем течении B₁-авитаминоза эта железа постепенно атрофируется. Введение гормона щитовидной железы в виде сухого препарата или тироксина повышает потребность в витамине B₁ и ускоряет явления полиневрита при его недостаточности (Congill, 1939). Это действие, вероятно, не является специфическим, а связано с повышением обмена, вызываемого гормонами щитовидной железы.

Зевальд (1949) пытался устранить явления тетании у паратиреоидэктомированных собак путем парентерального введения тиамина. Однако он не получил одинаковой реакции: у одних животных тиамин устранял или ослаблял явления тетании, а у других он не имел никакого эффекта.

Витамин B₁ и нервная система. Дэйс (Dias, 1947) обнаружил у собак эпилептические мышечные сокращения при непосредственном приложении к коре головного мозга бумаги, смоченной раствором тиамина. При этом конвульсии были тем сильнее, чем более концентрированный раствор тиамина прикладывали к коре мозга. Это явле-

ние, вероятно, следует приписывать действию ацетилхолина, образование которого стимулируется тиаминном. Как известно, ацетилхолин участвует в передаче первых импульсов. Отсюда понятны эпилептические мышечные сокращения при избыточном накоплении ацетилхолина.

В разделе о биокаталитических свойствах тиаминна мы указывали, что тиамин в форме своего коэнзима участвует в образовании и переносе ацетила. Подобное же действие было доказано (Ikuta, Tasashi, 1953) при одновременном добавлении холина и кокарбоксилазы к отрезкам тонкой кишки крысы или инъекции их кролику. При этом усиливалась перистальтика тонкой кишки и понижалось кровяное давление у кролика, аналогичное таковым, вызываемым введением ацетилхолина. Это указывает, что кокарбоксилаза способствует ацетилированию холина. С другой стороны, известна способность тиаминна тормозить активность холинэстеразы. Тиамин, добавленный в дозах от $7,6 \times 10^{-3}$ моля, вызывает 100% торможение холинэстеразы сыворотки крови человека (De, 1955). Это свойство является специфическим для тиаминна и поэтому тиаминпирофосфат слабее тормозит активность холинэстеразы (Torda, Wolff, 1944).

Изучение условнорефлекторной деятельности собак в состоянии B_1 -авитаминоза (Зевальд, 1948, 1949, 1951) показало, что кора больших полушарий головного мозга при этом претерпевает большие нарушения, в результате которых сильно ослаблены процессы возбуждения с преобладанием процессов торможения. Выработка новых условных рефлексов у таких собак хотя и возможна, но они не достигают той величины, которая достигается у здоровых собак. Эти явления при недостатке тиаминна также можно, вероятно, объяснить пониженным образованием ацетилхолина, возбуждающего нервную систему.

Значительное количество тиаминна, меченого— S^{35} , отложенного в головном мозге и мозжечке кур, и длительное удерживание его в этих органах (Солнцев, Филатов, Колдава, 1958) указывают на большое значение тиаминна в обмене нервной системы у животных. При B_1 -авитаминозе у собак, как нашла Шекун (1957), переваривающая сила желудочного сока снижается и возвращается к норме лишь после длительной терапии витамином B_1 . Это снижение происходит за счет падения количества секретируемого сока и кислотности его. Сопоставление этих данных

с гистологическими свидетельствует об отсутствии органических нарушений железистых клеток слизистой желудка. Это указывает, что нарушение секреторной деятельности желудочных желез при В₁-авитаминозе является функциональным и стоит в зависимости от нервной регуляции. Шекун (1957) нашла значительные морфологические изменения в центральной и периферической нервной системе у В₁-авитаминозных собак.

Действие высоких доз тиаминна на организм. Зная способность тиаминна повышать концентрацию ацетилхолина, становятся понятными описанные случаи токсикоза при внутривенном введении больших доз, равных 50 мг/кг тиаминна собаке (Smith, Foa, Weinstein, 1948).

Токсическое действие на организм высоких доз тиаминна напоминает действие кураре. В результате перенапряжения нервной системы наступает гибель животного от периферического шока, проявляющегося в виде паралича дыхания, понижения кровяного давления и сердечной деятельности. Поэтому следует избегать внутривенного или внутримышечного введения больших доз тиаминна пациентам, которым он противопоказан (Bagazzone, Lambert, 1954).

Дозы, в 20—40 раз превышающие физиологические, т. е. подкожное введение собаке 10—20 мг тиаминна ежедневно, приводили к функциональным нарушениям коры головного мозга, что выражалось в ослаблении условно-рефлекторных реакций (Зевальд, 1951), тогда как пероральное введение даже больших доз тиаминна той же собаке не приводило к каким-либо нарушениям функции коры головного мозга.

Клинические явления при недостатке тиаминна у животных

Как отмечалось, тиаминовые коэнзимы участвуют в обмене пировиноградной кислоты, из этого следует, что при недостатке тиаминна должно увеличиваться содержание пировиноградной кислоты как в крови, так и в тканях. Действительно, в литературе неоднократно отмечалось такое повышение пировиноградной кислоты при В₁-авитаминозе (Li, Kato, 1941; Карпухина, 1955). Интрацеребральным введением молочной или пировиноградной кислоты у голубей были вызваны (Nitresen, Angelescu,

1942) симптомы, аналогичные таковым при недостатке тиамина, т. е. опистотонус и др. Эти патологические явления были отнесены к отравлению пировиноградной кислотой. После введения голубю 2—5 мг тиамина явления устранялись. Первым показателем недостаточности тиамина в организме является повышенное содержание пировиноградной кислоты в моче. Все эти данные указывают на прямое отношение патологических явлений при недостатке тиамина к нарушению устранения пировиноградной кислоты и к возможному отравлению ею.

Уже отмечалось, что у кур и голубей экспериментально вызывались симптомы острого полиневрита (опистотонус и т. д.). Тихомирова * подробно описала аналогичные явления бери-бери у крыс, заключающиеся в следующем.

«Резко выраженные тонические судороги с ригидностью позвоночника и хвоста и спастические явления задних лапок. Падение на правую сторону, при попытке подняться переворачивание через спину в виде колеса. По мере развития симптомов появляются длительные судороги. Задние ноги судорожно вытянуты, голова закинута (опистотонус), туловище вытянуто или согнуто колесом и находится в состоянии напряжения (рис. 6).

Сердцебиение снижается с нормальных 500 до 160 ударов в минуту. Уже за несколько дней до наступления судорог электрокардиограмма показывает аритмию и уменьшение зубцов. Реакция на звонок (который служит показателем реактивности центральной нервной системы) у V_1 -авитаминозных крыс очень резкая, заключающаяся в сильном судорожном припадке, который при длительной реакции может кончиться смертью животного».

Подобные же симптомы бери-бери были описаны у кошек (Everett, 1944), собак (Разенков и Шекин, 1949; Зевальд, 1948, 1949, 1951).

Однако эти состояния следует отнести к острым обратимым функциональным расстройствам. Они не всегда имеют место при V_1 -авитаминозе. V_1 -авитаминоз может протекать и в отсутствие указанных явлений опистотонуса и пр.; при длительном содержании животного на диете с

* Работа Тихомировой в лаборатории проф. Ефремова в Институте питания АМН СССР была ею доложена 19/III 1948 г. на конференции Витаминного сектора Института питания и Контрольной витаминной станции в г. Москве.

недостаточным количеством тиамина образуется хронический характер B_1 -авитаминоза, подобный гиповитаминозному состоянию.

У собак имеет место острый и хронический недостаток тиамина. Острый недостаток тиамина образуется при казеинокрахмальной диете, не содержащей тиамина, и только для предупреждения рвоты, которая всегда наступает у собак, им периодически вводят внутримышечно 25 мг тиамина. Хронический недостаток тиамина (близкий к гиповитаминозному) образуется при длительной диете, содержащей тиамин, но в недостаточном количестве.

Характерную клиническую картину острого B_1 -авитаминоза получили Разенков и Шекун (1949) у собак как на автоклавированной натуральной, так и на синтетической казеино-сахарозной B_1 -авитаминозных диетах. Хотя видимых изменений в поведении животных при B_1 -авитаминозной диете долгое время нет, но в организме уже происходят нарушения в обмене веществ, что характеризуется потерей в весе, падением аппетита, снижением диуреза

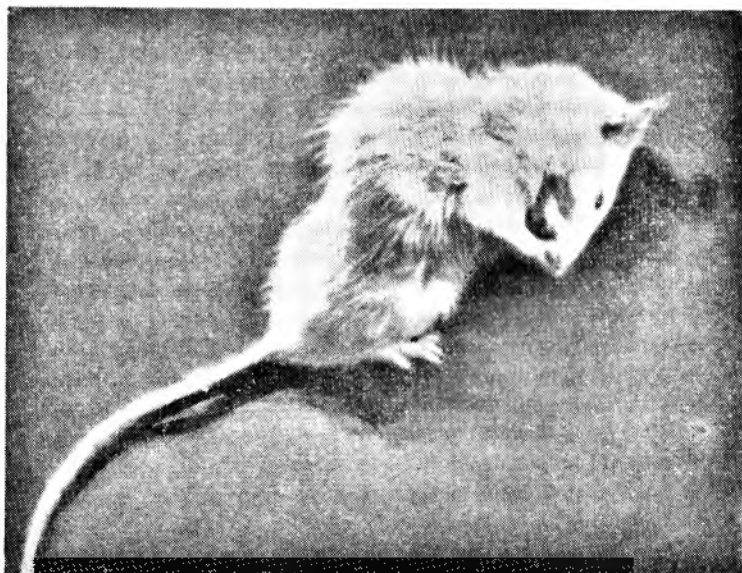


Рис. 6. Состояние напряжения у авитаминозной крысы, не получавшей витамина B_1 в течение двух месяцев.

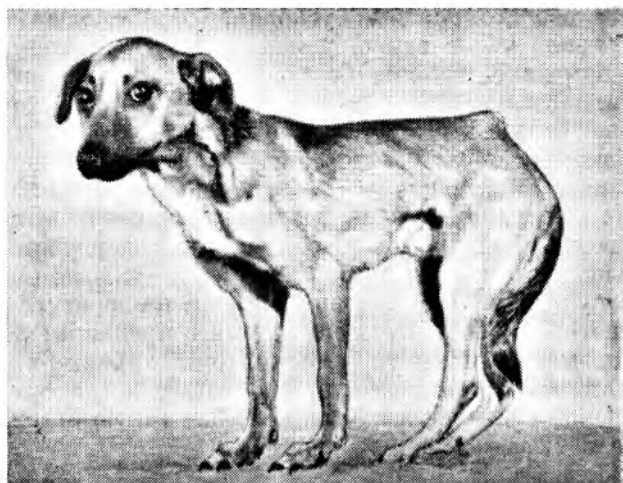


Рис. 7. В₁-авитаминозная собака.

и нарушением функции пищеварительного тракта (понос, рвота). В дальнейшем болезнь у собак обострялась, появлялась и странная походка. Казалось, что ноги у них одеревенели и не сгибаются, так что животному трудно их оторвать от пола. Отмечалось ярко выраженное нарушение координации движений. При дальнейшем развитии болезни наблюдались полная апатия, дрожь, судороги, паралич задних, а затем и передних ног и афония.

В этот период было отмечено падение температуры на 1—2 градуса, уменьшение частоты пульса до 61 и дыхания до 14 в минуту. Диурез снижался с 850—500 до 50—40 мл в сутки. Содержание пировиноградной кислоты в суточной моче повышалось с 2—3 до 14—36 мг%. Если в таком состоянии собаке не вводили достаточного количества тиаминна, то она погибала. После введения тиамина собака быстро поправлялась, и у нее восстанавливалось нормальное состояние.

Все вышеуказанные симптомы В₁-авитаминоза несколько быстрее выявлялись (примерно через 1½ месяца) на синтетической, чем на автоклавированной диете (примерно через 3—5½ месяцев). На рисунке 7 изображена собака Джек в состоянии последней стадии В₁-авитаминоза.

При неблагоприятных условиях окружающей среды (при низкой температуре) у животных не удается получить острых симптомов бери-бери вследствие того, что реактивная способность организма ослаблена и животное погибает быстрее, чем требуется для образования острого синдрома. Так, при содержании крыс на полноценной синтетической казеино-крахмальной диете, но лишенной тиаминна, Тихомировой не удавалось получить вышеуказанного синдрома острого бери-бери при содержании крыс в помещении с низкой температурой ($10-12^{\circ}$), но она всегда получала таковые при нормальной температуре окружающей среды (25°). Это согласуется с прежними работами, указывавшими на то, что симптомы, характерные при недостатке тиаминна, ярче проявляются, когда организм постепенно обедняется им, а не терпит такую острую нужду в нем, как в данном случае.

Обмен тиаминна и его усвояемость

Содержание тиаминна в тканях может сильно колебаться в зависимости от содержания его в пище. Насыщение тканей тиамином, так называемый потолок насыщения, для крысы соответствует в среднем содержанию 2 мкг на 1 г веса тела. При недостатке тиаминна эта величина падает до $1/10$ и даже ниже (Lowry, 1952), у человека потолок насыщения около 1,5 мкг/г. При диете, лишенной тиаминна, падение содержания тиаминна в различных органах неодинаково. Мозг — единственный орган, который довольно долго сохраняет исходное содержание тиаминна (Salcedo, Najjar, Holl, Hutzler, 1948). В таблице 15 представлены результаты содержания тиаминна в различных органах человека и крысы при питании пищей полноценной и с недостатком тиаминна.

Из данных таблицы 15 видно, что ткани легко теряют свои запасы тиаминна. Для максимального роста животного организма необходимо 25—50%-ное насыщение тиамином тканей. Как при низком, так и при высоком содержании почти весь тиамин в тканях присутствует в форме своих коэнзим (Ochoa, Peters, 1938; Salcedo a. oth., 1948; Byerrum, Flokstra, 1951). Понижение окисления пировиноградной кислоты наступало, когда содержание тиаминна в тканях падало ниже 25% насыщения (Olson, Pearson, Miller, Stare, 1948).

Содержание тиамина в тканях человека и крысы
(среднее из нескольких случаев в мкг на 1 г ткани)

Материал и литературный источник	Характер питания	Сердце	Скелетная мышца	Печень	Почки	Мозг
Человек—материал вскрытия (Taylor, Pollak, Williams, 1942)	Хорошее питание, смерть случайная . .	3,7	1,2	2,2	2,9	1,6
Человек—материал вскрытия (Ferrebee, Waissman, Parker, 1942)	Плохое питание с недостатком тиамина, смерть от В ₁ -авитаминоза	0,6	0,1	0,5	0,6	0,5
Крыса (Mitchell, Isbell, 1942)	Полноценная диета	7,3	1,8	7,6	4,2	3,0
Крыса (Schultz, Light, Cracas, Atkin, 1939)	Диета, лишенная тиамина; тяжелый недостаток . .	0,68	0,14	0,26	0,39	

Показателем насыщенности тканей крысы может служить содержание тиамина в цельной крови (рис. 8). В крови здорового человека тиамин распределен в следующем соотношении: 0,8 мкг в 100 мл плазмы (Jorham, Abels, Robins, Rhoads, 1942), 8 мкг в 100 мл красных (Hulse, Weissman, Ferrebee, 1944) и 70 мкг в 100 мл белых (Burch, Bessey, Lowe, Longy, 1952) шариков. Однако с изменением потребления тиамина от 0,53 до 15,5 мкг ежедневно в течение 1 месяца содержание тиамина в цельной крови меняется только незначительно—от 4 до 6,8 мкг на 100 мл (Foltz, Barborka, Ivy, 1944). По другим данным (Chielll, Kirk, 1950), при ежедневном пероральном введении по 5 мг тиамина пожилым пациентам, содержание тиамина в их крови повышалось с 1,8 до 4 мкг на 100 мл. Введение в пищу риса, обогащенного тиамином, вызвало лишь 20%-ное повышение тиамина в крови (Burch, Salcedo, Carrasco, Intengan, 1952). Эти изменения тиамина в крови идут в основном за счет изменения содержания его в красных шариках. Поэтому для диагностики состояния тиаминовой насыщенности содержание тиамина в крови человека

является менее чувствительным, чем в крови животных. Для этой цели скорее может служить содержание пировиноградной кислоты в крови (Семенович, 1947; Линдгрен, 1953).

В настоящее время еще мало известно о молекулах тиамин, введенного в организм. Имеются указания, что

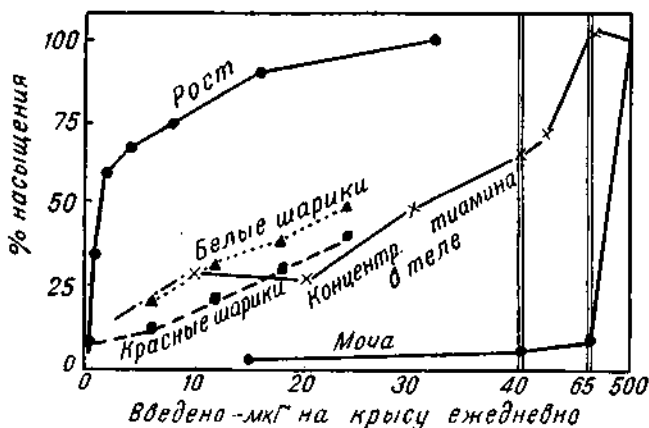


Рис. 8. Отношение между введением тиамина и ростом, содержанием тиамина во всем теле, белых и красных кровяных шариках и выделением тиамина с мочой у крысы.

тиамин частично подвергается расщеплению, очевидно, тиаминазой кишечной флоры на тиазоловую и пиримидиновую половины и последняя в виде 2-метил-4-амино-5-этоксиметилпиримидина выделяется мочой (Mickelsen, Caster, Keys, 1947). Причем при низких дозах тиамина (человеку 0,5 мг ежедневно) выделение пиримидина составляет примерно 40% от введенного тиамина, а с повышением количества поглощенного тиамина от 0,5 до 2 мг выделение пиримидина резко понижается, тогда как выделение тиамина повышается. Александер с сотрудниками (Alexander, Landwehre, Mitchell, 1946) нашел еще большие количества пиримидина в моче. После инъекции 10 мг тиамина в моче было обнаружено 4 мг пиримидина. Ввиду этого был предложен (Caster, Mickelsen, 1954) метод одновременного определения тиамина и пиримидина в моче, основанный на стимуляции обоими веществами дрожжевого брожения. Поэтому едва ли содержание одного

тиамина в моче может служить правильным показателем состояния насыщенности организма тиамином, скорее таким показателем служит, как установили Тихомирова (1948) и Линдгрэн (1953), содержание пировиноградной кислоты в моче. Среднее количество тиамина, выделенное в суточной моче здоровым человеком, при полноценном питании равно 442 мкг (Линдгрэн, 1953). Изучение тиамин меченого S^{35} в организме крысы показало (Mc Carthy, Cerecedo, Brown, 1954), что 64,4% всей дозы введенного тиамин выделяется с мочой, а 1,4% — с калом. При этом 62% радиоактивности, выделенной с мочой, относится за счет тиаминовой или тиазоловой серы, а остальная часть оказалась окисленной. Небольшая часть, 2,33% радиоактивности от введенной дозы, оказалась в моче в форме неорганического сульфата. Во всех анализируемых тканях был обнаружен меченый тиамин: в мышцах откладывается 16,35% всей радиоактивности, в семенниках — 2,03%, в почках — 1,05%, в печени — 1,07%, в сердце — 0,97%, в мозге — 0,66%, в легком — 0,36%, в зобной железе — 0,2% и в селезенке — 0,18%. При недостатке тиамин выделение радиоактивности с мочой падает на 52%, из них только 46,5% относится к тиазоловой сере, в то же время количество выделенного с мочой сульфата повышается до 4,52%. После перорального введения человеку 5 мг тиамин довольно значительное количество его выделяется с калом — от $1\frac{1}{2}$ до $3\frac{1}{4}$. Что это выделение тиамин не относится за счет биосинтеза кишечной флорой, доказывалось падением содержания его в кале до исходного уровня после прекращения введения тиамин (Kirk, Chieffl, 1951). Содержание тиамин в кале является довольно условной величиной, так как маскируется биосинтезом его в кишечнике и поэтому может служить только условным показателем усвояемости. При среднем питании и потреблении примерно 1,5 мг тиамин ежедневно с пищей человек выделяет ежедневно с калом примерно 0,4—1,0 мг тиамин (Friedemann a. oth., 1948; Denko a. oth., 1946). При недостатке тиамин падает также и усвояемость его, что показывает большее выделение тиамин с калом. Так, пациенты с недостатком тиамин и с содержанием его в крови 2 мкг% выделяли с калом 340 мкг/100 г, а при хорошем снабжении тиамином и содержании его в крови 2,5—6,0 мкг% выделяли тиамин 285 мкг/100 г (Kirk, Chieffl, 1950).

Показателем насыщенности организма тиамином следует считать содержание пировиноградной кислоты в крови и в моче, которое для здорового человека не должно превышать 0,5 мг % в крови и 0,54 мг % в моче (Линдгрен, 1953).

Содержание тиамина в молоке

Тиамин легко переходит в молоко лактирующих животных. Причем в молозиве коров и овец его больше, чем в молоке.

Весной молозиво у свиней также богаче тиамином, чем молоко, а осенью наоборот. Осеннее молоко свиней гораз-

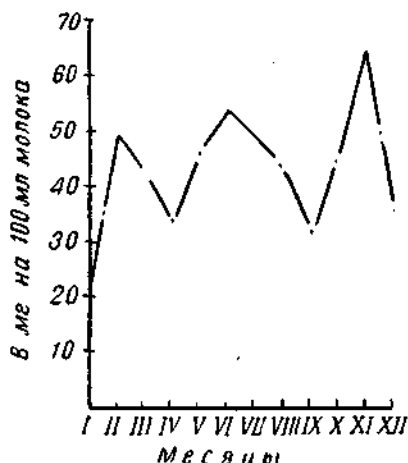


Рис. 9. Сезонные колебания содержания тиамина в молоке.

до богаче тиамином, чем молозиво и весеннее молоко. Избыток тиамина в пище немного повышает содержание его в молоке. Корова, получавшая тиамина на 135% больше, выделяла с молоком лишь на 29% выше контрольных коров (Давидов, Гулько, Ермакова, 1956). В таблице 16 представлено содержание тиамина в молоке ряда животных, а на рисунке 9—сезонные колебания содержания тиамина в коровьем молоке (Давидов и Гулько, 1954).

Содержание тиамина в молоке коров зависит не только от количества витамина, получаемого с кормом, а главным образом от синтеза тиамина микрофлорой желудочно-кишечного тракта.

При грубых кормах, способствующих этому биосинтезу, выделение тиамина с молоком большее, чем при рационах с преобладанием концентратов и сочных кормов (Давидов, Гулько, 1956).

Увеличение количества каротина и введение в рационы препаратов витамина А повышают как содержание витамина А, так и тиамина в молоке.

Таблица 16

**Содержание тиамина в молоке человека и животных
в различные периоды лактации и питания**

Молоко	Продолжитель- ность лактации (в днях)	Среднее содержание тиамина в мкг/100 мл	
		при среднем питании	при том же питании, допол- ненном 12 мг тиамина ежедневно
Желское (Pratt, Hamil, Moyer, Kancher, 1951)	58—76 76—90 144—177 204—263	15,4 15,0 12,8 15,7	26 24,2 17 25,3
Коровье (Pearson, Darnel, 1946)	Молозиво Молоко	62,0 38	
Коровье (Дави- дов, Гулько, Ермакова, 1956):			
корм обычный	»	25	
» с преоб- ладанием каротина	»	50	
Коровье (Самой- лов, Балакаев, 1956):			
пастбищный период	»	5	{ в Турк- менской ССР
стойловый период	»	64	
Кобылье (Дави- дов с сотр., 1956)	Молозиво Молоко	38 16—39	
Овечьё (Pearson, Darnell, 1946)	Молозиво Молоко	108 60	
Овечьё (Давидов, Гулько, 1958)	Молоко { в пастбищный период » стойловый		97 { с ин- 99 { тиме
Свиное (Davis, Heidebrecht, Mac Vicar, Ross, Witchair, 1951)	Молозиво На 5-й день » 15-й » » 55-й »	60 60 60 70	72 { с ин- 115 { тиме

Усвояемость тиамина дрожжей

Из всех продуктов тиамин примерно одинаково хорошо усваивается, исключение составляют сырые дрожжи, весьма богатые тиамином. Очевидно в дрожжах и во многих других живых одноклеточных организмах тиамин в виде своей коэнзимной формы прочно связан с белком и не может диффундировать через клеточную стенку.

Однако, после свертывания протеина и разрушения клеточной стенки кипячением или обработкой спиртом тиамин дрожжей легко усваивается животными (Parsons, Williams, Johnson, 1945; Parsons и др., 1945).

Как показали польские исследователи (Ямполер, Десперак-Сецомска, 1954), тиамин живых дрожжей не только не усваивался, т. е. количественно выделялся с калом, но живые дрожжи даже частично лишали организм тиамина, вводимого с пищей. Ежедневное потребление 100 г живых дрожжей в течение 3—4 дней приводило к таким же результатам, как и понижение количества тиамина в диете на 25%. Тиамин кипяченых дрожжей усваивался на 100%.

Потребность в тиамине

Потребность животных в тиамине является условной и зависит от различных факторов. Ефремов и Тихомирова (1951) нашли, что потребность крыс в тиамине зависит от температуры окружающей среды. Обычные дозы тиамин—20 мкг на 100 г веса тела крысы, вполне удовлетворяющие физиологическую потребность в этом витамине в нормальных условиях, становятся недостаточными при понижении температуры окружающей среды до 10—12°. В этом случае потребность в тиамине повышается примерно в 3—4 раза.

При переносе таких крыс из холодного помещения в теплое у них остается на некоторое время повышенная потребность в тиамине.

При повышении температуры количество расходуемой энергии понижается, а вследствие этого и потребность в тиамине также понижается. Было установлено (Mills a. oth., 1947), что повышение температуры сверх физиологически нормальной повышает потребность тиамин у цыплят.

Так, цыплятам, выращиваемым на синтетических кормах, при 22° требуется 1 мг тиамина на 1 кг корма, с повышением же окружающей температуры до 33° потребность в тиамине у цыплят возрастает до 2 мг. Кроме того, потребность в тиамине находится в зависимости от состава рациона животного, в основном от углеводных и жировых компонентов его. Повышенное содержание углеводов в корме увеличивает потребность в тиамине, а повышенное содержание жиров понижает потребность в этом витамине.

Потребность тиамина с возрастом животного повышается. Взрослым крысам требуется примерно в два раза больше тиамина, чем молодым. Это происходит вследствие понижения усвояемости тиамина в пожилом возрасте. Доза 120 мкг тиамина усваивается примерно на 95% крысами в возрасте 19—20 месяцев и только на 75% в возрасте 22—24 месяцев (Dargatz, 1958). Это же относится к другим животным.

Потребность в тиамине находится в зависимости и от эндогенных факторов: физическая работа, беременность (Oldham, Sheft, Porter, 1951) и лактация повышают потребность в тиамине.

При некоторых патологических состояниях также повышается потребность в тиамине (например, при заболеваниях желудочно-кишечного тракта).

Несмотря на многообразие факторов, влияющих на потребность в тиамине, все же приняты средние минимальные дозы суточной потребности для людей, живущих в умеренном климате и со средним пищевым режимом («Нормы суточного потребления витаминов», изд. 2-е. Медгиз, 1946).

Суточная потребность человека в тиамине (в мг) выражается следующим образом:

для взрослого человека при средней затрате труда	2
» » » » тяжелом труде	2,5
» » » » очень тяжелом труде	3,0
» беременной женщины (5—8 месяцев беременности)	2,5
» кормящей » (до 7 месяцев)	3,0
» детей до 7 лет	1,0
» » от 7 до 14 лет	1,5
» » старше 14 лет	2,0

Карпухина (1955) считает, что суточная потребность в тиамине тренирующихся спортсменов—2,5—3 мг низка,

на что указывает повышенное содержание пировиноградной кислоты в их крови. Поэтому потребность в тиамине для тренирующихся спортсменов должна быть выше 3 мг.

Потребность в тиамине поросят для оптимального роста составляет от 1,0 до 1,5 мг на кг сухого веса корма (Miller, Schmidt, Hoefler, Lueska, 1954, 1955). Поросятам весом в 4,5 кг требуется ежедневно 1,26 мг тиамина на 1 кг сухого веса корма, а весом в 18 кг—1,06 мг тиамина на 1 кг сухого веса корма (Lucas, Lodge, 1958).

Глава 3

ВИТАМИН В₂ (РИБОФЛАВИН)

Желто-зеленая окраска молочной сыворотки была известна давно. В 1879 году эту окраску объясняли наличием в сыворотке красящего вещества — лактохрома, однако это вещество не было выделено и состав его оставался неизвестным. Только в 1933 году Куну с сотрудниками впервые удалось выделить это вещество в чистом виде из молочной сыворотки; его называли лактофлавином. Лактофлавин имел желтый цвет с зеленой флуоресценцией. В 1934 году Куном с сотрудниками и Каррером с сотрудниками тот же самый лактофлавин был получен из печени, дрожжей, цветов одуванчика, солода и т. д. Это вещество обладало сильным ростовым действием на крыс, содержащихся на В₂-авитаминозной бурквин-шермановской диете и, по данным Куна, исцеляло крыс от пеллагроподобного дерматита. На основании этого Кун отождествлял его с антипеллагрическим фактором Гольдбергера и назвал его витамином В₂. Дальнейшие исследования Гиорги и Бирч (Birch, Gyögyu, Haggis, 1934, 1935) доказали, что пеллагроподобный дерматит крыс предупреждается и излечивается другим витамином, именно витамином В₆, а лактофлавин необходим крысам лишь как ростовой фактор и фактор, предохраняющий от облысения (Ефремов, 1937—1938). Позднее Эльведжимом (Elvehjem, Woolley, Waisman, 1939) было доказано, что гольдбергеровский антипеллагрический фактор (витамин РР) оказался другим компонентом витаминов группы В — именно никотиновой кислотой. В 1935 году Каррер с сотрудниками (Karrer u. andere) синтезировал ряд производных лактофлавина, причем оказалось, что из всех производных биологические и физико-химические свойства 6,7-диметил-9-(α 1-рибитил)-изоаллоксазина вполне согласовывались с та-

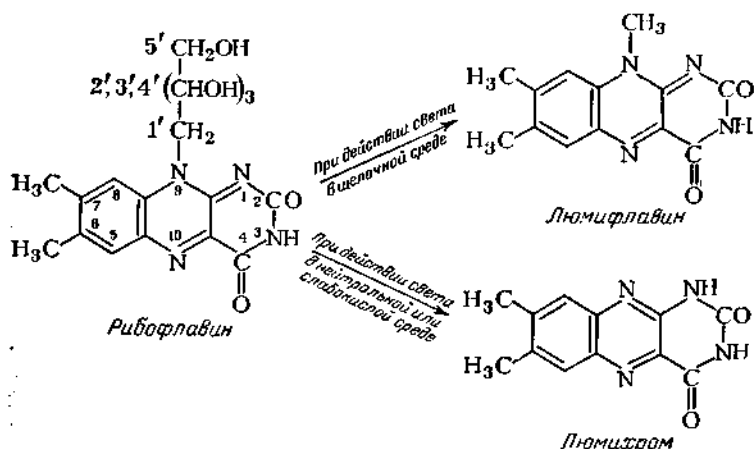
ковыми же лактофлавина, полученного из естественных источников. Ввиду того, что в состав его молекулы входит пентоза—рибоза, Каррер и Кун отказались от исторического названия лактофлавин и в отличие от других флавинов предложили термин «рибофлавин».

Физико-химические свойства рибофлавина

При освещении в щелочной среде рибофлавин теряет боковую цепь, содержащую гидроксилы, и переходит в люмифлавин. Последний обладает той же окраской и флуоресценцией, что и рибофлавин, но в отличие от него нерастворим в хлороформе.

При освещении в нейтральной или слабокислой среде от рибофлавина отщепляется вся боковая цепь и он переходит в желтоокрашенное вещество, лишенное флуоресценции: люмихром. В ультрафиолетовом свете люмихром в нейтральной среде обладает синей флуоресценцией, а в щелочных растворах сине-зеленой. Люмихром, подобно люмифлавиному, растворим в хлороформе.

Весь процесс превращения можно изобразить следующим образом:



Однако, как показали данные Свободевой (Svobodova, Nais, Kostir, 1953), при щелочном фотолизе рибофлавина наряду с люмифлавином образуется также небольшое количество люмихрома.

Фотолиз катализируется определенной концентрацией водородных ионов с максимумом в области рН 4,5, в ацетатном буфере.

Добавление 0,1 М соляной кислоты и сдвиг рН в кислую область изменяет молекулу рибофлавина и делает ее более устойчивой к фотолизу. То же самое вызывает и сдвиг рН в щелочную область.

В темноте или при слабом рассеянном свете рибофлавин устойчив к минеральным кислотам и окислителям — Вг, HNO_3 и др. Только при кипячении с перманганатом он слегка разрушается. При продолжительном стоянии в щелочном растворе он разрушается даже при комнатной температуре и быстрее при нагревании. При этом происходит его обесцвечивание с расщеплением на мочевину и 1,2-дигидро-6,7-диметил-2-кето-1- α -рибитил-3-хиноксалинкарбоновую кислоту (Surrey, Nachod, 1951).

Рибофлавин легко восстанавливается гидросульфитом, цинковой пылью или водородом в присутствии катализатора, при этом он присоединяет два атома водорода и переходит в бесцветное дигидро-соединение, лишенное флуоресценции. При встряхивании на воздухе он окисляется в рибофлавин с появлением характерной окраски и флуоресценции.

В воде рибофлавин плохо растворим (0,25 г в 100 мл при 20°), в метиловом и этиловом спирте — еще хуже. Вкус его горький.

Рибофлавин кристаллизуется из воды или спирта в виде тонких игл, соединенных в друзы, оранжево-желтого цвета с температурой плавления 292°.

Нейтральные водные и спиртовые растворы рибофлавина дают интенсивную зеленовато-желтую окраску с желто-зеленой флуоресценцией. Последняя исчезает в сильноокислых и щелочных растворах и особенно интенсивна в области рН от 3 до 9, т. е. ближе к изоэлектрической точке рибофлавина, которая лежит в зоне рН 6.

Спектр поглощения рибофлавина зависит от аллоказиновой группировки, присутствующей в его молекуле. Максимумы поглощения лежат в области 450, 375, 260 и 225 м μ .

Рибофлавин вращает плоскость поляризации в щелочных растворах влево $(\alpha)_D^{20}$ в $\frac{N}{10}$ NaOH = $110 \pm 5^\circ$ (при концентрации равной 0,3%).

Рибофлавин осаждается из нейтральных растворов уксуснокислым свинцом, азотнокислым серебром и сернокислыми солями ртути и таллия. Не осаждается пикриновой, пикролоновой и фосфорновольфрамовой кислотами.

Из нейтральных растворов адсорбируется углем, сульфидом свинца и бентонитовыми глинами (асканитом, гумбрином, франконитом и флоризином); из кислых растворов — бентонитовыми глинами. Из адсорбатов на глине рибофлавин элюируется смесью, состоящей из воды, метилового спирта и пиридина, а из сульфида свинца — горячей водой. Из угля рибофлавин элюируется плохо.

Рибофлавин, обладая в своей таутомерной форме гидрокисильной группой в 4-положении (в пара-положении к азоту в кольце), подобно 8-оксихинолину обнаруживает металлсвязывающие свойства (Albert, 1950). Он поглощает дивалентные ионы тяжелых металлов. Легче всего и в наиболее стабильной форме рибофлавин связывается с железом, затем с медью, цинком, никелем и кобальтом.

Наибольший максимум поглощения рибофлавина лежит в области 450 м μ и поэтому лучи света с этой длиной волны наиболее быстро фотолизуют рибофлавин. Прямой солнечный свет быстро разрушает рибофлавин, тогда как при рассеянном дневном или слабом электрическом освещении рибофлавин сравнительно устойчив (Поволоцкая, Зайцева, 1954). Кратковременное освещение видимыми лучами в области 450 м μ в течение 60—75 секунд в анаэробных условиях вызывает обратимое восстановление рибофлавина. Восстановленный рибофлавин может передать водород или электроны соответствующему акцептору. Кислород тормозит фотовосстановление рибофлавина и предохраняет его от фотолиза. Добавление соединений, вызывающих образование металлокомплексов с рибофлавином, например натрий этилендиамин-тетраацетат, стимулирует фотовосстановление рибофлавина (Werkel, Nickerson, 1954). Это ускоренное восстановление рибофлавина в комплексе с металлом может служить моделью той формы рибофлавина, в которой он связан в металлофлавопротеине при энзиматическом катализе (см. раздел «Биокаталитические свойства рибофлавина»).

В коже животных имеются вещества, тормозящие фотолиз рибофлавина и предохраняющие его от разрушения. Например, в коже лягушки (*Rana nigromaculata*) был

найден птерин (2-амино-4-оксиптеридин-6-карбоновая кислота), который в два раза понижал фотоллиз рибофлавина в водном растворе (Jagi, 1954).

Синтез рибофлавина

Было предложено много схем синтеза рибофлавина. Мы изложим наиболее совершенную схему, предложенную Карпером и усовершенствованную Фишлером (Fishler, Piister, Barson, Ladenburg, Freuring, 1947). Эта схема следующая (см. стр. 124).

Ввиду малой доступности одного из исходных продуктов синтеза рибофлавина—d-рибозы, Березовским, Курдюковой и Преображенским (1949) был предложен метод, в котором d-рибоза заменена на легко доступную d-арабинозу. Метод заключается в конденсации о-ксилидина с d-арабинозой в 3,4-диметиланилин-d-арабинозид, с последующей изомеризацией его в 3,4-диметилфенил-d-изоарабинозамин и восстановлении последнего в 3,4-диметилфенил-d-рибамин.

Биосинтез рибофлавина и получение его из естественных источников

Биосинтез рибофлавина осуществляется растительными клетками и микроорганизмами. Свежая зеленая трава наиболее богата рибофлавином. Рибофлавин синтезируют многочисленные виды грибов рода *Aspergillus* и *Penicillium*, а также и все виды дрожжей. Из бактерий он синтезируется многими видами *Leuconostoc*, *B. brassicae*, бактериями дизентерийно-тифозной группы, аэробными и анаэробными спорообразующими бактериями и многими другими.

Биосинтез рибофлавина в желудочно-кишечном тракте у жвачных. Жвачные (крупный и мелкий рогатый скот) не нуждаются в экзогенном рибофлавине, так как микроорганизмы, населяющие желудочно-кишечный тракт, осуществляют сами биосинтез рибофлавина. Поппэ (1958) изучал влияние различных сочных кормов на биосинтез рибофлавина в желудочно-кишечном тракте двух коров (об условиях опыта см. стр. 80). Он нашел значительный биосинтез, который сильно повышался при добавлении в корм кукурузного силоса, вико-овсяной смеси, кормовой капусты, свеклы или картофеля (табл. 17).

Таблица 17

**Количество рибофлавина в различных отделах пищеварительного тракта и в выделениях коров
(в мг/кг сухого вещества химуся)**

	Рационы с преобладанием													
	рационального силоса		кукурузного силоса				выпаса с овсом		кормовой капусты		кормовой свеклы		Картофеля	
	№ коровы													
1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
Корм	27	30	56	41	50	30	129	109	74	50	46	56	34	
Химус верхнего моста	70	65	227	113	208	—	362	165	380	177	331	253	283	
Химус нижнего моста	46	57	122	90	106	—	159	126	211	145	187	162	163	
Кал	29	30	54	39	52	31	48	37	66	40	42	46	41	
Разница между верхним мостом и калом	41	35	173	74	156	—	313	128	314	137	289	207	242	
Моча	24	10	25	12	32	20	42	24	52	20	40	27	42	
Молоко	0	5	25	7	24	7	28	6	21	0	10	16	8	
Всего в выделе- ниях	53	45	104	58	108	58	118	67	139	60	92	89	91	

Количество рибофлавина в химусе, так же как и тиамин, значительно колеблется в зависимости от времени суток, снижаясь в ночные часы.

В противоположность содержанию тиамина уровень рибофлавина повышается по мере перехода от преджелудков к собственно желудку, т. е. от рубца к сычугу (табл. 18).

Исследование биосинтеза рибофлавина в желудочно-кишечном тракте телят в возрасте от 2 до 5 месяцев показало наличие интенсивного синтеза уже в ранние периоды их жизни. На втором месяце жизни биосинтез достигает 300%. В послемолочном периоде интенсивность биосинтеза рибофлавина в рубце зависит в основном от корма и по содержанию рибофлавина может превышать на 930% содержание его в корме.

Добавление (см. гл. 2) в корм микроэлементов не оказывало заметного влияния на биосинтез рибофлавина.

Однако в противоположность биосинтезу тиамина добавление в корм биомитина (1—5 мг/кг живого веса)

Таблица 18

**Динамика содержания рибофлавина в желудке жвачных
(в мг/кг сухого вещества хлмуса)**

Желудок	Валух 1		Валух 2		Телка Фергана		Бычок Руслан		Корова Минмоза							
	Состав рациона (в кг)															
	сено 1,5	концентрат 1,0	турпенс 0,17	сено 1,5	концентрат 1,0	турпенс 0,17	сено 6	турпенс 15	сено 3	концентрат 2,2	свекла 4	силос 4	сено 3	концентрат 3	свекла 20	силос 15
Содержание рибофлавина																
Рацион . . .	3,5			3,5			3,6		2,8							2,6
Рубец . . .	15,1			12,7			12,8		14,4							20,9
Сетка . . .	16,1			13,4			16,8		15,2							22,3
Кишечка . . .	17,6			14,6			17,7		16,9							23,4
Сычуг . . .	18,9			16,6			17,6		17,6							24,8

стимулировало биосинтез рибофлавина на 100% у валухов и на 50% у бычков (Полпэ, 1958).

Кроме грибов и бактерий, синтезирующих рибофлавин в количествах, необходимых для построения соответствующих ферментных систем, имеются также и такие микроорганизмы, которые могут продуцировать и выделять в среду во много раз больше рибофлавина, чем это требуется. К числу таких организмов относится микроскопический плесневый гриб *Eremothecium ashbyii*, который может выделять в среду до 1,8 мг рибофлавина на 1 мл и, кроме того, накапливать его в вакуолях мицеллия. Из такой среды, обогащенной рибофлавином, производственное получение кристаллического рибофлавина становится вполне рентабельным.

Изучение физиологии питания *E. ashbyii* показало, что наилучшей средой для биосинтеза рибофлавина является глюкозная среда, содержащая дрожжевой автолизат (Диканская, 1953, 1954; Голышева, 1955). Наоборот, синтетическая среда с казеиновым гидролизатом, вызывая бурный рост мицеллия, дает пониженное накопление рибофлавина. Добавление к казеиногидролизатной среде некоторых азотистых веществ (цистин, триптофан и др.), сти-

мулирующих рост мицелия гриба, в то же время понижает биосинтез рибофлавина. Так как рост гриба и повышенный синтез рибофлавина стимулируются различными условиями питания, которые в большинстве случаев являются антагонистами, то можно предположить, что повышенное образование рибофлавина физиологически не необходимо и выражает определенный, возможно патологический сдвиг в обмене веществ гриба. Это подтверждается также и тем, что понижение концентрации витаминов в среде вызывает более скудный рост мицелия и одновременно стимулирует образование рибофлавина (Диканская, 1953). Особенно это положение витаминов стимулировало образование значительных количеств рибофлавина, когда промытый мицелий гриба *E. ashbyii* инкубировался в среде, содержащей только неорганические соли (Klungsoyr, 1954).

Хорошая аэрация среды стимулирует образование рибофлавина (Диканская, 1954). В процессе развития гриба значительно меняется динамика образования рибофлавина. В первой стадии развития гриба, длящейся 1—3 суток, когда образуется большое количество хондриосом с накоплением гликогена и волютина, идет и прогрессирующий синтез рибофлавина (Гольшера, 1950). В это время отмечается и наибольшая интенсивность дыхания.

Во второй стадии (4—6-е сутки) вес мицелия еще продолжает увеличиваться, хотя менее интенсивно. В это время отмечается наибольшее количество гифов с рибофлавином в вакуолях, дыхательный коэффициент Q_{O_2} резко падает с понижением активности дыхательных ферментных систем. Однако синтез рибофлавина в этой стадии наибольший.

В третьей стадии (7—15-е сутки) наступает постепенно прогрессирующий лизис мицелия с резким падением синтеза рибофлавина. На рисунке 10 изображена диаграмма образования рибофлавина и продолжительность развития гриба (Гольшера, 1955).

Из разнообразных штаммов гриба штаммы, наиболее интенсивно образующие рибофлавин, характеризуются слабой активностью цитохромной системы и высокой активностью дегидразной системы, в которой, как мы увидим ниже, наиболее ярко выражено участие рибофлавина. Кроме *E. ashbyii*, производственное значение как

образователя рибофлавина могут иметь также гриб *Ashbya gossypii* на среде с малым количеством сахара и *Aspergillus niger* на среде, богатой сахаром. Левин (1951) установил, что содержание рибофлавина достигает максимума в первые дни роста гриба, а затем содержание его

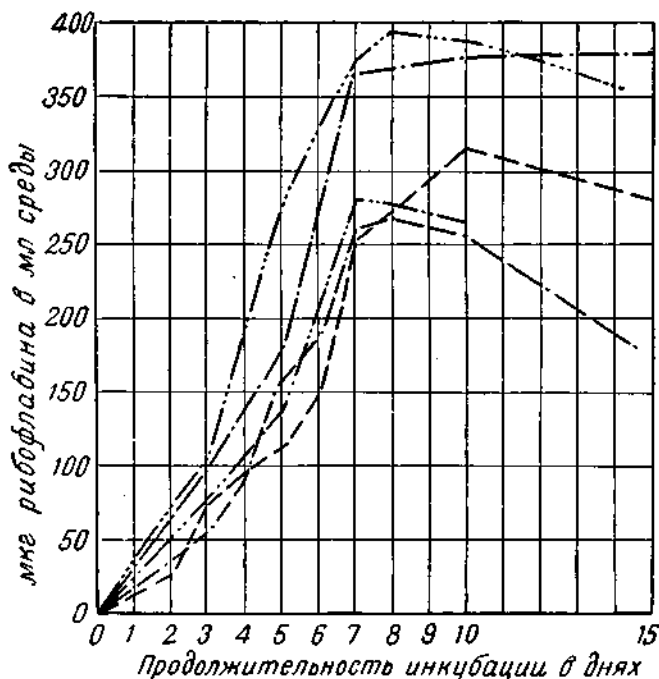


Рис. 10. Динамика образования рибофлавина *E. ashbyii*.

в мицелии понижается. Это понижение можно приостановить, подвергая гриб голоданию. При повышении содержания азота в среде и температуры инкубации динамика образования рибофлавина грибом меняется и при старении он перестает понижать интенсивность синтеза рибофлавина. Добавление ртутных солей изменяет направление синтетической деятельности *Aspergillus niger* в сторону образования глюконовой кислоты и рибофлавина (Китавин, 1951). Оказалось, что способность синтезировать рибофлавин при этом возрастает в несколько раз вместе с активностью глюкозооксидазы или нотатина (рибофлавинфермента). Очевидно, рибофлавин нужен

грибу для построения нотатина, которое стимулируется ртутной солью. Каков физиологический механизм обезвреживания ртутной соли, пока еще не ясно, тем более что подобным же эффектом обладают также и другие ядовитые вещества, как сернистый цинк, фтористый натрий, фенол и даже азотнокислый аммоний (Китавин, 1952). Во всех случаях параллельно с увеличением активности глюкозооксидазы повышается и интенсивность дыхания.

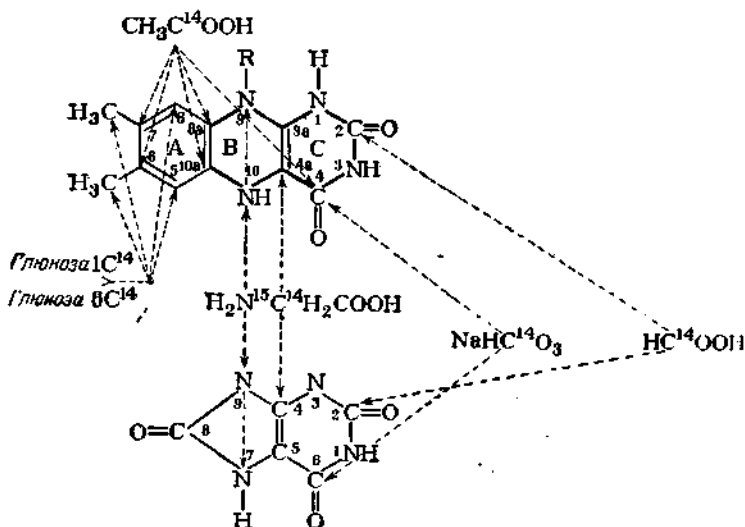
Подобно стимуляции биосинтеза рибофлавина ядами, биосинтез его в растениях стимулируется также и механическим повреждением клеток (ранением), в результате реакции на последнее. Поволоцкая (1950) показала, что в клубнях картофеля, разрезанного на 8 частей, отмечается повышение содержания рибофлавина с 1,65 до 4,56 мг на 1 г сухого вещества, а в разрезанных на 8 частей семядолях гороха—с 2,7 до 5,4 мг по прошествии 3 суток после разрезания. Через 6 суток после разрезания гороха содержание рибофлавина в нем повышается до 18 мг на 1 г сухого вещества. При этом содержание связанного рибофлавина в картофеле падает примерно с 75 до 14%, а содержание свободного рибофлавина сильно возрастает.

Поволоцкой (1954) был разработан простой способ выделения чистого рибофлавина из культуральной среды. Этот метод основан на образовании очень плохо растворимых в воде сдвоенных молекул промежуточных продуктов восстановления рибофлавина в лейкофлавин. Максимальное образование этих продуктов происходит при оптимальной концентрации гидросульфита—0,05%. Полученный осадок сначала имел красно-оранжевый цвет, как у родофлавина, а после фильтрования и высушивания становился зеленым (хлорофлавин), затем желто-зеленым (вердофлавин) и, наконец, приобретал желто-оранжевую окраску, т. е. окислялся в рибофлавин. Общий выход рибофлавина, полученного переосаждением, составлял около 90%. Чистота его после перекристаллизации была близка к 100%.

Исследование (Plaut, 1953) механизма биосинтеза рибофлавина с помощью включения меченых радиоактивных углеродов в молекулу рибофлавина показало, что гриб *Ashbya gossypii* из глюкозы строит как рибозную боковую цепь (от 2¹—C до 5¹—C) рибофлавина, так и 0-ксилоловое ароматическое кольцо (5 и 8 C) и при-

соединенные к нему метильные группы. При этом 40% меченой глюкозы идет на образование боковой цепи, а 60% — на 0-ксилоловую часть.

Добавление в ростовую среду *Ashbya gossypii* глюкозы, меченой радиоактивным углеродом (C^{14}) как в 1-м, так и в 6-м положениях, дает одинаковое включение радиоактивности как в метильные группы, так и углероды в положениях 5+8 кольца А (0-ксилоловой части) рибофлавина. Такое же включение дает и уксусная кислота $C^{14} H_3COOH$. Наоборот, $CH_3C^{14}OOH$ дает включение радиоактивности в углероды в положении 6+7, 8a+10a и 4 рибофлавина. Радиоактивный углерод бикарбоната при биосинтезе рибофлавина также направлялся в 4-е положение кольца С. Углерод муравьиной кислоты включался во 2-е положение, углерод глицина в положении 4a и 9a, тогда как азот (N^{15}) глицина направлялся в соседние с ним положения 9 и 10. Ниже представлена схема включения меченых атомов различных соединений, содержащихся в среде *A. gossypii* в процессе биосинтеза рибофлавина.



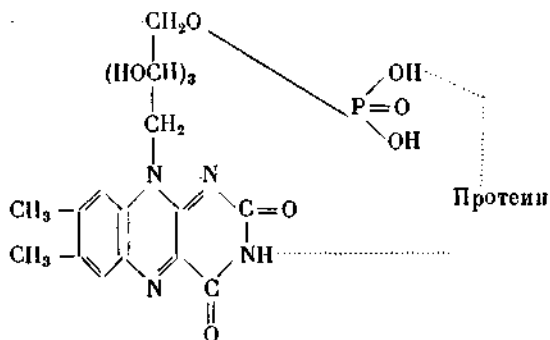
Из вышеуказанной схемы видно, что включение атомов при построении скелета рибофлавина аналогично такому при построении пурина (в частности, мочевиной кис-

лоты). Таким путем было определено, из каких составных частей среды происходят отдельные части молекулы рибофлавина в процессе его биосинтеза грибом.

Принимая во внимание аналогию включения атомов указанных соединений в молекулы рибофлавина и пурина и указания (Mac Laren, 1952), что естественные пурины повышают биосинтез рибофлавина, особенно гуанин (Brown, Goodwin, Jones, 1958), интересно было установить, не являются ли рибозиды естественных пуринов предшественниками в биогенезе рибофлавина. Оказалось (Mc Nutt, 1954), что как нуклеозиды, так и нуклеотиды естественных пуринов слабее стимулировали образование рибофлавина грибом *A. gossypii*, чем свободные пурины. Тем же автором было установлено, что пиримидиновое кольцо аденина активно включается в диметилизоаллоказиновую часть рибофлавина, а урендный С-атом имидазольного кольца аденина включается весьма слабо. Это указывает, что некоторые свободные пурины, возможно, являются предшественниками в биосинтезе рибофлавина.

Блоккаталитические свойства рибофлавина

В 1932 году Варбург и Христиан открыли желтый дыхательный фермент. Позднее Теорелл (1934, 1935) установил, что этот фермент состоит из протенна и коэнзима; последний является фосфорилированным рибофлавином. Этот коэнзим принимает участие в переносе водорода в процессах дегидрирования. Оказалось, что фосфорная кислота служит для сцепления рибофлавина с протейном, и весь комплекс был изображен Куном следующим образом:

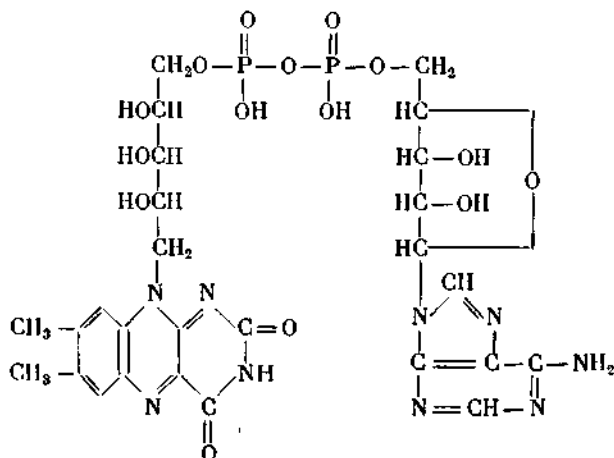


В 1938 году Варбург, Христиан и Хаас (Haas, 1938) выделили из дрожжей желтый фермент с более сложным коэнзимом, состоящим из рибофлавина, двух частичек фосфорной кислоты, рибозы и аденина (флавинадениндинуклеотид).

Ферменты, в состав которых входит рибофлавин, были названы флавопротеинами. Вскоре был выделен ряд флавопротеинов с подобным же динуклеотидным коэнзимом и из других источников: из молока—молочный флавопротеин (Ball, 1938, 1939), из сердечной мышцы свиньи—мышечный флавопротеин (Straub, 1939), из печени—альдегид-оксидаза (Gordon, Green, Subrahmanyam, 1940).

Оказалось, что ксантин-оксидаза молока и печени (Corran, Dewan, Gordon, Green, 1939), диафораза (Corran, Green, Straub, 1939; Adler, Euler, Günter, 1939), кребсовская d-аминокислотная оксидаза (Krebs, 1933, 1935), d-аспарагиновая оксидаза (Still, Sperling, 1950), глицин-оксидаза (Ratner, Nocito, Green, 1944), l-амино-кислотная оксидаза (Blanchard, Green, Nocito, Ratner, 1944) и нотатин (из *P. notatum*) (Birkinshaw, Raistrick, 1943; Coulthard a. oth., 1945) также являются флавопротеинами.

Все эти флавопротеины имеют общий динуклеотидный коэнзим следующего строения.



В противоположность рибофлави́ну и рибофла́вин-фосфорной кислоте флави́надени́ндинуклеотид обладает незначительной флуоресценцией (Weber, 1950). Это гашение флуоресценции рибофлавина является следствием образования внутреннего комплекса между изоаллоксази́ном и адени́ном в флави́надени́ндинуклеотиде.

Комплекс не флуоресцирует и существует в равновесии с его флуоресцирующей формой, равновесие может быть сдвинуто с изменением рН среды. Наибольшей флуоресценцией флави́надени́ндинуклеотид обладает в области рН 3,7.

При соединении флави́надени́ндинуклеоти́да или рибофла́винфосфата с апоэнзимом в одних случаях наблюдается полное исчезновение флуоресценции (нотатин), а в других—флуоресценция остается неизменной (в диафоре́зе). Это объясняется тем, что в апоэнзиме нотатина имеются ароматические группы (остатки тирозина), которые, вероятно, и являются гасителями флуоресценции.

В 1940 г. из дрожжей был выделен (Haas, Horecker, Hogness, 1940) энзим с моноклеотидным коэнзимом (рибофла́вин-фосфорной кислотой)—цитохром-редукта́за и было доказано, что этот энзим составлял основную массу дрожжевых флавопротеинов.

Этот энзим отличался от старого желтого фермента следующим:

- 1) его протеин (апофермент) был менее устойчив,
- 2) он обладал гораздо большей реактивной способностью к восстановленному трифосфопиридиннуклеотиду (TPNH) и цитохрому С,
- 3) отличался меньшей константой диссоциации.

Подобная же цитохром-редукта́за была найдена и в животных тканях: в грудной мышце голубя (Edelhoch, Nayaishi, Teply, 1952), в сердечной мышце свиньи (Vernon, Mahler, Sarkar, 1952) и в печени свиньи (Horecker, 1950).

Энзим из первых двух источников реагировал с восстановленным дифосфопиридиннуклеотидом (DPNH) и с окисленным цитохромом С, а энзим из печени с восстановленным трифосфопиридиннуклеотидом (TPNH) и также с окисленным цитохромом С. Итак, мы имеем в животных тканях две цитохром-редукта́зы: DPNH-цитохром-редукта́зу и TPNH-цитохром-редукта́зу.

Таким путем удалось найти связь между восстановленной кодегидразой, т. е. DPNH или TPNH и физиологическим окислителем—цитохромом С. Прежние флавопротеины—«старый желтый фермент», «новый желтый фермент» и флавопротеин из сердечной мышцы, быстро реагируя с метиленовой синью, с цитохромом С или с кислородом, вступали в реакцию очень медленно, гораздо ниже физиологически минимальной скорости, необходимой для дыхания, тогда как цитохром-редуктазы очень быстро реагировали с окисленным цитохромом С и гораздо медленнее с кислородом (2% скорости реакции с цитохромом С).

Цитохром-редуктазы животных тканей, как и вообще все животные флавопротеины, имеют флавинадениндинуклеотидную простетическую группу.

Однако рибофлавин-фосфорная кислота может реагировать с апоэнзимом печеночной TPNH-цитохром-редуктазы даже с несколько большей активностью (примерно в два раза).

Хотя все препараты животных цитохром-редуктаз обладали диафоразной активностью, однако при извлечении 9%-ным спиртом можно было довольно хорошо освободить цитохром-редуктазу от диафоразы и считать поэтому диафоразу за отдельный специфический флавопротеин.

Доказано (Horecker, Huppel, 1949; Morell, 1952), что ксантин-оксидаза молока и животных тканей может также реагировать и с окисленным цитохромом С, передавая ему электроны, т. е. восстанавливая цитохром С.

При этом скорость восстановления цитохрома С наибольшая в анаэробных условиях, в аэробных условиях кислород сам окисляет флавинадениндинуклеотид ксантин-оксидазы и тормозит окисление цитохромом С. Таким образом, кислород и цитохром С конкурируют друг с другом за водородный акцептор в системе ксантин-оксидазы.

Как показал Короткоручко (1954), препараты ксантин-оксидазы по мере очистки теряют свою альдегидоксидазную активность, поэтому хорошо очищенный препарат ксантин-оксидазы (примерно 90% чистоты) был совершенно лишен альдегидной активности. Выделенная Гордоном с сотрудниками в 1940 году из печени свиньи

альдегид-оксидаза была лишена ксантин-оксидазной активности.

Предположение о различии ксантин-оксидаз из молока и печени основывалось на различной растворимости их в воде и отношении к ингибитору—тетраэтиламинодитиодисульфиду.

В противоположность печеночной молочная ксантин-оксидаза лучше растворима в воде и не тормозится ингибитором. Оказывается, ксантин-оксидаза в печени находится в форме более прочного комплекса, из которого она освобождается при нагревании до 56° и приобретает свойства, идентичные молочной ксантин-оксидазе (Richert, Vanderlinde, Westerfeld, 1950).

Нотатин в противоположность ксантин-оксидазе весьма специфичен (Keilin, Hartree, 1952) к субстрату, т. е. к глюкозе, которая количественно окисляется в глюконовую кислоту, согласно следующему уравнению: $C_6H_{12}O_6 + O_2 + H_2O = C_6H_{12}O_7 + H_2O_2$.

Коэнзимы многих флавопротеннов (ксантин и альдегид-оксидазы, цитохром-редуктазы и т. д.) обнаруживали ряд аномалий как в отношении состава, так и диссоциации, спектра поглощения и прочих свойств. Однако аномалии стали вполне ясными после доказательства, что эти флавопротенны содержат тяжелые металлы в составе своей простетической группы.

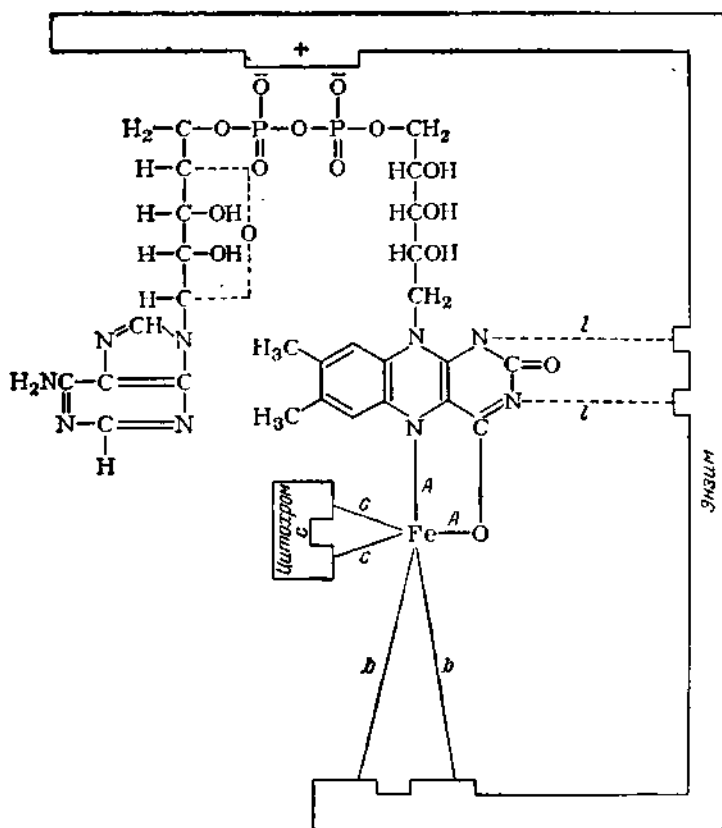
Так, бутирил и другие ацил-коэнзим-А-дегидразы (Mahler, 1953, 1954; Beinert, Craue, 1953, 1954) являются медными флавопротеннами, ксантин- (De Renzo a. oth., 1953; Richert, Westerfeld, 1953; Green, Beinert, 1953; Totter a. oth., 1953; Mackler a. oth., 1954) и альдегид- (Mahler a. oth., 1954) оксидазы и нитрат-редуктаза (Nicholas, Nason, 1953, 1954) содержат молибден, а известная нам DPNH-цитохром-редуктаза (Mahler, Elowe, 1953, 1954) содержит железо.

Все эти флавопротенны имеют флавинадениндинуклеотидную группу, связанную через металл (в частности, железо, как это имеет место у DPNH-цитохром-редуктазы) с протенном и с субстратом (в частности, с цитохромом C для той же редуктазы) согласно схеме на стр. 136.

Большинство металлофлавопротеннов способны реагировать с цитохромной системой посредством присоединения к ней таким же способом, как показано на схеме.

Впервые наличие металла (молибдена) было установлено в ксантин-оксидазе (Albert, 1953). К этому открытию привели:

1) способность рибофлавина связываться с металлами,



2) повышение активности ксантин-оксидазы при введении молибдена крысам, содержащимся на диете, лишенной последнего,

3) наличие своеобразного спектра поглощения, отличного от такового флавинадениндинуклеотида в хорошо очищенных препаратах ксантин-оксидазы.

Альдегид-оксидаза также является молибдено-флавопротеином (Mahler a. oth., 1954) и тем самым оба

флавопротеина близки между собой. Как из ксантин-оксидазы, так и из альдегид-оксидазы молибден может быть удален диализом в 0,01 М аммиаке, и тогда оба энзима лишаются способности реагировать с цитохромом С, но еще могут передавать водород от субстрата краскам (в частности, метиленовой сини) или молекулярному кислороду, хотя и с меньшей скоростью. Этим объясняется неспособность впервые полученных препаратов ксантин-оксидазы реагировать с цитохромной системой, так как в процессе их очистки они, вероятно, теряли молибден.

Однако способность к реакции с цитохромом С восстанавливалась при добавлении к препарату ксантин- или альдегид-оксидазы, лишенной молибдена, трехокиси последнего. То же относится и к феррофлавопротеинам.

Так, из DPNH-цитохром-редуктазы железо может быть удалено действием слабой кислоты. Препарат, освобожденный от железа, терял свою редуктазную активность, но сохранял диафоразную активность (Mahler, Elowe, 1954).

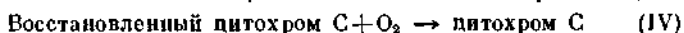
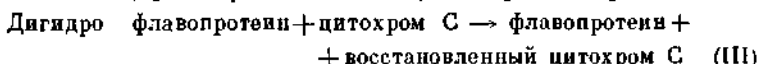
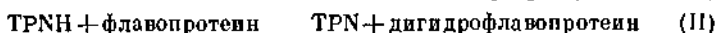
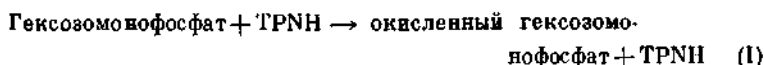
Редуктазная активность может быть восстановлена действием Fe^{+++} на энзим, лишенный железа.

На этих примерах мы видим, что физиологическое действие всех флавопротеинов, вероятно, связано с цитохромной системой и эта способность их реагировать с системой исчезала вследствие отщепления металла в процессе приготовления флавопротеинов (ксантинооксидазы, диафоразы и др.). Нитрат-редуктаза и другие металлофлавин-ферменты также теряли свою активность с потерей металла, и добавление последнего восстанавливало их.

Механизм переноса водорода флавопротеинами основан на способности рибофлавина (аллоксазиновой группы его) обратимо восстанавливаться и вновь окисляться.

Скорость восстановления и обратного окисления рибофлавина в флавопротеинах зависит от специфического протеина, связанного с коэнзимом, в состав которого входит рибофлавин.

В частности, для дрожжевой или печеночной цитохром-редуктазы процесс дегидрирования субстрата (гексозомонофосфата) пойдет по следующей схеме,



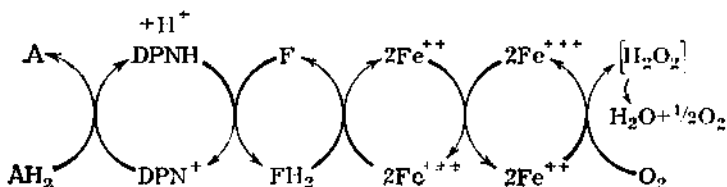
Под влиянием цитохром-оксидазы

В случае окисления 1-аминокислоты почечной 1-аминокислотной оксидазой вместо TPNH она реагирует с DPNH и две последние реакции (III и IV) заменятся непосредственным окислением восстановленного флавопротеина кислородом воздуха.

Ксантин-оксидаза в печени оказывается связанной как с молочной или глутаминовой дегидразами через посредство системы DPN-цитохром-редуктазы, так и с кислородом через посредство цитохрома С (Morell, 1955). Это можно изобразить на следующей схеме.



Вся система дегидрирования (окисления) любого субстрата (AH_2) посредством переноса водорода, с помощью дифосфопиридиннуклеотида (DPN), флавопротеина (F) и феррицитохрома С с цитохром-оксидазой, на молекулярный кислород может быть изображена следующей схемой.



В таблице 19 мы приводим все известные в настоящее время флавопротейны и реакции, в которых они участвуют.

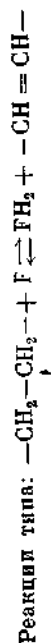
Обменные реакции, в которых участвуют флавопротеины

Энзим	Субстрат	Продукт реакции	Кофактор	Литература
Реакции типа: $RCNHNR'COOH + F \xrightarrow{H_2O} FH_2 + RC = NR'COOH + H_2NR'$				
d-Аминнокислотная гидроаза	Большинство d-аминокислот	Соответствующие кетокислоты + NH_3	FAD	Krebs (1933, 1935)
l-Аминнокислотная гидроаза	Большинство l-аминокислот	Соответствующие кетокислоты + NH_3	FMR	
Глицин дегидраза	Глицин	Глиоксиловая кислота	FAD	Ratner, Nocito, Green (1944)
d-Аспарагиновая гидроаза	d-Аспарагиновая кислота	Щавелево-уксусная кислота (щавелевая кислота)	FAD	Still, Sperling (1950)
Реакции типа: $RCNHONCOOH + F \rightarrow FH_2 + RCOCOOH$				
l-Оксикислотная гидроаза может быть идентична с l-аминокислотной дегидразой печени крыс	Многие l-оксикислоты	Соответствующие α -кетокислоты	FMP	Snell (1953)
Гликолевая гидроаза	Гликолевая кислота	Глиоксиловая кислота	FAD	Snell (1953)

Энзим	Субстрат	Продукт реакции	Кофизим	Литература
Реакции типа: $\left\{ \begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{N} - \text{R} \end{array} \right\} + \text{F} + \text{H}^+ \rightarrow \text{FH}_2 + \left\{ \begin{array}{c} \text{CH} \\ \\ \text{N} = \text{R}^+ \end{array} \right\} = \text{DPN} = \text{TPN}$				
DPN-Цитохром С редуктаза	DPNH	DPN	FAD с Fe	Mahler, Elowe (1954)
TPN-Цитохром С редуктаза	TPNH	TPN	FMP или FAD	Haas a. oth (1940)
Реакции типа: а) $\text{R}-\overset{\text{H}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{O} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{R}-\overset{\text{H}}{\underset{ }{\text{C}}}-\overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{OH}$ б) $\text{R} \left\{ \begin{array}{c} \text{N} \\ \\ \text{CH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{R} \left\{ \begin{array}{c} \text{N}-\text{H} \text{ H} \\ \quad \\ \text{C} \\ \quad \\ \text{NH} \quad \text{OH} \end{array} \right\} + \text{F} \rightarrow \text{FH}_2 + \left\{ \begin{array}{c} \text{R}-\text{COOH} \\ \\ \text{N}-\text{H} \text{ H} \\ \quad \\ \text{C}=\text{O} \\ \quad \\ \text{NH} \quad \text{OH} \end{array} \right\}$				
Нотатин (глюкозодегидраза) ^a	d-Глюкоза	d-Глюконовая кислота	FAD	Coulthard a. oth (1945)

Тип А

Энзим	Субстрат	Продукт реакции	Кофактор	Литература
Альдегид дегидраза <i>Тип В</i>	Многие альдегиды	Соответствующие кислоты	FAD с Mo	Mahler a. oth. (1954)
Ксантин дегидраза	Ксантин Гипоксантин Ксантоптерин Альдегиды	Мочевая кислота Ксантин Лейкоптерин Соответствующие кислоты	FAD с Mo То же FAD	Mahler a. oth. (1954), Morell (1955)
Хинон оксидаза ⁷	Хинолин Алкалоиды N1-Метилникотинамид	Карбостирин Аналоги карбостиринла 6-Пиридон N1-Метилникотинамида	» » »	Snell (1953) » (1953) » (1953) См. гл. 4 о никотиновой кислоте



Жирнокислотная коэнзим А дегидраза	Производные жирных кислот—коэнзима А	Производные α , β -ненасыщенных жирных кислот—коэнзима А	FAD с Cu	Mahler (1954), см. гл. 4 о никотиновой кислоте

Энзим	Субстрат	Продукт реакции	Кофизим	Литература
Фумаровая редуктаза	Фумаровая кислота	Янтарная кислота	FAD прочно связан с белком	Keatney, Singer (1955); Shell (1953); Буклин (1955)
Нитрат-редуктаза	Нитрат	Нитрит	FAD с Mg	Nicholas, (1954) Nason

^а Энзим реагирует со всеми α -аминокислотами, соответствующими природным L-аминокислотам за исключением α -глутаминовой кислоты, α -лизина, α -пистина и α -глицина.

^б В различных организмах найдены многие родственные L-аминокислотные дегидразы, отличающиеся лишь по специфичности и конечному электронному (водородному) акцептору. Энзим из печени крысы не окисляет глицин, треонин, серин, двухосновные аминокислоты и диамино-кислоты.

^г Этот энзим не был обнаружен в животных тканях.

^г Возможно, идентична с альдегид-дегидразой печени, однако препараты последней из печени свиньи не окисляют хивин или другие азотистые основания.

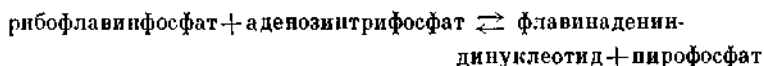
Обозначения. F—флавопротеин, FN_2 —то же, но восстановленный, FAD—флавинадениндинуклеотид.

FMP—флавинмонофосфат (рибофлавинфосфорная кислота). CPN—дифосфоридиннуклеотид (кодегидраза I). DPNH—то же, только восстановленный. TPN—трифосфоридин-нуклеотид (кодегидраза II). TPNH—то же, но восстановленный. R и R¹—различные радикалы.

Из многообразия реакций, катализируемых флавопротейнами, видно, какое значение имеет рибофлавин в составе коэнзима для жизни любой живой клетки.

Таким образом, введенный в организм рибофлавин, так же как и тиамин, не действует как таковой, а сначала подвергается реакциям, в результате которых образуется коэнзим. Последний, соединяясь со специфическим протеином, дает флавопротеин, участвующий в окислительных процессах в организме. Кун и Руди (Kuhn, Rudy, 1935) нашли, что стенка тонких кишок нормальных крыс способна фосфорилировать рибофлавин. То же Труфанов (1940) доказал в отношении печени. Вопреки английским исследователям (Ochoa, Rossiter, 1939), отрицавшим возможность синтеза флавинадениндинуклеотида *in vitro*, Труфанову (1941 и 1942) удалось обнаружить способность срезов переживающих тканей крыс здоровых и с недостатком рибофлавина синтезировать этот динуклеотид *in vitro* при инкубации их с рибофлавином. Особенно интенсивно этот синтез проходит в тканях крыс с острым недостатком рибофлавина, бедных динуклеотидом.

Позднее было подтверждено (Schrecker, Kornberg, 1950) предположение Труфанова, что флавинадениндинуклеотид синтезируется из рибофлавинфосфата и аденозинтрифосфата с одновременным образованием неорганического пирофосфата. Реакция идет согласно следующему уравнению:



Таким образом, первым этапом образования флавинадениндинуклеотида будет фосфорилирование рибофлавина.

Действительно, легкость, с которой рибофлавин фосфорилируется в животных тканях и дрожжах, подтверждает такую возможность. Из дрожжей был выделен фермент-флавокиназа, фосфорилирующий рибофлавин (Keane, England, 1951, 1952).

Легкость включения меченого неорганического фосфата в флавинадениндинуклеотид при инкубации кашицы печени с рибофлавином подтверждает вышеуказанную схему биосинтеза флавинадениндинуклеотида.

В то время как в дрожжах рибофлавин в энзиматических системах функционирует в основном в виде флавин-монопнуклеотида (рибофлавин—фосфата), в животных тканях он функционирует, главным образом в виде флавинадениндинуклеотида.

Состояние рибофлавина в тканях

В 1940 году Труфанов и Кирсанова показали, что в дрожжах рибофлавин в основном находится в связанной форме. Поэтому для полного извлечения рибофлавина из дрожжей его следует освободить из связанного состояния с помощью автолиза. Для освобождения требуется автолиз продолжительностью не менее 30 часов при 37°. Позднее Труфановым (1946) то же было отмечено и в отношении животных тканей. В 1953 году Поволоцкая доказала существование в природе новой формы рибофлавина, прочно связанной с белком. Эта форма рибофлавина, как полагают Поволоцкая и Зайцева (1953), отличается от известных форм его тем, что в ней флавинадениндинуклеотид прочно связан с белком двумя связями: одной через посредство аминогруппы адениновой части, а другой—иминогруппы изоаллоксазиновой части (Поволоцкая, Зайцева, Скоробогатова, 1955). Эта связанная форма недоступна как для химического определения с помощью флуоресценции, так и для микробов (Поволоцкая, Скоробогатова, 1953).

При действии протеаз (препарата трипсина, панкреатина) расщепляются пептидные связи, так же как и при автолизе, и освобожденный флавинадениндинуклеотид становится доступным для микробов. Для химического определения полученный динуклеотид следует еще подвергнуть фосфатазному расщеплению для освобождения рибофлавина.

Букин (1955) полагает, что эта прочно связанная форма принадлежит сукциндегидразе—энзиму, в котором кофермент весьма прочно связан с белком. Это подтвердилось рядом следующих фактов: 1) активность сукциндегидразы грудной мышцы голубей повышалась при диете, богатой рибофлавином, и понижалась при диете, лишенной рибофлавина; 2) диализ препаратов сукциндегидразы повышал их активность и 3) 45-минутное освещение ультрафиолетовым светом в среде с рН 7,4 полно-

стью инактивировало очищенные препараты сукциндегидразы. Частично инактивированный (15-минутным освещением) очищенный препарат сукциндегидразы удавалось реактивировать добавлением флавинадениндинуклеотида (Поволоцкая, Букли, 1955).

Эти данные Букина подтверждаются работой Кейрней и Зингер (Keagney, Singer, 1955), которым удалось тепловой денатурацией или кислотным гидролизом на холоду отщепить от сукциндегидразы Fe^{++} , а протеолизом — рибофлавиновый компонент и тем самым доказать металлофлавопротениновую природу сукциндегидразы с прочно связанным кофакментом.

Содержание такой прочно связанной с белком формы рибофлавина особенно высоко в мышечной ткани. По данным Эпштейна (1955), для скелетной мышцы кролика она составляет более 44% всего рибофлавина. Еще более высокое содержание прочно связанной формы рибофлавина дает Поволоцкая (Поволоцкая, Зайцева, 1955; Поволоцкая, Зайцева, Скоробогатова, 1955) для пшеницы, гороха, картофеля, капусты и моркови, где эта форма достигает более 50% всего рибофлавина. Такое высокое содержание прочно связанной формы рибофлавина в некоторых продуктах указывает, что она не может относиться только к одной сукциндегидразе. Возможно, что флавинадениндинуклеотид в металлофлавопротенинах выше указанных источников более прочно связан с протенином, чем показано на схеме (см. стр. 136).

Однако из ряда растительных объектов рибофлавин даже в коэнзимной форме не удавалось освободить протеолизом, но он полностью освобождался 3-часовым извлечением с 10—15-кратным количеством 0,2% NaOH, как это видно из данных таблицы 20 (Зайцева, Поволоцкая, 1958).

В сыром коровьем молоке флавинадениндинуклеотид находится в связанном состоянии с белком и обнаруживается только после нагревания. Флавинадениндинуклеотид, добавленный к сырому коровьему молоку, постепенно исчезает вследствие связывания с молочным протенином.

В крови коровы и свиньи не удается обнаружить свободного флавинадениндинуклеотида. Флавинадениндинуклеотид, добавленный к крови указанных животных, исчезает при инкубации (Manson, Modi, 1957). Все это

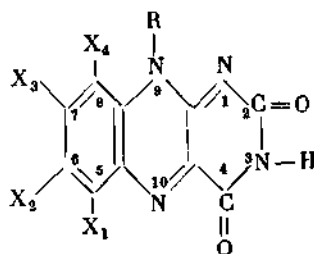
Содержание рибофлавина в растениях, определяемое при различных способах извлечения (в мг на 1 г)

Растения	Без протео-лиза	С протео-лизом	С щелочной экстракцией
Пшеница	0,9	2,0	11,0
Горох	1,5	3,5	18,8
Кукуруза	0,8	8,3	13,2
Подсолнечник (семена) . .	2,1	5,0	15,4

указывает, что в животном организме флавинадениндинуклеотид прочно связан с протеином, но эта связь несколько иного характера, чем в растительном организме.

Биологически активные производные рибофлавина

В настоящее время синтезировано большое количество самых разнообразных производных как с заменой сахароподобной боковой цепи, так и заместителей в кольцах и заменой пиримидиновой части в изоаллоксаниновой структуре на бензольную (феназины). Здесь мы не будем разбирать все производные, остановимся лишь на биологически активных. Если в изоаллоксанине мы обозначим заместители через X_1 , X_2 , X_3 , X_4 и R, то структуры всех нижеописанных соединений можно изобразить следующим образом:



I X_1 и $X_4 = H$, X_2 и $X_3 = CH_3$;	R-l-арабитил
II X_1 и $X_4 = H$, X_2 и $X_3 = CH_3$;	R-d-дульцитил
III X_1 , X_2 и $X_4 = H$; $X_3 = CH_3$;	R-d-рибитил
IV X_1 , X_2 и $X_4 = H$; $X_3 = CH_3$;	R-d-рибитил
V X_2 и $X_4 = H$; X_1 и $X_3 = CH_3$;	R-d-рибитил

VI	X_1 и $X_3 = H$; X_2 и $X_4 = CH_3$;	R-d-рибитил
VII	X_3 и $X_4 = H$; X_1 и $X_2 = CH_3$;	R-d-рибитил
VIII	X_1 и $X_4 = H$; $X_2 = C_2H_5$; $X_3 = CH_3$;	R-d-рибитил
IX	X_1 и $X_4 = H$; X_2 и $X_3 = C_2H_5$;	R-d-рибитил
X	X_1 и $X_4 = H$; $X_2 = Cl$; $X_3 = CH_3$;	R-d-рибитил
XI	X_1 и $X_4 = H$; $X_2 = CH_3$; $X_3 = Cl$;	R-d-рибитил
XII	X_1 и $X_4 = H$; X_2 и $X_3 = Cl$;	R-d-рибитил
XIII	X_1 и $X_4 = H$; X_2 и $X_3 = Cl$;	R-d-сорбитил
XIV	X_1 , X_3 и $X_4 = H$; $X_2 = Cl$;	R-d-дульцитил
XV	X_1 , X_3 и $X_4 = H$; $X_2 = Cl$;	R-l-арабитил
XVI	X_1 , X_3 и $X_4 = H$; $X_2 = Cl$;	R-d-рибитил
XVII	X_1 и $X_4 = H$; $X_2 = CH_3$; $X_3 = C_2H_5$;	R-d-рибитил

Из производных рибофлавина, отличающихся сахароподобной боковой цепью, активны два соединения, это: 6,7-диметил-9(1'-l-арабитил)-изоаллоксазин (I) и 6,7-диметил-9(1'-d-дульцитил) изоаллоксазин или галактофлавин (II). Активность I примерно в 3 раза ниже (15,3 мг в 1 день на крысу) таковой рибофлавина. В отношении молочнокислых бактерий он действует антагонистично по отношению к рибофлаvinу. II обладает сильным антагонистическим действием на молодых крыс (Emerson, Wurtz, Johnson, 1945). Ежедневная доза 2,00 мг галактофлавина сильно понижает рост в присутствии 0,01 мг рибофлавина, и это угнетение роста устраняется с повышением дозы рибофлавина до 0,04 мг. Добавление 1,00 мг антагониста к 100 г кормов, лишенных рибофлавина, усиливает задержку роста молодых крыс и ускоряет симптомы алопеции.

Устранение одной метильной группы в рибофлавине, т. е. 6-метил-9(1-d-рибитил)-изоаллоксазин или 6-метил-рибофлавин (III) и 7-метил-рибофлавин (IV), в два раза понижает активность полученного гомолога. Передвижение же хотя бы одной метильной группы в соседнее положение [5,7-диметил-рибофлавин (V), 6,8-диметил-рибофлавин (VI)] лишает активности, а передвижение обеих метильных групп [5,6-диметил-рибофлавин, или изерибофлавин (VII)] дает гомолог с противоположным действием. Доза 2 мг изорибофлавина на 100 г корма вызывает у мышей и крыс явления недостатка рибофлавина (задержку роста и алопецию), которые устраняются одно-

временным введением 0,08 мг рибофлавина (Emerson, Fishler, 1944). В опытах с *L. casei* соединение VII вызывало торможение роста с индексом, равным 40 (Snell, Klatt, Bruins, Cravens, 1953). Замена одной метильной группы в рибофлавине этильной в положении 6-6-этил-7-метил-9 (1-d-рибитил)-изоаллоксазин (VIII) сохраняет 3% активности рибофлавина в опытах с ростом *L. casei* (Aposhian, Lambooy, Aposhian, 1954) и 43—52% активности рибофлавина--в опытах с ростом крыс с недостатком рибофлавина (Lambooy, 1958). Тогда как 7-этил-6-метил-9 (1-d-рибитил)-изоаллоксазин (XVII) обладал только 37% активности рибофлавина в тех же опытах на крысах. Однако в длительных опытах на крысах 6-этил-7-этилфлавины неблагоприятно действовали на процесс размножения у потомства.

Замена обеих метильных групп этильными дает соединение 6,7-диэтил-9(1'-d-рибитил)-изоаллоксазин или диэтил-рибофлавин (IX), полностью сохранившее свою рибофлавиновую активность в опытах с ростом *L. casei* (Lambooy, 1951) и *Bacillus lactis acidii* (Lambooy, Aposhian, 1952). В опытах с молодыми крысами на арибофлавинозной диете диэтил-рибофлавин оказывал двойственное действие. Малые дозы его стимулировали рост и продление жизни, в больших дозах он оказался конкурентным ингибитором рибофлавина с индексом торможения = 6 (Aposhian, Lambooy, Aposhian, 1953). Однократная доза в 2 мг диэтил-рибофлавина вызывала у молодых крыс интенсивный рост в течение 2—3 дней, а затем быструю потерю веса. При введении той же дозы в течение двух последующих дней отмечался еще более интенсивный рост в течение 5 дней, а затем большое падение веса. Ежедневное введение той же дозы в течение 5 дней вызывало еще более длительный рост с последующим более сильным падением веса тела (рис. 11); к 28-му дню крысы, получавшие диэтил-рибофлавин, оказывались в состоянии более тяжелой недостаточности, чем при диете, лишенной рибофлавина (Lambooy, 1955). Механизм этого действия диэтил-рибофлавина сводится к его фосфорилированию в организме и вытеснению из нефункциональных энзиматических систем рибофлавинфосфата. Последний может превратиться в флави-падениядинуклеотид и присоединиться к апоэнзиму, восполнив тем самым функциональную систему. Когда же вытеснение диэтил-рибофлавинфосфа-

том будет слишком высоким, это вызовет обеднение организма рибофлавином, а вместе с тем и потерю в весе.

Подобно диэтил-рибофлавину действовал на растущих крыс 6-хлоро-7-метил-9- (1-d-рибитил)-изоаллоксазин (X) (Haley, Lambooy, 1954). В ежедневных дозах, не превышающих 25 мкг, это соединение обладало в два раза более

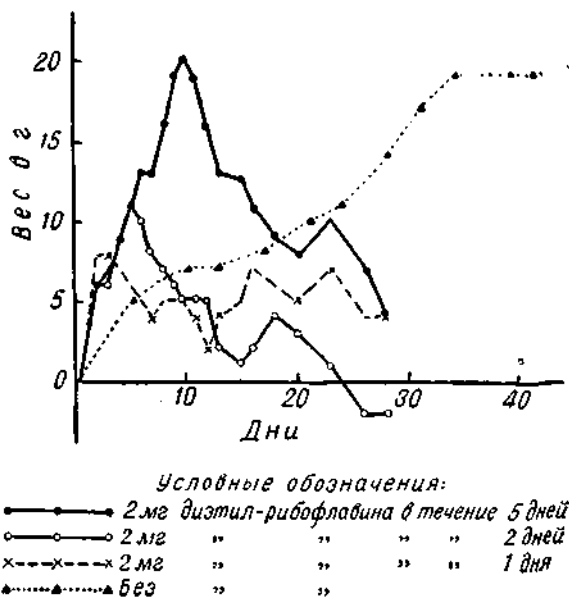


Рис. 11. Влияние диэтил-рибофлавина на рост молодых крыс, лишенных рибофлавина.

слабым действием, чем рибофлавин. Однако, получая ежедневно по 50 мкг диэтил-рибофлавина, животные хотя и росли с такой же интенсивностью, как получавшие 50 мкг рибофлавина, но 60% из них погибали. Группы крыс, получавшие ежедневно 500 мкг и 2 мг, все погибали соответственно на 8-й и 4-й день, причем доза в 500 мкг антагониста нейтрализовалась 200 мкг рибофлавина (Lambooy, 1955). В противоположность диэтил-рибофлави-ну, это соединение вызывало торможение роста *L. casei* с индексом = 80.

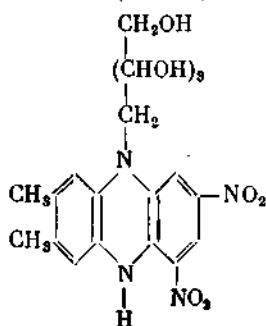
7-Хлоро-6-метил-9-(1'-d-рибитил)-изоаллоксазин (XI) (Haley, Lambooy, 1954), будучи совершенно инактивным

к крысам на диете, лишенной рибофлавина, является мощным ингибитором роста *L. casei* с индексом-22 (Lambooy, 1955).

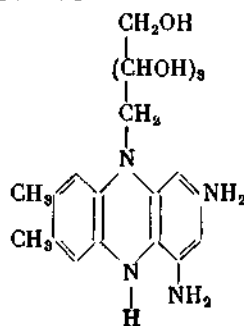
Из приведенных примеров видно, что микробиологическое испытание не может служить показателем биологической активности на животных для многих производных рибофлавина.

Замена обеих метильных групп на хлор (6,7-дихлоро-рибофлавин (Kuhn, Weygand, Moller, 1943) дает соединение (XII) с антагонистическим действием к микроорганизмам, нуждающимся в рибофлавине, и добавление последнего к среде снимает это торможение роста.

Замена пиримидинового кольца в рибофлавине на бензольное дает соединения 2,4-динитро-, 7,8-диметил-10-рибитил-5,10-дигидро-феназин, т. е. динитрофеназин или диаминофеназин, которые угнетают рост организмов, нуждающихся в рибофлавине, и последний также снимает это действие (Woolly, 1944). Структура их следующая:



Динитрофеназин

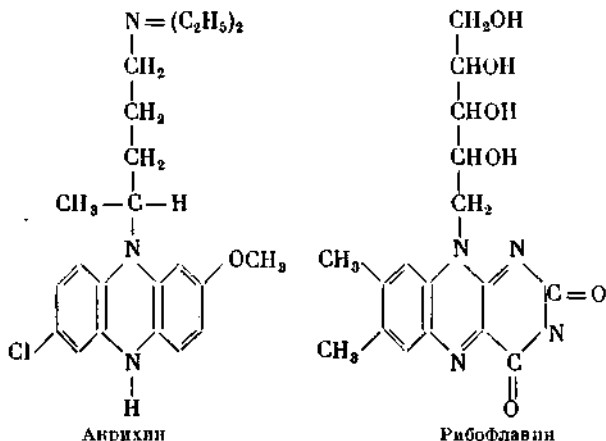


Диаминофеназин

Особо важное практическое значение получило открытие о том, что у мышей расы СЗН привитая лимфосаркома штамма 6СНЗ-ЕД рассасывалась при диете, лишенной рибофлавина. Это побудило исследовать действие на лимфосаркому антагонистов рибофлавина. Из всех производных рибофлавина 6,7-дихлоро-9-(1'-d-сорбитил)-изоаллоксазин (XIII) наиболее эффективно рассасывал лимфосаркому у мышей (Holly, Pod, Cahill, Koniuszy, Folkers, 1950, 1952), несмотря на то, что указанное соединение обладало очень слабыми антагонистическими свойствами в отношении рибофлавина. 6,7-Дихлоро-рибофлавин (XII), также обладал канцеролитической активностью, однако

в более слабой степени. Из дальнейших исследований оказалось, что слабой активностью рассасывать лимфосаркому у мышей обладали также 6-хлоро-9-(1'-d-дульцитил)-изоаллоксазин (XIV), 6-хлоро-9-(1'-l-арабитил)-изоаллоксазин (XV) и 6-хлоро-9-(1'-d-рибитил)-изоаллоксазин (XVI).

Некоторое структурное сходство между молекулой акрихина (антималарийного препарата) и рибофлавина побудило Новикову и Масленникову (1954) исследовать



акрихин на антагонистические свойства в отношении рибофлавина. Действительно, пероральное введение через день по 10 мг акрихина крысам весом по 100 г вызывало у них отставание в весе, по сравнению с контрольными, понижение содержания рибофлавина в печени в 2—3 раза и развитие заболевания с рядом клинических симптомов арибофлавиноза, приводящее к смерти. Введение таким крысам больших доз рибофлавина снимало симптомы арибофлавиноза, вызывало прибавление в весе и выздоровление. Это указывает на антагонизм в организме между акрихином и рибофлавином и на токсикозы возможного арибофлавиноза, возникающего в случае акрихиновой терапии. Антагонистическое действие акрихина было также подтверждено в способности его конкурентно тормозить активности ряда флавинферментов (d-аминокислотной оксидазы, диафазы и цитохромредуктазы).

С другой стороны, было показано (Guggenheim, Shamir-Zernik, 1953), что малые нетоксические дозы акри-

хина (40 мкг на 100 г диеты) действовали так же, как и ранее описанные антагонисты рибофлавина, т. е. повышали вес молодых крыс на арибофлавинозных диетах, даже если эти крысы ежедневно получали по 2,5 мг рибофлавина. При одновременном введении больших доз рибофлавина акрихин действовал как антагонист рибофлавина (понижая рост крыс и повышая экскрецию его с мочой). Из этого вытекает, что нетоксические дозы акрихина усиливают действие малых доз рибофлавина и противодействуют бóльшим. В то же время у взрослых крыс акрихин всегда понижал вес крыс и повышал экскрецию рибофлавина, т. е. обладал действием, антагонистичным рибофлавинову.

В таблице 21 приводятся биологические активности всех описанных производных рибофлавина.

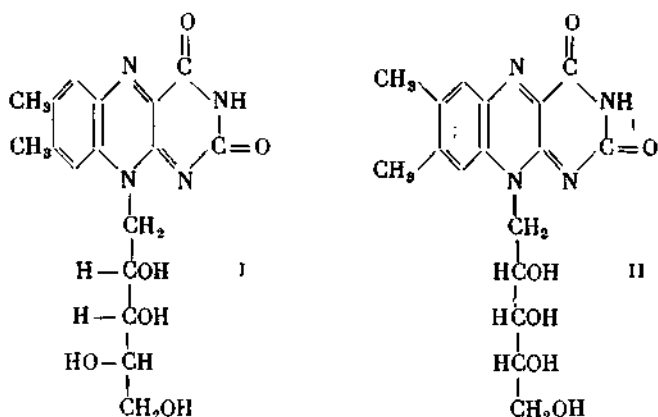
Таблица 21

Биологические активности производных рибофлавина

№ препарата	Название препарата	Активность на 1 крысу в 1 день (в мкг)	Микробиологическая активность на <i>L. casei</i> при пересчете на крыс. ед. (в мкг)
I	6,7-Диметил-9(d,1'-рибитил)-изоаллоксазин (рибофлавин)	5	5
	6,7-Диметил-9(l,1'-арабитил)-изоаллоксазин (арабофлавин)	15	Тормозит рост
II	6,7-Диметил-9(d,1'-дульцитил)-изоаллоксазин (галактофлавин)	Тормозит рост с индексом = 40—60	Стимулирует рост в малых дозах и тормозит в больших с индексом = 1000
III	6-Метил-9(d,1'-рибитил)-изоаллоксазин	10	10
IV	7-Метил-9(d,1'-рибитил)-изоаллоксазин	10	10
V	5,7-Диметил-9(d,1'-рибитил)-изоаллоксазин	Неактивен	Неактивен
VI	6,8-Диметил-9(d,1'-рибитил)-изоаллоксазин	Неактивен	Неактивен

№ препарата	Название препарата	Активность на 1 крысу в 1 день (в мкг)	Микробиологическая активность на <i>L. casei</i> при пересчете на крыс. ед. (в мкг)
VII	5,6-Диметил-9(d,1'-рибитил)-изоаллоксазин (изорибофлавин)	Антагонистическое действие 2 мг на 100 г корма	Тормозит рост с индексом=40
VIII	6-Этил-7-метил-9(d,1'-рибитил)-изоаллоксазин	43—52% активность	3% активность
IX	6,7-Диэтил-9(d,1'-рибитил)-изоаллоксазин	Сильный антагонист в дозе 2 мг на 1 крысу в 1 день	5,5 В больших дозах тормозит рост с индексом=6
X	6-Хлоро-7-метил-9(1'-d-рибитил)-изоаллоксазин	Дозы до 25 мкг имели 50%-ную активность рибофлавина. Дозы 50 мкг тормозят с индексом=2,5	В дозах 2,5 мкг/мл тормозит с индексом=80
XI	7-Хлоро-6-метил-9(1'-d-рибитил)-изоаллоксазин	Инактивен, в дозах >500 мкг слабо тормозит рост	Тормозит рост с индексом=22 в дозах 0,7 мкг/мл
XII	6,7-Дихлоро-9(1'-d-рибитил)-изоаллоксазин	Антагонистическое действие	Тормозит рост
XIII	6,7-Дихлоро-9(1'-d-сорбитил)-изоаллоксазин	Очень слабая антирибофлавинная активность	Отсутствие активности
XIV	6-Хлоро-9(1'-d-арабитил)-изоаллоксазин	Неактивен	Неактивен
XV	6-Хлоро-9(1'-d-сорбитил)-изоаллоксазин	»	»
XVI	6-Хлоро-9(1'-l-рибитил)-изоаллоксазин	»	»
XVII	7-Этил-6-метил-9(1'-d-рибитил)-изоаллоксазин Динитро- или диамино-феназин	37%-ная активность Антагонистическое действие	— Тормозит рост

До сих пор мы разбирали синтетические производные рибофлавина с целью выяснить, какие функциональные группы в молекуле рибофлавина влияют на его витаминную активность и какие вызывают его антагонистические свойства. Кроме того, было выяснено, что важное значение имеют некоторые производные рибофлавина в терапии злокачественных опухолей и малярий. Теперь мы опишем единственное производное рибофлавина—ликсофлавин, встречающийся в природе и выделенный (Pallages, Garza, 1949) из миокарда сердца человека в количестве 5 мг из 10 кг сердечной мышцы в виде моноклинических кристаллов с температурой плавления 278°. Была установлена его эмпирическая формула $C_{17}H_{20}N_4O_6$. Синтез 1-ликсофлавина, осуществленный в 1951 году Хейлем (Heyl, Chase, Koniuszy, Folkers, 1951) и у нас Березовским, подтвердил его строение, отличное от рибофлавина (II) лишь боковой пентозной цепью,—вместо рибитила в ликсофлавине к азоту прикреплен 1-ликситил. Строение 1-ликсофлавина (I) следующее:



1-Ликсофлавин немного лучше растворим в воде, чем рибофлавин, плохо растворим в спирте и нерастворим в эфире, бензоле, ацетоне и хлороформе.

Микробиологическое испытание 1-ликсофлавина в качестве стимулятора роста *L. casei* показало, что он действует на этот микроорганизм так же, как галактофлавин и изорибофлавин. Добавление к среде, содержащей рибофлавин, малых доз 1-ликсофлавина, не превышающих отно-

шение к рибофлави́ну 100 : 1, стимулирует рост *L. casei*, а добавление к той же среде больших количеств 1-ли́ксофла́вина, превышающих это отношение, тормозит рост указанного организма (Snell, Klatt, Bruins, Cravens, 1953).

Добавление рибофлавина устраняет это торможение. Таким образом, 1-ли́ксофла́вин в больших дозах действует на *L. casei* как конкурентный тормозитель. В среде, лишенной рибофлавина, малые дозы 1-ли́ксофла́вина заменяют рибофлавин для роста *L. casei* с активностью, равной $\frac{1}{3}$ последнего. Подобное же действие 1-ли́ксофла́вина оказывает и на рост *Streptococcus faecalis* (Snell, Klatt, Bruins, Cravens, 1953).

В опытах на мышах 1-ли́ксофла́вин оказался лишенным токсичности даже в дозах, в 2000 раз превышающих потребность их в рибофлавине. Испытание 1-ли́ксофла́вина в опытах с ростом молодых крыс на диете, лишенной рибофлавина, показало, что он не стимулирует рост (Erchoff, 1950).

1-Ликсофлавин стимулирует рост цыплят, когда скапливается им в дозах, превышающих в 2,5—10 раз содержание рибофлавина в диете (Snell, Klatt, Bruins, Cravens, 1953). При отношении ликсофлавина к рибофлави́ну в диете, превышающем 40 : 1, ликсофлавин тормозит рост цыплят, это устраняется при добавлении избытка рибофлавина. Очевидно, механизм действия ликсофлавина близок к таковому других антагонистов, так как малые дозы ликсофлавина стимулируют рост цыплят и улучшают использование рибофлавина, а большие дозы, намного превышающие содержание рибофлавина в диете, выполняют роль конкурентного тормозителя рибофлавина. Поэтому в отличие от действия 1-ли́ксофла́вина на мышей и крыс, на рост цыплят он действует так же, как и на рост вышеуказанных молочнокислых микроорганизмов.

Другие аналоги рибофлавина—d-ли́ксофла́вин, d-арабофла́вин и d-галактофла́вин—такого стимулирующего действия на цыплят не оказывают. Из них d-ли́ксофла́вин несколько стимулирует рост в отношении к рибофлави́ну 2,5 : 1, а в больших отношениях—тормозит рост цыплят. d-Арабофла́вин меньше стимулирует и слабее тормозит рост цыплят, а d-галактофла́вин остается во всех отношениях индифферентным (см. табл. 22).

Таблица 22

Сравнительное действие различных аналогов рибофлавина на рост цыплят при наличии 1 мг рибофлавина на 1 кг корма

Аналог	Аналог в мг на кг корма					
	0	2,5	5,0	10	25	40

Средний вес цыплят к 15-му дню опыта (в г)

l-Ликсофлавин	60	70	66	66	—	62
d-Ликсофлавин	60	66	64	62	57	55
d-Арабофлавин	60	61	63	55	57	57
d-Галактофлавин	60	60	60	60	58	61

Каковы же причины отложения ликсофлавина в сердечной мышце человека, необходим ли он человеку как таковой или образуется из рибофлавина с помощью стереоизомеризации последнего и каково участие его в энзиматических системах? Это остается пока еще неясным и требует дальнейших исследований.

Проявление недостатка рибофлавина

При недостатке рибофлавина нарушаются межтучные процессы углеводного и белкового обмена. В частности, нарушается окисление изолимонной кислоты в кетоглутаровую, катализируемое системой изолимонной дегидразы и диафоразы II. Вследствие этого выпадает и дальнейшее переаминирование кетоглутаровой кислоты в глутаминовую. Нарушаются также и другие окислительные процессы. Это указывает на необходимость рибофлавина для всех животных. Симптомы недостатка рибофлавина были описаны для многих видов животных: цыплят (Shaw, Phillips, 1941), крыс (Ефремов, 1939 и 1941), собак (Potter, Axelrod, Elvehjem, 1941), лисиц (Schaffer a. oth., 1947), свиней (Patek, Past, Victor, 1941), телят (Wiese, 1947), у которых синтез рибофлавина в рубце был исключен вследствие недоразвитости последнего, и человека (Ефремов, 1944). Не вдаваясь в подробности арибофлагиноза, описанного для каждого из указанных видов животных, отметим только общие характерные для него явления.

1-я стадия характеризуется себорондным дерматитом. У собак он выражается сухим хлопьевидным дерматитом (шелушение задних конечностей и живота) с легкой эритемой. У свиней наблюдаются облысение морды и живота с изъязвлениями, опухание век и сужение глазных щелей, трещины в копытах. У крыс Ефремов отмечает облысение морды с последующим шелушением (алопеция).

2-я стадия характеризуется глазными симптомами. У большинства животных отмечается помутнение роговицы глаза, в одних случаях—характера васкуляризации, а в других—кератита. Эти симптомы часто сопровождаются конъюнктивитом.

3-я стадия характеризуется мышечным ослаблением. У всех животных отмечается отсутствие гибкости задних конечностей. Ефремов в 1938 г. наблюдал у крыс переход от ослабления задних конечностей к атактическому парапарезу; такие животные ползали, опускаясь на предплюсны задних лап. Несколько позже то же отмечал Пейтик. (Patek, Past, Victor, 1941) у свиней.

4-я стадия является самым характерным конечным синдромом «упадка сил» (коллапс) в основном для острого арибофлавиноза. Этот синдром был обнаружен у всех животных. Ефремов (1931), а позднее и Шау с Филлипсом (Shaw, Phillips, 1941) отмечали у крыс переход спастического паралича в глубокую кому с анестезированными конечностями. Такие крысы становились полусонными, не реагировали на окружающее, и температура тела их понижалась. У свиней и собак также наблюдались падения температуры тела, пульса и дыхания. Эти явления напоминали таковые при отравлении цианидом.

Все четыре стадии появляются у разных животных в различные сроки, в зависимости от диеты и состояния организма животного. У свиней 1-я стадия наблюдается в среднем по истечении 3—4 месяцев, 2-я—на 5-й месяц, а 3-я и 4-я стадии—на 6, 7 и 10-й месяцы пребывания на опытной диете.

У людей арибофлавиноз может проявляться теми же четырьмя стадиями, описанными для животных, т. е.: 1) ангулярным стоматитом и себореей лица, 2) интерстициальным кератитом, 3) мышечным ослаблением и 4) упадком сил, но всем этим стадиям должно предшествовать истощение запасов рибофлавина в тканях.

В противоположность иностранным авторам, Ефремов (1944) считает, что при остром арибофлавинозе не всегда проявляются все характерные симптомы всех стадий. Часто отсутствуют 1-я и 2-я стадии, т. е. кожные и глазные симптомы. Последние всегда наблюдаются в случае хронического арибофлавиноза и требуют длительного времени для своего проявления.

Голынской (1955) на больных гипорибофлавинозом удалось установить понижение световой и цветовой чувствительности. Введение таким больным рибофлавина приводило эту чувствительность к норме. Вероятно, рибофлавин, содержащийся в сетчатой оболочке глаза, обладая фотохимической чувствительностью, принимает участие в возбуждении зрительного нерва. Некоторые больные, получавшие мало белка, труднее поддавались лечению и им требовалось больше рибофлавина. Это согласуется с исследованиями Визингера и др. (Wiesinger, Kannitz, Slanetz, 1955), которые установили, что изменения роговой оболочки глаза, образующиеся у крыс при недостатке рибофлавина, проявляются очень четко при низком содержании белка в арибофлавинозной диете. Так, при 5%-ном¹ содержании казеина в диете эти изменения появляются даже при наличии рибофлавина. Более высокие концентрации белка с понижением жира в диете замедляют появление этих изменений.

Масленникова (1952) при хроническом арибофлавинозе часто наблюдала у собак и крыс образование трофических язв. Язвы чаще всего возникали на местах, подвергавшихся тем или иным механическим воздействиям. Например, у крыс язвы возникали на пятках передних и задних лапок (рис. 12) и на тех местах передних лапок, которыми крысы трут мордочку, когда умываются, на губах, языке и нёбе, на местах, которые они кусают зубами, и в углах рта (рис. 13). Введение рибофлавина таким животным вместе с устранением хронического арибофлавиноза вызывает также и быстрое излечение от всех язв.

У людей также встречаются случаи трофических язв, которые поддаются лечению рибофлавином. Обследование таких больных показало очень низкое выделение рибофлавина с мочой, которое позволяет заключить о состоянии у них рибофлавиновой недостаточности (Масленникова, Аршинова, Гвоздева, 1955). Восполнение этого недостатка рибофлавина у больных с трофическими язва-



Рис. 12. Язвы на пятках лапок арибофлавинозной крысы.

ми должно рассматриваться как повышение способности к регенерации в их организме.

У больных с обширными ожогами II и III степени, наоборот, выделение рибофлавина с мочой вначале сильно повышалось (выделялось больше, чем вводилось с пищей) и тем самым вызывало явления недостаточности (Масленикова и др., 1955). Это доказывалось снижением выделения рибофлавина в последующие дни. У больных, не получавших рибофлавина, оно уменьшалось до нуля. Введение таким больным рибофлавина устраняло его недостаток и способствовало излечиванию ожоговых ран.

Подобное же понижение экскреции рибофлавина было отмечено (Дробинцева, Плотницкая, 1948) при ряде кожных заболеваний (волчанка, экзема), что указывало на явления гипорибофлавиноза.

Основываясь на этом, была применена рибофлавинотерапия при этих заболеваниях, которая дала благоприятные результаты. Таким образом, рибофлавин обладает

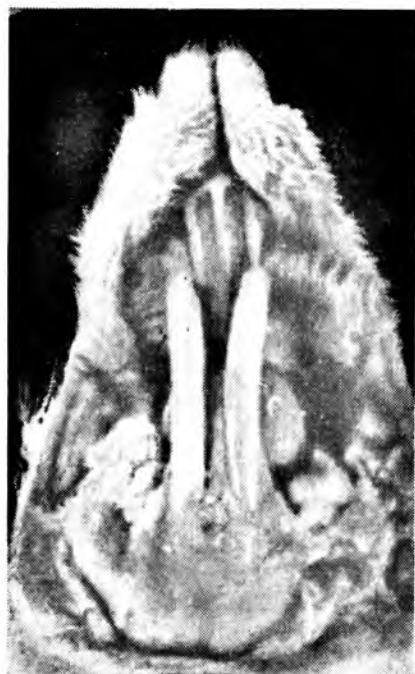


Рис. 13. Язвы на мордочке арибо-
флавинозной крысы.

способностью усиливать регенерацию тканей. Это свойство рибофлавина может быть с успехом использовано в хирургических клиниках.

Физиологическое действие и обмен рибофлавина

Состояние рибофлавина в организме в зависимости от поступления его с пищей. Существует ясно выраженный максимум содержания общего рибофлавина в тканях (потолок насыщения), который для крысы соответствует примерно 5 мкг (Kuhn, Kaltschmitt, Wagner-Jauregg, 1935). Для рибофлавина имеется также определенный минимум содержания, который для крысы примерно в два раза ниже максимума. Причем это падение для различных органов различно: для мозга оно незначительно, для печени и скелетной мышцы оно велико (Bessey,

Lowry, Love, 1949; Decker, Byegrum, 1954). Более 97% рибофлавина в тканях содержится в связанной форме в виде коэнзимов: рибофлавинфосфата (FMN) и флавинадениндинуклеотида (FAD) с значительным преобладанием последнего. В таблице 23 показано изменение содержания всех трех форм рибофлавина (общего, свободного + рибофлавинфосфата и флавинадениндинуклеотида) в тканях, в зависимости от содержания рибофлавина в диете (Decker, Byegrum, 1954; Lowry, 1952).

Нервная система принимает участие в регуляции содержания рибофлавина в тканях. Денервация печени у крыс вызывает резкое снижение содержания рибофлавина в печени, почках, сердце и мышцах в среднем примерно на 50% в течение длительного времени, а перерезка седалищного нерва понижает в 10 раз содержание рибофлавина в икроножной мышце (Данецкая, 1957).

Свободный рибофлавин и флавинадениндинуклеотид были найдены также в эпителии роговой и сетчатой оболочек глаза быка (Philpot, Pirie, 1943) в количестве общего рибофлавина примерно 4 мкг/г (Голынская, 1955).

При содержании крыс на диете, лишенной рибофлавина, количество его в тканях вначале быстро падает (потеря составляет примерно 3% общего содержания в день), а затем снижается до 1%. Потеря с мочой незначительна (Czaczkcs, Guggenheim, 1946).

Для нормального роста самцов требуется 60%-ное насыщение рибофлавина в тканях, а для самок — 75%-ное. Для такого насыщения растущие крысы нуждаются ежедневно в 10—12 мкг рибофлавина на 100 г веса тела (Lowry, 1952).

Ткани человека содержат несколько меньше рибофлавина, чем ткани крысы, однако отношение между максимумом и минимумом примерно такое же.

Показателем тканевой концентрации может служить содержание свободного рибофлавина в сыворотке (Burch, Bessey, Love, Lowry, 1948); флавинадениндинуклеотид сыворотки и общий рибофлавин красных кровяных шариков являются менее чувствительными показателями. Рибофлавин белых шариков претерпевает изменения параллельно таковым в красных. Отношение между содержанием рибофлавина в сыворотке и в форменных элементах крови у человека примерно такое же, как и у крысы, что видно из таблицы 24 (Lowry, 1952).

Таблица 23

Содержание рибофлавина и коэнзимов в тканях крысы (в мкг/г ткани сырого веса)

	Мозг			Сердце			Почка			Печень			Скелетная мышца		
	обш.-B ₂	св. B ₂ +FMN	FAD	обш.-B ₂	св. B ₂ +FMN	FAD	обш.-B ₂	св. B ₂ +FMN	FAD	обш.-B ₂	св. B ₂ +FMN	FAD	обш.-B ₂	св. B ₂ +FMN	FAD
Арибофлавиноз-ная диета: B ₂ в мкг ежедневно															
Казеино-сахар-ная +43,1	3,36	1,09	2,27	16,93	3,18	13,75	31,68	14,74	16,94	24,94	5,57	19,37	—	—	—
То же +30,3	3,20	1,12	2,08	17,12	3,93	13,19	31,05	15,20	15,54	28,12	6,05	22,07	3,8	0,44	3,4
» » +6,8	3,33	1,08	2,25	15,09	3,03	12,06	25,67	11,21	14,46	15,48	3,77	11,71	—	—	—
» » +3,0	3,40	0,94	2,16	12,95	2,52	10,43	23,41	7,19	16,22	15,37	2,99	12,38	—	—	—
» » без B ₂	2,94	1,01	1,93	12,01	2,54	9,47	18,11	5,43	12,68	12,84	2,23	10,61	1,02	0,14	0,8

**Отношение рибофлавина крови человека и крысы
к потреблению его с пищей в мкг/100 мл**

	Сыворотка		Красные шарики	Белые шарики
	свобод- ный рибо- флавин + FMN	FAD	общий рибофла- вин	общий рибофла- вин
<i>Человек</i>				
Взрослый, хорошо пита- ющийся	0,8	2,4	22	252
Ребенок, 40—50 дней на диете, лишенной В ₂ . .	0,1	2—3	14	200
Ребенок, вновь переведен- ный на полноценную пищу	0,8	2—3	30	270
<i>Крыса</i>				
100 мкг В ₂ ежедневно . .	4,1	1,66	15,6	164
5 » В ₂ »	0,4	1,18	9,6	107

Еще более характерным показателем насыщенности организма рибофлавином является выделение его с мочой. При поглощении здоровым человеком ежедневно 1,1 мг рибофлавина выделение его с мочой составляло 9%. При ежедневном потреблении более 1,1 мг выделялся некоторый избыток, который при больших дозах достигал 60% от поглощенного количества рибофлавина. Взрослый человек при среднем питании нормально выделяет в сутки с мочой 0,5—0,8 мг рибофлавина (Масленникова и др., 1955).

Содержание рибофлавина в молоке. Рибофлавин переходит в молоко и притом тем больше, чем пища богаче этим витамином. У большинства животных молозиво значительно богаче рибофлавином, чем молоко. В таблице 25 представлено содержание рибофлавина в молоке.

Весеннее молозиво свиней значительно богаче рибофлавином, чем осеннее.

Содержание рибофлавина в коровьем молоке в течение года колеблется от 95 до 127 мкг/100 мл, однако

**Содержание рибофлавина в молоке в разные периоды
лактации**

Молоко	Продолжитель- ность лактации (в днях)	Содержание рибофла- вина (в мкг/100 мл)	
		при обы- чном раци- оне	при том же рационе, до- полненном 15 мг рибо- флавина еже- дневно
Женское (Pratt, Hamil, Moyer, Kancher, Rode- ruck, Coryell, Miller, Williams, Macy, 1951)	От 58 до 76	36,2	181,0
	От 76 до 90	44,8	218,5
	От 144 до 177	37,0	187,0
	От 204 до 263	46,5	213,0
Коровье (Pearson, Dar- nell, 1946)	1—4 (молозиво)	610,0	
	На 5-й день	203,0	
	После 30 дня	177—183	
Овечье (Pearson, Dar- nell, 1946)	1—4 (молозиво)	2008	
	На 5-й день	436	
Свиное (Davis, Heide- brecht, Mac Vicar, Ross, Whitchair, 1951)	1—4 (молозиво)	500	
	На 5-й день	210	
	На 15-й »	220	
	На 55-й »	320	

какой-либо закономерной зависимости от времени года установить не удалось. Молоко коров фермы ТСХА, взятое на анализ немедленно после доения, всегда оказывалось беднее рибофлавином (114,5 мкг/100 мл), чем молоко, поступившее на Московский завод № 2 (206,8 мкг/100 мл), анализируемое на третьи сутки. Это зависит от того, что за время хранения в молоке успевает развиться значительное количество микроорганизмов, синтезирующих рибофлавин (Давидов, Гулько, Ермакова, 1956). Подобным же биосинтезом объясняется большее содержание рибофлавина в простокваше (126% от исходного молока). Подкормка коров витамином Е значительно повышает биосинтез рибофлавина в желудке, а вместе с тем и содержание его в молоке, тогда как добавка кормов с преобладанием каротина или введение в корм препарата витамина А понижает содержание рибофлавина в молоке (см. табл. 26) (Давидов и др., 1956).

Содержание рибофлавина в молоке в зависимости от введения витамина А или Е в корм коровам

Группа коров	Радионы	Содержание рибофлавина в мкг/100мл молока
I	Общехозяйственный	137,5
II	Тот же, но с преобладанием каротина	118,7
III	Тот же, но с введением препарата витамина А	102,9
IV	Тот же, но с добавлением витамина Е	170,9

При сепарировании молока основная часть рибофлавина переходит в обезжиренное молоко, в связи с чем сливки и сливочное масло бедны рибофлавином. В сливки переходит только 11,3%, а в сливочное масло 6,9% рибофлавина, содержащегося в молоке (Давидов, Гулько, Ермакова, 1956). При производстве сливок и масла из молока, содержащего 200мкг/100 мл рибофлавина, в 100 г сливок будет 226 мкг и в 100 г масла 46,2 мкг рибофлавина.

Содержание флавопротеинов в организме в зависимости от потребления рибофлавина и состава диеты. Рядом зарубежных исследователей было доказано, что при недостатке рибофлавина в тканях животных сильно понижена активность ряда флавопротеинов (d-аминокислотной оксидазы, ксантин-оксидазы и др.). Труфановым (1941, 1942) было установлено, что это понижение в основном связано с значительным снижением активной группы этих флавопротеинов, т. е. связанного рибофлавина, и при введении рибофлавина как содержание активной группы, так и активности указанных флавопротеинов приходят к норме. Таким образом, содержание флавопротеинов или активность их находятся в зависимости от введения рибофлавина с пищей, т. е. повышаются с увеличением концентрации флавинадениндинуклеотида в тканях. Однако не все флавопротеины одинаково повышают свою активность. Так, с повышением ежедневных доз рибофлавина активность ксантин-оксидазы скорее достигает максимума, чем активность d-аминокислотной оксидазы (Decker, Byergrum, 1954).

Содержание флавинадениндинуклеотида в тканях животных находится в зависимости от состава пищи. Труфанов (1946) нашел, что у крыс на диете с недостатком белка (2,5%) содержание флавинадениндинуклеотида в тканях (печени, мышцах) сильно понижено и биосинтез его отсутствует, несмотря на адекватное введение рибофлавина с пищей. Введение же в диету белка восстанавливало до нормы как биосинтез, так и содержание флавинадениндинуклеотида. О зависимости содержания d-аминокислотной оксидазы в тканях животных от характера питания говорит широкое распространение ее в различных тканях плотоядных животных, меньшее — у всеядных и почти полное отсутствие у травоядных. У высших растений d-аминокислотная оксидаза не была найдена (Bonner, Wilman, 1946).

Различная зависимость d-аминокислотной оксидазы и ксантин-оксидазы от наличия некоторых витаминов в диете вытекает из того, что добавление фолиевой кислоты к диете крыс или цыплят повышало в их печени активность первой и понижало активность второй (Труфанов, Павлова, 1951). При отсутствии в диете фолиевой кислоты активность d-аминокислотной оксидазы была сравнительно низкой.

Взаимосвязь между рибофлавином и другими витаминами. В 1942 г. Сюр (Sure, 1942) указывал, что недостаточность в пище тиамина вызывает повышенную потребность в рибофлавине. Мы уже упоминали о связи содержания рибофлавиновых ферментов с наличием фолиевой кислоты в диете. Масленникова (1954) показала, что при хроническом арибофлавинозе у животных, синтезирующих витамин С, биосинтез этого витамина нарушается и одновременно повышается разрушение его в организме. Содержание витамина С снижается в их моче, крови, а затем и в органах. Введение рибофлавина таким животным вызывает немедленное повышение выделения витамина С с мочой, а вместе с тем и увеличение содержания его в крови, а позднее и в тканях.

Особенно характерна зависимость между рибофлавином и никотиновой кислотой, вероятно вследствие одновременного участия обоих этих витаминов в форме своих коэнзимов в окислении ряда биологических субстратов. Оказалось (Irinoda, Sato, Jamad, 1955), что при одновременном недостатке рибофлавина и никотиновой кислоты

выделение этих витаминов с мочой и содержание их в крови и органах кроликов понижено. Введение только одного рибофлавина не повышает содержание его в крови и органах до нормы. Содержание его повышается при одновременном введении никотиновой кислоты. Очевидно, никотиновая кислота и рибофлавин проявляют синергетическое действие в потреблении этих витаминов организмом. При недостатке рибофлавина возможна также частичная недостаточность никотиновой кислоты вследствие нарушения образования ее из триптофана (см. гл. 4, стр. 175).

Связь с эндокринной системой. У крыс в разреженной атмосфере на высоте 6000 м образуется аноксия, в результате которой содержание сахара в крови и гликогена в мышцах и печени повышается. При подобной же аноксии крыс с недостатком рибофлавина повышение сахара в крови и гликогена в печени не отмечалось. Однако введение крысам экстракта надпочечников или кортизона полностью восстановило способность к образованию гликогена. Дезоксикортикостерин не оказывал этого действия.

Введение избытка рибофлавина адреноэктомированным крысам также не вызывало гликогенного действия. Из этого следует, что рибофлавин является необходимым звеном в механизме стимуляции адренокортикального гормона кортикотропином передних долей гипофиза (Forker, Morgan, 1954).

Введение гормона щитовидной железы—тироксина беременным крысам сильно понижает содержание рибофлавина в печени крыс и вызывает у эмбрионов катаракты, характерные для рибофлавиновой недостаточности (Girond, Levy, Martinet, 1953).

При аллоксановом диабете было найдено (Nieman, Jansen, 1955) повышенное выделение рибофлавина с мочой, которое увеличивалось до 55% от ежедневной дозы 30 мкг на крысу, минимальной для удовлетворения потребности в рибофлавине. В то же время при диурезе, вызванном мочевиной, выделялось только 14—18% от той же дозы. Это указывает на какую-то связь рибофлавинового обмена с инсулином и островками Лангерганса, вырабатывающими последний.

Тестикулярный гормон повышает активность каталазы в печени у мышей-сосунков до уровня таковой взрослых

только в присутствии рибофлавина (Adams, 1955). Очевидно, рибофлавин каким-то образом стимулирует действие тестостерона.

Влияние рибофлавина на развитие цыплят. Норрис с сотрудниками (Norris a. oth., 1936) показал, что выводимость яиц зависит от содержания рибофлавина в кормах птицы. Между содержанием рибофлавина в рационе и содержанием его в яйце существует прямая пропорциональность.

Максимальная смертность эмбрионов в яйцах кур, получающих рацион с недостатком рибофлавина, происходит на 3, 14 и 21-й дни инкубации (Romanoff, Bauerpfend, 1942). При этом наибольшая смертность падает на 14—15-й день, когда в эмбрион переходит наибольшее количество рибофлавина (Brown, 1957). Куры, получавшие с рационом* 1,6 мг рибофлавина на 1 кг корма, давали яйца с 40%-ной выводимостью; добавление же к этому рациону еще 2 мг рибофлавина (т. е. всего 3,6 мг/1кг) повышало выводимость до 75%. Цыплята, выведшиеся из яиц кур, не получавших дополнительно рибофлавина, весили меньше, потребляли больше пищи на 1 кг привеса и 78,6% цыплят заболевали параличом ног (Brown, 1957).

Таблица 27

Влияние содержания рибофлавина в рационе кур на развитие цыплят

Содержание рибофлавина (в мг на 1 кг рациона)	Выводимость, (в %)	Средний вес цыпленка к 21-му дню	Потреблено кормов (в г на 1 г привеса)	Случаи паралича ног (в %)	Содержание рибофлавина		
					в печени вылупившихся цыплят (в мкг/г)	в эмбрионе на 15-й день инкубации	
						в печени	во всем
1,6	40	132,4	2,20	78,6	12,76	0,781	14,7
3,6	75	145,5	2,08	0	27,89	2,06	39,9
5,6	65	154,6	2,17	7,8	33,31	2,78	55,0

* Состав рациона следующий (в %): кукурузной муки 45, молотого овса 30, отрубей 10, арахисовой муки 5, кровяной муки 4, костной муки 2, костной муки 1, извести 1, марганцовых солей 0,5, рыбьего жира 1,5; фолиевой кислоты 0,25 мкг/кг и биотина 0,15 мкг/кг.

Из данных таблицы 27 видно, что цыплята лучше выводятся и развиваются при содержании в рационе кур-матерей 3,6 мг рибофлавина.

По прошествии 3 недель после начала дополнительного введения рибофлавина (2 мг/кг) курам, содержащимся на рационе, бедном рибофлавином, содержание последнего в яйцах достигало максимума (повышалось с 70—95 мкг до 230 мкг).

Инъекция 0,2 мг рибофлавина через воздушный мешок в яйцо вызвала полное использование его эмбрионом; при этом общее содержание рибофлавина в 15-дневном эмбрионе повышалось с 12,3 до 53,8 мкг и вес эмбриона увеличивался с 8,1 до 11,1 г (Brown, 1957).

Потребность в рибофлавине

Потребность животных и человека в рибофлавине зависит от состава диеты, окружающей среды и т. д.

В мировой литературе давно указывалось на связь между содержанием рибофлавина в диете и усвоением белков и жиров животными. При недостатке рибофлавина понижалось усвоение белков и жиров, а при недостатке белка, как это было установлено Сареттом (Sarett, Klein, Perlzweig, 1942) и Труфановым (1946), усвоение рибофлавина падало. Ефремовым с сотрудниками (1948) было установлено, что потребность белых крыс в рибофлавине повышалась с увеличением содержания белка в диете. При полном же отсутствии белка в диете рибофлавин совершенно не усваивается и становится токсичным для организма. Наоборот, высокое содержание белка в диете (74% и выше) при недостатке рибофлавина делает белок токсичным (Kanitz a. oth., 1954). Эльведжим с сотрудниками (Mannering, Orsini, Elvehjem, 1944) показали, что углеводы (крахмал и декстрин) понижали потребность в рибофлавине, а жиры повышали. Поэтому диета, богатая жиром, отягощает состояние рибофлавиновой недостаточности. Витаминный состав диеты, как мы видели, также влияет на потребность в рибофлавине.

Температура воздуха существенно влияет на потребность в рибофлавине. С повышением окружающей температуры на 11° (в интервалах от 0° до 40°) количество рибофлавина, выделяемого с мочой, у собаки, в противоположность тиамину, повышается

примерно на 25—75% (Worden, Waterhouse, 1954, 1955). Это свидетельствует о понижении потребности в рибофлавине. По данным Митчелла (Mitchell, Johnson, Hamilton, Haikes, 1950), потребность поросят в рибофлавине при 5,5° была 2,31 мг на 1 кг кормов, а при 29,4°—1,2 мг. Приводим средние минимальные дозы суточной потребности в рибофлавине для людей, живущих в умеренном климате и с средним пищевым режимом (из книги «Нормы суточного потребления витаминов», Медгиз, 1946).

Суточная потребность в рибофлавине для человека от 7 лет 2 мг.

Для собак среднего веса Поттер (Potter, Axelrod, Elvehjem, 1941) указывает суточную потребность в рибофлавине 0,2 мг. Для лисиц потребность в рибофлавине та же (Schaffer, Axelrod, Elvehjem, 1947). По Болтону (Bolton, 1944), для удовлетворения потребности цыплят в рибофлавине требуется 0,3 мг на 100 г корма.

Потребность крыс в рибофлавине при 33° равна 1 мг на 1 кг корма, а при 18°—2 мг на 1 кг (Mills, 1943; Worden, Waterhouse, 1955). Минимальная потребность свиней в рибофлавине для оптимального роста и размножения равна 0,31 мг на 100 г корма (Miller, Ellis a. oth., 1953). Минимальная потребность поросят для оптимального роста—3 мг рибофлавина на 1 кг сухого вещества корма (молока) (Miller, Johnston, Hoefler, Luescke, 1954).

Поросятам весом 4,5 кг требуется ежедневно 2,22 мг рибофлавина на 1 кг сухого веса корма, а весом 18 кг—1,44 мг рибофлавина (Lucas, Lodge, 1958).

По Тиррэллу и другим (Terrill, Ammerman, Walker, Edwards, Norton, Becker, 1955), потребность в рибофлавине растущих поросят равна 0,9—1,45 мг на 1 кг корма. Эти авторы считают, что потребность в рибофлавине для поросят, данная Митчеллом (Mitchell, 1950) по проценту нейтрофилов крови, завышенная, так как этот показатель потребности неправильный, и ее следует рассчитывать только по прибавке веса тела. Минимальная потребность яйценоских кур в рибофлавине для кладки яиц с нормальной выводимостью, по Хиллу (Hill, Norris, Scott, 1954), соответствует 0,375 мг на 100 г корма. Содержание рибофлавина в желтке таких яиц 2,5—3 мг/г. Потребность лошадей в рибофлавине примерно 44 мг рибофлавина на 1 кг веса тела ежедневно или 0,35 мг на 100 г кормов рациона (Pearson, Sheybani, Schmidt, 1944).

Глава 4

НИКОТИНОВАЯ КИСЛОТА (витамин PP)

Синтез никотиновой кислоты впервые был осуществлен Губером (Huber, 1867, 1870) окислением никотина хромовой кислотой.

Однако в качестве витамина никотиновая кислота стала известна много позднее.

Уже в 1735—1755 годах в трудах Сазала и Тьери встречалось описание заболевания людей пеллагрой (шершавая кожа — в переводе с итальянского). Заболевание было распространено в странах, где население питалось в основном кукурузой (Италия, Испания, Румыния и Южные Штаты Америки), поэтому очень долго пеллагру отождествляли с маисовой интоксикацией, и лишь в 1914 году Функ высказал предположение, что пеллагра является авитаминозом.

Работы Гольдбергера с сотрудниками (1916—1926) подтвердили это опытами, отождествив пеллагру с отсутствием в диете термостабильного фактора, а также доказали, что пеллагра собак, или «блэк тонг» (черный язык), может быть вызвана той же диетой, что и пеллагра человека, и излечена теми же продуктами (дрожжами, молоком и т. д.).

Из печени была выделена высокоактивная фракция, которую удалось очистить дистилляцией в высоком вакууме до состояния однородного вещества. Это вещество оказалось амидом никотиновой кислоты. Оно излечивало пеллагру собак и являлось антипеллагрическим витамином, или витамином PP (Pellagra preventing).

Таковыми же свойствами обладала и никотиновая кислота, так как в организме животных она переходила в свой амид.

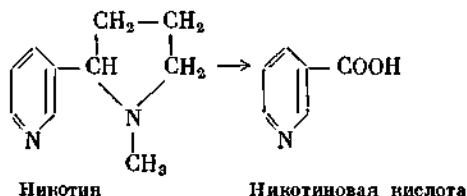
Физико-химические свойства и синтез никотиновой кислоты

Никотиновая, или пиридин-3-карбоновая, кислота ($C_6H_5O_2N$) имеет вид белых кристаллических игл, без запаха, кислого вкуса, молекулярный вес ее 125,5, температура плавления $235-236^\circ$.

Она плохо растворима в воде: 1 г никотиновой кислоты растворяется в 100 мл воды при 25°. Растворяется в глицерине, спирте и эфире и не растворяется в петролейном эфире. Устойчива к нагреванию, свету и окислителям. Автоклавирование растворов ее в течение 5 часов при 121° практически не изменяет ее активности. При пропускании аммиака через никотиновую кислоту при 230° образуется ее амид. Амид никотиновой кислоты (никотинамид) кристаллизуется в виде белых игл с температурой плавления 129°. Никотиновая кислота и ее амид обладают спектром поглощения с максимумом в области 385 мμ.

Синтез никотиновой кислоты. Наиболее дешевым сырьем для получения никотиновой кислоты является никотин, который в настоящее время легко получают из листьев и отходов махорки.

В качестве окислителей применяют хромовую кислоту (Huber, 1867), перманганат калия (Laiblin, 1877, 1926, 1935), азотную кислоту, кислород воздуха (Clamician, Silber, 1915), а также электрохимический метод окисления (Fischter, Stenzl, 1936). Реакция во всех случаях идет согласно следующей схеме:



Преображенский с сотрудниками (1943) считают наиболее благоприятным окислителем перекись марганца в сернокислой среде.

β-пикотиновая кислота получается также окислением β-пиколина (β-метилпиридина) — продукта сухой перегонки каменногоугольного дегтя.

Иосикова с сотрудниками (1943) рекомендуют получать азотнокислую соль никотиновой кислоты, которая образуется в качестве промежуточного продукта при окислении никотина азотной кислотой. Те же сотрудники (1944) исследовали терапевтические свойства азотнокислой соли никотиновой кислоты и нашли, что она также обладает антипеллагрической активностью, эквивалентной в молярном отношении с никотиновой кислотой, и значительно лучше переносится больными, не вызывая никаких осложнений или побочных реакций в организме. Кроме того, азотнокислая соль хорошо растворима в воде.

Биосинтез никотиновой кислоты

Никотиновая кислота и ее амид необходимы для нормальной жизнедеятельности клеток как животных, растительных, так и микробов. Они участвуют в образовании пиридиновых энзимов, входя в состав дифосфо- и трифосфопиридиннуклеотидов (об этом будет сказано в следующей главе). Высшие растения и многие микроорганизмы способны синтезировать никотиновую кислоту и не нуждаются в экзотенном получении этого витамина. Однако некоторые микроорганизмы лишены способности синтезировать никотиновую кислоту и требуют введения ее в питательную среду. К ним относятся многие дифтерийные микробы и некоторые дрожжевые грибки. Все дрожжи, сбраживающие лактозу, нуждаются в снабжении готовой никотиновой кислотой. Мейсель (1947) нашел, что дрожжевой грибок *Zygosaccharomyces marxianus*, не сбраживающий лактозу, также не способен синтезировать и нуждается в снабжении никотиновой кислотой. При отсутствии в питательной среде никотиновой кислоты размножение *Zygosaccharomyces marxianus* задерживается. При отсутствии никотиновой кислоты клетки этого грибка не способны к размножению, а в более старых культурах наблюдается дегенерация части клеток, плазмолиз и растворение протоплазмы. Таким образом, никотиновая кислота не только стимулирует размножение *Zygosaccharomyces marxianus*, но и способствует проявлению у этого грибка полового процесса.

Биосинтез никотиновой кислоты у высших растений стимулируется освещением. Было установлено (Gustafson,

1953), что после 24-часового освещения томатов содержание никотиновой кислоты в них повышается на 25 % (с 6,6 мг до 8,6 мг на 1 г), в горохе — на 31% (с 7 мг до 9,3 мг на 1 г), а в бобах, освещенных в тех же условиях, содержание никотиновой кислоты повышается на 21% (с 8,17 мг до 9,88 мг на 1 г).

Повышение окружающей температуры до 20° также стимулирует биосинтез никотиновой кислоты у высших растений.

Некоторые животные (крысы, лошади, птицы) не нуждаются в поступлении никотиновой кислоты извне, так как в их организме этот витамин синтезируется. Возможны два пути синтеза никотиновой кислоты в животном организме: 1) в кишечнике с помощью биосинтеза кишечными микроорганизмами и 2) в тканях с помощью биохимического превращения триптофана в никотиновую кислоту.

Ефремов и Каплан (1951) показали значительный удельный вес кишечного синтеза никотиновой кислоты у крыс. Оказалось, что выключение синтеза никотиновой кислоты в кишечнике крыс фталазолом приводит к некоторому падению их веса, снижению выделения N'-метилникотинамида и уменьшению содержания никотиновой кислоты в органах.

Было указано, что некоторые кишечные бактерии, как *B. coli* и *Escherichia coli*, синтезируют никотинамид из орнитина или из лактата аммония (Ellingez, Abdel-Kader, 1949).

Как мы увидим ниже, для биосинтеза никотиновой кислоты используется лишь l-триптофан. Однако при наличии крахмала в диете (вместо глюкозы) цыплят ими используется для биосинтеза никотиновой кислоты также и d-триптофан. Оказывается, кишечные бактерии, благоприятно растущие на крахмальной среде, переводят d-триптофан в l-триптофан и тем самым способствуют биосинтезу никотиновой кислоты (Anderson, Combs, Briggs, 1950).

Работами Браунштейна (1949, 1953) и зарубежными авторами (Heidelberger, Abraham, Lepkovsky, 1948) было доказано, что в животном организме l-триптофан претерпевает ряд превращений, в результате которых образуется никотиновая кислота согласно следующей схеме.

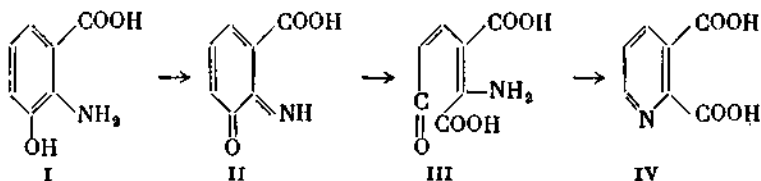
Мезон (Mason, Berg, 1953) и Хендерсон (Henderson, Weinstok, Ramasarma, 1951) показали, что окисление кинуренина в 3-оксикинуруenin катализируется рибофлавин-ферментом и у крыс с недостатком рибофлавина, после введения им триптофана в моче обнаруживается антраниловая кислота. Последняя образуется в результате действия кинурениназы на кинуренин, который в организме таких крыс не способен окисляться в 3-оксикинуруенин, а следовательно, и превращаться в 3-оксиантраниловую кислоту, в свою очередь способную в организме превращаться в хинолиновую, а затем в никотиновую кислоту. Поэтому при недостатке рибофлавина нарушается и образование никотиновой кислоты из триптофана. Окисление кинуренина в 3-оксикинуруенин происходит интенсивнее всего в почках, а затем в печени.

Браунштейн и Горяченкова (1949) и Горяченкова (1952) доказали, что третьей стадией превращения триптофана в никотиновую кислоту является гидролитическое расщепление 3-оксикинуруенина на 3-оксиантраниловую кислоту и аланин, которое катализируется ферментом фосфопиридоксалевого природы—кинуруениназой.

При недостатке рибофлавина 3-оксикинуруенин не образуется и кинурениназа расщепляет кинуренин на аланин и антраниловую кислоту, неспособную превращаться в никотиновую кислоту. При недостатке витамина B_6 (как мы увидим ниже) кинуренин и 3-оксикинуруенин не могут гидролитически расщепляться на аланин и соответствующую антраниловую кислоту, и поэтому цикл превращения триптофана в никотиновую кислоту также нарушается. Таким образом, для биосинтеза никотиновой кислоты в тканях необходимо снабжение витаминами B_6 и B_{12} —рибофлавином и триптофаном.

Последняя стадия превращения триптофана в никотиновую кислоту—это переход 3-оксиантраниловой кислоты в никотиновую. Хендерсон (Henderson, 1949; Schayer, Henderson, 1952) доказал, что промежуточным продуктом этого превращения у крысы служит хинолиновая кислота. Оказалось (Miyake, Bokman, Schweigert, 1954; Long, Hill, Wein-Stock, Henderson, 1954), что в процессе образования хинолиновой кислоты из 3-оксиантраниловой образуется неустойчивый промежуточный орто-хинонимин, который в результате разрыва кольца между углеродами 1 и 6 дает неустойчивый промежуточный

продукт с прямой цепью, который циклизируется в хинолиновую кислоту согласно следующей схеме:



Процесс превращения соединения II в IV идет быстро.

При кислотной инактивации гомогенатов печени продукт II, гидролизуясь, теряет аммиак и превращается в ортохинон, продукт конденсации которого и был изолирован вышеуказанными авторами из инкубируемой печени крысы. Последняя стадия состоит в α -декарбоксилировании хинолиновой кислоты в никотиновую.

Тот же процесс образования никотиновой кислоты из триптофана был доказан и у микроорганизмов. Так, *Neurospora*, у которой освещением X-лучами был нарушен самостоятельный биосинтез никотиновой кислоты, не могла использовать триптофан для образования последней. Добавляя триптофан, меченный радиоактивным азотом в его индольном кольце, доказали (Partridge, Bonner, Janofsky, 1952), что этот азот в клетке *Neurospora* переходит в 3-оксиантралиловую, а затем в кольцевой азот хинолиновой и, наконец, никотиновой кислоты.

Новорожденные телята, у которых рубец еще лишен бактериальной флоры, прекрасно развивались, не получая никотиновой кислоты, и выделяли с мочой продукты обмена никотиновой кислоты (Johnson a. oth., 1947). Добавление в корм телят 1% сульфаталидина, блокирующего синтез никотиновой кислоты в кишечнике, не вызывало изменений в развитии и выделении продуктов обмена никотиновой кислоты. Это указывает, что телята в своем организме синтезируют никотиновую кислоту из триптофана белков пищи.

Мосунова (1956) исследовала биосинтез никотиновой кислоты из триптофана в развивающемся эмбрионе куриного яйца и нашла резкое повышение содержания никотиновой кислоты начиная с 15 дня инкубации, т. е. с момента заглатывания эмбрионом белковой оболочки. Параллельно с этим содержание триптофана в эмбрионе падало. Однако это падение начиналось раньше, именно

с 6-го дня инкубации, т. е. когда эмбрион уже сформирован. В период заглатывания белковой оболочки (15-й день) повышается способность печени эмбриона синтезировать никотиновую кислоту из триптофана *in vitro*. Эта способность печени эмбриона повышается скачкообразно от 15 до 16-го дня и от 18 до 19-го дня (с 13,2 до 27,3 мг%) инкубации (Мосунова, 1956). Микрофлора кишечника цыплят синтезирует в незначительной степени никотиновую кислоту. Количество синтезированной никотиновой кислоты удовлетворяет только $\frac{1}{6}$ часть общей потребности цыпленка в ней (Briggs a. oth., 1943).

Леутский (1951, 1953) показал, что при прорастании семян фасоли, гречихи, озимой ржи и пшеницы в них постепенно понижается содержание триптофана и повышается содержание никотиновой кислоты, необходимой для образования кодегидразы.

Таблица 28

Изменение содержания никотиновой кислоты и триптофана при прорастании семян

Вид растения	Фаза прорастания	Никотиновая кислота (в мг % сухого вещества)	Триптофан (в мг/г сухого вещества)
Фасоль	Исходный материал . . .	1,85	3,08
	3-й день прорастания . .	8,85	2,23
	6-й » » . . .	19,62	1,56
	8-й » » . . .	46,97	1,22
Гречиха «Богатырка»	Исходный материал . . .	3,554	4,025
	3-й день прорастания . .	5,644	3,21
	6-й » » . . .	14,58	2,711
	8-й » » . . .	23,22	1,86
Рожь озимая	Исходный материал . . .	1,251	2,302
	3-й день прорастания . .	3,542	1,938
	6-й » » . . .	5,403	1,401
	8-й » » . . .	7,103	0,115
Пшеница	Исходный материал . . .	7,23	7,00
	3-й день прорастания . .	12,915	2,47
	6-й » » . . .	17,38	1,915
	8-й » » . . .	30,93	1,367

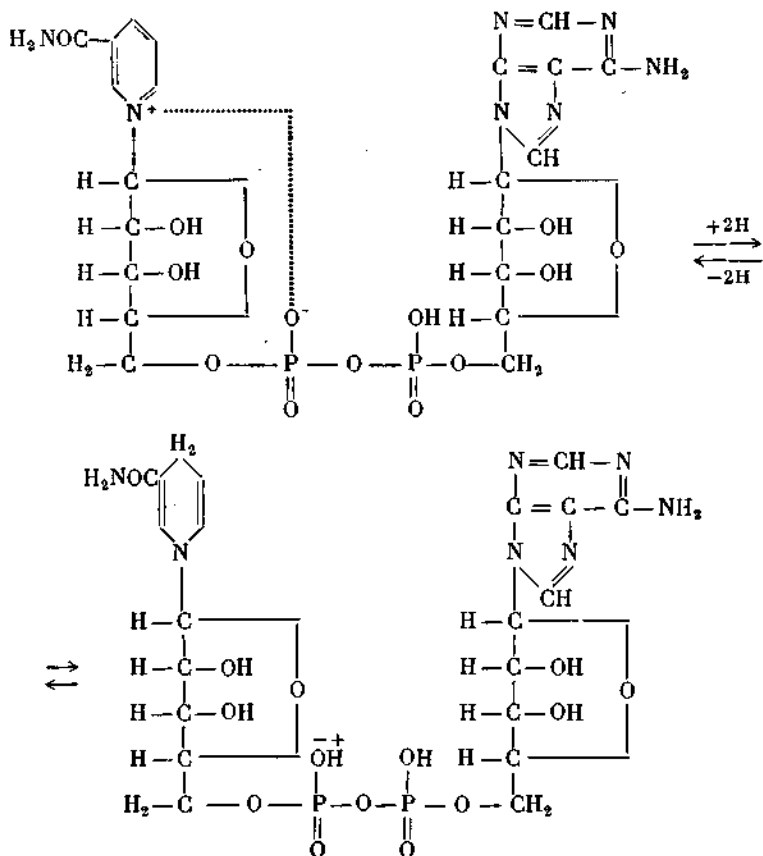
Это указывает, что в высших растениях биосинтез никотиновой кислоты также в основном идет из триптофана и по той же схеме, как и в животных тканях и микробах.

Однако в животных тканях никотиновая кислота накапливается в виде никотинамида, за счет которого идет синтез кодегидраз, а в растительных—преимущественно в виде кислоты, из которой в дальнейшем также образуются дегидразы. Накопление никотиновой кислоты в семенах происходит до стадии молочной зрелости, когда оно наивысшее, а затем падает. В семенах фасоли содержание никотиновой кислоты в стадии молочной зрелости достигает 31,9 мг%, а в стадии восковой зрелости оно падает до 6,4 мг% (Леутский, Стульникова, 1951).

Биокаталитические свойства никотиновой кислоты

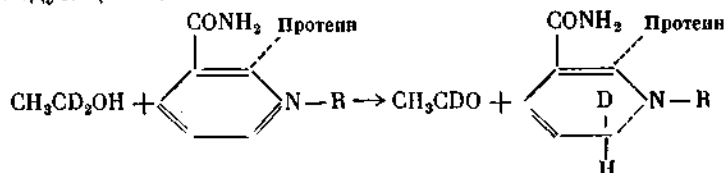
В предыдущих главах описывалась функция коэнзимы или кодегидразы I (дифосфопиридиннуклеотида) как переносчика водорода от субстрата к окисленному коэнзиму флавинфермента или в окислении восстановленного липотиамида-пирофосфата. Во всех случаях кодегидраза функционирует как коэнзим системы дегидрирования. Естественная система дегидрирования любого субстрата (яблочной, молочной кислоты, триозофосфата, гексо-монофосфата или спирта) состоит из дегидразы, дифосфопиридин- или трифосфопиридиннуклеотида, флавопротеина и цитохрома C. Установлено, что давно известная кодегидраза I—кофермент брожения представляет собой динуклеотид, состоящий из амида никотиновой кислоты, пентозы (рибозы), двух частиц ортофосфорной кислоты и аденозина. Кодегидраза I в соединении со специфическим к данному субстрату протеином выполняет перенос водорода от субстрата к коэнзиму флавопротеина (флавинонуклеотид или флавиндинуклеотид), или от одного субстрата к другому, как в случае сопряженного ацетилирования (Beinert, Green, Hele, von Karff, Ramakrishnan, 1953). Таким образом, кодегидраза I может переносить водород от различных субстратов, если она соединяется с соответствующим протеином-носителем. В настоящее время из этих протеинов-носителей или апоферментов выделены в кристаллическом виде алкоголь-дегидраза пентичная с глицерин-дегидразой (Holzer, Schneider, 1955), глутаминовая дегидраза (Olson, Anfinsen, 1951, 1952, 1953), молочная дегидраза (Gibson, Davison, Buchawat, Hay, Westling, 1953). Водород субстрата переносится на амид никотиновой кислоты, изменяя

валентность азота, посредством которого амид присоединен к пентозе согласно следующей схеме:



Механизм переноса водорода алкоголь-дегидразой от субстрата—этилового спирта на кодегидразу I был доказан Фишером (Fisher, Conn, Vennesland, Westheimer, 1953), который пользовался этиловым спиртом, меченным двумя дейтериями по оксиметильной группе. При этом один дейтерий остается в полученном ацетальдегиде, а другой переходит на 6-углеродный атом пиридинового кольца кодегидразы I в стереоположение A (дает диамер A). Дейтерий, присоединенный к углеродному атому в 6-м положении, вызывает его асимметричность, а при-

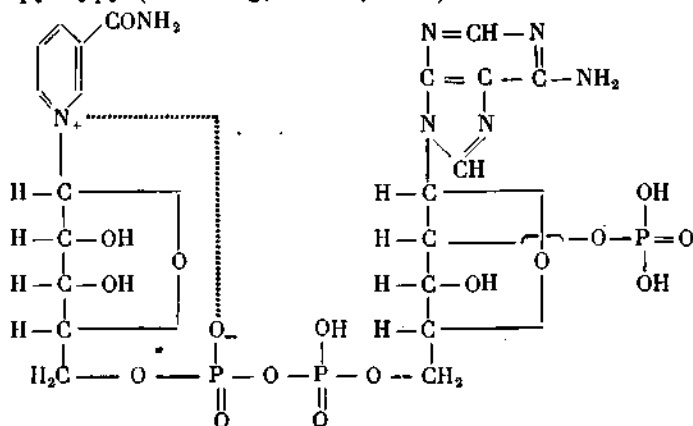
соединенная аподегидраза стимулирует водородный атом (или в данном случае дейтерий) встать в стереоположение А, т. е. в направлении апоэнзима. Поэтому восстановление кодегидразы I стереохимически можно изобразить следующей схемой:



Установлено, что все пиридиновые дегидразы восстанавливают свои субстраты (ацетальдегид, оксалоацетат, пируват, стеринны и т. д.) только в кетоформе, а не в энольной.

При окислении других субстратов: молочной кислоты молочной дегидразой из сердечной мышцы (Loewus, Ofner, Fisher, Westheimer, Vennesland, 1953) или яблочной кислоты яблочной дегидразой из проростков пшеницы (Loewus, Tehen, Vennesland, 1954, 1955) восстановление кодегидразы I протекает так же, как и при окислении этилового спирта, т. е. согласно вышеуказанной стереосхеме.

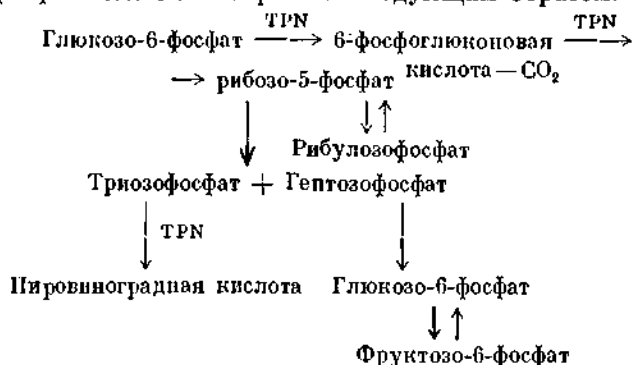
В тканях животных было доказано существование также трифосфопиридиннуклеотида или кодегидразы II, которая отличается от кодегидразы I на одну лишнюю частицу фосфорной кислоты, прикрепленную к рибозе аденозинной части кодегидразы I, и имеет следующую структуру (Kornberg, Pricer, 1950):



Кодегидраза II, так же как кодегидраза I, выполняет функцию переносчика водорода в системе дегидрирования, однако она гораздо более специфична к изолимонной дегидразе и цитохромредуктазе, чем кодегидраза I, более специфичная к другим дегидразам.

Превращение крахмала в растениях, в частности в семенах гороха, проходит по общей Эмбден-Мейерховской схеме, т. е. с фосфорилированным расщеплением и образованием фруктозо- и глюкозо-6-фосфатов. Дальнейшее превращение фруктозо-6-фосфата идет по той же схеме. Как показали Аксельрод с сотрудниками, кодегидраза I служит коферментом «фосфотриозокиназы» (Axelrod, Saltman *а. оth.*, 1952), катализирующей образование фруктозо-1,6-дифосфата и «фосфоглицеринкиназы» (Axelrod, Saltman *а. оth.*, 1953), катализирующей образование 1,3-дифосфоглицериновой кислоты.

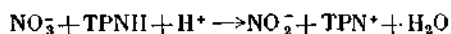
Дальнейший путь превращений глюкозо-6-фосфата, в частности в листьях растений, проходит следующие стадии. Глюкозо-6-фосфат при участии соответствующей дегидразы окисляется в 6-фосфоглюконовую кислоту, последняя окислительно декарбоксилируется в рибозо-5-фосфат (или изомерный рибулозо-фосфат). Два моля последнего дают 1 моль триозофосфата и 1 моль гептозофосфата, который превращается в смесь глюкозо-6-фосфата и фруктозо-6-фосфата. Триозофосфат дальше окисляется в пировиноградную кислоту. Всю схему превращений глюкозо-6-фосфата можно изобразить следующим образом:



Доказано (Axelrod, Bandurski, Greiner, Jang, 1953), что коэнзимом глюкозо-6-фосфатдегидразы, 6-фосфоглюконовой оксидазы и триозофосфат дегидразы в листьях

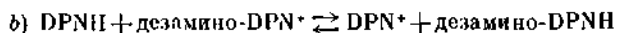
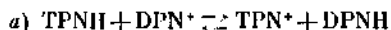
шпината и гороха является кодегидраза II (TPN). Из этого видно, что кодегидраза II играет решающую роль в углеводном обмене у высших растений. Поэтому прежние данные Эйлера и других, что кодегидраза I не встречается в зеленых растениях и там присутствуют лишь следы кодегидразы II, оказались несостоятельными. Обе кодегидразы встречаются в зеленых фотосинтезирующих листьях, примерно в одинаковых количествах и примерно равных 5 мкг на 1 г сырого веса (Anderson, 1953). Глюкозо-6-фосфат-дегидраза была найдена в большом количестве также и в коре надпочечников (Kelly, Nielsen, Johnson, Vestling, 1955).

Кодегидраза II вместе с флавопротеином и цитохромом-С участвует в восстановлении нитратов в нитриты у микроорганизмов *Escherichia coli*, *Neurospora* (Nason, Evans, 1952, 1953) и других согласно следующей схеме:



Кодегидраза II в клетках легко превращается в кодегидразу I, отдавая частицу фосфорной кислоты различным акцепторам фосфата (как адениловая система и креатин) и обратно, таким образом действуя как переносчик фосфата.

В экстракте *Pseudomonas fluorescens* были найдены (Colowick, Kaplan, Neufeld, Ciotti, 1952, 1953) энзимы, переносящие водород от восстановленной кодегидразы II на окисленную кодегидразу I или от восстановленной кодегидразы I на окисленную дезамино-кодегидразу I согласно схемам:



Вскоре эти энзимы были также найдены и в тканях животных и названы пиридиннуклеотид-трансгидразами. В сердце коров был найден энзим, катализирующий обе реакции *a* и *b*, а в мозге—только реакцию *b*. Реакция *b* в противоположность реакции *a* стимулируется адениловой кислотой. Энзимы трансгидразы связаны в тканях с нерастворимыми частицами.

В таблице 29 приводим (Snell, 1953) ряд энзиматических систем, в которых в качестве коэнзима участвует

Таблица 29
Описание дегидраз, требующих для своей активности никотинамидные кофакторы

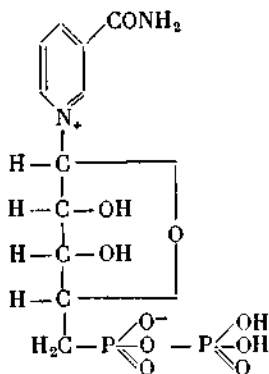
Энзим	Субстрат (АН ₂)	Продукт реакции (А)	Кофактор	Ссылка на литературу
А. Реакции типа СНОН + кофактор С=О + восстановленный кофактор				
Алкоголь дегидраза	Этиловый спирт	Ацетальдегид	DPN	Fisher a. oth., 1953
»	Витамин А	Ретинен	DPN	См. гл. 1
Изолимонная дегидраза	Изолимонная кислота	Шавелевоуксусная кислота + СО ₂	TPN	Snell, 1953
Изолимонная дегидраза (растительная)	То же	α-Кетоглутаровая кислота + СО ₂	DPN	Snell, 1953
α-Глицерофосфат дегидраза	α-Глицерофосфат	Диоксиацетонфосфат	DPN	То же
β-Оксимагмаслиная дегидраза	β-Оксимагмаслиная кислота	Ацетоацетат	DPN	» »
β-Оксинапил-кофактор А дегидраза	β-Оксинапил-кофактор А производные	Соответствующие β-кетосоединения	DPN	Beinert a. oth., 1953, и Lehninger, Greville, 1953
Молочная дегидраза	1-Молочная кислота	Пировиноградная кислота	DPN	Gibson a. oth., 1953
Яблочная дегидраза	1-Яблочная кислота	Шавелевоуксусная кислота	DPN	Snell, 1953

Энзим	Субстрат (ΔH_2)	Продукт реакции (Δ)	Коэнзим	Ссылка на литературу
Яблочный энзим	То же	Пировиноградная кислота + CO_2	TPN	Snell, 1953
Холин дегидрогеназа	Холин	Бетаин-альдегид	DPN	См. гл. 8
В. Реакция типа $\text{H}_2\text{O} + \text{CHO} + \text{коэнзим} \rightarrow \text{RCOOH} + \text{восстановленный коэнзим}$				
Формальдегидраза	Формат	CO_2	DPN	Stritt matter Ball, 1955
Триозофосфат дегидраза	α -Глицеральдегид фосфат + H_3PO_4	1,3-Дифосфоглицериновая кислота	DPN	Axelrod, Saltman a. oth., 1952, 1953
Глюкозо дегидраза	α -Глюкоза	α -Глюконовая кислота	DPN	Snell, 1953
Глюкозо-6-фосфат дегидраза	Глюкозо-6-фосфат	6-Фосфоглюконовая кислота	TPN	Kelley a. oth., 1955; Axelrod, Bandurski a. oth., 1953
Бетаин-альдегид дегидраза	Бетаин-альдегид	Бетаин	DPN	Snell, 1953
С. Реакция типа $\text{RCHNH}_2 \cdot \text{COOH} + \text{коэнзим} \rightarrow \text{RC} (= \text{NH}) \text{COOH} + \text{восстановленный коэнзим} + \text{H}_2\text{O} + \text{RCO}_2\text{COOH} + \text{NH}_3$				
Глутамино дегидраза	Глутаминовая кислота	α -Кетоглутаровая кислота + NH_3	DPN	Olson a. oth., 1952, 1953

Энзим	Субстрат (ΔH_2)	Продукт реакции (A)	Коэнзим	Ссылка на литературу
D. Реакция типа: $RSSH + \text{восстановленный коэнзим} \rightarrow 2RSH + \text{коэнзим}$				
Глютатон редуктаза	Окисленный глюта- тион	Восстановленный глю- та-тион	TPNH	Rall, Lehniger, 1952
Цистин редуктаза	Цистин	Цистеин	DPNH	То же
E. Смешанный тип реакции				
Кетоглутаровая деги- драза	Кетоглутаровая кис- лота	Сукцинил- ∞ CoA + CO_2	DPN	Snell, 1953
Пировиноградная де- гидраза	Пировиноградная кислота	Ацетил- ∞ CoA + CO_2	DPN	То же
Хинон редуктаза	p-Бензохинон	Гидрохинон	DPNH или TPNH	Wosilar, Nason, 1953
Нитрат редуктаза	Нитрат	Нитрит	TPNH	Nason, Evans, 1953
Цистеин сульфидат де- гидраза	l-Цистеин сульфид- нат	l-Цистеиновая кислота	MPN или кодегид- раза III	Singer, Kearney, 1952, 1953

кодегидраза I (дифосфопиридиннуклеотид—DPN) или ко-дегидраза II (трифосфопиридиннуклеотид—TPN).

Недавно была найдена кодегидраза III, необходимая для окисления цистени-сульфината и представляющая собой фосфопиридинмоонуклеотид следующего строения (Singer, Kearney, 1952, 1953):



Из всего вышешложенного видно, какое значение имеет кодегидраза I и кодегидраза II в обмене и биохимических реакциях в клетках как растений, так и животных.

Обмен никотиновой кислоты в организме

Обмен никотиновой кислоты у различных животных протекает различно (Perlzweig, Rosen, Pearson, 1950). Так, в организме всеядных и плотоядных никотиновая кислота аминируется в никотинамид и последний метилируется в N'-метилникотинамид, который частично окисляется в 1-метил-3-карбоксиламид-6-пиридон или 6-пиридон N'-метилникотинамид.

Травоядные не способны амидировать никотиновую кислоту, а никотинамид, поступающий из растительной пищи, дезаминируют и выделяют в виде свободной никотиновой и никотинуровой кислот. В растениях (а потому и в растительной пище) примерно 20—50% всей никотиновой кислоты содержится в форме ее амида, тогда как в животных тканях содержание никотинамида составляет 90—99% от всей никотиновой кислоты. У травоядных даже после введения очень больших доз никотинамида или

никотиновой кислоты не удалось обнаружить в моче 6-пиридона. От общего количества введенного никотинамида травоядные выделяли с мочой только около 4% N'-метилникотинамида. Свинья выделяет 7% N'-метилникотинамида и 10% 6-пиридона, крыса выделяет 40—50% от пероральной дозы никотиновой кислоты или никотинамида в виде N'-метилникотинамида и 3—5% в виде 6-пиридона, а собака почти всю никотиновую кислоту выделяет в виде N'-метилникотинамида. Для обезьян основными продуктами обмена являются N'-метилникотинамид и 6-пиридон, но, кроме того, выделяются с мочой также неизменная никотиновая кислота и ее амид, никотинуровая и хинолиновая кислоты и тригонеллин (Vapergjee, Basak, 1955). От всей дозы никотинамида человек выделяет 30—40% в форме N'-метилникотинамида, 35—45% в форме 6-пиридона, около 19% в виде хинолиновой и остальное (около 3%) в виде никотиновой кислоты (Frazier, Prather, Hoene, 1955).

Изменив характер питания травоядных, можно было нарушить свойственный им механизм дезаминирования никотинамида и вызвать у них способность метилировать последний. Это было доказано Черкес (1952) выделением N'-метилникотинамида при содержании травоядных животных на мясной пище. Подобные же результаты дали опыты с голодающими морскими свинками, когда их организм начинает потреблять свои собственные ткани и приобретает несвойственную ему способность амидировать и метилировать никотиновую кислоту. Это доказывает появление в моче голодающих морских свинок, уже на второй день голодания, довольно значительного количества N'-метилникотинамида (до 48 мг в сутки).

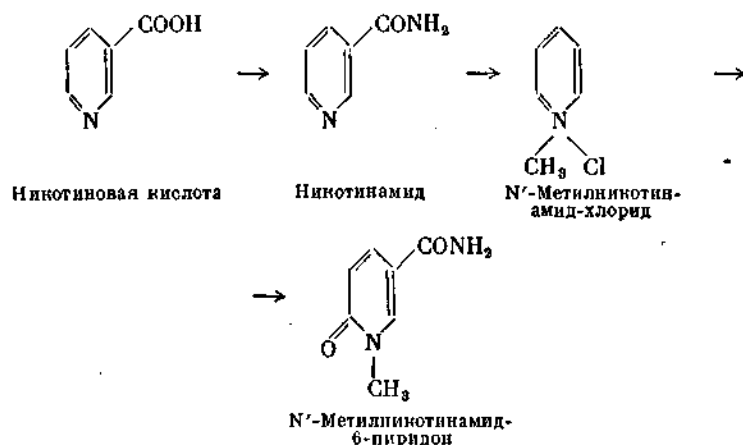
При кормлении растительной пищей уже через 4 дня полностью прекращалось выделение N'-метилникотинамида. Введение нагрузочной дозы никотинамида голодающим морским свинкам резко повышало выделение N'-метилникотинамида с мочой. Опыты Черкес с амидированием и метилированием никотиновой кислоты, в зависимости от пищи травоядных, прекрасно отражают приспособление организма к новым условиям питания.

Изучение обмена никотиновой кислоты у кроликов показало, что они выделяют с мочой неизменную никотиновую кислоту, небольшое количество никотинуровой кислоты, очень мало N'-метилникотинамида и в отличие от

других травоядных значительное количество 1-метил-3-карбоксиламид-6-пиридола (примерно 35%). Последний образует конечный продукт обмена никотиновой кислоты у кроликов, так же как у всеядных. Очевидно, по характеру обмена никотиновой кислоты кроликов скорее можно причислять к разряду всеядных животных.

Моча кроликов обычно имеет щелочную реакцию, и это обстоятельство, вероятно, способствует разрушению N'-метилникотинамида, ибо введение кроликам веществ (манделиновой кислоты), понижающих pH мочи, одновременно повышает выделение N'-метилникотинамида (Chattopadhyay, Chosh, Chattopadhyay, Banerjee, 1953). То же повышение выделения N'-метилникотинамида было отмечено (те же авторы, 1946, 1948) у голодающих кроликов, у которых pH мочи уже на 5-й день голодания понижался с 9,15 до 4,72.

Процесс обмена никотиновой кислоты у плотоядных и всеядных идет согласно следующей схеме (Perlzweig и др., 1950, Knox, Grossman, 1946, 1948).



Таким образом, у всеядных никотиновая кислота может выполнять функцию деметилирующего агента и вызывать недостаток метильных групп, если последние не будут вводиться с метионином или холином.

При введении же крысе большой дозы никотиновой кислоты в виде свободной кислоты, но не ее амида, она в основном выделяется в виде никотинуровой кислоты

(Johnson, Lin Pei-Hsing, 1953). Поэтому последнюю следует рассматривать не как продукт обмена, а как продукт детоксикации больших доз никотиновой кислоты.

Никотинуровая кислота, т. е. никотиновая кислота, связанная с глицином, образуется в почках. Это доказывают опыты (Jones, Elliott, 1954) с синтезом никотинуровой кислоты *in vitro* при инкубации митохондриевой фракции почки крысы в присутствии никотиновой кислоты и глицина.

Способность никотинамида метилироваться в N'-метилникотинамид была подтверждена (Canton, 1951) в опытах с печенью крысы *in vitro*. Биосинтез N'-метилникотинамида протекает анаэробно в результате реакции l-метионина с никотинамидом в присутствии Mg^{++} , аденозинтрифосфата и фосфокреатина или фосфоглицерата. l-Метионин при этом передает свою метильную группу никотинамиду, превращаясь в гомоцистеин. Энзиматическая система была найдена также в печени свиньи, морской свинки и собаки.

При переводе крыс на безбелковую диету или на полное голодание их организм сохраняет способность метилировать никотиновую кислоту, что доказывало продолжающееся выделение N'-метилникотинамида с мочой. При введении нагрузочной дозы никотиновой кислоты или никотинамида крысы на безбелковой диете выделяли N'-метилникотинамид с мочой (Черкас, 1958). При этом при нагрузке никотиновой кислотой N'-метилникотинамида выделялось меньше, чем при нагрузке никотинамидом. Это указывает, что при малобелковой диете в организме крысы понижено амидирование, но сохраняется метилирование никотинамида за счет эндогенных источников метильных групп.

Превращение N'-метилникотинамида в его 6-пиридон было доказано (Hunter, Handler, 1952) и в опытах *in vitro*. Срезы и гомогенаты печени кроликов переводят 25—35% добавленного N'-метилникотинамида в 6-пиридон и в том же отношении, в каком 6-пиридон-N'-метилникотинамид переходит в мочу в опытах *in vitro*. Печень крыс в опытах *in vitro* переводит около 3% N'-метилникотинамида в 6-пиридон и примерно тот же процент окисленного продукта крысы выделяют с мочой. У морских свинок путь обмена никотиновой кислоты несколько иной, что доказывается неспособностью N'-метилникотин-

амида в опытах *in vitro* окисляться в 6-пиридон, а превращаться при этом (на 38%) в другой неизвестный продукт.

Обмен никотиновой кислоты у лошадей. При удовлетворении нормальной физиологической потребности, т. е. при потреблении жеребенком весом 80 кг 8 мг никотиновой кислоты в сутки, в моче, собранной за 48 часов, выделялась в основном никотиновая кислота в связанной форме, освобождаемой при гидролизе с 8 NHCl (более 100%), около 35% — в неизменной форме и около 50% — в виде N' -метилникотинамида. При пероральной нагрузке 4 г никотиновой кислоты (в течение 2 дней ежедневно по 2 г) выделение N' -метилникотинамида остается неизменным, но повышается в основном выделение связанной никотиновой кислоты и несколько меньше свободной (Huff, Pearson, Perlzweig, 1946). В среднем выделяется 35% от нагрузочной дозы. При пероральной нагрузке того же количества никотинамида выделяется в среднем 4,1% и в большей части в виде амида. При этом процент выделения N' -метилникотинамида повышается только незначительно от 4,1 мг с нагрузкой никотиновой кислотой до 4,7 мг с никотинамидом. При пероральном введении 796 мг N' -метилникотинамида в моче обнаруживается около 1%, тогда как при подкожной инъекции той же дозы в моче обнаруживается около 50% неизменного N' -метилникотинамида (Huff, a. oth., 1946). Поэтому обмен никотиновой кислоты у лошади отличается от обмена у человека, собаки, свиньи и крысы и подобен таковому у кролика — другого вида травоядного животного. Общее с обменом вышеуказанных видов животных, в том числе и кролика, то, что у лошади, вероятно, метилируется никотинамид и также быстро разрушается образованный метилированный продукт.

В отличие от млекопитающих организм птиц не способен метилировать никотинамид. После внутривентрального введения 16-недельному цыпленку никотинамида или никотиновой кислоты в экскретах были обнаружены — значительное количество никотиновой кислоты, меньше α -никотинил-орнитина и еще меньше остальных продуктов обмена: β -никотинил-d-глюкуроновой кислоты, никотинуровой кислоты, δ никотинил-орнитина, 2,5-диникотинил-орнитина и незначительное количество никотинамида (Wu Chang, Johnson, 1957). Последний выделялся

независимо от того, вводился ли цыпленку пикотионамид или никотиновая кислота.

Содержание никотиновой кислоты в молоке. Никотиновая кислота переходит в молоко и тем в большем количестве, чем пища богаче ею. Женское молоко при среднем питании содержит около 190 мкг/100 мл (Pratt, Hamil, Mauger, Kanchar, 1951). При дополнительном ежедневном введении 120 мг никотиновой кислоты содержание последней в молоке повышается до 400 мкг/100 мл.

Содержание никотиновой кислоты в молоке и молозиве различных животных колеблется в следующих пределах (табл. 30).

Таблица 30

Содержание никотиновой кислоты в молоке и молозиве
(в мг на 1 л)

Животное	Молоко	Молозиво	Авторы
Корова	1,38—1,56	—	Давидов, Гулько (1951)
Корова	0,96	0,96	Pearson, Darnell (1946)
Овца	3,93	1,97	Те же
Кобыла	0,58—0,72	1,6	» »
Свинья	8,0	—	» »

Содержание никотиновой кислоты в женском молоке остается примерно постоянным в течение всего периода лактации.

Содержание никотиновой кислоты в молоке коров подвержено сезонным колебаниям, оно наибольшее в зимние месяцы, т. е. при стойловом содержании, 1,3—1,84 мг/л, и наименьшее в летние месяцы, т. е. при пастбищном содержании, 0,98—1,6 мг/л (Давидов и Гулько, 1951).

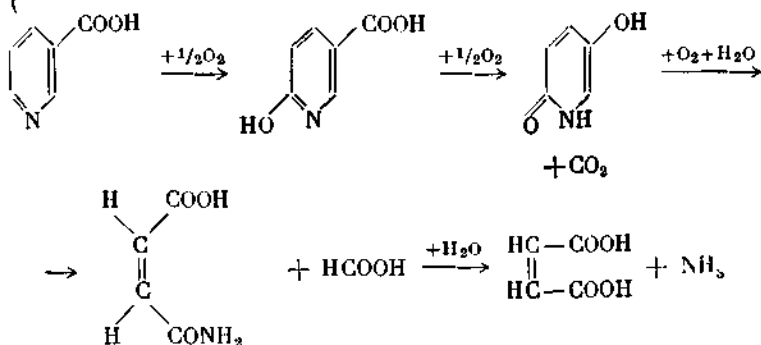
Добавление сочных и концентрированных кормов в рацион коров, например 4 кг льняного жмыха, способствует развитию микрофлоры, синтезирующей никотиновую кислоту, и тем самым на 30% повышает содержание никотиновой кислоты в молоке (Давидов, Гулько, Ермакова, 1956).

В ацидофилии и кефире содержание никотиновой кислоты по отношению к исходному молоку падает, составляя 34% в первом и 27% во втором. Это происходит

вследствие использования никотиновой кислоты развивающимися молочнокислыми бактериями. Никотиновая кислота устойчива и поэтому в пастеризованном, сгущенном и сухом молоке может сохраняться неограниченно долго. При приготовлении сыра только 10% никотиновой кислоты молока переходит в сыр (Давидов, Гулько, Ермакова, 1951).

Обмен никотиновой кислоты у бактерий. Мы рассмотрим здесь использование никотиновой кислоты аэробными бактериями, в частности группой *Pseudomonas*, и анаэробными—выделенными из почвы и относящимися к роду *Clostridium*.

В случае аэробных бактерий использование никотиновой кислоты в качестве единственного источника углерода идет согласно следующему окислительному распаду (Behrman, Stanier, 1957):



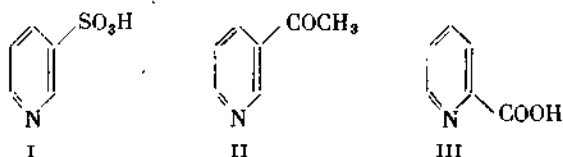
В случае использования никотиновой кислоты анаэробами почвы разложение идет согласно следующей схеме (Nagary, 1957):



В результате окислительного разложения никотиновой кислоты аэробами образуются фумаровая и муравьиная кислоты, а в результате разложения ее анаэробами—уксусная и пропионовая кислоты. В том и другом случае первым продуктом разложения никотиновой кислоты будет 6-оксиникотиновая кислота. Последняя в случае анаэробного разложения образуется гидролитически: никотиновая кислота + H₂O ⇌ 6-оксиникотиновая кислота + H₂.

Биологически активные аналоги никотиновой кислоты

Из производных никотиновой кислоты мы отметим три производных, обладающих биологической активностью. Это—пиридин-3-сульфоновая кислота (I), отличающаяся от никотиновой кислоты заменой карбоксильной группы сульфогруппой, 3-ацетилпиридин (II), в котором карбоксильная группа никотиновой кислоты заменена ацетиллом, и α -пикотиновая кислота (III), у которой карбоксильная группа стоит не в β -положении, как у никотиновой кислоты, а в α -положении. Структурные формулы их следующие:



Первое из них, не оказывая влияния на животных, сильно угнетает рост микроорганизмов, нуждающихся в никотиновой кислоте, а второе, не действуя на тех же микроорганизмов, вызывает повышение выделения N'-метилникотинамида у животных и усугубляет клинические явления недостаточности никотиновой кислоты у мышей и пеллагру собак. Введение 2 мг 3-ацетилпиридина мышам вызывает у них типичные явления недостатка никотиновой кислоты, которые устраняют введением в диету 2% никотиновой кислоты или 0,5% никотинамида (до введения 3-ацетилпиридина).

Оказалось (Gaebler, Beher, 1951; Beher a. oth., 1952; Beher, Anthony, 1953), что скармливание 3-ацетилпиридина собакам на полноценной диете хотя и вызывало сильное повышение выделения N'-метилникотинамида (30% от введенного 3-ацетилпиридина), но пеллагра у них не проявлялась. При введении того же самого соединения собакам на диете с недостатком никотиновой кислоты около 59% от введенного 3-ацетилпиридина, меченного по углероду карбонильной группы, выделялось с мочой в виде N'-метилникотинамида по сравнению с 46%, выделенного в той же форме контрольными собаками. У этих собак (на диете с недостатком никотиновой кислоты и получавших 3-ацетилпиридин), кроме повышения выделения N'-метилникотинамида с мочой, гораздо быстрее насту-

пали тяжелые клинические явления недостатка никотиновой кислоты, не излечиваемые введением последней (Mc Daniel, 1953).

Таким образом, детоксикация 3-ацетилпиридина сводится к окислению его в никотиновую кислоту и выделению ее в виде N'-метилникотинамида. 3-Ацетилпиридин можно рассматривать как антивитамины и как провитамины.

Антивитаминовые свойства находятся в обратной зависимости от скорости окисления у животных и конкуренции с никотиновой кислотой за включение в пиридиновые коэнзимы. В результате этого вытесненная никотиновая кислота повышает выделение N'-метилникотинамида с мочой.

Изучение детоксикации 3-ацетилпиридина *in vitro* показало (Beher, Anthony, 1953), что срезы печени и почки и форменные элементы крови собак быстро окисляют последний. В процессе окисления, вероятно, участвуют кодегидразы I и II, вследствие этого 3-ацетилпиридин проявляет большую токсичность у животных с длительным недостатком никотиновой кислоты, а следовательно, с пониженным содержанием указанных кодегидраз. Так, у взрослых контрольных собак 3-ацетилпиридин токсичен в дозе 0,1 г на 1 кг веса тела, тогда как у собак с недостатком никотиновой кислоты токсична уже $\frac{1}{4}$ вышеуказанной дозы. В то же время ежедневные дозы 60 мг 3-ацетилпиридина собаке весом около 10 кг на диете с недостатком никотиновой кислоты предохраняет ее от пеллагры.

Принимая во внимание, что 20—30% 3-ацетилпиридина в организме превращаются в никотиновую кислоту, то 12 мг последней, образованные из 60 мг 3-ацетилпиридина, вполне удовлетворяют ежедневную потребность собаки в никотиновой кислоте.

Исследование торможения роста тараканов (*Periplaneta americana*), содержащихся на синтетической диете с заменой никотиновой кислоты каждым из ее антагонистов, показало (Sieburth, Mc Laren, 1953), что α -пиколиновая кислота дает по прошествии 90 дней опыта наилучший рост (26,8 мг по сравнению со 106 мг контроля) и наибольшую смертность тараканов (67% по сравнению с 27% контроля), затем идет пиридин-3-сульфоновая кислота (20,2 мг прироста и 44% смертности) и наименьший при-

рост (15,3 мг) с наименьшей смертностью (33,2%) дает 3-ацетилпиридин.

Вышеизложенное указывает, что все три антивитамина действуют на разные организмы различно.

Недостаточность никотиновой кислоты

Не будем останавливаться на патогенезе и клинике пеллагры человека и собаки, а укажем на книгу «Пеллагра» Ефремова (1934), где можно подробно познакомиться с этими вопросами. Здесь мы опишем признаки недостаточности никотиновой кислоты у поросят и птиц, а также некоторые специфические особенности РР-авитаминоза, связанные с функцией кодегидраз.

Пеллагра поросят. Янченко (1957) в колхозе имени Ленина Ворошиловградской области весной 1956 года наблюдал пеллагру поросят в возрасте 2—4 месяцев. Из 576 поросят за 48 дней пало 99. Симптомы были следующие: пониженный аппетит, покраснение, припухлость и шелушение кожи вокруг глаз, напоминающие по форме очки, покраснение и припухлость кожи на спине и экзематозные поражения всего туловища. Экзематозные поражения начинались с появления пузырьков, наполненных мутным, серозным, геморрагическим или гнойным содержимым, расположенным неправильной линией. На месте пузырьков в дальнейшем происходила десквамация эпителия. Кожные поражения располагались на туловище симметрично. При дальнейшем развитии патологического процесса появлялись судороги, выражающиеся в ригидности мышц передних конечностей. Судорожные явления сопровождалась визгом поросят.

Вначале судороги продолжались $\frac{1}{2}$ —1 минуту, постепенно удлинялись и через 2—3 дня сменялись тетаническими судорогами с потерей сознания. Вскоре наступала смерть.

При патологическом вскрытии почти во всех случаях отмечены: дряблость сердечной мышцы с жидкостью цвета некрепкого чая, иногда студнеобразной, в сердечной сумке. Слизистая желудка и тонкого кишечника была покрасневшей и набухшей; на слизистой толстого кишечника отмечался мелкий отрубевидный налет. Печень была увеличена, плотная, серая, на разрезе рисунок сглажен.

Введение подкожно 0,4 мг никотиновой кислоты на 1 кг веса тела ежедневно в течение 10 дней устраняло вышеуказанные симптомы, и поросята выздоравливали.

Причина пеллагры поросят в колхозе имени Ленина—однообразное, длительное кормление сухой кукурузой.

Недостаточность никотиновой кислоты у домашней птицы. В 1931 году Норрис с сотрудниками (Ringrose, Norris, Heuser, 1931) описали пеллагру цыплят и предупреждение и излечение ее никотиновой кислотой. Позднее Эльведжим с сотрудниками показал, что дерматит цыплят, полученный у них Норрисом на гольдбергеровской диете, не всегда излечивался никотиновой кислотой, так как эта диета была недостаточна, и другим витамином группы В—пантотеновой кислотой. Применяв очищенную диету, полноценную всеми остальными пищевыми факторами, кроме никотиновой кислоты, Эльведжиму с сотрудниками (Briggs, Mills, Elvehjem, Hart, 1942; Briggs a. oth., 1943) удалось обнаружить у цыплят, посаженных в однодневном возрасте на эту диету, уже с начала 2-й недели воспаление ротовой полости, а также верхней части пищевода и зоба с ярко-красной окраской. Однако кончик языка у таких цыплят оставался белым. Чешуйчатый дерматит сначала появлялся на верхней части ног, а затем в течение 2—3 недель распространялся книзу, захватывая всю голень до ступни. Из других симптомов следует отметить резкое понижение аппетита и плохое оперение (Briggs a. oth., 1943). У 6 цыплят из 19 с недостатком никотиновой кислоты отмечались случаи перозиса, которые не появлялись у цыплят контрольной группы. Следует отметить, что перозис (скользящее сухожилие)—это симптом недостаточности нескольких витаминов группы В, одним из которых является никотиновая кислота (см. гл. 7, 8).

Позднее Бриггс (Briggs, 1946) у индюшат, получающих полноценную очищенную диету, за исключением никотиновой кислоты, нашел подобные же симптомы: воспаление рта, диарею, плохое потребление и усвоение пищи, плохое оперение и перозис (рис. 14). Симптомы предупреждались 3—5 мг никотиновой кислоты на 100 г диеты.

Часто встречающееся у молодых индюшат заболевание расширенного коленного сухожилия, которое аналогично мышечной дистрофии у кроликов, предупреждается



Рис. 14. Типичный случай перозиса у индюшонка, содержавшегося на рационе с недостатком никотиновой кислоты.

никотиновой кислотой (45 мг на 1 кг рациона) и витамином Е (см. гл. 16). Оно возникает и у утят (Scott, Heuser, 1952). У утят, выращенных в батареях с полом из железной сетки, уже в 3-недельном возрасте возникало искривление ног, очень близкое описанному у индюшат (Scott, 1953). Введение в рацион 7,5% сухих пивных дрожжей или комплекса витаминов В полностью предупреждало это заболевание. Но при исключении никотиновой кислоты из полноценного рациона заболевало то же число утят, что и на хозяйственном рационе. Добавление к рациону 22 мг никотиновой кислоты на 1 кг полностью предупреждало заболевание ног у утят.

Гусята, выращиваемые на рационе, лишенном никотиновой кислоты, заболевают параличом ног — перозисом, напоминающим таковой у утят (Briggs, Hill, Canfield, 1953). Все такие гусята погибали уже на 2-й неделе опыта.

Бейрд (Sunde, Bird, 1957) описал заболевания ног у фазановых цыплят, выращиваемых в батарейных условиях на рационе из размолотых 17% кукурузы, 5% овса, 10% пшеницы, 5% люцерны, 56% соевых бобов, 2% яичной скорлупы, 3% костной муки, 0,5% масла, содержащего витамины А и D, 0,5% йодированных солей, 0,033% $MnSO_4$, 0,1% холина, 0,05% метионина и 0,4% рибофлавина. В 3-недельном возрасте из 34 фазанов заболевание ног констатировано у 27. Из них 7 имели согнутые ноги (с изгибом в коленном суставе), 2 — опухший коленный сустав и 18 — перозис. Когда же в рацион добавляли

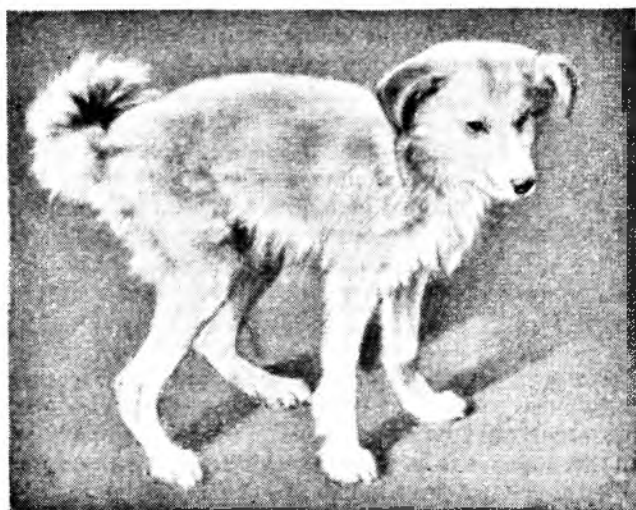


Рис. 15. Недостаток никотиновой кислоты у собаки:
сверху—собака до заболевания, снизу—та же собака,
заболевшая пеллагрой.

5% дрожжей, заболевание ног не наблюдалось. Добавление в рацион 80 мг никотиновой кислоты на 1 кг рациона понижало заболевание ног до 10% случаев, а при однодневном добавлении 10 мг α -токоферола заболевание исчезало.

Фазановые цыплята, содержащиеся на выгуле, росли медленнее, чем в батареях, но заболевание ног у них не наблюдалось.

Известно, что в результате недостатка никотиновой кислоты у животных возникает анемия. Последняя образуется вследствие нарушения синтеза кодегидразы и последующего понижения дыхания эритроцитов. Это влечет за собой преждевременное разрушение зрелых клеток и понижение образования их в костном мозге. Как показали гистологические исследования Ефремова, Разумова и Тихомировой (1953), у собак с недостатком никотиновой кислоты происходят глубокие изменения центральной и периферической нервной системы. Это отражалось на внешних клинических состояниях животных — возникала атаксия задних конечностей (рис. 15).

В связи с этими гистологическими изменениями Ефремов, Макарычев и Тихомирова (1954) отметили резкие нарушения условнорефлекторной деятельности у собак с недостатком никотиновой кислоты, которые наступали значительно раньше других клинических проявлений недостаточности. В свете современных данных о биологическом действии никотиновой кислоты в форме коэнзим (кодегидразы I, II и III), участвующих в окислении субстратов, недостаток этих коэнзим (вследствие РР-авитаминоза) вызывает нарушения и в первую очередь нервной системы, наиболее чувствительной к недостатку окислительных процессов.

Физиологическое значение никотиновой кислоты

Формы содержания никотиновой кислоты в природе. Подобно рибофлавину никотиновая кислота в природе встречается в свободной форме, в составе пиридин-нуклеотидов и в «связанной» форме, недоступной микроорганизмам *Lactobacillus arabinosus* L. casei (Kodicek, 1951), крысам (Chandhuri, Kodicek, 1950, 1951) и цыплятам (Krehl, Elvehjen, Strong, 1944; Coates a. oth., 1952). Гидролиз 0,5 N едкой щелочью или концентрированной минеральной кислотой освобождает никотиновую кислоту

из связанного состояния и она становится доступной вышеуказанным организмам. Оказывается, что в зернах большинства злаков — кукурузы, пшеницы, риса, ячменя и ржи — большую часть (от 50 до 90%) всей никотиновой кислоты составляет связанная форма. Исследования (Braude, Kop, Mitchell, Kodicek, 1955) на свиньях — животных, у которых характер обмена никотиновой кислоты аналогичен таковому у человека, показали, что на рационах, состоящих в основном (79%) из белой кукурузы, свиньи теряли в весе и погибали по прошествии 3—6 недель, тогда как те же свиньи, получавшие ту же кукурузу, но предварительно подвергнутую щелочному гидролизу, чувствовали себя хорошо и росли примерно так же, как контрольные свиньи, получавшие ежедневно 6 мг никотиновой кислоты.

В некоторых злаках при недостатке усвояемой формы никотиновой кислоты содержится триптофан, который обуславливает антипеллагрическую активность этих злаков. Если белки пшеницы, ржи, риса и ячменя богаты триптофаном, то белок кукурузы — зеин беден им и вследствие плохо сбалансированного аминокислотного состава, требуемого для синтеза тканевого протеина (см. ниже), лишает возможности использовать даже минимальное количество триптофана в зеине для синтеза никотиновой кислоты.

Эти факты отрицают возможность существования в кукурузе предполагаемого раньше токсического пеллагрогенного фактора.

Зависимость действия никотиновой кислоты от наличия триптофана в белке и диете. Следует отметить, что триптофан имеет в организме двойное значение: 1) как составная часть для построения необходимых белков, т. е. собственно как аминокислота, и 2) как источник для биосинтеза никотиновой кислоты. При повышении содержания протеина в диете потребность в триптофане, при отсутствии никотиновой кислоты, повышалась и еще более возрастала, когда источником протеина в диете был белок, бедный триптофаном, например желатин или казеиновый гидролизат, лишенный триптофана (Salmon, 1954). В этом случае большая часть триптофана использовалась на синтез тканевых протеинов. Добавление никотиновой кислоты устраняло необходимость в биосинтезе ее из триптофана и поэтому снижало потребность животных в три-

птофана. Добавление отдельных аминокислот, как лизина, валина или треонина, к кукурузным диетам вызывает подавление роста животных (вследствие повышения несбалансированности аминокислот) и поэтому увеличенную потребность в триптофане для синтеза белка (Горяченкова, 1951; Henderson, Коеппе, Zimmerman, 1953). Точно так же добавление треонина, лейцина и гистидина к диете цыплят, состоящей из гидролизованного казеина и целлюлозы, вызывало явления перозиса, которые предупреждались добавлением 10 мг никотиновой кислоты на 100 г диеты или 0,15% триптофана (Fischer, Scott, Johnson, 1954, 1955).

Черкес с сотрудниками (1955) показали, что введение серусодержащих аминокислот, как 60 мг цистеина или 80 мг метионина, в корм крыс, содержащий 9% казеина, понижало выделение с мочой N'-метилпикотиламида и вызывало ожирение печени. Добавление никотиновой кислоты повышало выделение N'-метилпикотиламида, устраняло ожирение печени и способствовало жизни крыс на мало-белковой диете.

Каплан (1951) показала, что из аминокислот наиболее сильно подавляли рост животных гистидин, треонин, валин, пролин, серин, фенилаланин и несколько слабее аланин и лизин. Оказывается, что эти аминокислоты легко конденсируются с фосфопиридоксалем аминоферазы или кинурениназы в шиффовые основания (Браунштейн, Шемякин, 1952, 1953) и тем самым блокируют действие этих ферментов. Это действие указанных аминокислот является конкурентным. У гистидина, треонина и валина родство к фосфопиридоксалу весьма велико. Замена белка в диете комплексом аминокислот, необходимых для оптимального роста, с содержанием в нем 0,10—0,11% триптофана, вынуждала организм использовать весь триптофан на синтез т-аневого белка и вызывала недостаток в никотиновой кислоте. Понижение содержания некоторых аминокислот, как лейцина, валина, треонина или лизина, в этом комплексе вызывало меньшее использование триптофана для синтеза белка и большее — для образования никотиновой кислоты (Коеппе, Henderson, 1955). Из этого следует, что повышение содержания белка в диете повышает потребность в никотиновой кислоте и притом тем сильнее, чем белок беднее триптофаном. Так, на диете с 9% казеина потребность в триптофане соответствовала 0,10%, а

с 10,8% белка триптофана требовалось 0,13%. При исключении никотиновой кислоты и 10,8% белка в диете потребность в триптофане повышалась до 0,19%, а при 20% белка—до 0,30%. Когда в диете содержалось 20% белка, лишённого триптофана (желатина), то потребность в триптофане повышалась до 0,17% даже в присутствии адекватного количества никотиновой кислоты (Salmon, 1954). При очень большом содержании белка, лишённого триптофана, одна никотиновая кислота без добавления триптофана не в состоянии была устранить явления недостаточности.

Образование и содержание кодегидраз в органах животных в зависимости от питания. В зарубежной литературе долго обсуждался вопрос о превращении никотиновой кислоты в кодегидразу. Одни авторы (Feigelson, Williams, Elvehjem, 1950, 1951) считали, что в больших дозах триптофан является более активным предшественником кодегидраз, чем никотиновая кислота. Другие (Duncan, Sarett, 1951) утверждали, что никотиновая кислота так же эффективна, как и триптофан, и критиковали работы первой группы авторов, указывая, что они применяли либо непротенную диету, либо протенную, но лишённую триптофана, вследствие чего понижалось отложение витаминов в печени. Из этой группы упомянем работу Фишера с сотрудниками (Fisher, Scott, Johnson, 1955), которые указывали, что в небольших эквивалентных количествах никотиновая кислота является более эффективной в повышении запасов кодегидраз в печени, чем триптофан, а при нормальном содержании ее в диете триптофан дает большее отложение кодегидраз. Это происходит, вероятно, вследствие большой скорости обмена и выделения никотиновой кислоты и постепенного образования никотиновой кислоты из триптофана.

Наоборот, Эльведжмюм с сотрудниками (Chaloupka, Williams, Reynolds, Elvehjem, 1957) доказано, что добавление триптофана к диете, лишённой никотиновой кислоты, вызывает у крыс гораздо больший рост и образование кодегидраз в крови, чем добавление одной никотиновой кислоты. Последняя давала только незначительное повышение роста и не вызывала синтеза кодегидраз. Очевидно, в работе Фишера с сотрудниками в диете содержалось достаточное количество триптофана и поэтому более эффективным становилось дополнение ее никотиновой кислотой.

В таблице 31 указано содержание кодегидразы I (DPN⁺ и DPNH) и кодегидразы II (TPN⁺ и TPNH) в различных органах (Glock, Mc Lean, 1955).

Таблица 31

Содержание окисленных и восстановленных кодегидраз
в животных тканях (в мкг/г)

Животное	Вид ткани	DPN ⁺	DPNH	TPN ⁺	TPNH
Крыса	Печень	370	204	6	205
	Почки	223	212	3	54
	Мозг	133	88	<2	8
	Сердечная мышца	299	184	4	33
	Мышца скелетная (диа- фрагмы)	289	138	<2	13
	Легкое	108	52	9	18
	Селезенка	135	61	<2	12
	Надпочечники	315	154	17	116
	Молочная железа (лактир.)	227	83	<2	51
	Зобная железа	116	85	<2	12
	Поджелудочная железа	115	78	<2	12
	Семенники	80	71	<2	6
Кролик	Плацинта (беременных)	90	11	<2	3
	Кровь	55	36	5	3
	Надпочечники	295	117	<2	67
	Яичники	181	34	<2	42
Морская свинка	Кровь	33	4	<2	3
	Мозг	133	67	8	16
	Яичники	214	38	6	116
	Щитовидная железа	126	30	<2	<2

Тогда как кодегидраза I присутствует во всех тканях в основном в окисленной форме, кодегидраза II, наоборот, предпочтительно находится в восстановленной форме. Содержание кодегидразы II в исследованных тканях пропорционально активностям глюкозо-6-фосфат- и 6-фосфоглюконат дегидраз (Glock, Mc Lean, 1954) и глутатион редуктазы (Rall, Lehninger, 1952), т. е. тех энзим, в которых она участвует в качестве коэнзима.

В организме животных (в селезенке, мозге) и в микроорганизмах (*Neurospora* и др.) имеется также ферментативная система, гидролитически расщепляющая кодегидразу I по пирогосфатной связи (Mc Ilwain, 1949, 1950).

Оказывается, добавление никотинамида тормозит действие этого фермента, названного дифосфопиридиннуклеотидазой (Zatman, Kaplan, Colowick, 1953). Фермент селезенки расщепляет только 50% всей кодегидразы I в присутствии $1,51 \times 10^{-3}$ молей никотинамида, а фермент *Neurospora* для такого же торможения требует в 100 раз большее количество никотинамида. Фермент действует только на окисленные формы кодегидразы II. Механизм тормозящего действия никотинамида на гидролиз кодегидразы I сводится к конкуренции его с водой за присоединение к комплексу аденозиндифосфат-рибоза-фермент. Это доказывается вступлением меченого никотинамида в кодегидразу I.

Биологическое значение этого торможения сводится к тому, что никотиновая кислота, кроме непосредственного вхождения в образуемую частицу кодегидразы I, может стимулировать биосинтез кодегидразы I еще и помощью торможения гидролиза ее своим амидом.

Некоторые микроорганизмы не способны к синтезу кодегидразы I и требуют ее для своего существования. В этом случае кодегидраза I является для таких организмов витамином, названным витамином B₇, или фактором V.

Например, гемофильческие бактерии (*Hemophilus Influenzae* и *Hemophilus parainfluenzae*), не способные синтезировать кодегидразу I, потребляют ее для своего роста из эритроцитов крови.

Факторы, определяющие состояние насыщенности организма никотиновой кислотой. О насыщенности животных и человека никотиновой кислотой можно судить (Burch a. oth., 1955) по содержанию: 1) DPN (дифосфопиридиннуклеотида) в кровяных шариках и плазме, 2) N'-метилникотинамида в моче и сыворотке крови и 3) никотиновой кислоты в моче.

Так, у хорошо упитанных людей содержится DPN в цельной крови 29,8 мкг/мл, а в сыворотке 0,46 мкг/мл, в красных шариках 68 мкг/мл и белых шариках 90 мкг/мл.

Содержание N'-метилникотинамида в сыворотке крови соответствует выделению его с мочой. При введении никотиновой кислоты, N'-метилникотинамида выделяется примерно в 6 раз больше, чем при введении триптофана, а при введении последнего примерно в 12 раз больше, чем без дополнителя.

В таблице 32 представлены данные о содержании DPN в красных кровяных шариках и выделение N'-метилникотинамида и никотиновой кислоты с мочой после введения крысам различных источников витамина PP.

Таблица 32

Действие источников витамина PP на содержание DPN в красных кровяных шариках и N'-метилникотинамида и никотиновой кислоты в моче крыс

Дополнитель	Средний привес на крысу	DPN в красных шариках (в мкг/мл)		Выделение с мочой в день на 6-й неделе опыта		
		первоначально	через 6 недель	N'-метилникотинамид (в мкг/мл)	никотиновая кислота (в мкг/мл)	% выделения
Диета из кукурузной муки, сахаразы, казеина, растительного масла и витаминов, кроме никотиновой кислоты	9,1±0,8	173±10	117±4	7	4	—
	8,0±0,7	206±4	139±7	74	15	—
Та же диета + 5 мг никотиновой кислоты . . .	19,7±0,8	176±8	242±2	1330	182	65
Та же диета + 5 мг никотинамида	20±1,0	207±4	230±7	2611	1162	70
Та же диета + 10 мг 3-оксиметилпиридина	19±1,2	201±4	227±11	4010	276	77
Та же диета + 8,5 мг l-триптофана {	19±1,1	211±8	231±11	2890	1166	75
	20,3±1,1	172±5	201±8	323	43	17

При добавлении до 1,5 мг никотиновой кислоты в 100 г диеты содержание никотиновой кислоты в грудной мышце цыпленка повышается лишь незначительно. При добавлении же избытка витамина, т. е. 10 мг к 100 г диеты, содержание никотиновой кислоты в грудной мышце повышается в 15 раз.

В печени же содержание никотиновой кислоты начинало повышаться только тогда, когда в грудной мышце достигалось насыщение (Briggs a. oth., 1943).

Отношение к гормональной системе. Как при голодании, так и при аллоксановом диабете понижалось содержание суммы кодегидразы I и II в печени, и это согласовалось с понижением активностей глюкозо-6-фосфат и 6-фосфоглюконат дегидраз (Glock, Mc Lean, 1955). Понижение кодегидразы также согласуется с падением липогенезиса и гликолиза при этих состояниях. Понижение окисленной кодегидразы I и II, но не восстановленной, при диабете можно объяснить тем, что в диабетической печени окисление жирных кислот протекает нормально при сильно заторможенном липогенезе. Введение животным кристаллического ростового гормона передних долей гипофиза повышало содержание как окисленной, так и восстановленной кодегидразы I вследствие влияния его на синтез этого коэнзима. Тироксин понижает синтез АТФ и вследствие этого образование DPN и TPN, что и согласуется с результатами анализа этих кодегидраз в печени (Glock, Mc Lean, 1955). Тиоурацил, подавляя образование тироксина, повышал только содержание кодегидразы II в печени и мышцах, не вызывая значительных изменений содержания кодегидразы I в тех же органах. Очевидно, тироксин, так же как и ростовой гормон, регулирует синтез обеих дегидраз. Введенная никотиновая кислота не сразу становится компонентом дегидразных систем. Так, Ефремов и Каплан (1951) указывают, что содержание кодегидраз I и II в эритроцитах больных пеллагрой изменяется медленно после приема никотиновой кислоты. Поэтому никотиновая кислота, циркулируя в крови, в первые 10—20 минут после введения может проявлять свое фармакодинамическое действие, выражающееся, по данным Хаеса (1955), в гипо- и гипер-гликемическом эффекте. Малые дозы (1 мг/кг) снижают сахар в крови, большие (10 мг/кг) повышают. Это действие больших доз никотиновой кислоты связано со стимуляцией адреналиновой гипергликемии, а малых — с подавлением последней. Объяснением этого служит раздражение никотиновой кислотой хеморецепторов, ибо после выключения хеморецепторов новокаином никотиновая кислота не вызывала каких-либо сдвигов в содержании сахара в крови. Действие никотиновой кислоты является холинэргическим, ибо после блокирования парасимпатиче-

ской системы атропином никотиновая кислота также не вызывала гликемического действия.

Никотиновая кислота обладает гипохолестеринемическим действием, т. е. введенная перорально человеку (Holler, Callbeck, 1957) или кролику (Merrill, Lemley-Stone, 1957) она понижает содержание холестерина в сыворотке крови, в аорте и в печени. Гипохолестеринемическое действие никотиновой кислоты связано с автономной нервной системой.

Действие никотиновой кислоты на растительный организм. Никотиновая кислота является стимулятором обменных процессов и роста растительного организма. Смачивание семян сахарной свеклы 1%-ным раствором никотиновой кислоты ускоряет всхожесть на 2—3 дня (Леутский, 1956). Никотиновая кислота способствует более быстрому накоплению фосфатов в прорастающих зернах кукурузы. Добавление фосфатов к среде, в которой прорастают семена кукурузы, повышает в них биосинтез никотиновой кислоты (Стульников, 1956).

Потребность в никотиновой кислоте

Минимальная суточная потребность в никотиновой кислоте (в мг):

для взрослого человека при средней затрате труда	15
» » » » тяжелом труде	20
» » » » очень тяжелом труде	25
» беременной женщины	20
» кормящей »	25
» детей	15
» обезьян	0,5 на 1 кг веса тела
» собак	0,25 на 1 кг веса тела

Данные Голдсмита (Goldsmith, Rosenthal, Unglaub, 1953) указывают, что при питании людей продуктами, приготовленными из пшеничной муки, требуется ежедневно давать каждому субъекту по 5—7 мг никотиновой кислоты. В случае «кукурузной» диеты ежедневную дозу никотиновой кислоты следует увеличить до 8—10 мг.

Потребность цыплят в никотиновой кислоте на рационе из кукурузы, протеина соевых бобов и желатина, с общим содержанием 0,13% триптофана, составляла 17 мг на 1 кг корма. Таким образом, потребность в никотиновой

кислоте цыплят составляла 17 мг/кг при содержании в рационе 0,1% триптофана (Patterson, Hunt, Vohra, Blaylock, Mc Ginnis, 1954).

В таблице 33 указана потребность в никотиновой кислоте различной домашней птицы.

Таблица 33

Потребность в никотиновой кислоте и триптофане различных видов домашней птицы

Вид птицы	Содержание в мг на 100 г рациона		Критерии	Автор
	нико- тинов. кислоты	трипто- фана		
Цыплята . . .	2,5	150	Рост	Fisher a. oth., 1955
Фазаны . . .	5,0	—	Рост и предохра- нение от перо- зиса	Sunde, Bird, 1957
Утки	2,25	—	То же	Scott, Heuser, 1952
Гуси	10,0	—	» »	Briggs a. oth., 1953
Индеек . . .	3—5	—	» »	Briggs, 1946
»	4,5	—	» »	Scott, 1953
»	10,0	—	Предохранение от перозиса	Lance, Hogan, 1948

Потребность лошадей в никотиновой кислоте меньше, чем собак, свиней, так как кислота синтезируется в организме лошади. Лошадям требуется ежедневно 0,1 мг никотиновой кислоты на 1 кг веса тела (Pearrson, Luescke, 1945). При ежедневном введении 0,01 мг/кг лошади выделяют с мочой и калом никотиновой кислоты больше, чем потребляют.

Минимальная суточная потребность в никотиновой кислоте растущих поросят весом 4,5 кг равна 17,77 мг на 1 кг сухого корма, а весом 18 кг — 16,00 мг на 1 кг того же корма (Lucas, Lodge, 1958).

Глава 5

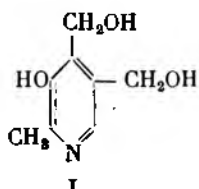
ВИТАМИНЫ ГРУППЫ В₆

В 1926 году, в поисках антипеллагрического витамина, Гольдбергер впервые наблюдал у крыс на синтетической диете пеллагроподобные поражения кожи, которые исчезали при включении в искусственную диету автоклавированных дрожжей. Эти явления у крыс Гольдбергер сначала приписывал отсутствию в синтетической диете витамина РР (оказавшегося в дальнейшем никотиновой кислотой) и отождествлял с пеллагрой человека. Позднее, с открытием витамина В₂ (рибофлавина), эти явления у крыс стали приписывать недостатку витамина В₂, ибо добавление кормов, богатых витамином РР (например, рыбы), не устраняло пеллагроподобные явления у крыс, тогда как кукуруза, бедная витамином РР, излечивала последние.

В 1933 году витамин В₂ в чистом виде был добавлен в вышеуказанную гольдбергерговскую диету, но пеллагроподобные явления у крыс не исчезли, а, наоборот, усилились, и через 6—15 недель появился симметрический дерматит, сопровождавшийся шелушением на лапках, ушах, вокруг рта и на носу. Этот дерматит относился по характеру к акродинии и излечивался автоклавированными дрожжами.

Встал вопрос о существовании в дрожжах нового пищевого фактора, названного крысиным антидерматическим или витамином В₆. Оказалось, что недостаток витамина В₂ также вызывал кожные явления облысения у крыс, но неспецифические, которые Ефремов (1933) относил к алопеции, в отличие от специфических, вызванных у крыс недостатком витамина В₆ и характеризующихся эритродемой.

В 1938 году был выделен чистый витамин В₆ (адермин или пиридоксин) в виде своей солянокислой соли сначала из дрожжей (Kuhn, Wendt, 1938), а затем из рисовых отрубей (Kercsztesy, Stevens, 1938). Оба препарата были идентичны и представляли собой бесцветные призматические кристаллы. Строение пиридоксина или витамина В₆ было окончательно установлено в 1939 году и подтверждено синтезом (Harris, Folkers, 1939). Пиридоксин оказался 2-метил-3-окси-4,5-(оксиметил)-пиридином (I), следующего строения:



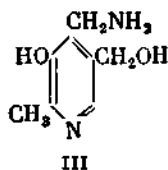
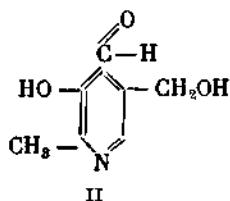
Первоначально считали, что витамин В₆ необходим только крысам. Отсюда название его крысиный антидерматический фактор.

Вскоре была установлена потребность в нем собак, свиней, цыплят, индеек и человека.

Пиридоксин стимулирует рост микроорганизмов. Однако в 1942 году в животных тканях было доказано наличие продукта превращения пиридоксина, названного псевдопиридоксином (Snell, 1942). Этот продукт обладал значительно большей активностью к *Streptococcus faecalis* (примерно в 6400 раз) и к *Lactobacillus casei*, чем пиридоксин.

Дальнейшие исследования химического превращения пиридоксина вследствие действия на него окислителя (разведенного KMnO_4 при 25° C) или нагревания его с аммиаком (о чем подробнее будет описано дальше) показали, что полученные продукты обладали более высокой активностью: в первом случае к *Lactobacillus casei*, во втором к *Streptococcus faecalis*. Химическое исследование этих продуктов, проведенное в 1944 году Снеллом (Snell, 1944, 1945), показало, что первый из них является 2-метил-3-окси-4-формил-5-оксиметил-пиридином (II), а второй — 2-метил-3-окси-4-аминометил-5-оксиметил-пиридином (III). Строение их было подтверждено синтезом. Продукт окисления пиридоксина был назван пиридоксалом (II), а продукт аминирования — пиридоксамином (III).

Строение их следующее:



Таким образом, было установлено, что псевдопиридоксин, найденный в тканях, оказался смесью пиридоксала с пиридоксамином. Так как пиридоксин, пиридоксал и пиридоксамин обладают разными активностями на различные молочнокислые бактерии (см. табл. 36), будучи примерно одинаково активными к дрожжам и высшим животным, то для этих бактерий витамином B_6 будет скорее пиридоксал (для *Lactobacillus casei*) и пиридоксамин (для *Streptococcus faecalis*), чем пиридоксин. Поэтому мы и назвали витамин B_6 группой витаминов B_6 .

Физико-химические свойства витаминов группы B_6 и их химические превращения

Пиридоксин (основание) представляет собой бесцветные кристаллы с температурой плавления 160° , обладающие слабым горьким вкусом. Он хорошо растворим в воде, спирте, ацетоне, мало растворим в эфире и хлороформе, легко сублимируется и образует пикрат.

Гидрохлорид пиридоксина кристаллизуется в виде бесцветных призм с температурой плавления $204-206^\circ$ с разложением. Он хорошо растворим в воде (1 : 4,5), значительно хуже в этиловом спирте (1 : 90), слабо растворим в ацетоне. Так же как основание, он сублимируется. Водный раствор его имеет pH 3,2.

Спектр поглощения водного раствора пиридоксина в ультрафиолете имеет максимумы в области: 358, 297 и 326 мμ. Из растворов пиридоксина хорошо осаждаются фосфорно-вольфрамовой, кремне-вольфрамовой и серной кислотами, не осаждаются солями свинца и ртути. Из нейтральных или кислых водных растворов пиридоксина адсорбируется на древесном угле, фуллеровой земле, цеолите, из которых элюируется раствором гидроокиси бария или

бутиловым спиртом. С хлорным железом дает оранжево-красную окраску.

Пиридоксал хорошо кристаллизуется в виде оксима с температурой плавления 225—226° и в виде гидрохлорида. Пиридоксамин представляет собой бесцветные кристаллы с температурой плавления 193—193,5°.

Пиридоксин, пиридоксал и пиридоксамин в растворах устойчивы к кипячению как в концентрированной соляной кислоте, так и в щелочных растворах (5N NaOH), но неустойчивы к окислителям (перманганату, азотной кислоте, нагреванию с перекисью водорода).

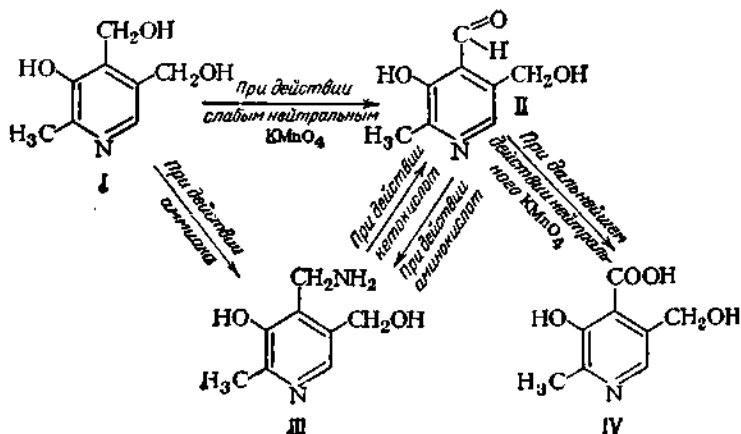
При действии избытка перманганата калия на пиридоксин (I) он окисляется в 4-пиридоксовую кислоту (IV) (2-метил-3-окси-4-карбокси-5-оксиметил-пиридин) и в ее лактон, но при окислении 0,1% KMnO_4 при 25° в течение 30 минут он дает пиридоксал (II).

При нагревании пиридоксина с аммиаком получается пиридоксамин (III). Последний может быть также получен при действии аминокислоты на пиридоксал (химической реакцией переаминирования):

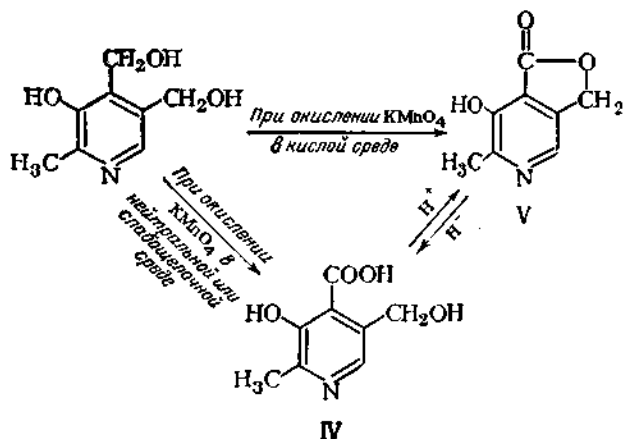
$\text{RCHNH}_2\text{COOH} + \text{пиридоксал} \rightleftharpoons \text{RCO}_2\text{COOH} + \text{пиридоксамин}.$

Реакция обратима и может быть доведена до конца в том или другом направлении, если взято достаточное количество аминокислоты или соответствующей ей α -кетокислоты.

Все эти химические превращения пиридоксина можно изобразить следующей схемой:



При полном окислении пиридоксина перманганатом в кислой среде получается лактон 4-пиридоксовой кислоты (V). При подщелачивании этот лактон переходит в соответствующую кислоту (IV). Последняя может быть получена при окислении пиридоксина перманганатом в нейтральной или слабощелочной среде. Реакции идут согласно следующей схеме:



При окислении пиридоксина перекисью водорода при 121° (в автоклаве) образуется лактон 5-пиридоксовой кислоты.

Пиридоксин, пиридоксал и пиридоксамин одинаково быстро разрушаются при освещении их как в нейтральных, так и в щелочных растворах. При освещении в кислой среде (в 0,1 N соляной кислоте) пиридоксин и пиридоксал более устойчивы, чем пиридоксамин. Фотолиз не связан с окислением, так как освещение любого из указанных производных витамина B₆ в атмосфере азота дает те же результаты.

В таблице 34 представлены данные по устойчивости пиридоксина и его производных к свету.

В отличие от пиридоксина и его производных лактон пиридоксовой кислоты, так же как и сама пиридоксовая кислота, обладает голубой флуоресценцией, причем лактон в 25 раз интенсивнее флуоресцирует, чем соответствующая ему пиридоксовая кислота.

Таблица 34

Разрушение пиридоксина, пиридоксала и пиридоксамина при освещении их водных растворов

Характер освещения				Инактивирование (в %)		
Продолжительность (в часах)	кислотность (в pH)	источник света и сила его	газовая среда	пиридоксин	пиридоксамин	пиридоксаль
0	Небуферируемый раствор	Не освещалось		0	0	0
1	То же	Прямой солнечный свет	Воздух	85	95	99
1	» »	Рассеянный дневной свет	»	7,7	29	18
7	» »	То же	»	49	91	76
7	» »	» »	Метан	56	89	55
1	» »	Искусственный свет	Воздух	4,5	5,0	3,9
6	» »	То же	»	26	47	33
3	13,0	Рассеянный дневной свет	»	99	99	99
3	9,0	То же	»	99	99	99
3	6,8	» »	»	94	96	99
3	3,0	» »	»	39	95	93
3	1,0	» »	»	30	84	27

Синтез пиридоксина

Так как все три витамина В₆ (пиридоксин, пиридоксаль и пиридоксамин) обладают одинаковой активностью на высших животных, то вопрос о производственном получении витаминов В₆ ограничивается получением пиридоксина. В 1937 году пиридоксин был получен у нас в СССР (Ефремов, Масленников, Бебешин, Труфанов, 1937) из дрожжей, а в 1938 году в Америке (Keresztesy, Stevens, 1938) из рисовых отрубей. Однако путь получения пиридоксина из естественных источников очень длителен и трудосмок, а выход полученного пиридоксина очень низок при затрате большого количества сырья (дрожжей, рисовых

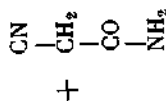
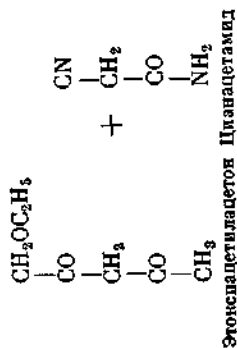
отрубей или пшеничных зародышей) и реактивов. Поэтому пиридоксин получают синтетическим путем.

Из многочисленных схем синтеза пиридоксина (Березовский, 1952), предложенных за рубежом, остановимся на схеме Харриса и Фолькерса (Harris, Folkers, 1939), которая была проверена и доработана Гольдманом во Всесоюзном научно-исследовательском витаминном институте. Вся схема получения пиридоксина следующая (см. стр. 217).

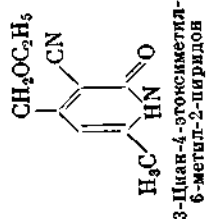
Биосинтез витаминов B_6

Биосинтез витаминов B_6 осуществляется в растениях и многочисленных микроорганизмах, которые не нуждаются в поступлении витаминов B_6 извне, так как они сами синтезируют их. Так, бактерии желудка жвачных животных синтезируют пиридоксин, причем повышение содержания тиамин в кормах этих животных стимулирует биосинтез пиридоксина вышеуказанными бактериями. Свет стимулирует биосинтез пиридоксина у некоторых видов растений, так как содержание пиридоксина в этилированных листьях этих растений сильно понижено. Однако корни гороха, лишенные хлорофилла и находящиеся в темноте, способны самостоятельно синтезировать витамины B_6 из веществ, присутствующих в питательной среде. Некоторые микроорганизмы требуют пиридоксин, так как они не способны синтезировать его, но окисляют его в пиридоксал. К ним относятся из плесеней *Neurospora sitophila*, а из дрожжей *Saccharomyces carlsbergensis* и *Sacch. uvarum*, тогда как другая раса дрожжей *Saccharomyces cerevisia* прекрасно растет в отсутствие пиридоксина и синтезирует последний в своих клетках. В опытах Труфанова и Соловьевой (1949) по образованию пиридоксал-фосфата в клетках обеих вышеуказанных рас дрожжей, выросших при наличии в среде пиридоксина и в отсутствие последнего, показано, что тогда как *Saccharomyces cerevisia* прекрасно растет и образует фосфопиридоксал в отсутствие пиридоксина, *Sacch. carlsbergensis*, наоборот, растет крайне слабо и гидролизует пиридоксал-фосфат, который первоначально содержался в его клетках.

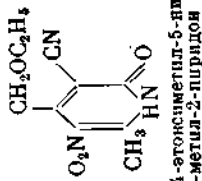
Витамин B_6 является единственным витамином, который хорошо синтезирует все исследованные культуры группы делящихся дрожжей [Одинцова (1950)], например представители рода *Schizosaccharomyces*.



При катализе
пиперидина

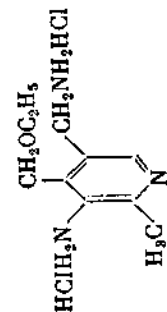


HNO_3 в
омеси с уксусным
ангидридом

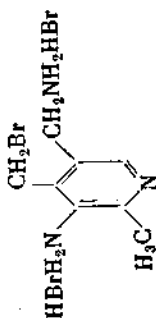


в хлорбен-
оле

с PCl_5

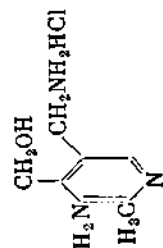


с сухим HBr

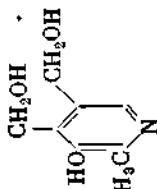


Дигидробромид

Гидролиз
с разбавл. HCl



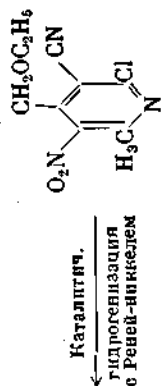
HNO_3



3-Амино-4-оксиметил-5-аминометил-2-пиридон

Пиридоксин

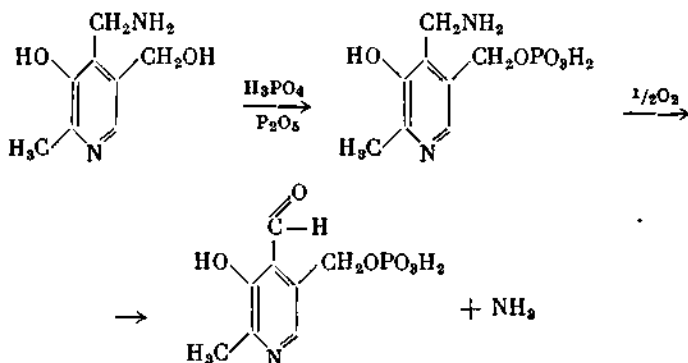
Катализатор
гидрогенизация
с Реней-никелем



2-Хлорпропановые

Превращение витамина В₆ в организме

Вскоре после открытия новых природных форм витамина В₆ (Snell, 1944) в ряде лабораторий почти одновременно в течение 1945 года было доказано, что коэнзим ряда l-аминокислотных декарбоксилаз (кодекарбоксилаз) (Baddiley, Gale, 1945; Мардашев, 1947, 1949) представляет собой фосфорный эфир пиридоксала и что тот же фосфопиридоксал участвует в процессах переаминирования (Lichstein, Gunsalus, Umbreit, 1945; Браунштейн, Крицман, Самарина, 1946). Строение фосфопиридоксала было окончательно доказано Карпером в 1951 году (Viscontini, Ebnither, Karrer, 1951) и подтверждено синтезом. Фосфопиридоксал оказался 5-фосфорным эфиром пиридоксала (I). Наиболее удобной схемой синтеза фосфопиридоксала с наибольшим выходом будет фосфорилирование пиридоксамина ортофосфорной кислотой в присутствии фосфорного ангидрида и с последующим окислением в фосфопиридоксал.



Таким образом, можно считать доказанным, что витамин В₆ был впервые выделен из природных продуктов в виде пиридоксина. Поступая в животный организм (Труфанов, Кирсанова, 1946; Труфанов, Кирсанова, Соловьева, 1947) или в клетки микробов (Труфанов, Соловьева, 1949), он подвергается там энзиматическому окислению в пиридоксал и дальнейшему фосфорилированию в фосфопиридоксал.

В живых организмах пиридоксал фосфорилируется при участии аденозинтрифосфата или другого фосфорили-

рующего агента. При добавлении одного пиридоксала к суспензии клеток *Streptococcus faecalis* R. они слабо декарбоксилировали l-тирозин, при одновременном же добавлении с пиридоксалом и аденозинтрифосфата (АТФ) декарбоксилирование становилось интенсивным.

Труфановым с сотрудниками (1946, 1947, 1949 и 1950) было показано в опытах *in vitro*, что ткани животных способны синтезировать фосфопиридоксал при инкубации их с пиридоксином. В этом процессе участвуют две ферментные системы: одна из них, окисляющая пиридоксин, требует аэробные условия, а другая, фосфорилирующая пиридоксал, одинаково активна как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Оказалось, что обе ферментные системы растворимы в воде.

Браунштейн и Букин (1956) показали, что наиболее интенсивно пиридоксин окисляется в пиридоксал в почках, затем печени, тонких кишках, селезенке, легких и сетчатке глаза. Также было установлено (Труфанов, Кирсанова, Соловьева, 1949), что в тканях животных на диете с недостатком пиридоксина содержание фосфопиридоксала сильно падает, особенно сильно в печени, почках и в мышцах. При одинаковых ежедневных пероральных дозах по 50 мг пиридоксина на крысу содержание фосфопиридоксала в печени, мышцах и почках падало одновременно с понижением процента белка в диете (54, 18 и 4,5%) и, наоборот, увеличивалось с повышением белка в диете. Это указывает, что усвоение пиридоксина связано с наличием белка в диете.

§ Симптомы В₆-авитаминоза ускорялись и усугублялись с повышением белка в диете до 54%. Это доказывало, что функция пиридоксина связана с регулированием белкового обмена. Биосинтез фосфопиридоксала тканями при инкубации их с пиридоксином интенсивнее идет у В₆-авитаминозных животных, чем у животных, получавших пиридоксин. Это показывает, что ткани наиболее сильно реагируют на пиридоксин, когда запасы их фосфопиридоксала истощены.

Энзим, фосфорилирующий пиридоксал (пиридоксалиназа), был выделен из дрожжей и очищен (Hurwitz, 1953). Он катализировал реакцию пиридоксал + АТФ = пиридоксалфосфат + АДФ и требовал для активации ионы металлов, из них наиболее сильно активировал Mg⁺⁺. Реакция стехиометрична и никаким другим фосфори-

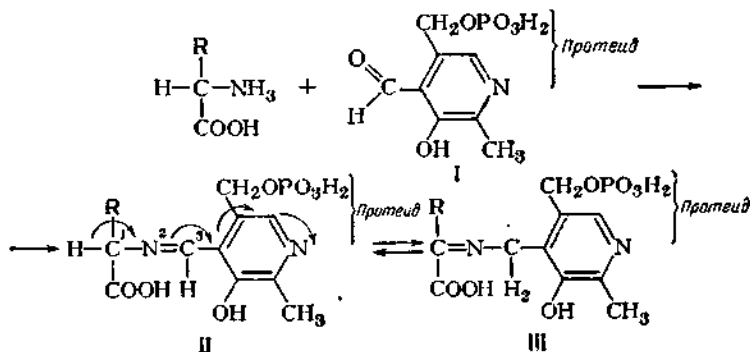
лирующим агентом нельзя заменить АТФ; наоборот, другие адениловые компоненты конкурентно тормозят реакции.

В организмах имеется ферментная система, превращающая пиридоксамин-фосфат в пиридоксал-фосфат и обратно. Это доказывается повышением способности суспензии *Escherichia coli* активизировать апотриптофаназу после инкубации с пиридоксамин-фосфатом и возрастанием максимума поглощения в области 320 м μ (характерного для пиридоксал-фосфата) с одновременным понижением максимума поглощения в области 390 м μ (характерного для пиридоксамин-фосфата) (Weescheu, Harppold, 1955). Оптимум этого превращения лежит в области рН 8,2. Ионы Mg^{++} ускоряют только превращение пиридоксамин-фосфата в пиридоксал-фосфат, но не обратно.

Пиридоксал в животном организме окисляется дальше в 4-пиридоксовую кислоту (по схеме аналогично таковой, описанной для химического окисления) и в ее лактон, которые были выделены из мочи и идентифицированы с таковыми же, полученными синтетически. Оба соединения обладают характерной голубой флуоресценцией, причем лактон флуоресцирует в 25 раз сильнее, чем кислота. Пользуясь этим свойством, можно определить в моче количество этих продуктов обмена пиридоксина. Печень богата энзимом — альдегидоксидазой, окисляющей пиридоксал в 4-пиридоксовую кислоту, в меньшем количестве этот энзим содержится в почках и еще меньше его в селезенке. Энзим не окислял пиридоксин и фосфопиридоксал (Браунштейн, Букин, 1956). Очищенная альдегидоксидаза печени быстро окисляла пиридоксал в 4-пиридоксовую кислоту (Schwarz, Kjeldgaard, 1951; Hurwitz, 1953), возможно, этим и объясняется присутствие последней в моче. Ацетальдегид тормозит окисление пиридоксала. Оба субстрата окисляются одним и тем же ферментом и поэтому конкурируют между собой. Фосфорилированный пиридоксал теряет способность окисляться альдегидоксидазой и поэтому не конкурирует с ацетальдегидом. Здоровый человек при среднем питании и снабжении пиридоксином выделяет с мочой около 85% от всего поглощенного пиридоксина в форме 4-пиридоксовой кислоты, 4% в виде неизменного пиридоксина и 8% в виде смеси пиридоксала с пиридоксамином.

Биокаталитические свойства витаминов В₆

Образованный в организме фосфопиридоксал соединяется со специфическим протеином и дает соответствующую энзиматическую систему. Все известные в настоящее время энзиматические реакции, катализируемые фосфопиридоксальными энзимами (фосфопиридоксал-протеидами), на основании исследований Браунштейна и Шемякина (1952, 1953) можно объяснить одним общим для всех их свойством, а именно: способностью альдегидной группы фосфопиридоксал-протеида (I) взаимодействовать с аминогруппой аминокислот, в результате чего образуются соответствующие азометины (шиффовы основания) общего типа (II). У последних, благодаря особенностям их строения, возможно такое перераспределение электронной плотности, которое существенно изменяет характер углеродного атома I. У этого атома электронная плотность должна быть значительно ниже, чем у α -углеродного атома исходной аминокислоты. Это перераспределение электронной плотности вызывает диссоциацию атома водорода (Осипенко, 1950) и перемещение двойных связей, в результате чего образуются азометины типа (III). Последние, в зависимости от характера боковой цепи аминокислоты, могут либо гидролизоваться до соответствующей кетокислоты (в реакциях переаминирования), или вызвать исчезновение центра асимметрии и рацемизацию молекулы, либо, подобно α -кетокислотам, склонны к отщеплению углекислоты (в реакциях декарбоксилирования) и т. д. Общая схема этих реакций изображена ниже.

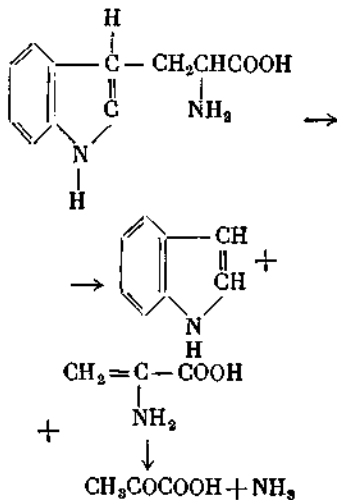
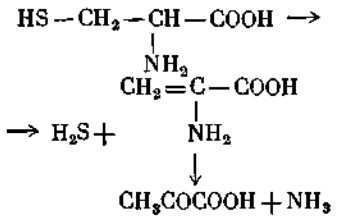
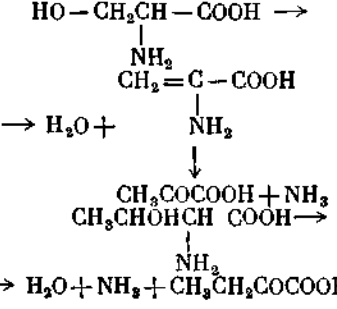


Реакции, катализируемые

№ пп.	Название реакции и фермента	Субстрат	Общая схема реакции
1	α -Аминокислотное декарбоксилирование (α -декарбоксилазы)	Все <i>l-d</i> -аминокислоты	$RCHNH_2COOH \rightarrow CO_2 + RCH_2NH_2$
2	β -Аминокислотное декарбоксилирование (β -декарбоксилазы)	<i>l</i> -Аспарагиновая кислота	$HOOCCH_2CHNH_2COOH \rightarrow CO_2 + CH_3CHNH_2COOH$
3	Переаминирование (аминоферазы или трансаминазы)	α -Аминокислота и α -кетокислота	$R'CHNH_2COOH + R''COCOON \rightleftharpoons R'COCOON + R''CHNH_2COOH$
4	Рацемизация α -аминокислот (рацемазы)	<i>l</i> -Аланин <i>l</i> -Глутаминовая кислота Другие <i>l</i> , α -аминокислоты	$ \begin{array}{ccc} \text{H} & & \text{COOH} \\ & & \\ \text{R}-\text{C}-\text{NH}_2 & \rightleftharpoons & \text{R}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ & & \\ \text{COOH} & & \text{H} \end{array} $
5	Расщепление кинуренина или 3-окскинуренина (кинурениназа)	Кинуренин или 3-окскинуренин	$ \begin{array}{c} \text{COCH}_2\text{CHCOOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{R} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $ где R=H или OH

фосфопиридоксальными энзимами

Продукты реакции	Где встречается энзим	Авторы
Первичные амины, β -аланин γ -аминомасляная кислота	Кишечные, гнилостные и другие бактерии, растительные и животные ткани	Браунштейн, 1953; Горяченкова, Азарх, 1950; Норе, 1955
α -Аланин	Псевдомикробактерии <i>Clostridium Welchii</i>	Мардашев с сотрудниками, 1948; Meister, Sober, Tice, 1951
α -Кетокислота и α -аминокислота	Во всех микроорганизмах, растительных и животных тканях	Браунштейн, Крипман, 1937, 1943; Крипман, 1938, 1939; Браунштейн, Бычков, 1940; Браунштейн, Азарх, 1944; Браунштейн, Крипман, Самарина, 1946; Березов, 1952; Feldman, Gunsalus, 1950; Fincham, 1951; Hird, Rowsell, 1950, 1951; Camarata, Cohen, 1950; Robert, Ayengar, Posner, 1953; King, Wilson, 1953;
α -Аланин α -l-Глутаминовая кислота Другие α -аминокислоты	<i>Str. faecalis</i> <i>Lactobacillus arabinosus</i>	Wood, Gunsalus, 1951; Wood, Narrod, 1942; Ayengar, Roberts, 1952
Аланин и антраниловая или 3-оксидантраниловая кислота	Животные ткани	Браунштейн, Горяченкова (1948—1952); Браунштейн, 1953, 1955; Wiss, Fuchs, 1950

№ пп.	Название реакции и энзима	Субстрат	Общая схема реакции
6	Расщепление триптофана (триптофаназа)	<i>l</i> -Триптофан	 $\text{Indole-3-tryptophan} \rightarrow \text{Indole} + \text{tryptophan}$ $\text{tryptophan} \rightarrow \text{indole-3-pyruvate} + \text{tryptophan}$ $\text{tryptophan} \rightarrow \text{pyruvate} + \text{NH}_3$
7	Расщепление цистеина гомоцистеина или метионина соответствующей дисульфгидразой (цистеин-де-сульфгидраза)	<i>l</i> -Цистеин	 $\text{L-cysteine} \rightarrow \text{H}_2\text{S} + \text{L-cysteine}$ $\text{L-cysteine} \rightarrow \text{pyruvate} + \text{NH}_3$
8	Расщепление серина или треонина (сериндезаминидаза и треониндезаминидаза)	<i>l</i> -Серин или <i>l</i> -треонин	 $\text{L-serine} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{L-serine}$ $\text{L-serine} \rightarrow \text{pyruvate} + \text{NH}_3$ $\text{pyruvate} + \text{NH}_3 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3 + \text{L-alanine}$

Продукты реакции	Где встречается энзим	Авторы
Индол, пировиноградная кислота и аммиак	<i>Escherichia coli</i> , <i>Neurospora</i>	Wood, Gunsalus, Umbreit, 1947
Сероводород, пировиноградная кислота и аммиак	Ткани животных и растений, бактерии и плесени	Браунштейн, Азарх, 1950; Metzler, Snell, 1952; Janofsky, 1952; Горяченкова, 1952
Вода, пировиноградная или α -кетомасляная кислота и аммиак	Ткани животных и бактерий, <i>Neurospora</i>	Браунштейн, Азарх, 1952; Азарх, Гладкова, 1952; Rensing, 1952

№ п/п	Название реак- ции и энзима	Субстрат	Общая схема реакции
9	Пересульфиро- вание (тран- сульфидраза)	<i>l</i> -Гомоци- стеин и <i>l</i> -се- рин	$\text{HOOC}-\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH} +$ $\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ + \text{HOCH}_2\text{CHCOOH} - \text{H}_2\text{O} \rightarrow \end{array}$ $\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HOOC} \text{ H H} \text{ H H} \\ \quad \quad \quad \quad \quad \\ \rightarrow \text{HC} \cdot \text{C} \cdot \text{C} \cdot \text{S} \cdot \text{C} \cdot \text{C} \cdot \text{COOH} - \text{H}_2\text{O} \rightarrow \\ \text{H}_2\text{N} \text{ H H} \quad \text{H NH}_2 \\ \rightarrow \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CHCOOH} + \\ \text{NH}_2 \\ \\ + \text{NH}_3 + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCOON} \end{array}$
10	Анаэробное расщепление серина и трео- нина (сериназа и треониназа)	<i>l</i> -Серин или <i>l</i> -трео- нин	$\text{HOCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH} \rightleftharpoons$ $\rightleftharpoons \text{CH}_3\text{NH}_2\text{COOH} + \text{HCHO}$ $\text{CH}_3\text{CHONCHNH}_2\text{COOH} \rightleftharpoons$ $\rightleftharpoons \text{CH}_3\text{NH}_2\text{COOH} + \text{CH}_3\text{CHO}$
11	Окислитель- ное дезамини- рование гиста- мина (гистами- наза)	Гистамин	$\begin{array}{c} \text{N} - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{HC} \quad \text{CH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{N} \end{array} \xrightarrow{\frac{1}{2}\text{O}_2}$ $\begin{array}{c} \text{N} - \text{C} - \text{CH}_2\text{CHO} \\ \quad \\ \text{HC} \quad \text{CH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{N} \end{array} \rightarrow \text{HC} = \text{CH} + \text{NH}_3$

Эти выводы сделаны и обобщены, исходя из прежних экспериментальных исследований Осипенко (1950) и Конниковой с сотрудниками (1947). С помощью метки дейтерием и блокированием аминогруппы метилом в аминокислотах им удалось доказать образование фермент-субстратных промежуточных азометинов и диссоциацию атома водорода у α -углеродного атома.

Из этого вытекает, что азометины, как II, так и III, по своему химическому характеру должны быть близки не к исходным α -аминокислотам, а к соответствующим им α -кетокислотам, у которых, как известно, электронная плот-

Продукты реакции	Где встречается энзим	Авторы
<i>l</i> -Цистатионин, <i>l</i> -цистеин, аммиак и α -кетомасляная кислота	Ткани животных и бактерий	Браунштейн, Горяченкова, 1950; Горяченкова, 1953; Горяченкова, Воловник, Зайдельман, 1953; Binkley, Christensen, Jensen, 1952
Глицин и формальдегид Глицин и уксусный альдегид	Микроорганизмы и ткани животных	Браунштейн и Виленкина, 1949, 1951, 1952
Имидазол-уксусный альдегид	Ткани животных, растений и бактерий	Sinclair, 1952

ность α -углеродного атома также резко понижена. Следовательно, такого рода азометины должны быть склонны к реакциям, типичным для α -кето-, а не для α -аминокислот. Действительно, энзиматические превращения азометинов II и III вполне аналогичны известным неэнзиматическим превращениям сходных карбонилсодержащих соединений.

Биологическое переаминирование, например, протекает вполне аналогично вышеописанному химическому между пиридоксалом и α -аминокислотой через те же азометины.

Что же касается избирательного средства различных пиридоксальных энзимов к определенным аминокислотам и типам их превращения, то они зависят, с одной стороны, от природы апоэнзима (протеина), а с другой — от строения молекулы аминокислоты. В отличие от других известных нам коэнзимов, функции которых ограничиваются немногими типами реакций, фосфопиридоксал резко выделяется поразительным многообразием протекающих с его участием энзиматических превращений. Несмотря на то что между этими превращениями на первый взгляд трудно найти что-либо общее, они, как мы указали, имеют совершенно одинаковый механизм реакции.

В процессе открытия новых фосфопиридоксальных энзимов основывались на двух основных факторах: 1) на снижении активности того или иного энзима у B_6 -авитаминозных животных (или B_6 -дефицитных бактерий) и быстром восстановлении при добавке витамина B_6 *in vivo* и 2) на торможении в опытах *in vitro* активности фосфопиридоксального энзима химическими агентами, связывающими карбонильные группы (фенилгидразин, гидросульфамин и семикарбазид).

Фосфопиридоксальных энзимов в настоящее время известно более 100, и все реакции, катализируемые ими, можно разбить на 11 типов. В таблице 35 представлены реакции, катализируемые фосфопиридоксальными энзимами (см. стр. 222—227).

Заканчивая описание реакций, катализируемых фосфопиридоксальными энзимами, хотелось бы еще отметить причину невозможности реактивирования фосфопиридоксалом некоторых фосфопиридоксальных энзимов в тканях B_6 -авитаминозных животных. Известно, что большинство фосфопиридоксальных энзимов (кинуруениназа, энзимы пересульфирования, десульфгидраза и декарбоксилазы бактерий и др.) реактивируются с добавлением фосфопиридоксала, а активность других, представленных только тремя фосфопиридоксальными энзимами печени крыс (декарбоксилазой цистеиновой кислоты, цистеиндесульфгидразой и гомосериндезаминазой), не восстанавливается или почти не восстанавливается при B_6 -авитаминозе с добавлением фосфопиридоксала *in vitro*. Это происходит, как доказал Браунштейн (1953), от того, что при B_6 -авитаминозе ткань печени не только обедняется фосфопиридоксалом, но также и апоферментами (специфическими

белками) вышеуказанных фосфопиридоксальных энзимов. Эти факты указывают на возможные необратимые повреждения при далеко зашедшем В₆-авитаминозе.

Все вышеописанное указывает на большое значение витамина В₆ в белковом обмене, а также участие его в первнорефлекторных механизмах регуляции физиологических процессов у животных и человека, что выявляется в образовании симпатико- и парасимпатикотропных аминов (декарбоксилазы) и в их разрушении (гистаминаза).

Биологически активные аналоги пиридоксина

Мы уже видели, что существуют три биологически активные формы витамина В₆: пиридоксин, пиридоксал и пиридоксамин. Однако В₆-витаминная активность весьма специфична; так, если ацетилирование двух или трех гидроксильных групп в пиридоксине и сохраняет его биологические свойства, то только потому, что в организме они подвергаются деацетилированию в исходный продукт. При удалении хотя бы одного из гидроксильных групп в 3-м или 5-м положениях пиридоксина витаминная активность пропадает.

Наличие небольшой активности в 2-метил-3-оксигидро-4-оксиметил-5-аминометилпиридине указывает на возможность окисления организмом аминометильной группы в оксиметильную. Замещение гидроксильной группы в 4-м положении в пиридоксине на водород дает соединение с сильными антивитаминными свойствами — 4-дезоксипиридоксин (II). Гомологи пиридоксина с заменой метильной группы во 2-м положении на этильную или с метилированным атомом азота в кольце почти полностью лишены витаминных свойств.

Открытие сильных антивитаминных свойств 4-дезоксипиридоксина побудило к исследованию новых структурных аналогов пиридоксина с целью получения антибиотиков. Оказалось, что антивитаминные свойства 4-дезоксипиридоксина довольно специфично связаны с его структурой.

Так, удаление гидроксильной группы из 3-го положения или перемещение ее в 6-е положение сильно понижает антипиридоксировую активность в первом случае (Mariella, Leech, 1949) и совершенно устраняет ее во втором случае (Mariella, Belcher, 1951, 1952).

Подобное же перемещение гидроксила из 3-го положения в 6-е у производных, обладающих активностью витамина B_6 , также полностью лишает их этой активности (Mariella, Belcher, 1951, 1952; Mariella, Havlic, 1952) (I, II, III). Замена гидроксильной группы в 3-м положении пиридоксина аминогруппой дает соединение (2-метил-3-амино-4,5-оксиметилпиридин, XII), обладающее антагонистическими свойствами (Jones, Kornfeld, 1951). Отношение торможения витамина к антивитамину B_6 было 1 : 500 при испытании на *Neurospora sitophila* (Jones, 1952).

Наконец, был синтезирован ряд аналогов витамина B_6 , замещенных метильной группой в 6-м положении (Mariella, Belcher, 1951, 1952). Оказалось, что из всех исследованных подобных аналогов только два обладали одинаково слабой B_6 -антивитаминной активностью, это — 2,3-диоксиметил-5-окси-6-метилпиридин (X) и 2,5-диоксиметил-4-амино-6-метилпиридин (XI), при испытании на *Neurospora sitophila* остальные аналоги были неактивными. Это торможение устранялось B_6 , отношение торможения было 1 : 25 000 (витамина B_6 к аналогу).

Следует еще отметить структурный аналог пиридоксина — 2-метил-3-окси-4-метокси-5-оксиметилпиридин (4-метоксипиридоксин) (XIV), который в опытах на крысах одновременно обладал витаминными и антивитаминами свойствами. При введении его крысам на полноценной диете он функционирует как антивитамины, что подтверждается выделением ксантуреновой кислоты (см. схему на стр. 175, гл. 4). Наоборот, введение метоксипиридоксина крысам на диете, содержащей триптофан, но с недостатком пиридоксина, вызывает понижение выделения ксантуреновой кислоты с мочой (Jones, 1952). Это объясняется тем, что метоксипиридоксин, будучи антивитамином, частично диэстерифицируется в организме, превращаясь в пиридоксин.

В таблице 36 представлена сравнительная активность пиридоксина и его производных к обоим видам молочнокислых бактерий *Streptococcus faecalis* и *Lactobacillus casei*, дрожжам *Saccharomyces carlsbergensis* и к росту белых крыс.

Приводим активности различных производных пиридоксина и отношения торможения пиридоксина к этим производным на плесени *Neurospora sitophila* (табл. 37).

Сравнительная активность пиридоксина и его производных

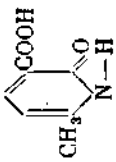
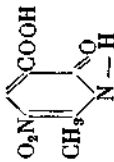
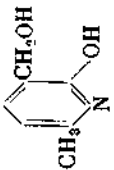
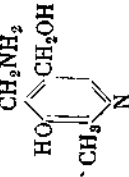
Соединения		Активность к			
формула	название	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	росту белых крыс
$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{HO} - \text{C}_6\text{H}_3 - \text{N} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	Пиридоксин	0,0001—0,001	0,00066—0,001	1,0	1,0
$ \begin{array}{c} \text{CHO} \\ \\ \text{HO} - \text{C}_6\text{H}_3 - \text{N} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	Пиридоксал	0,4—0,7	1,0	1,0	1,2
$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{NH}_2 \\ \\ \text{HO} - \text{C}_6\text{H}_3 - \text{N} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	Пиридоксамин	1,0	0,007	1,0	1,6

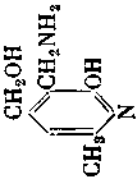
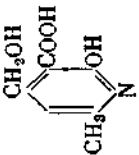
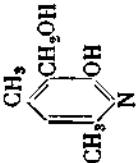
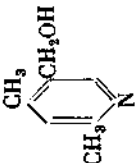
Соединения		Активность к			
формула	название	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	росту белых крыс
$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{HO} \text{---} \text{C}_6\text{H}_3\text{N} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	2-Метил-3-оксн-4-оксиметил-5-аминотилпиридин . .	0,00002	0,00005	0,0022	0,0044
$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{HO} \text{---} \text{C}_6\text{H}_3\text{N} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	2-Метил-3-оксиметил-5-формилпиридин	0,00004	0,00026	0,29—0,73	—
$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C} \text{---} \text{O} \text{---} \text{CH}_2 \\ \\ \text{HO} \text{---} \text{C}_6\text{H}_3\text{N} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	Лактон 4-пиридоксовой кислоты (2-метил-3-оксн-4-карбоксн-5-оксиметилпиридина)	0,000053	0,0001	0,00025	—

Соединения		Активность к			
формула	название	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	росту белых крыс
$ \begin{array}{c} \text{H}_2 \\ \\ \text{C} - \text{O} \\ \quad \backslash \\ \text{HO} \quad \text{C} = \text{O} \\ \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{N} \end{array} $	Лактон 5-пиридоксовой кислоты (2-метил-3-окси-4-оксиметил-5-карбокси-пиридина)	Инактивен	Инактивен	Инактивен	—
$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{OC}_2\text{H}_5 \\ \backslash \quad / \\ \text{C} \\ \quad \backslash \\ \text{HO} \quad \text{C} = \text{O} \\ \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{N} \end{array} $	1,3-дигидро-1-этокс-6-метилфурано-(3,4)-пиридина*	0,24	0,73	1,0	—

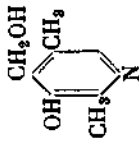
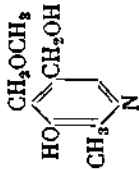
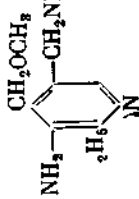
* Это соединение легко гидролизуется в пиридоксал, вследствие чего оно активно к указанным организмам.

Биологическая активность и отношение торможения различных производных пиридоксина на *Neurospora sitophila*

№	Соединение		Активность к <i>Neurospora sitophila</i>
	структурная формула	название	
I		2-Метил-5-карбокси-6(1)-пиридон	Очень слабая активность В ₆
II		2-Метил-3-нитро-5-карбокси-6(1)-пиридон	То же
III		2-Метил-5-оксиметил-6-оксипиридин	$\frac{1}{1000}$ активности витамина В ₆
IV		Пиридоксамин (2-метил-3-окси-4-аминометил-5-оксиметилпиридин)	Полная активность витамина В ₆

№	Соединение		Активность к Neurospora sitophila
	структурная формула	название	
V		2-Метил-4-оксиметил-5-аминометил-6-оксипиридин	Длился активности витамина B ₆
VI		2-Метил-4-оксиметил-5-карбокси-6-оксипиридин	То же
VII		2,4-Диметил-5-оксиметил-6-оксипиридин	То же
VIII		2,4-Диметил-5-оксиметилпиридин	Слабая B ₆ -антивитаминная активность

№	Соединение		Активность к Neurospora sitophila
	структурная формула	название	
IX		4-Дезокси-3-оксиметилпиридин (2,4-диметил-3-окси-5-оксиметилпиридин)	Сильная B ₆ -антивитаминная активность, отношение торможения 1:2
X		2,3-Дигидро-5-окси-6-метилпиридин	Слабая B ₆ -антивитаминная активность, отношение торможения 1:25000
XI		2,5-Оксиметил-4-амино-6-метилпиридин	Отношение торможения 1:25000
XII		2-Метил-3-амино-4,5-оксиметилпиридин	Более активный антивитамин B ₆ с отношением торможения 1:500

№	Соединение		Активность к <i>Neurospora sitophila</i>
	структурная формула	название	
XIII	 <chem>Cc1cc(O)c(CO)cn1</chem>	5-Дезоксииспиридоксин	Не исследовалось
XIV	 <chem>Cc1cc(O)c(COC)cn1</chem>	Метоксииспиридоксин	»
XV	 <chem>CCOCc1c(N)cc(N)c(C)n1</chem>	2-Этил-3-амино-4-этоксиметил-5-амино-6-метилпиридин	»

Механизм антивитаминарного действия 4-дезоксипиридоксина и метоксипиридоксина. На ряде организмов *Streptococcus faecalis* (Umbreit, Waddell, 1949; Beiler, Martin, 1947), крысах (Emerson, 1947; Porter, Clark, Silber, 1947) и эмбрионах цыпленка (Cravens, Snell, 1949) было доказано, что токсичность 4-дезоксипиридоксина сильно понижается с добавлением витамина В₆, причем отношение торможения (витамина к антивитамину) падает с 1 : 50 до 1 : 175 при повышении содержания пиридоксина в диете. Далее было доказано, что 4-дезоксипиридоксин становится активным только после фосфорилирования и в такой форме он конкурирует с пиридоксал-фосфатом за присоединение к апоэзиму соответствующей пиридоксалевой анзиматической системы (Umbreit, Waddell, 1949), вытесняя и замещая фосфопиридоксал. Однако ввиду того что фосфопиридоксал имеет большее сродство с пиридоксальными апоферментами, чем 4-дезоксипиридоксинфосфат, последний может соединиться с апоферментом только в том случае, если система не насыщена фосфопиридоксалом и имеются свободные апоэнзимы. В таком случае и при наличии в системе достаточного количества аденозинтрифосфорной кислоты 4-дезоксипиридоксин, фосфорилируясь, соединяется с пиридоксальным апоэзимом и препятствует присоединению к нему фосфопиридоксала — тогда система становится заторможенной. В случае же системы, насыщенной фосфопиридоксалом, 4-дезоксипиридоксинфосфат лишен возможности присоединиться к апоэзиму и поэтому 4-дезоксипиридоксин становится малоактивным. Это доказано действием 4-дезоксипиридоксина на рост и декарбоксилирование тирозина клетками *Streptococcus faecalis* и на развитие зародыша в оплодотворенном курином яйце. 4-Дезоксипиридоксин (1 мг), введенный в яйцо, немедленно после оплодотворения вызывает 100%-ную смертность эмбрионов, и это действие антивитамина предупреждается одновременной инъекцией одной из трех форм витамина В₆. По прошествии же 4 дней инкубации, т. е. когда в зародыше большая часть пиридоксала фосфорилируется и присоединится к апоэзиму, доза 4-дезоксипиридоксина, равная 1 мг, оказывается нетоксичной. Поскольку 4-дезоксипиридоксин-фосфат конкурирует с фосфопиридоксалом, то отношение витамина В₆ к 4-дезоксипиридоксину, позволяющему развиваться 50% эмбрионов, для пиридоксала будет 1 : 100, для

пиридоксамина 1 : 50 и для пиридоксина 1 : 20 (Craven, Snell, 1949). Фосфопиридоксал еще более активно нейтрализует авитаминозное действие 4-дезоксипиридоксина.

4-Дезоксипиридоксин сильно подавляет активность глутамино-аспарагиновой аминотрансферазы (Dietrich, 1953; Caldwell, Mc Henry, 1953), восстанавливаемой витамином B_6 , и, кроме того, слабо действует на активность глутамино-аланиновой аминотрансферазы. Причем сердечная мышца наиболее устойчива к 4-дезоксипиридоксину. Это понятно, так как сердце является основным органом, для работы которого необходимо больше сохранять ферментативных систем, чем для других органов.

Недостаточность витамина B_6

Как мы уже указывали, недостаточность витамина B_6 впервые была описана у крыс. В 1937 году Ефремов описал явления дерматита у B_6 -авитаминозных крыс, а в 1938 году установил патогистологические изменения в периферической и центральной нервной системе. В 1955 г. Селезнева изучила патогистологические изменения у крыс и собак при B_6 -авитаминозе и нашла наибольшие изменения у обоих видов животных в центральной нервной системе, которые выражались в основном в дегенеративных изменениях пирамидных клеток коры мозга и проводящих нервных путей. Отмечались изменения и в селезенке, печени, почках, мышцах. Причем у собак обнаруживалась жировая атрофия мышечных волокон, а у крыс — дистрофические поражения скелетных мышц. Тогда как Селезнева (1955) не наблюдала кожных симптомов у B_6 -авитаминозных собак, последние отмечались Хокинсом (Howkins, 1955) у 33% щенков на B_6 -авитаминозной диете, содержащей 40% казеина и дезоксипиридоксин. Юртаев (1956) также нашел кожные изменения у B_6 -авитаминозных собак.

Развитие клинических симптомов недостаточности витамина B_6 у молодых крыс, по данным Косенко (1955), начинается по прошествии 2—3 месяцев содержания их на авитаминозной диете и характеризуется появлением эритродемии на задних и передних лапках, эритремии носа и хвоста и некрозом его кончика. На рисунке 16 показано, как влияет недостаточность витамина B_6 на состояние крыс.

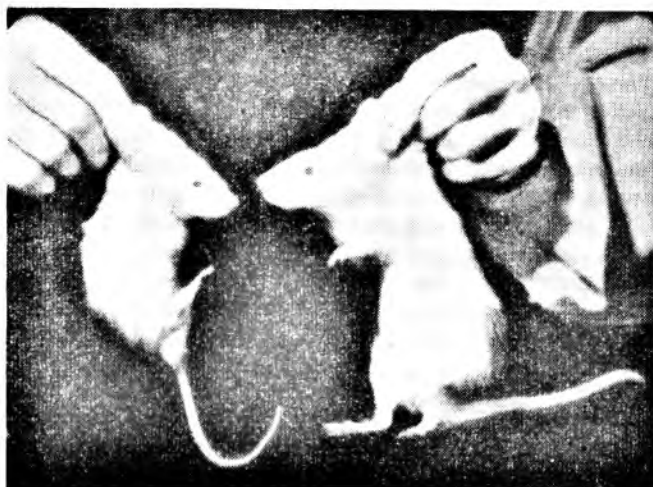


Рис. 16. Влияние витамина B_6 на рост крыс: *слева*—крыса, содержащаяся в течение 142 дней на B_6 -авитаминозной диете, *справа*—контрольная.

Задержка роста крыс начинается после 20-дневного содержания на B_6 -авитаминозной диете, а появление в моче ксантуреновой кислоты обнаруживается после 8—11 недель.

В связи с патогистологическими изменениями в центральной нервной системе Косенко (1955) отметил также у крыс на 140-й день опыта сильное понижение условно-рефлекторной деятельности. После введения витамина B_6 таким животным условные рефлексы восстанавливались, хотя и значительно позже, чем остальные симптомы B_6 -авитаминоза.

У B_6 -авитаминозных крыс Косенко (1955) наблюдал также припадки эпилептического характера и считал, что они характерны для животных с сильной центральной нервной системой, у которых преобладал процесс возбуждения. Эпилептические конвульсии у крыс, содержащихся в течение длительного времени на диете, лишенной витамина B_6 , были впервые описаны Чик с сотрудниками (Chick, Elsadr, Worden, 1940). Мак-Гейнити с сотрудниками (Mc Ganity, Tucker, Turnen, Utley, Darby, 1955) отметили конвульсии у сосунков (на 10—12-й день жизни)

от крыс-самок, питавшихся в течение 12 недель V_6 -авитаминозной пищей.

Подобные же эпилептические припадки были описаны Чик с сотрудниками (1938) у свиней и Селезневой (1955) у собак, лишенных витамина V_6 .

Давно указывалось, что V_6 -авитаминоз характеризуется микроцитарной анемией. Исследования Бетчей и других (Batchey, Cheesman, Copping, Trusler, 1955) картины крови у крыс согласуются с другими исследованиями последних лет и показали, что при авитаминозе V_6 число красных кровяных шариков повышается, а процент гемоглобина понижается, как это видно из данных таблицы 38.

Таблица 38

Вес тела, число красных кровяных шариков и процент гемоглобина у крыс здоровых и V_6 -авитаминозных

Ежедневная доза V_6 (в мг)	Длительность опыта в неделях	Вес крыс (в г)			Количество красных кровяных шариков 10^6 мм	Гемоглобин (в % к исходному)
		исходный	конечный	средний прирост в неделю		
V_6 нет	10—11	43	82	3,6	8,57	63
10	11	40	167	11,5	7,37	97
10	2—4	38	113	15,1	7,08	86

Юртаев (1956) указывает, что у V_6 -авитаминозных щенков, содержащихся в течение 2—4 месяцев на опытной диете, гемоглобин падал до 20—30%.

Была также описана недостаточность витамина V_6 у обезьян (Emerson, Boxer, Gilfillan, 1954). Уже по прошествии 2 недель питания пищей, лишенной V_6 , обезьяны начинали терять в весе, их шерсть была грубой и сухой, а сами они становились вялыми и апатичными. По прошествии 3 недель отмечалась микроцитарная анемия.

При облучении х-лучами у крыс возникает эндогенная недостаточность витамина V_6 , проявляемая резко повышенным выделением ксантуреновой кислоты после нагрузки триптофаном. Трехкратное введение таким крысам ежедневно по 1 мг витамина V_6 устраняет нарушение обмена триптофана, но не лейкопению, вызванную тем же облучением (Hartweg, Böwing, 1958).

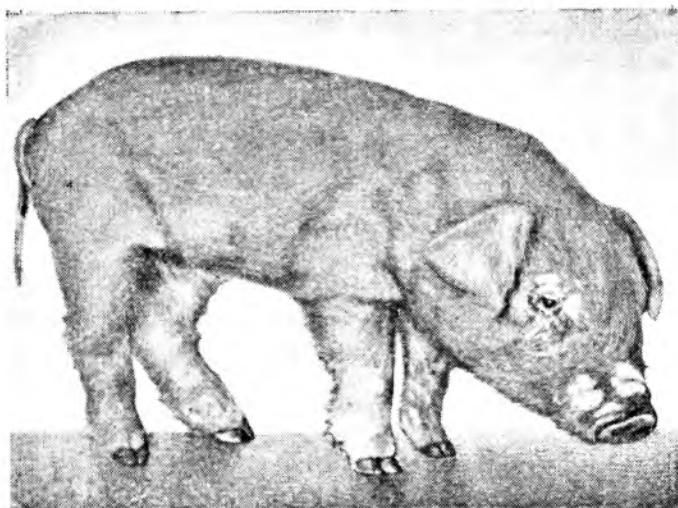


Рис. 17. Свиныя в 6-недельном возрасте с признаками недостатка пиридоксина.

Недостаточность витамина B_6 у поросят и свиней. Многими авторами были описаны различные клинические симптомы недостатка витамина B_6 у сосущих поросят и отъемышей (Chick a. oth., 1938; Hughes, Squibb, 1942; Wintrobe, Follis, Stein a. oth., 1943; Lehrer a. oth., 1951, и Monstgaard, 1953), но наиболее полно симптомы этой недостаточности были изучены Миллером (Miller a. oth., 1957), к описанию которых мы перейдем. Поросята в 5-дневном возрасте на полноценном молочном рационе, но лишенном витамина B_6 , в течение первых двух недель имели хороший аппетит и нормально прибавляли в весе. Затем аппетит и прибавка в весе постепенно падали и к концу 4-й недели опыта поросята, не получавшие витамина B_6 , теряли в весе. В течение 3-й и 4-й недель наступала рвота с выделением обильного количества густой желтовато-зеленой жидкости. На рисунке 17 изображен поросенок с недостатком витамина B_6 . В 6-недельном возрасте он весил только 3,6 кг. Начиная с третьей недели до конца опыта у поросят с недостатком витамина B_6 часто наблюдались припадки эпилептического характера. Хотя припадки были внезапны, но обычно появлялись во время кормле-

ния. При недостатке витамина B_6 нарушаются процессы обмена глутаминовой кислоты (переаминирование и пр.). Поэтому, накапливаясь в мозге, глутаминовая кислота вызывает раздражение коры мозга, а следовательно, и локальный эпилептический очаг (Tower, 1956).

С развитием B_6 -авитаминоза у поросят повышается степень гипохромии вследствие нарушенной способности к синтезу протопорфирина. Начиная с 3-й недели опыта, эритроциты становятся бледными и малыми по объему, содержание гемоглобина в них понижается. Число эритроцитов может даже повышаться, как это имело место при недостаточности витамина B_6 у крыс (Dinning, Day, 1956). Однако размеры эритроцитов и содержание в них гемоглобина всегда значительно уменьшаются, что характеризует микроцитарную гипохромную анемию, хотя число лейкоцитов у B_6 -авитаминозных поросят не отличается от такового у контрольных, отмечается значительная лимфоцитопения с соответствующим повышением процента нейтрофилов (табл. 39).

Таблица 39

Эритроциты, лимфоциты и гемоглобин в крови
 B_6 -авитаминозных и контрольных поросят

Элементы крови	Контрольные		B_6 -авитаминозные	
	исходное	конечное	исходное	конечное
Эритроциты (в млн. на 1 мм ³)	6,26	7,05	6,61	4,43
Лимфоциты (в % от общего числа лейкоцитов) .	62	61	60	37
Гемоглобин (в г на 100 мл крови)	11,6	11,7	11,5	6,7

Дэйнинг (Dinning, Day, 1956) также нашел значительное снижение образования лимфоцитов при недостатке витамина B_6 у крыс. В сыворотке крови у поросят с недостатком витамина B_6 , хотя общее количество белков не менялось, α - и γ -глобулиновые фракции были повышены, а альбуминовые — понижены.

Очень чувствительным показателем B_6 -недостаточности служит появление в моче ксантуреновой кислоты (см. гл. 4,

стр. 175). Уже в конце 4-й недели опыта содержание ксантуреновой кислоты в моче опытных поросят становится повышенным (1,4 мг% по отношению к 0,9 мг% контрольных), а в конце 5-й недели ее содержится в 20 раз больше, чем у контрольных.

Результаты посмертных вскрытий B_6 -авитаминозных поросят обнаружили отек в подкожной клетчатке (эдема), а у немногих и в перикардии. Печень и сердце оказывались немного ожиревшими. У некоторых поросят отмечалась жировая дегенерация печени. Селезенка имела коричневую пигментацию. В отличие от предыдущих работ (Wintrobe a. oth., 1942, 1943; Follis, Wintrobe, 1945; Swank, Adams, 1948), изучавших длительную недостаточность витамина B_6 у более старых свиней, Миллер с сотрудниками (1957) не обнаружили изменений в нервной системе у B_6 -авитаминозных поросят.

У B_6 -авитаминозных поросят внутренние органы весили больше, чем у контрольных, хотя живой вес последних был больше. Особенно это относилось к весу почек и надпочечников, как это видно из данных таблицы 40.

Таблица 40

Отношение веса органов (в %) к весу тела
 B_6 -авитаминозных и контрольных поросят

Орган	Контрольные	B_6 -авитами- нозные
Сердце	0,52	0,63
Печень	2,90	3,95
Почки	0,62	1,07
Щитовидная железа	0,009	0,016
Надпочечники	0,016	0,035

Введение B_6 -авитаминожным поросятам, находившимся 32 дня на опыте, 2 мг витамина B_6 на 1 кг сухого веса корма быстро излечивало от всех указанных симптомов. После 24-дневного лечения свиньи выздоравливали и прекрасно прибавляли в весе.

Состояние недостаточности витамина B_6 у молочного скота. Хотя рубец жвачных обеспечивает синтез витамина B_6 , что доказывает содержание пиридоксина в химусе рубца коровы, примерно в 6—8 раз превышающее содер-

жание его в исходном корме (Mc Elroy, Gross, 1940), однако в некоторых стадах у коров, особенно у телят, наблюдались случаи пойкилоцитоза* (Reid, Huffman, Duncan, 1943, 1945). Это заболевание сопровождалось анорексией, задержкой роста у телят и плохим усвоением кормов. Наиболее часто поражались пойкилоцитозом телята, питавшиеся цельным молоком с подкормкой зерновыми злаками, в основном рисом. Содержание пойкилоцитов в крови больных повышалось до 97% от всех эритроцитов, тогда как содержание гемоглобина не у всех больных животных падает. При добавке в корм такому скоту 100 г пивных или кормовых дрожжей или 40 мг кристаллического пиридоксина ежедневно вызывает у животных быстрое и полное излечение от указанных недомоганий (Reid, Huffman, Duncan, 1945).

Состояние пойкилоцитоза у молочного скота, очевидно, зависит от бактериального синтеза витамина B_6 в рубце, на который в значительной степени влияет состав потребляемого корма. Вероятно, корм телят и коров на ферме, где болел скот, вызывал очень слабый синтез витамина B_6 и поэтому животные находились в B_6 -гиповитаминозном состоянии, проявляемом пойкилоцитозом. Следует отметить, что недостаточность витамина B_6 у животных с простым желудком (свиней, собак, крыс, обезьян и др.) иногда не сопровождалась пойкилоцитозом.

Недостаточность витамина B_6 у цыплят и яйценоской птицы. Цыплята, питающиеся кормами с недостаточным содержанием витамина B_6 , с однодневного возраста в течение двух недель, нормально росли и потребляли пищу. Однако на 3-й неделе аппетит упал, вес их стал на 25% ниже нормы и у некоторых цыплят обнаружилась слабость ног. К концу 3-й недели многие цыплята обнаружили симптомы заболевания различной тяжести с наклоном головы вниз и взъерошиванием перьев. На 25-й день опыта у 30—50% цыплят обнаружили нервные симптомы различной тяжести с большим процентом смертности.

Часто наблюдался зигзагообразный бег цыплят с опущенными головами. Во многих случаях крылья были приподняты в локте, но первичные перья опущены. Цыплята в тяжелом состоянии сидели на ногах, покачиваясь (рис. 18), а в наиболее тяжелом состоянии лежали рас-

* Анемия, характеризующаяся различной формой эритроцитов.

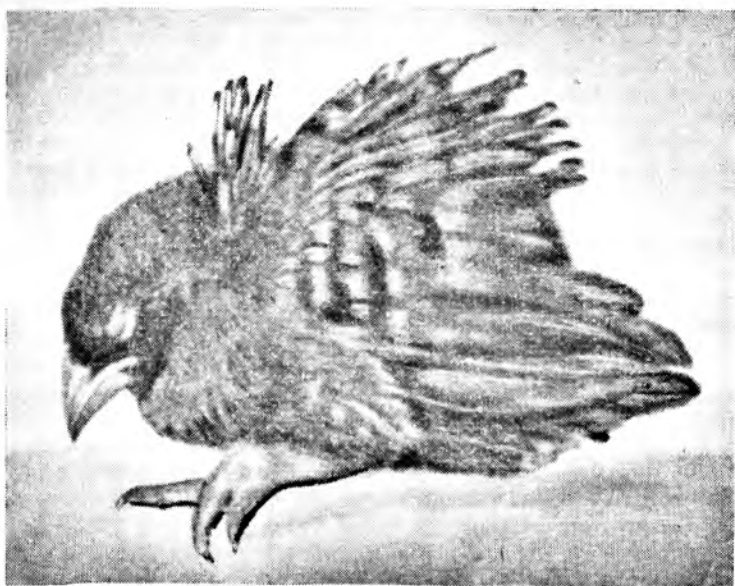


Рис. 18. Симптомы недостаточности пиридоксина у цыплят.

простертыми и обнаруживали спастические движения, когда их беспокоили (Lucas, Heuser, Norris, 1946). У некоторых из них голова была завернута, как при недостатке тиамина (описотонусе), а некоторые поворачивали голову только немного вниз. Смерть наступала обычно в течение 2—3 дней после появления симптомов.

Введение 4 г на 1 кг корма или подкожная инъекция 1—2 мг витамина B_6 цыплятам с симптомами недостаточности витамина B_6 уже через 24—48 часов вызывало улучшение внешнего вида, аппетита и нормальный рост. Цыплята в наиболее тяжелом состоянии после инъекции витамина B_6 не поправлялись.

У кур на рационе с недостатком витамина B_6 быстро снижалась яйценоскость и выводимость снесенных ими яиц. Кроме того, недостаток витамина B_6 в диете вызывал анорексию, плохой аппетит и общую слабость. Смерть у таких кур наступала от истощения (Sebesta, Halpin, 1946). Конвульсии, подобные описанным у цыплят, на рационе с недостатком витамина B_6 у кур не наблюдались.

Физиологическое значение витамина В₆

Факторы, характеризующие состояние насыщенности витамином В₆. К таким факторам, как мы видели, можно отнести: 1) появление ксантуреновой кислоты в моче при нагрузке триптофаном; 2) понижение процента гемоглобина в крови; 3) отсутствие в моче продукта обмена пиридоксина — 4-пиридоксовой кислоты; 4) повышение N-мочевины в крови и 5) понижение содержания витамина В₆ и аминокераз в крови.

Повышение содержания мочевины в крови В₆-авитаминозных крыс было установлено Мак Генри с сотрудниками (Beaton, Beare, White, Mc Henry, 1953; Caldwell, Mc Henry, 1953, 1954). Они же доказали, что это повышение зависит от активности аргиназы, т. е. от орнитинового цикла. Так, отношение мочевины в крови к активности аргиназы всегда было постоянным и равным 0,4 как у контрольных, так и у В₆-авитаминозных животных. Примерно то же постоянное отношение было найдено (Beaton, Goodwin, Ozawa, Mc Henry, 1954) и в печени. Оказалось, что дезоксипиридоксин не повышал активность аргиназы, как следовало бы ожидать, а действовал как пиридоксин.

Кроме того, при хроническом недостатке В₆ отмечается повышение кровяного давления и понижение поглощения кислорода гомогенатами печени на 30% и гомогенатами почек на 20% (Olsen, Martindale, 1954).

Витамины В₆ в молоке и в тканях. При хроническом и длительном В₆-авитаминозе большинство органов подвергается гипертрофии с увеличением их веса. Особенно это относится к надпочечникам. Однако дезоксипиридоксин, усугубляя В₆-авитаминоз, не повышает вес органов, а скорее немного понижает его, как это видно из данных таблицы 41.

Содержание витаминов В₆ в органах (в печени и почках) является характерным показателем насыщения организма этим витамином. Оно сильно понижается при содержании животных на диете, лишенной витамина В₆, и еще сильнее при добавлении к такой диете дезоксипиридоксина.

В свежем коровьем молоке содержание витамина В₆ колеблется от 0,65 до 0,73 мг на 1 л. При сушке распылением оно падает до 0,46—0,56 мг/л, при сгущении с подслащиванием — до 0,33—0,49 мг/л, а при сгущении

Таблица 41

Вес органов крысы и содержание в них витамина B_6
(содержание B_6 в мкг)

Диета	Печень		Почки		Надпочечники (вес в г)	Сердце (вес в г)
	вес (в г)	B_6 (в мкг)	вес (в г)	B_6 (в мкг)		
Полноценная казеинодекстрозная	3,2	$41,9 \pm 5,1$	0,64	$6,6 \pm 0,9$	0,0093	0,225
Та же + дезоксипиридоксин	3,1	$29,1 \pm 3,6$	0,64	$5,5 \pm 0,8$	0,0096	0,229
B_6 авитаминозная	3,5	$17,1 \pm 2,1$	0,91	$3,5 \pm 0,5$	0,0155	0,281
Та же + дезоксипиридоксин	3,4	$11,1 \pm 2,0$	0,88	$2,1 \pm 0,3$	0,0149	0,277
Та же + пиридоксал	3,2	$30,0 \pm 4,2$	0,80	$8,8 \pm 1,4$	0,0138	0,279

со стерилизацией — до 0,25—0,41 мг/л (Hassinen, Durbin, Bernhart, 1954).

Взаимосвязь между содержанием витамина B_6 в тканях и активностью аминотрансфераз. Поскольку пиридоксал-фосфат является коэнзимом аминотрансфераз, то содержание общего витамина B_6 и активность аминотрансфераз должны согласовываться между собой. Это хорошо видно из данных таблицы 42, в которой указано содержание B_6 и ами-

Таблица 42

Содержание витамина B_6 и аминотрансфераз в крови людей

Пациент	Единицы аминотрансферазы			Витамин B_6 в мкг %		
	контроль	B_6 ежедневно по 15 мг в течение 4 недель	через 1 неделю после прекращения введения B_6	контроль	B_6 ежедневно по 15 мг в течение 4 недель	через 1 неделю после прекращения введения B_6
М. Д.	361	518	412	1,6	8,4	3,8
М. С.	406	616	487	1,6	8,5	3,9
У. Е.	369	491	373	1,7	5,5	3,1
Т. С.	404	543	378	1,7	11,5	4,9
Среднее	385	542	412	1,65	8,5	3,9
% повышения		41	7			

инофераз в крови людей, получавших различные количества пиридоксина (Marsh, Greenberg, Rinehart, 1955), и таблицы 43, в которой указаны содержания B_6 и аминотрансфераз в органах обезьян с различным насыщением их витамином B_6 (Greenberg, Marsh, Rinehart, 1955).

Таблица 43

Содержание витамина B_6 и аминотрансфераз в органах обезьян

Органы	Диета		
	контрольная полноценная	B_6 -авитаминоз- ная в течение 7—8 месяцев	ежедневно по 25—30 мкг B_6 в течение 15—18 месяцев
Единицы аминотрансферазы			
Печень	334 ± 63	83 ± 25	70 ± 36
Почки	329 ± 43	90 ± 18	117 ± 43
Сердце	1002 ± 72	389 ± 75	421 ± 188
Мышца	398 ± 30	204 ± 86	149 ± 17
Витамин B_6 (в мкг/г)			
Печень	$6,2 \pm 3,0$	$1,3 \pm 0,4$	$1,8 \pm 0,1$
Почки	$4,5 \pm 0,7$	$1,3 \pm 0,4$	$1,7 \pm 0,3$
Сердце	$3,7 \pm 0,6$	$1,5 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,9$
Мышца	$6,1 \pm 0,8$	$1,6 \pm 0,6$	$1,8 \pm 0,6$

Витамин B_6 при беременности. Обычная суточная потребность в витамине B_6 становится недостаточной при беременности. Это было доказано повышением мочевины в крови (Mc Ganity a. oth., 1949) и выделением ксантуреновой кислоты после приема триптофана беременными женщинами на обычном питании (Sprince a. oth., 1951; Wachstein, Gudaitis, 1952). Эти женщины ощущали тошноту и рвоту. В каждом случае введение беременным женщинам пиридоксина (уже в дозе 25 мг) прекращало тошноту с рвотой, понижало содержание мочевины в крови до нормы и устраняло ненормальный продукт обмена триптофана в моче. Однако при беременности можно говорить только о слабом B_6 -гиповитаминозном состоянии, поскольку содержание B_6 в тканях при этом не меняется (Vilter, Biehl, Muller, Freidman, 1954).

Связь с эндокринной системой. Иванс с сотрудниками (Nelson, Lyons, Evans, 1951) показали, что при недостатке витамина B_6 у крыс нарушается размножение вслед-

ствие рассасывания плода по прошествии 2—3 недель содержания на диете, лишенной витамина B_6 . Беременность таких крыс может быть сохранена введением им обоих гормонов яичников: эстрогена и прогестерона. Поскольку гонадотропные гормоны передних долей гипофиза: 1) гормон, стимулирующий фолликулы, 2) гормон, — стимулирующий интерстициальные клетки, или лютеинизирующий, и 3) маммотропин, или лактогенный гормон, — стимулируют желтые половые гормоны, то следовало установить, не нарушается ли их функция при недостатке витамина B_6 . Оказалось, что гонадотропины поддерживают беременность только у 25% крыс с недостатком B_6 , тогда как гормоны яичников лишь в 80—100% случаев беременности у тех же крыс (Nelson, Lyons, Evans, 1953). Крысы с нарушенным эстрогенным циклом после содержания в течение 2 месяцев на B_6 -авитаминозной диете содержали в передних долях гипофиза в 7 раз больше фолликулярного гормона и почти неизменные количества двух других гонадотропных гормонов. Однако при B_6 -авитаминозе реакция на фолликулярный гормон понижалась в 8 раз и в 16 раз у тех же крыс, но с удаленным гипофизом (Wooten, Nelson, Simpson, Evans, 1955). Таким образом, при B_6 -авитаминозе нарушается образование гормонов яичников и понижается реакция на фолликулярный гормон гипофиза.

Какой-либо зависимости недостатка витамина B_6 от гормонов щитовидной железы установить не удалось (Beaton, Goodwin, 1954).

Связь витамина B_6 с другими витаминами. Недостаточность витамина B_6 у крыс вызывает нарушение усвоения витамина B_{12} (Hsu, Chow, 1957). Витамин B_{12} , введенный перорально крысам обоего пола с недостатком витамина B_6 , выделяется в значительно большем количестве с калом и в меньшем — с мочой, чем у здоровых крыс. В печени, почках и сыворотке крови содержание витамина B_{12} у B_6 -авитаминозных крыс понижено. Введение таким крысам витамина B_6 повышает усвоение ими витамина B_{12} .

Влияние витамина B_6 на усвоение витамина B_{12} , вероятно, связано с действием его на внутренний белковый фактор, способствующий усвоению B_{12} , так как недостаток витамина B_6 не нарушает удерживание витамина B_{12} , введенного внутривенно.

Потребность в витамине В₆

Как мы видели, витамин В₆ необходим всем животным, однако о минимальном количестве, удовлетворяющем потребность в нем разных животных, мало известно. Крысиная единица витамина В₆, которой еще совсем недавно оценивалось витаминное достоинство пищевых продуктов, это минимальное количество витамина В₆, удовлетворяющее ежедневную потребность крысы в этом витамине. Она равна 10 мкг. При длительном гиповитаминозном состоянии крысы эта доза становится недостаточной, в таком случае излечивающие суточные дозы равны 30 мкг.

Жвачные животные не нуждаются в поступлении витамина В₆ с пищей, так как их желудочная флора синтезирует пиридоксин.

Суточная потребность человека в витамине В₆ составляет около 10 мг. С лечебной целью применяются дозы 100 мг. Минимальная суточная потребность детей в витамине В₆ колеблется от 0,2 до 0,5 мг (Bessey, Adam, Bessey, Hansen, 1954).

Очень высокие дозы пиридоксина токсичны. Доза в 3 г на 1 кг веса тела вызывает гибель крысы.

Потребность домашней птицы. На потребность цыплят в витамине В₆, а также и в других витаминах группы В

Т а б л и ц а 44

Потребность цыплят и кур в пиридоксине и рибофлавине

Птица		В мг на 1 кг рациона	
		пиридоксина	рибофлавина
Цыплята	Леггорны . . .	3—5 (Hogan a. oth., 1941)	3—3,25 (Heuser a. oth., 1938; Bethke, Record, 1942)
	»	2,75—3 (Briggs a. oth., 1942)	
	Помеси леггорнов с плимутроками . . .	10 (Lucas a. oth., 1946)	> 5,9 (Culton, Bird, 1940)
Курам для нормальной выводимости яиц . . .		1 (Cravens a. oth., 1943)	
Курам для нормальной яйценоскости и привеса		2 (Cravens a. oth., 1946)	

существенное влияние оказывает их порода. Из данных таблицы 44 видно, что цыплята-леггорны требуют меньше пиридоксина, чем помеси их с плимутроками.

Потребность поросят. Всестороннее исследование (Miller a. oth., 1957) потребности растущих поросят в витамине В₆ показало, что для нормального роста и эффективности кормления содержание 0,5 мг пиридоксина на 1 кг сухого веса корма достаточно, но это же количество оказалось недостаточным для исправления гематологических показателей и устранения ксантуреновой кислоты в моче. Поэтому потребность поросят в витамине В₆ будет удовлетворена по всем показателям при содержании 1 мг пиридоксина в 1 кг сухого вещества корма.

Согласно Лукас (Lucas, Lodge, 1958), минимальная суточная потребность поросят весом 4,5 кг в пиридоксине равна 2,22 мг, а весом 18 кг 2,11 мг на 1 кг сухого корма.

Глава 6

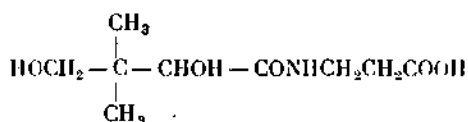
ПАНТОТЕНОВАЯ КИСЛОТА

(витамин G, или цыплячий антидерматитный фактор)

История открытия пантотеновой кислоты связана с изучением «биоса», т. е. комплекса стимуляторов роста дрожжей. После того как было доказано (1923), что биос представляет собой ряд биологически активных веществ, обладающих различными физико-химическими свойствами, вопрос встал о разделении биоса на активные фракции. Вскоре (1928) из биоса листьев чая удалось выделить первый компонент, осаждающийся основным уксуснокислым свинцом. Этот компонент оказался инозитом (о нем речь будет идти ниже), а несколько позднее выделили и тиамин. Оставшиеся в фильтрате фракции биоса оказались возможным разделить с помощью адсорбции углем. Вещество, адсорбируемое углем, позднее оказалось биотином (витамином H), а не адсорбируемое углем — термо- и щелочно-лабильным веществом кислой природы. Изучая это вещество, необходимое для роста дрожжей, Виллиамс (Williams a. oth., 1933) показал очень широкое распространение его в растительных и животных тканях. Поэтому оно было названо пантотеновой кислотой, в переводе с греческого значит «вездесущая». При извлечении из дрожжей и из печени пантотеновая фракция всегда переходила в фильтрат после обработки экстракта адсорбентом (глиной или углем), тогда как витамины B₁, B₂ и B₆ адсорбировались, поэтому пантотеновая кислота раньше была известна под названием фильтратного фактора.

В 1939 году Виллиамс с сотрудниками (Williams, Weinstock, Rohrman, Truesdail, Holday, 1939) изолировали из печени высокоактивный препарат, из которого в 1939 году была получена кристаллическая кальциевая соль пантотеновой кислоты следующего состава $(C_9H_{16}O_5N)_2Ca$. Путем изучения продуктов распада пан-

тотеновой кислоты удалось установить, что она состоит из β-аланина и алифатической диоксикислоты. Позднее было доказано (Woolley, 1940; Williams, Mayor, 1940), что алифатическая диоксикислота при нагревании в кислой среде образует лактон, который был выделен в кристаллической форме и оказался лактоном α, γ-диокси-β, β-диметил-масляной кислоты. На основании этого было установлено, что пантотеновая кислота представляет собой α, γ-диокси-β, β-диметил-β'-аланид масляной кислоты следующего строения:



Это строение пантотеновой кислоты было подтверждено синтезом ее (Williams, Mayor, 1940).

Независимо от вышеизложенных исследований, фильтратная фракция, полученная после удаления адсорбцией витаминов В из экстракта печени, была исследована на цыплятах, больных дерматитом. Известно, что кормление цыплят прогорелыми кормами вызывает у них образование своеобразного дерматита, выражающегося в кератите и воспалении кожи вокруг глаз, клюва и пальцев ног, и что этот дерматит является следствием разрушения при нагревании корма какого-то термолабильного, антидерматитного фактора, содержащегося в корме. Оказалось (Jukes, Lepkovsky, 1935, 1936), что фильтратная фракция полностью излечивала вышеуказанный цыплячий дерматит. Этому термолабильному веществу, необходимому в диете цыплят, был предложен термин витамин G, или фильтратный фактор. В 1938 году Вуллей с сотрудниками (Woolley, Waisman, Mickelsen, Elvehjem, 1938) получили из фильтратной фракции печени и дрожжей высокоактивный препарат антидерматического фактора цыплят. Последующее изучение (Woolley, a. oth., 1939) его показало, что он вел себя аналогично препарату (пантотеновой кислоте), полученному Виллиамсом. Из продуктов распада щелочного гидролизата антидерматического фактора им также удалось выделить β-аланин. Кислотная часть фильтратного фактора оказалась оксикислотой. Испытание пантотеновой кислоты, полученной Виллиамсом, на дер-

матитных цыплятах показало, что она была крайне активна в качестве антидерматического вещества. Таким путем была установлена идентичность пантотеновой кислоты — компонента биоса с цыплячьим антидерматическим фактором, или витамином G.

Физико-химические свойства и синтез пантотеновой кислоты

Чистая пантотеновая кислота представляет собой гигроскопическое светло-желтое вязкое масло с молекулярным весом 219. Для нее характерна мелкокристаллическая кальциевая соль. Натриевая соль пантотеновой кислоты также хорошо кристаллизуется в виде мелких игол. Свободная кислота легко растворима в воде, ледяной уксусной кислоте, этилацетате и диоксане, труднее — в эфире и амиловом спирте и нерастворима в бензоле, хлороформе и бензине. Пантотеновая кислота, обладая свободной карбоксильной группой, дает моноэфиры и ангидриды кислот. Ацетильное производное пантотеновой кислоты перегоняется при 10^{-5} мм ртутного столба.

Натриевая соль пантотеновой кислоты плавится при $121-122^{\circ}$ с разложением.

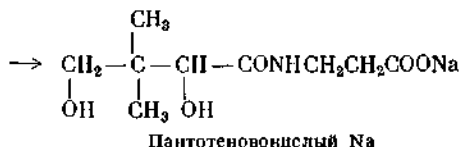
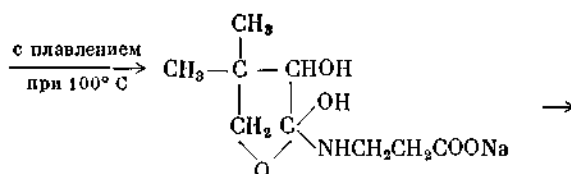
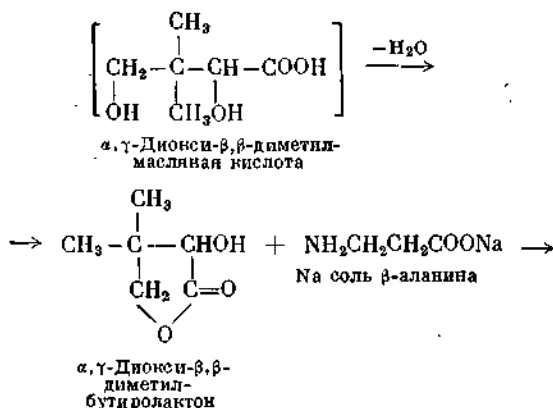
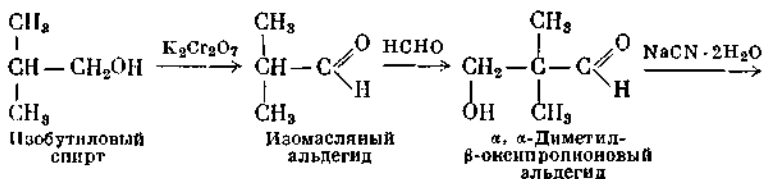
Пантотеновая кислота, так же как и ее кальциевая соль, обладает оптической активностью. Для пантотеновой кислоты $[\alpha]_D^{25} = -37,5^{\circ}$, для ее кальциевой соли $[\alpha]_D^{25} = +24,3^{\circ}$.

Рацемическая пантотеновая кислота может быть расщеплена через стрихниновые соли на свои антиподы.

Пантотеновая кислота не устойчива к действию повышенной температуры, щелочей и кислот. При щелочном гидролизе образуется β -аланин и соль диоксикислоты $(\text{OH})_2\text{C}_3\text{H}_5\text{COOH}$, которая при подкислении быстро превращается в лактон.

Получение пантотеновой кислоты из естественных источников и биосинтетически, так же как и никотиновой кислоты, имеет меньше практического значения, чем витамина A_1 , B_1 и B_2 , поскольку синтетическое получение ее сравнительно просто, а выделение из естественных источников громоздко, длительно и связано с разрушением. Поэтому мы здесь дадим схему синтетического получения пантотеновой кислоты, а биосинтез ее разберем лишь теоретически.

Синтез пантотеновой кислоты. Из всех известных в настоящее время схем представим наиболее совершенную схему синтеза пантотеновой кислоты, улучшенную Беер и Преображенским (1946).



β-Аланин может быть получен по методу Родионова и Ярцевой (1948) каталитической конденсацией фталимида с метилакрилатом и последующим гидролизом полученного метилового эфира фталил-β-аланина.

Биосинтез пантотеновой кислоты

Пантотеновая кислота синтезируется всеми зелеными растениями, а также бактериями и дрожжами.

По способности к биосинтезу пантотеновой кислоты все живые организмы можно разбить на четыре основные группы.

1. Организмы, для роста которых необходима цельная молекула пантотеновой кислоты и которые не используют смесь ее компонентов — β -аланина и пантоиллактона. В эту группу входят все животные, молочнокислые бактерии и др.

2. Организмы, требующие пантотеновую кислоту или β -аланин, но способные к синтезу пантоиловой половины и к связыванию ее с β -аланином. К этой группе относятся все виды дрожжей и дифтерийные бациллы.

3. Организмы, требующие пантотеновую кислоту или пантоиловую ее половину. Они не синтезируют пантоиловую часть, но синтезируют β -аланин и соединяют его с добавленным пантоиллактоном или пантоатом. Сюда относятся все виды *Acetobacter*'a, *Proteus*'a, гемолитические стрептококки и плесени *Clostridium septicum* и др.

4. Организмы, не нуждающиеся в пантотеновой кислоте. Они способны к синтезу кислоты, а также к синтезу ее составных частей. Сюда относятся все зеленые растения и водоросли.

Экспериментально была получена культура грибка *Neurospora*, которая, синтезируя составные части пантотеновой кислоты, т. е. β -аланин и диоксидиметилмасляную кислоту, не была способна конденсировать их, тогда как исходный штамм вообще не нуждался в пантотеновой кислоте, полностью осуществляя этот синтез. Сосуществование обеих форм не нуждалось в пантотеновой кислоте. В результате подобного же симбиоза второй и третьей групп микроорганизмов можно на основании учения Мичурина и Лысенко добиться выведения новой расы, способной к полному биосинтезу пантотеновой кислоты, что имело бы практическое значение.

Мейсель с сотрудниками (1949) доказали, что β -аланин является довольно специфичным для биосинтеза пантотеновой кислоты дрожжами, ибо его нельзя заменить никакой другой β -аминокислотой. Однако промежуточные продукты синтеза β -аланина, согласно схеме Родионова и Ярце-

вой, — фталил- β -аланин и хлоргидрат β -аланина обладали такой же высокой активностью, как и сам β -аланин. Синтез пантотеновой кислоты живыми организмами, очевидно, идет по той же схеме, как и в случае органического синтеза.

Источником энергии для биосинтеза пантотеновой кислоты из β -аланина и пантоиловой кислоты экстрактами *Escherichia coli* служит АТФ (Maas, 1953). Энергия, освобождающаяся при распаде АТФ до АМФ и пирогосфата, используется для этого синтеза. В подтверждение этого механизма АДФ не может заменить АТФ для биосинтеза пантотената.

Пантотеновая кислота синтезируется молодыми растениями на более поздних стадиях развития по сравнению с синтезом большинства других водорастворимых витаминов. Это объясняется тем, что биосинтез пантотеновой кислоты зелеными растениями осуществляется только после того, как начнут совершаться процессы фотосинтеза.

Пантотеновая кислота синтезируется микроорганизмами в рубце жвачных и в кишечнике многих животных, но интенсивность биосинтеза в кишечнике недостаточно велика для удовлетворения потребности животных в пантотеновой кислоте.

Однако введение некоторых антибиотиков, как хлортетрациклина (10 мг на 450 г), в рацион свиней, недостаточный в отношении пантотеновой кислоты, делает этот рацион полноценным (Mc Kigney, Wallage, Cunha, 1957). Это происходит вследствие того, что хлортетрациклин либо стимулирует рост бактерий, синтезирующих пантотеновую кислоту, либо угнетает в кишечнике рост микроорганизмов, которые потребляют пантотеновую кислоту и мешают развитию бактерий, синтезирующих последнюю. Это предположение подтверждает опыты Гуггенхейма (Guggenheim a. oth., 1953).

Включение антибиотиков (пенициллин и ауромидин) в рационы животных не только повышает биосинтез пантотеновой кислоты, тиамина и рибофлавина, но и угнетает жизнедеятельность кишечных микроорганизмов, потребляющих эти витамины. Последнее доказывает работа Джонса (Jones, Baumann, 1955), который нашел, что при наличии антибиотика в рационе пероральное введение указанных витаминов гораздо эффективнее подкожного.

Биокаталитические свойства пантотеновой кислоты

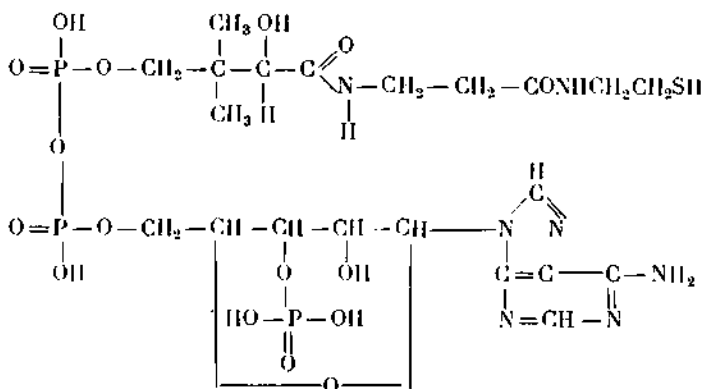
В 1942 году было установлено (Pilgrim, Axelrod, Elvehjem, 1942), что в крови и в тканях пантотеновая кислота находится в связанной с белком форме, недоступной микробам, и что при нагревании или энзиматическом переваривании она освобождается и становится пригодной для микробиологического определения. Одновременно с этим было показано, что пантотеновая кислота в организме связана с дыхательными ферментами и использованием пировиноградной кислоты (Dorfman, Berkman, Koser, 1942, 1943). Позднее это подтвердилось на изолированной энзиматической системе пировиноградной оксидазы (см. гл. 2).

В 1945 году был открыт (Lipmann a. oth., 1945) коэнзим, участвующий в ацетилировании сульфаниламида (белого стрептоцида) в организме с целью обезвреживания его. В следующем году было установлено (Lipmann a. oth., 1946), что этот же коэнзим необходим для ацетилирования холина в мозге в ацетилхолин, а в 1947 году Липманом с сотрудниками (Lipmann a. oth., 1947) было доказано, что это активное вещество является производным пантотеновой кислоты, оно было названо ими коэнзимом А. Оказалось, что при недостатке пантотеновой кислоты в рационе способность животных ацетилировать парааминобензойную кислоту постепенно падает (Riggs, Hegsted, 1948). Позднее было доказано участие коэнзима А в ацетилировании ацетата и оксалоацетата в соответствующие ацетоацетат (Soodak, Lipmann, 1948, 1951) и цитрат (Stern, Ochoa, 1949, 1950, 1951) и в ацетилировании d-глюкозамина (Chow, Soodak, 1952) экстрактами печени голубя. Наконец, оказалось, что коэнзим А принимает участие и в синтезе пептидных связей (Браунштейн и Ефимочкина, 1950, 1951), липондов (Klein, Lipmann, 1953) и холестерина (Boyd, 1953).

Все это указывает на довольно широкое участие коэнзима А в биологических реакциях.

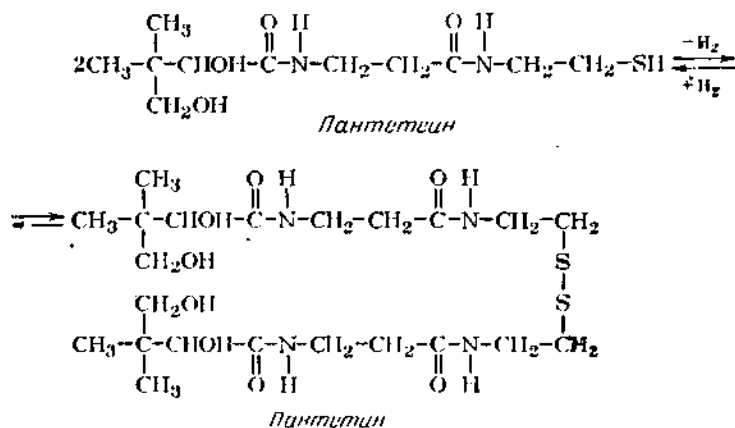
Строение коэнзима А и его превращения в организме. Коэнзим А был выделен с 91%-ной чистотой из пивных дрожжей (Beinert, Von Korff, Green, 1952, 1953). Оказалось, что коэнзим А состоит из пантотеновой кислоты, аденина, рибозы, фосфора и серы в молярных соотношениях 1 : 1 : 1 : 3 : 1 (Beinert a. oth., 1952, 1953; Gregory, Novelli,

Lipmann, 1952), с молекулярным весом 767,6. Из трех фосфатных групп в молекуле коэнзима А две находятся в форме пиррофосфатной связи, а третья присутствует в форме моноэфира, эстерифицированного с рибозой адениловой кислоты коэнзима А. Структурно коэнзим А можно изобразить следующим образом (Novelli, 1953).



Исследования потребности в ростовых факторах расы *Lactobacillus bulgaricus* показали, что для максимального ее роста, кроме всех известных витаминов и ростовых факторов, требуется наличие в среде еще неизвестного фактора роста, названного фактором *Lactobacillus bulgaricus*, или LBF (Williams, Jorgensen, Snell, 1949). Этот фактор, оказывается, требуется и для роста *Lactobacillus helveticus* и многих других молочнокислых бактерий. Он широко распространен в природе, особенно им богаты дрожжи. Сконцентрированный LBF из дрожжей в 25 000 раз оказался чистым веществом (Williams a. oth., 1949). При переваривании энзимом печени цыпленка из LBF освобождается 65—75% пантотеновой кислоты, а при кислотном или щелочном гидролизе освобождается 30% β-аланина (Snell a. oth., 1950). Хроматографией на бумаге, а также и аналитическим исследованием кислого гидролизата было доказано, что вторым осколком LBF является β-меркаптоэтиламин. Таким образом, LBF состоял из пантотеновой кислоты и парамеркаптоэтиламина и являлся N-(пантотенил)-β-аминоэтанетнолом. Это строение LBF было подтверждено синтезом его (Wittle a. oth., 1953;

Wieland, Bokelman, 1951; Viscontini, Adank, Merklings, Ehrhardt, Karrer, 1953). Фактор *Lactobacillus bulgaricus* был назван пантетинном (Snell a. oth., 1950). Однако, кроме своей дисульфидной формы — пантетина, он существует и в тиольной форме пантетина, в которой он находится в равновесии. Структуры пантетина и пантетина изо-бражены на следующей схеме:

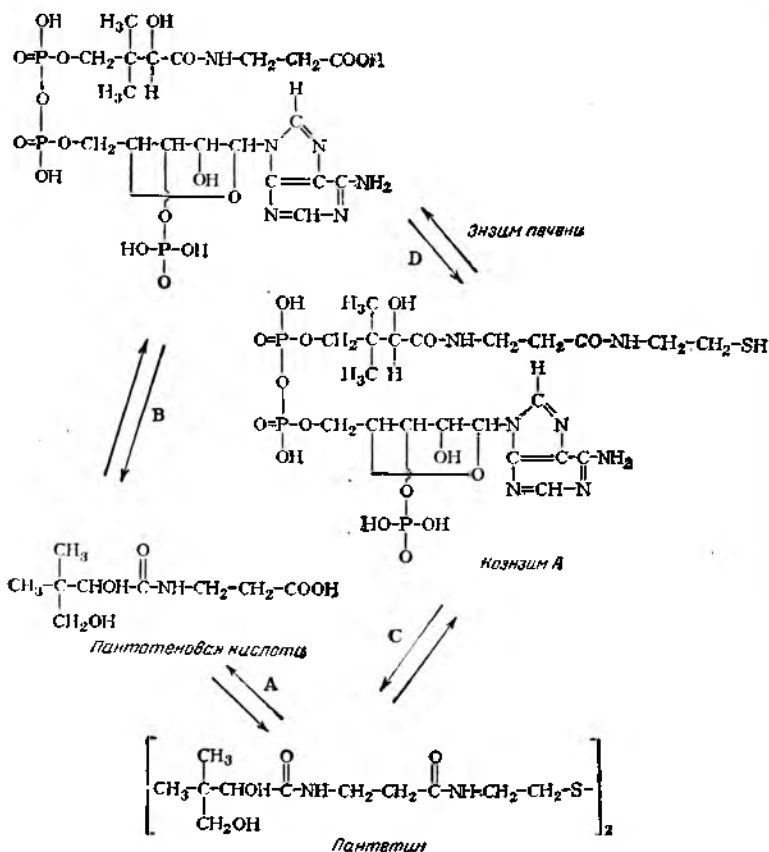


Таким образом, фактор *L. bulgaricus* оказался дисульфидом β-меркаптоэтиламина и пантотеновой кислоты.

Легкая взаимопревращаемость пантетеина и пантетина указывает на возможное существование в природе и смешанных дисульфидов с активностью LBF. Подобные смешанные дисульфиды пантетеина с сульфгидрильными соединениями, как цистеин или глутатион, были найдены в естественных продуктах (Long, Williams, 1951; Brown, Snell, 1951, 1952).

Изучение взаимосвязи между коэнзимом А, пантетином и пантотеновой кислотой показало, что при действии кишечной фосфатазы на коэнзим А происходит разрыв всех трех фосфатных связей и освобождается пантетенин. При действии же на последний энзима печени пептидная связь между β -меркаптоэтиламином и пантотеновой кислотой разрушается и последняя освобождается. Для освобождения пантотеновой кислоты из коэнзима А необходимо действие на него одновременно обоих энзимов кишечной фосфатазы и энзима печени (Novelli, Kaplan, Lipmann, 1949;

Novelli, 1953). Пути расщепления и синтеза коэнзима А могут быть изображены следующей схемой (Graig, Snell, 1951).



Сравнение активностей пантотеновой кислоты, пантетина и коэнзима А на различных микроорганизмах (Graig, Snell, 1951) позволило разделить все молочнокислые микроорганизмы и дрожжи, нуждающиеся в пантотеновой кислоте, на четыре основные группы.

Первая группа включает все исследованные расы дрожжей *Saccharomyces Carlsbergensis*, *Torula Cremolis*, *Zygosaccharomyces marxianus*, не способные использовать коэнзим А и пантетин вместо пантотеновой кислоты.

Вторая группа состоит из молочнокислых бактерий *Lactobacillus arabinosus*, *L. cusei*, *L. fermenti*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus faecalis* R., также не способных использовать коэнзим А, но использующих пантетин примерно с одинаковой активностью или несколько меньшей, чем пантотеновую кислоту.

Третья группа состоит из молочнокислых бактерий, не использующих коэнзим А, но для которых пантетин примерно в 75—400 раз активнее пантотеновой кислоты в эквивалентных количествах последней. Сюда относятся *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. lactis* и *L. leichmannii*.

К четвертой группе микроорганизмов, использующих коэнзим А) и пантетин с гораздо большей активностью, чем свободную пантотеновую кислоту, относится *L. acidophilus* расы 213 и *Acetobacter suboxydans* (Novelli, Flynn, Lipmann, 1949).

Коэнзим А является единственной функциональной формой пантотеновой кислоты из всех до сих пор известных ее форм. Почти вся пантотеновая кислота большинства тканей и клеток микроорганизмов присутствует в форме этого коэнзима. Вот почему для количественного микробиологического определения в растительных и животных продуктах пантотеновой кислоты ее следует предварительно освободить из связанного состояния (в форме коэнзима А) обработкой кишечной фосфатазой и печеночной пептидазой (Sondergaard, 1958). Было показано, что вся пантотеновая кислота, поглощенная *L. arabinosus* в течение роста этого организма, превращается им в форму коэнзима А (Graig, Snell, 1951). На основании этого каждое из соединений, изображенных на схеме превращений пантотеновой кислоты, служащих ростовым фактором для данного организма, превращается в его клетке в коэнзим А. Таким образом, инактивность самого коэнзима А для ряда организмов первых трех групп можно объяснить лишь неспособностью самого коэнзима А проникать через клеточную оболочку внутрь клетки. Это происходит вследствие слишком большого размера его молекулы, либо наличия в нем пантолактонофосфатной связи, препятствующей проницаемости и неспособности организма вырабатывать энзимы, расщепляющие либо сам коэнзим, либо его пантолактонофосфатную связь для использования его осколков. Подобная непроницаемость не характерна для

всех клеток, ибо *Acetobacter suboxydans* прекрасно использует коэнзим.

Попавшая в организм животного, пантотеновая кислота немедленно переходит в свою функциональную коэнзимную форму. Известно, что в животном организме большая часть пантотеновой кислоты находится в форме коэнзима А. Поэтому особенно важен вопрос превращения пантотеновой кислоты в животном организме в коэнзим А или биосинтез коэнзима А из пантотеновой кислоты.

Как было установлено работами Новелли с сотрудниками (Levinton, Novelli, 1954; Hoagland, Novelli, 1954), в животных тканях образование коэнзима А из пантотеновой кислоты протекает таким образом.

1. Пантотеновая кислота + цистеин $\rightarrow$ пантотенил-цистеин.

2. Пантотенил-цистеин $\rightarrow$ пантетеин.

3. Пантетеин + АТФ $\rightarrow$ 4'-фосфапантетеин.

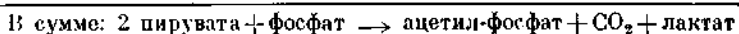
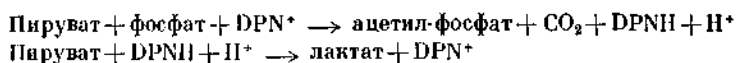
4. 4'-фосфапантетеин + АТФ $\rightarrow$ Дефосфо-КоА.

5. Дефосфо-КоА + АТФ $\rightarrow$ КоА.

Энзим, катализирующий реакции 1, 2 и 3, переходит в всплывшую фракцию гомогената печени, а энзим, катализирующий реакции 4 и 5, распределяется как в всплывшей фракции, так и в митохондриях гомогената печени. Труфанову и Поповой (1956) удалось доказать, что из ряда исследованных тканей (печень, почки, мозга, мышцы и сердца) только мозг обладает значительной способностью синтезировать *in vitro* коэнзим А из пантотената. Для этого синтеза требовалось добавление цистеина, АТФ и Mg^{++} . В подтверждение вышеуказанной схемы Труфанов и Попова показали, что добавление цистеина для биосинтеза коэнзима А из пантотенина гомогенатом мозга не требовалось.

Образование активного ацетила и других активных ацилов. Механизм ацелирования любого субстрата сводится первоначально к активированию ацетила с помощью образования лабильного ацетил $\sim$ коэнзима А. Присоединение ацетила ($=COCH_3$) к коэнзиму А происходит через свободную сульфгидрильную группу последнего, при этом образуется ацетилирующий меркаптан структуры $CoA-S-COCH_3$. Этот процесс в микроорганизмах катализируется энзимом фосфотрансацетилазой (Stadtman, 1951, 1952), так как донатором ацетила служит ацетил-фосфат.

Образование ацетил-фосфата происходит только в бактериях и идет сопряженно в присутствии систем карбоксилазы и молочной дегидразы (лактодегидразы) согласно следующей схеме (Stern, Ochoa, 1951; Korkes, Del Campillo, Gunsalus, Ochoa, 1951, 1952):



Ацетил-фосфат образуется и при взаимодействии аденозинтрифосфата с ацетатом (Stern, Ochoa, 1951):

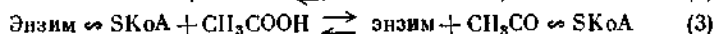
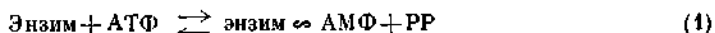


Животные ткани не содержат фосфотрансацетилазы и поэтому ацетил-фосфат в них не образуется. Однако гомогенат сердца свиньи с добавленной бактериальной трансацетилазой может переводить пируват + фосфат в ацетил-фосфат. Это доказывает общую закономерность системы животных тканей с бактериальными системами.

В животных тканях процесс образования ацетил-коэнзима А сопряжен с окислительным декарбоксилированием пировиноградной кислоты (Schwert, Cheslock, 1952) (см. гл. 2) и идет согласно сокращенной схеме:



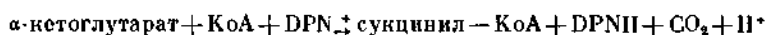
Механизм образования ацетил-КоА, по Липману и Лейнену (Lipmann, Hilz, Lynen, 1953), идет согласно реакциям, в которых сначала энзим лабильно соединяется с АМФ, образуя соединение, крайне богатое энергией, а затем переходит в соединение с коэнзимом А, освобождая АМФ и часть энергии. В соединении энзим-КоА, коэнзим А легко обменивается с ацетатом. Весь процесс изображается следующими тремя реакциями:



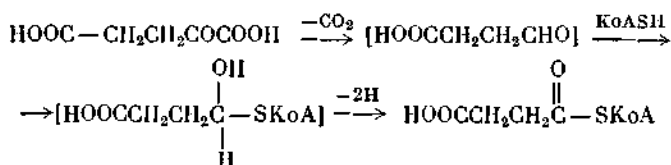
Оказывается, ионы магния необходимы только для реакции (1), т. е. для образования соединения энзима $\sim$ АМФ.

Подобная же энзиматическая система, образующая ацетил- $\sim$ коэнзим А из ацетата и коэнзима А с одновременным превращением АТФ и АМФ в неорганический пирофосфат, была выделена и очищена из сердечной мышцы кролика и свиньи (Beinert, Green, Hele, Hift, Von Korff, Ramakrishnan, 1953) и из экстрактов митохондрий бычьего сердца (Hale, 1953). Последний препарат был хорошо очищен и активировал 6,6 μ моля ацетата на 1 мг протеина в 1 мин. при 38°.

Аналогично этой системе, в печени голубя и в сердце свиньи установлена (Sanadi, Littlefield, 1951, 1952, 1953; Von Korff, 1953) другая система, образующая сукцинил- $\sim$ коэнзим А в процессе окислительного декарбоксилирования α -кетоглутаровой кислоты (см. гл. 2, стр. 89). Реакция, катализируемая этой системой, идет согласно следующей схеме:

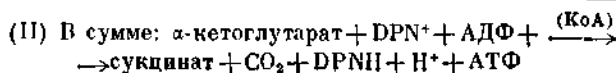
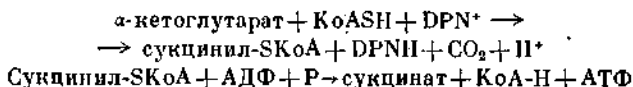


Присоединение сукцинила к коэнзиму А идет также через сульфгидрильную ее группу по схеме:



Сукцинил- $\sim$ коэнзим А был получен (Simon, Shemin, 1953) инкубацией коэнзима А с сукцинатом при pH 7—7,5 на холоду. Он гораздо стабильнее в сильноокислой среде, чем в нейтральной, где уже через 1—2 часа при комнатной температуре расщепляется на 50%.

В сердце свиньи энзиматическая система, катализирующая окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата, сопряжена с эстерификацией фосфата (Kaufmann, Gilvarg, Cori, Ochoa, 1953). Реакция идет согласно следующей схеме:



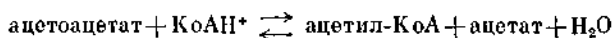
В этой суммированной реакции участвуют три энзиматические системы: α -кетоглутаровая дегидраза, сукцинил-коэнзим А деацилаза и фосфорилирующий энзим. Кроме этих энзимов и коэнзима А, для вышеуказанной реакции требуются дифосфопиридин-нуклеотид (DPN), ионы магния и аденозиндифосфат (АДФ).

Оказывается, механизм реакции образования ацетил-коэнзима А несколько иной, чем сукцинил-коэнзима А, тогда как свободный ацетат активен в суммарной реакции (I), сукцинат инертен в суммарной реакции (II). Выделение АМФ и пирогосфата при образовании ацетил-коэнзима А может сдвигать реакцию в сторону окисления α -кетоглутарата в сукцинат и вновь образовывать АТФ.

У простейших (*Tetrahymena*) имеется энзиматическая система, катализирующая прямое образование ацетил-КоА из сукцината, КоА и АТФ, в присутствии Mg^{++} (Seaman, Naschke, 1954).

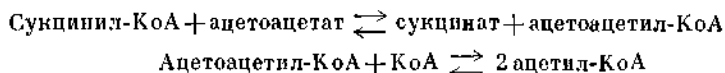
В сердце свиньи было доказано существование двух энзимов (Green, Beinert, 1951): ацетил-коэнзим А деацилазы и сукцинил-коэнзим А деацилазы, освобождающих коэнзим А соответственно из ацетил-коэнзима А и сукцинил-коэнзима А. Сукцинил-коэнзим А деацилаза была получена в очищенном состоянии (Hele, Ramakrishnan, 1952; Kaufmann a. oth., 1953). Оказалось, что в отсутствие соответствующей ацилазы коэнзим А не освобождался и добавленный DPN не восстанавливался. Поэтому для окисления как пирувата, так и α -кетоглутарата необходимо наличие соответствующей оксидазы, деацилазы, коэнзима А и DPN. В отсутствие коэнзима А деацилаза может расщеплять ацетил-фосфат, а в присутствии коэнзима А может образоваться ацетил-фосфат в результате связывания освобожденного ацетила присутствующим в системе фосфатом. Таким путем в животных тканях деацилаза может отчасти выполнять роль бактериальной фосфотрансацетилазы.

Кроме указанных донаторов ацетила, донаторами его могут служить также и ацетоацетат и цитрат:

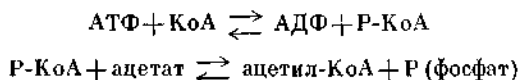


Из митохондрий бычьего и свиного сердца была изолирована (Goldmann, 1953; Green, Goldmann, Beinert, 1953)

энзиматическая система, которая катализировала также следующую реакцию:



Венгерскими исследователями (Feuer, Wollemann, 1954, 1955) в мозговой ткани рогатого скота был доказан также и другой путь образования ацетил-коэнзима А, именно, через промежуточный фосфорил-коэнзим А (Р-КоА), катализируемый фосфорилирующим ферментом (АТФ-КоА-фосфоферазой), содержащимся в ацетоновом порошке мозга быка. Образовавшийся Р-КоА под действием транс-ацетилазы реагирует непосредственно с ацетатом, давая ацетил-КоА. Весь процесс идет согласно следующей схеме:



Все эти системы энзимов, служащие донатором ацетила, можно назвать транс-ацетилазными, в отличие от системы энзимов, которые переносят ацетил на субстрат, названных ацетокиназными (Chow, Lipmann, 1952). К изложению реакций, катализируемых последней группой энзиматических систем, мы и перейдем.

Реакции ацетилирования, катализируемые коэнзимом А. Для реакции ацетилирования ацетил-КоА требуется субстрат-акцептор ацетила и соответствующий энзим, катализирующий перенос ацетила от ацетил-КоА на субстрат. В таблице 45 представлены реакции ацетилирования, в которых участвует коэнзим А (КоА).

Участие коэнзима А в синтезе пептидных связей. Сходство ферментных систем и механизма реакций при ацетилировании ароматических аминов и при синтезе других кислотных амидов и пептидов дало основание предполагать, что коэнзим А играет более общую роль в процессах биосинтеза пептидных ($-\text{CONH}$) связей и тем самым в синтезе белков. Действительно, в лаборатории Браунштейна удалось доказать, что интенсивность синтеза как гиппуровой кислоты (Браунштейн и Ефимочкина, 1950, 1951), так и глутатиона (Синицина, 1950) резко снижена у крыс с недостатком пантотеновой кислоты, это доказывается пониженным содержанием гиппуровой кис-

Реакции ацетилирования

Название реакции	Энзим	Субстрат	Продукт реакции	Где встречается энзим	Авторы
1. Ацетилирование ароматических аминов согласно общей схеме: $\text{NH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{R} + \text{CH}_3\text{CoCoA} \rightarrow \text{NHOCCH}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{R}$	Экстракт печени голубя, осажденный ацетоном 60% насыщения	Параминобензойная кислота и другие ароматические амины	Парацетаминбензойная кислота или другие ацетил-амипобензоаты	Животные ткани	Mehler, Tabor, Stadtman, 1953
2. Ацетилирование гексааминов	То же	Глюкозамин Галактозамин	Ацетил-глюкозамин Ацетил-галактозамин	Животные ткани, Neushora, дрожжи	Chow, Soodak, 1952; Leloir, Cardini, 1953; Brown, 1955
3. Ацетилирование алифатических аминов а) ацетилирование глицина	Ацетилаза	Глицин	Ацетил-глицин	Животные ткани и бактерии То же	Katz, Lieberman, Barker, 1953
б) бутилирование глицина	Энзим, переносный CoA с од-ной жирной кислоты на другую + ацетилаза	Глицин	Бутирил-глицин		

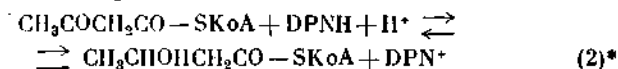
Название реакции	Энзим	Субстрат	Продукт реакции	Где встречается энзим	Авторы
4. Ацетилирование гистамина	Гистамин-ацетилаза	Гистамин	Ацетил-гистамин	Животные ткани	Urbach, 1944
5. Тиолтрансацилирование согласно схеме: Ацетил-SKoA + RSH $\rightleftharpoons$ ацетил-SR + KoASH	Тиолтрансацилаза А Тиолтрансацилаза В Тиолтрансацилаза С	Восстановленная липолевая кислота Меркаптоэтиламин Сероводород	Ацетил-липоевая кислота Ацетил-меркаптитиламин	Ткани животных и бактерий	Brady, Stadtmann, 1954
6. Ацетилирование апетата согласно схеме: 2 -апетил-KoA $\rightarrow$ Апетоапетил-KoA + KoA Апетил- $\left\{ \begin{array}{l} \text{Сульфид} \\ \text{КоА+сулфинат} \end{array} \right\}$ Апетоапетил- $\left\{ \begin{array}{l} \text{Сульфид} \\ \text{КоА+сулфинат} \end{array} \right\}$	Энзиматическая система, состоящая из нескольких энзимов	2 молекулы апетил-KoA и соль янтарной кислоты (сулфинат)	Апетил-сульфид Соль апетоапетил-кислоты (апетоапетат)	Ткани животных, растений и микроорганизмов	Goop a. oth., 1953; Green a. oth., 1953; Soodak, Lipmann, 1951; Beinert, Stanley, 1953

Название реакции	Энзим	Субстрат	Продукт реакции	Где встречается энзим	Авторы
7. Ацетилирование щавелевоуксусной кислоты	Конденсирующий энзим	Щавелевоуксусная кислота	Лимонная кислота	Ткани животных и растений, дрожжи и аэробные бактерии	Stern, Oscho, 1949, 1951; Stern, a. oth. 1952; Oscho, Stern, Schneider, 1952; Ballo-ur, Helb, 1951;
8. Ацетилирование холина	Холин-ацетилаза	Холин	Ацетилхолин	Нервная ткань животных	Korkes, Del Campillo, Corey, Stern, Nachmanson, Oscho, 1952; Reisberg, 1954

лоты в моче крыс после введения им бензойной кислоты и снижением содержания глутатиона в печени тех же крыс по сравнению с контрольными животными, получавшими пантотеновую кислоту. Введение пантотеновой кислоты таким авитаминозным крысам восстанавливало содержание глутатиона в печени и повышало содержание гиппуровой кислоты в моче после введения бензойной кислоты. Те же процессы были резко снижены и в опытах *in vitro* в гомогенатах и срезах печени крыс с пантотеновой недостаточностью при инкубации их с аминокислотами, составляющими глутатион, или с глицином и параминобензойной кислотой по сравнению с таковыми же процессами в гомогенатах и срезах контрольных крыс.

Был установлен (Schlachter, Taggart, 1953) механизм синтеза гиппуровой кислоты с помощью образования промежуточного лабильного коэнзима A-S-бензоила (подобно ацетил-коэнзиму A), который легко передает свой бензоил глицину. Это доказывается быстрым образованием гиппуровой кислоты при инкубации растворимого энзиматического препарата почки свиньи с бензоил-~ коэнзимом A и глицином. Эти данные подтверждают вышеизложенные открытия Браунштейна (1950) об участии коэнзима A в синтезе гиппуровой кислоты.

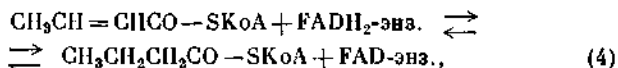
Участие коэнзима A в синтезе и окислении жирных кислот и синтезе фосфолипидов и стероидов. Полученный ацетоацетил-КоА в результате конденсации двух частиц ацетил-КоА восстанавливается дальше β -кеторедуктазой в присутствии восстановленной кодегидразы 1 в β -оксикислоту согласно реакции:



β -Оксикислота с помощью энзима β -окси-ацил-КоА дегидратазы (кротоназы) может быть дальше дегидратирована в кротоил-КоА:

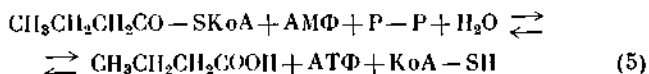


и последняя флаavin-ферментом (ацил-КоА-дегидразой) гидрируется в бутирил-КоА согласно реакции:

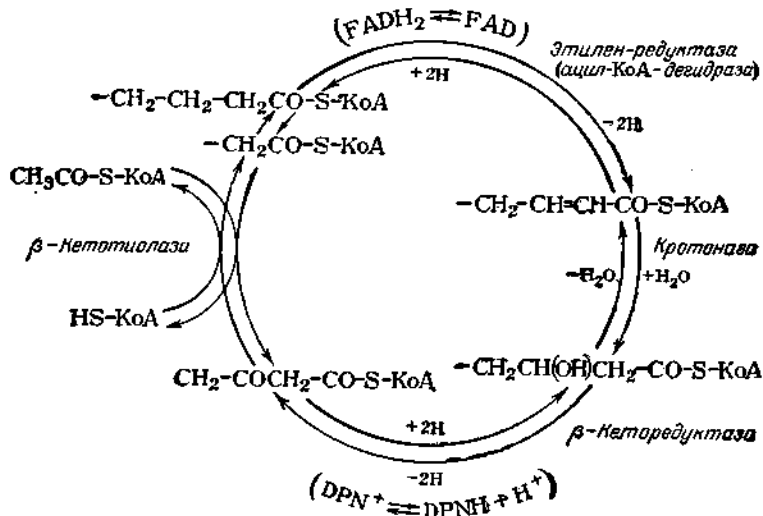


* Реакция 1 объяснена в таблице 45, пункте 6.

из которой энзимом, активирующим жирные кислоты, бутирил-КоА превращается в масляную кислоту



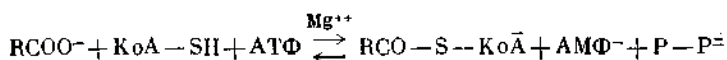
Как видно, весь цикл реакций обратим (Lynen, 1953, 1954; Mahler, 1953) и поэтому, согласно этому циклу, жирные кислоты при участии КоА могут быть окислены до активного ацетила, который служит донатором для ацетилирования любого субстрата. Энзиматические системы, участвующие во всех стадиях образования и окисления жирных кислот, были изолированы из сердечной мышцы и очищены. Весь цикл превращения жирных кислот может быть схематически представлен следующим образом:



Бутирил-КоА, согласно вышеуказанной схеме, может конденсироваться с другой молекулой ацетил-КоА и образовать β -кетокислоту с длиной цепи на два углеродных атома больше и повторить вышеуказанный цикл против часовой стрелки. Удлиняя таким путем каждый раз на 2 углеродных атома цепь, можно получить высокомолекулярные жирные кислоты.

Коэнзимом А может быть активирована не только масляная кислота, но также и другие жирные кислоты

с более длинной углеродной цепью. Энзим, катализирующий эту реакцию, был выделен из гомогената печени быка и хорошо очищен (Mahler, Wakii, Book, 1953). Кроме жирной кислоты и очищенного энзима, необходимо наличие АТФ и КоА. Ацил-КоА является соединением, богатым энергией, и черпает ее в процессе распада АТФ. Реакция идет так же, как и при образовании ацетил-КоА и других ацильных производных КоА. Обозначив любую жирную кислоту через RCOO^- , мы можем реакцию активирования изобразить следующим образом:



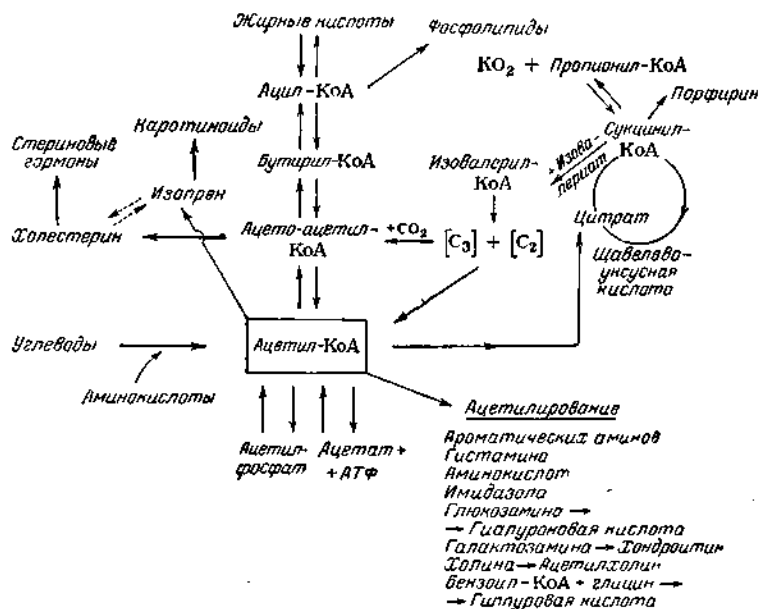
Полученный ацил-КоА гомогенатом печени может дальше включиться в фосфолипид при помощи эстерификации с 1- α -глицерофосфатом (Jedeikin, Weinhouse, 1953; Kornberg, Pricer, 1953) и образовать диацилфосфатидную кислоту, согласно реакции 2 ацил-КоА + 1- α -глицерофосфат $\rightarrow$ диацилфосфатидная кислота + 2 КоА, которая в дальнейшем, очевидно, превращается в лецитин.

Жирные кислоты с прямой цепью из 16, 17 или 18 углеродных атомов (пальмитиновая и стеариновая) более активно активировались коэнзимом А и эстерифицировались с α -глицерофосфатом, чем жирные кислоты с более длинной или более короткой углеродной цепью. Это указывает на очень важное обстоятельство, именно участие коэнзима А в образовании фосфолипидов. Включение P^{32} —неорганического фосфата в фосфолипиды срезами печени крысы было быстрым в присутствии коэнзима А и еще сильнее повышалось с добавлением цистеина, поддерживающего коэнзим А в восстановленной тьюльной форме (Davison, Simonson, Cornatzer, 1954).

Подобно синтезу жирных кислот происходит и образование холестерина в животных тканях. Как было установлено, циклопентанофенантреновое кольцо холестерина и его изооктиловая боковая цепь строятся из ацетата. Промежуточным продуктом в этом синтезе оказался ацетоацетат, который включается в построение молекулы холестерина без предварительного расщепления до ацетата. С выяснением способности коэнзима А образовывать ацетоацетат из ацетата возник интерес к участию его в биосинтезе холестерина. Действительно, как показали исследования Бойда (Boyd, 1953), содержание холестерина в печени

и плазме крыс на диете, лишенной жира, зависит от содержания в их пище пантотеновой кислоты, а отсюда и содержания коэнзима А в тканях. Также и образование общих липондов и стерина в дрожжах и тканях животных обнаруживает полный параллелизм с содержанием в них коэнзима А (Klein, Lippmann, 1953). В печени крыс с недостатком пантотеновой кислоты содержание коэнзима А понижено, отмечалось и низкое содержание жирных кислот и холестерина. Включение ацетата, меченного радиоактивным углеродом по карбоксилу, в жирные кислоты и холестерин при инкубации их срезами печени крыс с недостатком пантотеновой кислоты было также снижено по сравнению с печенью здоровых крыс и восстанавливалось добавлением коэнзима А или пантотенина.

Приводим схему всех обменных реакций, в которых участвует коэнзим А (КоА).



Процессы ацетилирования, синтеза пептидных связей и липондов, катализируемые коэнзимом А, имеют колоссальное значение в процессах анаболизма и связаны с окислительными и фосфорилирующими реакциями. Выше указывалось, что ацетилирование связано с высокоэнергиче-

скими соединениями, как аденозинтрифосфорная кислота. То же самое влияние АТФ на синтез гиппуровой кислоты в гомогенатах печени было установлено Браунштейном и Ефимочкиной (1951).

В опухолевых тканях, где понижены аэробные процессы за счет повышения гликолитических процессов, а также и снижены процессы фосфорилирования с образованием макроэргических фосфатных связей, понижены и процессы ацетилирования и образования лимонной кислоты. Это было подтверждено в опытах Труфановым и Шароуховой (1953) над ацетилированием парааминобензойной кислоты *in vivo* и над синтезом лимонной кислоты и ацетилированием парааминобензойной кислоты гомогенатами печени *in vitro*. Крысы с привитой опухолью-саркомой очень слабо ацетилировали парааминобензойную и щавелевоуксусную кислоты по сравнению с здоровыми крысами. Таким образом, цикл Кребса в организме — носителя опухоли нарушен. Кроме того, нами указывалось, что процесс ацетилирования необходим для обезвреживания таких веществ, как бензойная кислота, сульфаниламидные соединения и гистамин. Все это указывает на большое значение коэнзима А в общем обмене веществ живого организма и чувствительность катализируемых им процессов к патологическим условиям.

Биологически активные производные пантотеновой кислоты

Из всех известных витаминов наибольшее количество производных получено от пантотеновой кислоты (табл. 46). Часть производных обладала свойствами, стимулирующими рост организмов, заменяя пантотеновую кислоту, другая часть оказалась биологически и неактивными соединениями, а остальные тормозили рост, и это торможение устранялось добавлением пантотеновой кислоты. Последняя группа соединений относилась к конкурентным тормозителям роста. Механизм их действия по общепринятой теории сводился к вытеснению пантотеновой кислоты из энзиматической системы, т. е. коэнзима А, или к торможению самого биосинтеза коэнзима А. Последнее было показано в опытах *in vitro* (Boxer, Shonk, Stoerk, 1955) на примере антагониста пантотенна, отличающегося от последнего только отсутствием в молекуле β -аланиновой

частицы, т. е. β -d-пантоиламиноэтанетиола (VIII). Оказалось, что соединение VIII тормозит как синтез коэнзима А из пантотенина, катализируемый соответствующей энзиматической системой, так и ацетилирующую активность самого коэнзима А в системе ацетилирования. Первое торможение можно считать некооперативным, так как отношение антагониста к пантотеину, необходимое для 50% торможения, с увеличением концентрации пантотенина падает с 1 : 4 до 1 : 30. Второе же торможение следует считать конкурентным, так как это отношение остается постоянным и равно 1 : 500 при любой концентрации коэнзима А. Подобное же конкурентное торможение этот антагонист вызывает в опытах *in vivo* с ростом крыс, которое устраняется пантотеновой кислотой в молекулярном отношении 1 : 150. По прошествии примерно 3 недель при отсутствии пантотеновой кислоты антагонист вызывает гибель животных.

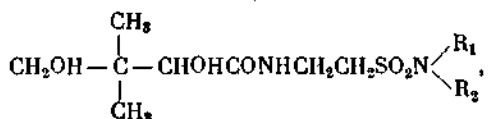
Установлено, что изменения в пантоиловой части молекулы пантотеновой кислоты обычно дает инертный или слабоактивный аналог, за исключением соединения ($N = \alpha$, γ -диокси- β , β -диметилвалерил)- β -аланина (XI) или ω -метилпантотеновой кислоты (Drell, Dunn, 1948). Изменения же в β -аланиновой половине дает всегда активный конкурентный тормозитель роста для организмов, требующих пантотеновую кислоту. Последнее, а также активность N-метилпантотеновой кислоты или α , γ -диокси- β , β -диметилбутирил- β' -N-метилаланида (XIII) (Lindsay, Chel-delin, 1950) указывает, что активность пантотеновой кислоты зависит в основном от ее β -аланиновой части и амидной связи β -аланина с пантоиловой половиной.

Введение 43 мг ω -метилпантотеновой кислоты в желточный мешок только что оплодотворенного яйца индейки вызывает повышенную смертность и продление периода первой максимальной смертности эмбриона в течение первых шести дней инкубации вместо четырех (Goetinck, Abbott, Kratzer, 1957). Выжившие эмбрионы отставали в развитии в основном нервной системы головного и спинного мозга; часто у них отсутствовал головной мозг или вся нервная структура при нормальном функционировании сердца. Также отмечалась пониженная пигментация глаз или отсутствие ее и ненормальный изгиб туловища эмбриона. Выжившие эмбрионы имели закрученные пальцы и тонкие ноги, лишенные мышц. Заметное влияние ω -метил-

пантотеновой кислоты на нервную систему говорит о значении пантотеновой кислоты в развитии и поддержании целостности нервной системы.

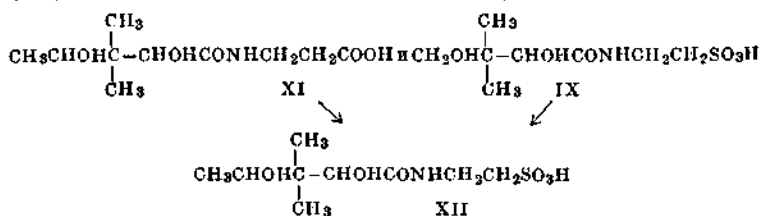
Резкие антагонистические свойства конкурентного тормозителя ω -метилпантотеновой кислоты (XI) указывают о возможном влиянии изменения стереоизомерной конфигурации (образование нового ассиметрического углеродного атома) на активность пантотеновой кислоты. Пантотеновая кислота проявляет большую структурную специфичность для своего физиологического действия. Ненатуральные оптические антиподы, т. е. сама L-пантотеновая кислота и ее производные, лишены активности на бактериях и крысах, за исключением оксипантотеновой кислоты [N-(α , γ -диокси- β -метил- β' -оксиметил-бутирил) β -аланина], все оптические изомеры которой обладали одинаковой активностью, примерно в 20 раз слабее пантотеновой кислоты.

В 1943 году был получен наиболее сильный антагонист пантотеновой кислоты для бактерий — пантоилтаурин (IX) или [N-(α , γ -диокси- β , β' -диметил-бутирил)-таурин], который отличался от пантотеновой кислоты тем, что карбоксильная группа у него была заменена сульфогруппой. Позднее было доказано, что последний сильно тормозит рост гемолитических стрептококков, нуждающихся в пантотеновой кислоте, и может быть применен как терапевтический агент на животных, зараженных летальной расой этих стрептококков. После этого появился ряд работ, описывающих приготовление других производных пантотеновой кислоты, обладавших той же антибактериальной активностью. Важное практическое значение нашли замещенные амиды пантоилтаурина — антигемолитические и антималярийные препараты, которые оказались гораздо эффективнее, чем пантоилтаурин. Последний не оказывал антималярийного действия на *Plasmodium gallinaceum*, замещенные же амиды пантоилтаурина показывали явную активность (Winterbotten a. oth., 1947). Из вышеуказанных замещенных наиболее активными оказались 4-хлорофенил-амидопантоилтаурин



где $R_1 = H$ и $R_2 = 4$ -хлорофенил или 3,5-дибромофенил. Первое соединение при пероральном введении было в четыре раза эффективнее хинина в качестве антималярийного препарата, а второе—в три раза активнее. Антималярийная и антигемолитическая активности указанных соединений устранялись дополнительным введением пантотеновой кислоты, что указывало на конкретную природу вызываемого ими торможения роста.

Вследствие различной способности микробов усваивать пантотеновую кислоту и осколки ее молекулы микробы различно реагируют и на производные пантотеновой кислоты. Тогда как *N*-метилпантотеновая кислота не активна к *Lactobacillus arabinosus* и к дрожжам, она обладает стимулирующими рост свойствами к *Acetobacter suboxydans*, активность указанной кислоты к последнему микроорганизму равна 5—18% таковой пантотеновой кислоты. Пантоилтаурин, обладая ростотормозящими свойствами к молочнокислым бактериям и дрожжам, стимулирует рост *Acetobacter suboxydans*. Это связано с тем, что *Acetobacter suboxydans* в отличие от других микроорганизмов синтезирует β -аланин и требует либо пантотеновую кислоту, либо ее пантоиловую половину. Наконец, производное пантотеновой кислоты, заключающее в себе γ -оксиметильную группу и в котором карбоксильная группа заменена сульфогруппой, т. е. одновременно характеризующее ω -метилпантотеновую кислоту (XI) и пантоилтаурин (IX) и названное ω -метилпантоилтаурином (XII),



вместо того чтобы усилить свои антагонистические свойства, по сравнению с указанными производными обладает слабыми свойствами угнетать рост *Lactobacillus casei* и *L. arabinosus* и, наоборот, стимулирует рост *Lactobacillus fermentii* и *Leuconostoc mesenteroides*. Это ослабление антагонистической активности ω -метилпантоилтаурина по сравнению с таковыми ω -метилпантотеновой кислоты и пантоилтаурина указывает, что ω -метилпантоилтау-

рин структурно является антагонистическим аналогом каждого из указанных антагонистов.

Аналоги пантотеновой кислоты с измененной пантотеновой частью ее молекулы (кроме ω -метилпантотеновой кислоты) обладали слабой биологической активностью на молочнокислых бактериях (см. табл. 46), а также гораздо более слабой биологической активностью, чем пантотеновая кислота на крысах. Из них наиболее активным оказалась оксипантотеновая кислота, отличающаяся от пантотеновой тем, что у первой одна метильная группа в β -положении заменена оксиметильной.

Из аналогов пантотеновой кислоты с измененной β -аланиновой частью особое внимание заслуживает dl-пантотенил-алкоголь (III) [α , γ -диокси-N (3-оксипропил) β , β -диметилбутирамид], который при испытании на крысах оказался примерно так же активен, как и сама dl-пантотеновая кислота. При испытании же на микроорганизмах *Leuconostoc mesenteroides* он оказался сильным тормозителем роста, которое снималось добавлением больших количеств пантотеновой кислоты. Возможно, что животный организм способен *in vivo* окислять пантотенил-алкоголь в соответствующую пантотеновую кислоту и тем самым обуславливать его активность, на что не способны микроорганизмы.

Приводим таблицу 46, в которой указана биологическая активность производных пантотеновой кислоты на микроорганизмы.

Пантотеновая недостаточность

Все симптомы пантотеновой недостаточности у животных можно разбить на шесть следующих основных групп.

1. Прекращение роста, потеря веса, коматозное состояние и внезапная смерть.

2. Повреждение кожи, шерсти или перьев.

3. Дегенеративные изменения миелиновой оболочки спинного мозга, задних корешков и седалищного нерва и связанные с этим нарушения координации движений.

4. Желудочно-кишечные симптомы. Диарея. Сильная рвота перед коллапсом. У крыс и свиней появление язв в кишечнике.

5. Торможение образования антител.

6. Повреждения надпочечных желез.

Сравнительная биологическая активность производных пантотеновой кислоты на разных микроорганизмах

№	Название соединения	Составные части		Индекс торможения (полного торможения)			Стимуляция роста. Какоя часть пантотеновой кислоты соответствует
		пантотеновая	аминокислота	Lactobacillus casei	L. arabinosus	Leuconostoc elliesii	
I	d-Пантотеновая кислота	α, γ -Диокси- β, β -диметилмасляная кислота	β -Аланин	—	—	—	1
II	l-Пантотеновая кислота	То же	*	—	—	—	0
III	dl-Пантотенил-алкоголь	α, γ -Диокси- β, β -диметилмасляная кислота	β -Аминопропионовый алкоголь	20 000	10 000	350	—
IV	dl-N-пантоил-л-пропиламин	То же	п-Пронилламин	10 000	7 500	5 000	—
V	dl-N-пантоил-п-бутиламин	*	п-Бутиламин	15 000	7 500	750	—
VI	dl-N-пантоил-п-амилламин	*	п-Амилламин	6 000	10 000	1 500	—
VII	dl-N-пантоил-изоамилламин	*	Изоамилламин	50 000	20 000	5 000	—

Продолжение

№	Название соединения	Составные части		Индекс торможения (полного торможения)			Стимуляция роста. Каков части пантотеновой кислоты соответствует
		пантотеновая	аминокислота	Lactobacillus casei	L. arabinosus	Leuconostoc enterococcus	
VIII	β -D-Пантолгамин	То же	β -Аминоэтанол	—	—	—	Тормозит рост крыс в отношении 1:150 (витамина к ингибитору)
IX	dl-N-пантол-таурин	α, γ -Диоксид- β -дигидрометилмасляная кислота	Таурин	40 000	1 000	250 000	—
X	dl-N-пантол-гомотаурин	То же	Гомотаурин	25 000	40 000	300 000	—
XI	dl-w-Метилпантотеновая кислота	α, γ -Диоксид- β -дигидрометилмасляная кислота	β -Аланин	450	3 000	3 500	—
XII	dl-w-Метилпантол-таурин	То же	Таурин	46 500	22 000	Стимуляция роста	—
XIII	dl-N-Метилпантотеновая кислота	α, γ -Диоксид- β -дигидрометилмасляная кислота	β -N-Метил-аланин	0	0	0	1/10 на крысах

№	Название соединения	Составные части		Индекс торможения (полного торможения)			Стимуляция роста. Качей части пантотеновой кислоты соответствует
		пантотеновая	аминокислота	Lactobacillus casei	L. arabinosus	Leuconostoc mesenteroides	
XIV	d1-Оксиантотеновая кислота	α-Окси-β-диоксиметилмасляная кислота	β-Аланин	—	—	—	1/20 на дрожжах 1/75 10 ⁻²
XV	d1-α-Метилантотеновая кислота	α,γ-Диокси-α-метилмасляная кислота	»	—	—	—	10 ⁻³ на дрожжах
XVI	d1-β-Метилантотеновая кислота	α,γ-Диокси-β-метилмасляная кислота	»	—	—	—	10 ⁻⁵ на дрожжах
XVII	d1-Деооксиантотеновая кислота	γ-Окси-β-β-диметилмасляная кислота	β-Аланин	—	—	—	10 ⁻⁴ на дрожжах
XVIII	d1-Гомоантотеновая кислота	βδ-Диокси-γ,γ-диметилвалерьяновая кислота	»	—	—	—	10 ⁻⁵ на дрожжах
XIX	d1-Дегидрогомонтеновая кислота	Δα,β,γ,γ-Диметил-σ-оксивалерьяновая кислота	»	—	—	—	10 ⁻⁵ на дрожжах
XX	d1-Биснордеоксипантотеновая кислота	γ-Оксимасляная кислота	»	—	—	—	10 ⁻⁵ на дрожжах
XXI	d1-Изонордиксипантотеновая кислота	γ-Оксивалерьяновая кислота	»	—	—	—	10 ⁻⁵ на дрожжах

Однако, за исключением повреждения надпочечников, все эти симптомы регулярно не обнаруживаются у всех животных и птиц на диете с недостатком пантотената.

У собак эти симптомы не наблюдаются и обычно пантотеновая недостаточность заканчивается истощением, коматозным состоянием и внезапной смертью. У растущих мышей и крыс уже по прошествии 1 недели на диете, лишенной пантотената, наступает прекращение роста, а взрослых животных требуется сравнительно долго содержать на указанной диете, чтобы вызвать потерю в весе и другие признаки недостаточности. На диете, лишенной пантотеновой кислоты, по прошествии 10 недель более чем у 50% взрослых крыс в двенадцатиперстной кишке обнаруживают язвы; крысы на той же диете с первых дней жизни оказывались крайне восприимчивыми к инфекциям и погибали прежде, чем у них появлялись язвы в двенадцатиперстной кишке (Zucker, Seronde, Zucker, 1954, 1955). У поросят после содержания в течение 2—4 недель на диете, лишенной пантотеновой кислоты, отмечалась тяжелая диарея, а через 4—7 недель—нарушение координации движений, если к этому времени они не гибли от коматозного состояния (Stothers a. oth., 1955). Эта декоординация движений связана с дегенеративными изменениями нервной системы.

Общепринято считать пантотеновую кислоту антидерматическим фактором в питании животных и птиц. При недостатке ее в диете у крыс и мышей отмечался шелушащийся дерматит. У птиц (Norris, Ringros, 1930) образовывались грубые перья, корковые и струпевидные повреждения в углах клюва и трещины в корковом эпителии между пальцами ног, отмечался так называемый дерматит птиц. Цыплята и индюшата с недостатком пантотеновой кислоты были слабыми и сидели на корточках. Глаза оставались закрытыми (Kratzer, Williams, 1948) (рис. 19).

Недостаточность пантотеновой кислоты у поросят. Из всех гиповитаминозов группы В (исключая недостаток витамина В₁₂) чаще всего поросята страдают от недостаточности пантотеновой кислоты. Это наблюдалось особенно часто, когда поросята-отъемыши получали рационы, состоящие на 80—86% из зерна, в основном кукурузного, и 6—16% соевой муки. В таких рационах содержание

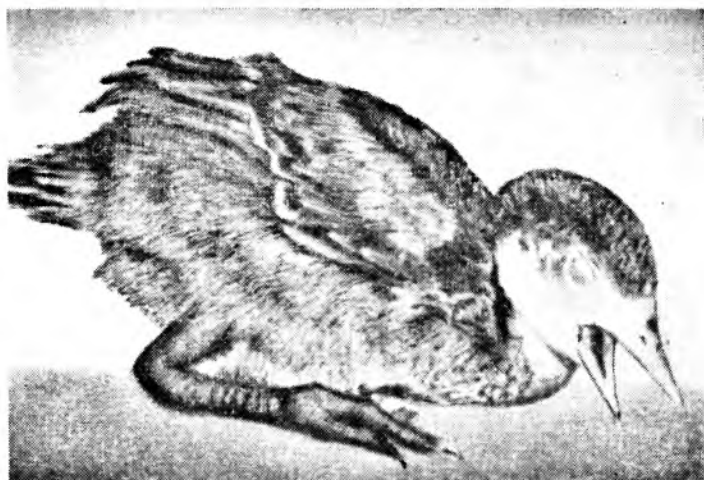


Рис. 19. Симптомы недостаточности пантотеновой кислоты у индошат.

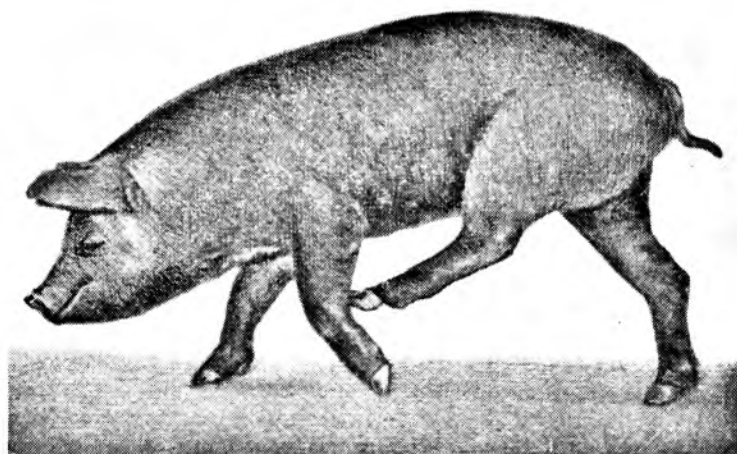


Рис. 20. Свинья при пантотеновой недостаточности.

пантотеновой кислоты колеблется от 6,8 до 9,2 мг на 1 кг, а потребность растущих поросят составляет 12,5 мг на 1 кг веса (см. стр. 294).

При указанных рационах у поросят вначале появляется диарея (на 3-й неделе откорма), а затем на 8-й неделе—нарушение координации движений (рис. 20). Мак Кигней с сотрудниками (Mc Kigney a. oth., 1957), применяя рацион, состоящий из 82% муки желтой кукурузы, 16% соевой муки, 1% известн., 0,5% костной муки и 0,5% солей с содержанием 0,8 мг пантотеновой кислоты в 1 кг рациона, обнаружил по прошествии 4 недель у 8 поросят из 9 тяжелую диарею (понос) с воспалением толстой кишки и выделением крови в кал. По прошествии 7—8 недель содержания поросят на таком рационе у них начиналась хромота задних конечностей—«гусиная походка».

Содержание пантотеновой кислоты в печени таких поросят падало с 2,6 мг до 1,5 мг на 100 г. Введение в указанный рацион 13,5 мг пантотеновой кислоты на 1 кг корма повышает ежедневный привес поросят по прошествии 6 недель опыта с 427 до 500 г, оплату корма и предупреждает все указанные симптомы. Подобные же опыты проводил Люкке с сотрудниками (Luecke, Thorp, Mc Millen, Dunne, 1949; Luecke, Hoefer, Thorp, 1953).

Результаты посмертного вскрытия поросят, страдавших декоординацией движений, обнаружили дегенеративные изменения миалиновой оболочки с вакуолями сепалищного нерва (Luccke a. oth., 1949).

Синтетическая диета, лишенная пантотеновой кислоты, вызывает у растущих поросят более полный комплекс симптомов, описанных рядом исследователей, в том числе Визе с сотрудниками (Wiese, Lehrer a. oth., 1951). Эти симптомы по прошествии 30 дней содержания поросят на такой диете следующие: плохой рост, потеря аппетита, понос, слезотечение, дерматит, кашель, потеря сосательного рефлекса, темно-коричневый эксудат вокруг глаз, «гусиный шаг», алоpecia и пониженное выделение пантотеновой кислоты с мочой.

Ежедневное введение таким поросятам 10—20 мг пантотеновой кислоты полностью излечивает их от всех указанных симптомов, тогда как введение 1 мг только улучшает аппетит, рост и прекращает кашель.

Физиологическое значение пантотеновой кислоты

Связь с эндокринной системой. Давно известно, что при пантотеновой недостаточности возникает геморрагия, атрофия и некроз надпочечников. Указывалось (Grapados, 1953, Verzar, 1954), что добавление пантотеновой кислоты удлиняет жизнь адреноэктомированных крыс при наличии в их диете всех остальных витаминов В и жира. Это становится очевидным, поскольку коэнзим А тесно связан с жировым обменом. Гистохимические исследования (Morgan, 1951) коры надпочечников в ранних стадиях пантотеновой недостаточности показали прогрессирующее понижение содержания кетостероидов (C_{11} -стерина и других) в зоне фасцикулята, тогда как зона *Glomerulosa* оставалась неизменной. По прошествии 12-й недели на авитаминозной диете геморрагия и некроз отмечались в обеих зонах, а к концу 6-й недели зона фасцикулята была совершенно лишена гормона. Это обстоятельство объясняет процесс поседения при пантотеновой недостаточности, если допустить, что для нормальной пигментации волос или перьев необходимо сбалансированное образование в коре надпочечников двух гормонов (Dean, Mc Kibbin, 1946): C_{11} -окисленного стерина, стимулирующего пигментацию, и дезоксикортикостерина, тормозящего ее. Отсутствие пантотеновой кислоты в диете понижает содержание коэнзима А в тканях, а вследствие этого, как мы видели, и процесс образования стероидов. В ранних стадиях пантотеновой недостаточности нарушается в первую очередь образование стимулирующего пигментацию кетостеринового гормона C_{11} -стерина в зоне фасцикулята, тогда как дезоксикортикостерин, тормозящий пигментацию и образующийся в зоне *Glomerulosa*, еще вырабатывается.

Понижение содержания коэнзима А в организме при пантотеновой недостаточности приводит к нарушению образования и других стероидных гормонов. Было установлено нарушение образования глюконеогенного гормона, что указывало на неспособность животных с пантотеновой недостаточностью повышать до нормы содержание гликогена в печени и сахара в крови и особенно подвергнутых аноксии (Hurley, Morgan, 1952). Однако падение содержания холестерина в надпочечниках при недостатке пантотеновой кислоты было сравнительно небольшим

и совсем отсутствовало у этих животных, подвергнутых 24-часовой аноксии (разряжению при высоте в 20 000 футов), по сравнению с животными, получавшими пантотеновую кислоту (Hurley, Mac Kenzie, 1954).

Кроме того, при казенно-сахарной диете с недостатком пантотеновой кислоты и с антагонистом— α -метилпантотеновой кислотой в количестве 1 мг на 100 г диеты у взрослых крыс по прошествии 7 недель опыта удалось выявить снижение холестерина в надпочечниках с 6,8—7 до 3,2—1,2% к влажному весу, тогда как в печени, селезенке и легком оно не менялось (Osborn *et al.*, 1958).

Поскольку адренокортикотропин передних долей гипофиза стимулирует надпочечники к выработке глюкокортикоидов и других гормонов, возник вопрос, не нарушено ли образование адренокортикотропина. Однако содержание адренокортикотропина в гипофизе и крови как у животных на полноценной диете, так и у лишенных пантотеновой кислоты указывает на отсутствие у последних повреждений в передней доле гипофиза и связи гипофиз—надпочечная железа (Butler, Morgan, 1955). Однако независимо от повреждения надпочечников при пантотеновой недостаточности введение ростового гормона передней доли гипофиза не только не стимулировало рост, но даже угнетало последний (Bear, Beaton, Mc Henry, 1954). Способность ростового гормона удерживать азот, т. е. повышать положительный N-баланс, также резко понижалась при пантотеновой недостаточности (Hazelwood, Bennett, Nelson, 1955). Ранее было найдено подобное же действие ростового гормона, усугубляющее недостаточности и других витаминов: витамина А (Ershoff, Denel, 1945), пиридоксина (Beare, Beaton, Stith, Mc. Henry, 1953) и холина (Hall, Bieri, 1953). Рост животных связан с содержанием коэнзима А. Так, содержание коэнзима А в печени молодых растущих крыс примерно в 1,5 раза выше, чем в печени взрослых половозрелых. При введении ростового гормона взрослым крысам содержание коэнзима А в их печени повышается примерно на 20%, а у гипофизэктомизированных растущих крыс содержание коэнзима А примерно на столько же понижается (Bartlett, Grimmett, Beers, Shelata, 1955). Указывалось (Abelin, 1946), что пантотеновая кислота ослабляет токсическое действие больших доз тироксина. Тироксин понижает содержание жира и холестерина в печени крыс

с пантотеновой недостаточностью, наоборот, удаление щитовидной железы вызывало ожирение печени у вышеуказанных животных (Cargill, Morgan, 1955). Таким образом, щитовидная железа при недостатке пантотеновой кислоты регулирует жировой обмен.

Факторы, определяющие насыщенность пантотеновой кислотой. Степень недостаточности пантотеновой кислоты находится в зависимости от содержания коэнзима А в организме, а последнее определяется способностью животного *in vivo* ацетилировать сульфаниламид. Действительно, определение в часовых пробах мочи ацетилированного сульфаниламида после введения определенной дозы его показало характерную форму кривой, которая изменяется (уменьшается) по мере развития пантотеновой недостаточности и независимо от возраста животного (Zucker a. oth., 1955). Однако в некоторых патологических условиях, например у крыс с привитой опухолью саркомы, как показали исследования Труфанова и Шароуховой (1953), ацетилирование сульфаниламида *in vivo* падает даже в условиях полноценной диеты. Возможно, что в этих условиях нарушен либо биосинтез коэнзима А из пантотеновой кислоты, либо сам процесс ацетилирования и поэтому он не может служить показателем насыщенности организма пантотеновой кислотой.

Насыщенность организма пантотеновой кислотой может быть также определена по степени экскреции ее с мочой. Суточная экскреция пантотеновой кислоты человеком среднего возраста составляет 4—14 мг (Abderhalden, 1946), 1,46—6,97 мг (Bicknell, Prescott, 1946), 0,67—1,07 мг (Gounelle, Richet, 1957) и в среднем 4,5 мг (Schmidt, 1950). При понижении этой величины экскреции следует считать, что организм терпит недостаточность в пантотеновой кислоте. У пожилых людей экскреция пантотеновой кислоты несколько понижена по сравнению с молодыми. После пероральной нагрузки 100 мг пантотеновой кислоты концентрация ее в моче человека среднего возраста и количество, выделяемое с мочой, достигает максимума к 4-му часу после введения, превышая исходное в 10—50 раз (Gounelle, Richet, 1957).

Лошадь и кролик выделяют пантотеновой кислоты с мочой тем больше, чем выше введенная доза. Ежедневное потребление с пищей 150 мг пантотеновой кислоты на 1 кг веса тела вызывает выделение с мочой 41% всей введен-

ной пантотеновой кислоты, а ежедневное потребление 38 мг на 1 кг веса тела понижает выделение ее до 12,7% (Pearson, Schmidt, 1948).

Действие пантотеновой недостаточности на размножение. Пантотеновая кислота особенно большое значение имеет для размножения животных. Это было доказано (Ullrey, Becker, Terrill, Notzold, 1954) на свиньях, получавших в течение одного месяца корма, лишенные пантотеновой кислоты, а затем после спаривания в рацион ввели от 1 до 5 мг этого витамина на 1 кг кормов. Поросята рождались либо инфантильные (при 1 мг), либо на 3-й день жизни у них обнаруживались симптомы пантотеновой недостаточности (при 5 мг) и повышенное содержание пировиноградной кислоты в крови. При содержании на рационе с меньшим количеством пантотеновой кислоты, чем 1 мг/1 кг, свиньи совсем не поросились.

От содержания пантотеновой кислоты в организме крыс-матерей зависит концентрация пантотеновой кислоты в крови и тканях новорожденных (Everson, Northrop, Chung, Getty, Pudelskewicz, 1954). Это видно из данных, представленных в таблице 47.

В теле матерей, не получавших пантотеновой кислоты, содержание ее падает на 35% по сравнению с контролями, в теле новорожденных от таких же матерей оно падает в 5,5 раза. Повышение содержания пировиноградной кислоты, отмеченное также и у крысят, происходит за счет пониженного использования ацетата (полученного при декарбоксилировании пировиноградной кислоты) ко-энзимом А, вследствие недостатка в последнем при пантотеновой недостаточности.

Содержание новорожденных животных в течение 4 недель на кормах, лишенных пантотеновой кислоты, а затем на кормах с недостаточным количеством ее вызывает у самцов глубокие нарушения в семенниках с потерей оплодотворяющей способности, а у самок пониженную оплодотворяемость, рассасывание плодов, уродства и задержку развития новорожденных без заметных гистологических изменений в яичниках (Barboriak a. oth., 1957).

Индеек, питавшихся прогретыми кормами, лишенными пантотеновой кислоты, с добавкой 2,8—3,5 мг пантотеновой кислоты на 1 кг корма, несли яйца, в которых развивались ненормальные эмбрионы (Kratzer, Davis, Marshall, Williams, 1955). При введении в указанный

Таблица 47

Содержание пантотеновой кислоты в крови и тканях новорожденных крыс и их матерей, получавших различные дозы пантотеновой кислоты

Диета матерей	Число крыс в помете	Вес новорожденных (в г)	Содержание пантотеновой кислоты в тканях (мкг/г)			Содержание пантотеновой кислоты в крови новорожденных	Содержание пантотеновой кислоты в крови новорожденных
			в печени матерей	в теле матерей	в теле новорожденных		
			мкг на 100 мл				
Натуральная, с содержанием ежедневно 450—600 мкг пантотената-Са	11	5,2	67,8	7,5	38,9	450	1,04
Синтетическая, лишенная пантотената-Са . .	4	3,7	40,7	4,4	6,7	295	2,79
Синтетическая + 100 мкг пантотената-Са ежедневно . .	7	4,6	54,6	5,5	15,8	502	—
Синтетическая + 1 мг пантотената-Са ежедневно	8	5,1	72,1	9,1	72,1	2204	1,63

рацион индеек 7,2—7,7 мг пантотеновой кислоты на 1 кг они также клали яйца с ненормальными эмбрионами. Однако такие случаи были гораздо реже и выживаемость эмбрионов гораздо выше. При содержании 16 мг пантотеновой кислоты на 1 кг рациона яйценоскость и выводимость были наилучшими, ненормально развивающихся эмбрионов не было, а выживаемость цыплят была максимальной. Но для лучшего роста индеек необходимо несколько меньшее содержание пантотеновой кислоты в рационе, именно—14,3 мг/кг.

Содержание пантотеновой кислоты в молоке. Пантотеновая кислота переходит в молоко и тем в большем количестве, чем организм более насыщен ею.

В молозиве пантотеновой кислоты всегда меньше, чем в молоке (табл. 48). Содержание пантотеновой кислоты

**Содержание пантотеновой кислоты в молоке в разные
периоды лактации**

Молоко	Продолжитель- ность лактации	Содержание панто- теновой кислоты (в мкг/100 мл)	
		при обыч- ном ра- ционе	при ра- ционе, богатом витами- нами
Женское (Pratt, Hamil, Mo- yer, Kancher, 1951)	От 58 до 76	239	245
	От 76 до 90	255,5	263
	От 204 до 263	234	238
	От 1 до 2	100	
Женское (Schmidt, 1950)	От 10 до 20	200—300	
Коровье (Schmidt, 1950)	—	170—460	
Коровье (Pearson, Darnell, 1946)	1—4 (молозиво)	224	
	На 5-й день	405	
	После 30 дня	367—382	
Овечье (Pearson, Darnell, 1946)	1—4 (молозиво)	262	
	На 5-й день	366	
Свиное (Davis, Heidebrecht, Mac Vicar, Ross, Whitehair, 1951)	1—4 (молозиво)	70	
	На 5-й день	190	
	На 15-й »	290	
	На 55-й »	540	

в молоке зависит от содержания ее в кормах, но не от сезонности.

**Взаимосвязь пантотеновой кислоты с другими витами-
нами.** Добавление витамина B_{12} к диете, лишенной панто-
тепата, усугубляет симптомы недостатка последнего
(Welch, Couch, 1954). Это происходит, вероятно, вследст-
вие понижения содержания коэнзима А, так как при не-
достатке витамина B_{12} содержание коэнзима А повышает-
ся как в печени, так и в почках (Boxer, Shonk, Gilfillan,
Emerson, Oginsky, 1955). При повышении содержания
пантотеновой кислоты в диете отложение витамина B_{12}
в печени повышается. Поэтому пантотеновая кислота об-
ладает экономизирующим действием в отношении вита-
мина B_{12} , тогда как последний не экономизирует панто-
теновую кислоту, но повышает потребность в ней.

Противоположно витамину B_{12} действует аскорбино-
вая кислота на крыс с пантотеновой недостаточностью.

В 2%-ной концентрации в диете она понижает тяжесть симптомов пантотеновой недостаточности, благоприятствует размножению и повышает содержание пантотеновой кислоты как в органах матерей, так и новорожденных (Everson, Northrop, Chung, Getty, 1954). Это действие аскорбиновой кислоты, вероятно, связано со способностью поддерживать коэнзим А в активной тиольной форме.

Недостаток фолиевой кислоты, вызванный соответствующей диетой или аптагонистом ее—аминоптерином, понижает содержание коэнзима А в печени как крыс, так и цыплят вследствие торможения синтеза этого коэнзима (Porr, Shukers, Dinning, Day, 1952, 1954).

Действие на иммунитет. Мы уже указывали, что у молодых крыс с пантотеновой недостаточностью повышается восприимчивость к инфекциям. Оказывается, при пантотеновой недостаточности нарушается образование антител (Axelrod, Carter, Mc Coy, Geisinger, 1947, 1951, 1953), а вследствие этого понижаются и иммунные свойства организма.

Селезенка иммунизированных крыс с пантотеновой недостаточностью, культивируемая *in vitro*, обладала гораздо более низкой способностью образовывать антитела по сравнению с селезенкой здоровых иммунизированных крыс (Axelrod, Pruzansky, 1955). Такое же нарушение в образовании антител происходит также и при недостатке других витаминов, как-то: рибофлавина, пиридоксина, биотина и птеройлглутаминовой (фолиевой) кислоты (Axelrod, Pruzansky, 1955). Эти витамины, так же как и пантотеновая кислота, связаны с многочисленными ферментическими системами, участвующими в белковом обмене и синтезе белка, а следовательно и в образовании антител.

Потребность в пантотеновой кислоте

Пантотеновая кислота находится во многих пищевых продуктах. О потребности в ней человека можно судить по минимальной нагрузочной дозе. Установлено (Schmidt, 1950), что доза в 25 мг пантотеновой кислоты повышает экскрецию ее с мочой у человека среднего возраста, равную 4,5 мг, что указывает на близость ее к дозе, удовлетворяющей минимальную суточную потребность в пантотеновой кислоте человека.

Минимальная суточная потребность в пантотеновой кислоте крыс составляет 100 мкг (Веселкина, 1947). При этом с увеличением возраста крыс эта потребность падает до 25 мкг, но с повышением содержания белка в диете (в противоположность другим витаминам) экскреция пантотеновой кислоты повышается (Nelson, van Nonhuys, Evans, 1947), а следовательно повышается и потребность в ней.

По последним данным, минимальная суточная потребность крыс в пантотеновой кислоте для нормального размножения и беременности равна 50 мкг (Lefebvres, 1955) или 0,4 мг на 100 г диеты (Barboriak a. oth., 1957).

Пребывание в течение 3—5 недель на диете, лишенной пантотеновой кислоты, повышает примерно в четыре раза потребность в ней у животных в течение следующего 7-недельного периода питания полноценными кормами (Barboriak a. oth., 1958).

Потребность мышей в пантотеновой кислоте колеблется в зависимости от расы (Fenton a. oth., 1950). Так, для мышей расы C_{57} требуется 600 мкг пантотената на 100 г диеты, а мышам расы $C_{3}H$ требуются 800 мкг на 100 г диеты.

Минимальная потребность цыплят в пантотеновой кислоте составляет 900 мкг (Hegsted, Riggs, 1949) на 100 г кормов, индюшатам и утятам требуется несколько большее количество: соответственно 970—1170 мкг и 1100 мкг на 100 г корма. Кратцер (Kratzer, Williams, 1948) указывает, что для оптимального роста индюшат необходимо 1050 мкг пантотеновой кислоты на 100 г кормов. Следует отметить, что связанная пантотеновая кислота в форме коэнзима А, которая составляет в кормах большую часть общей пантотеновой кислоты, усваивается организмом птицы только частично. Поэтому в практике кормления следует учитывать это и давать пантотеновой кислоты несколько больше.

Для наилучшей выводимости яиц минимальная потребность индеек составляет 16 мг пантотеновой кислоты на 1 кг корма (Kratzer, Davis, Marshall, Williams, 1955). Выживаемость индюшат и содержание пантотеновой кислоты в яйцах прямо пропорционально содержанию ее в рационе индеек. Когда в 1 кг кормов содержится 16 мг пантотеновой кислоты, то содержание ее в яйцах составляет около 11 мкг на 1 г.

Для оптимального роста поросятам требуется 12,5 мг пантотеновой кислоты на 1 кг сухого веса корма (Stothers, Schmidt, Johnston, Hoefler, Luecke, 1955), а взрослым свиньям для нормального размножения нужно 12,2 мг пантотеновой кислоты на 1 кг корма сырого веса (Ullrey, Becker, Terrill, Notzold, 1954).

Потребность лошадей в пантотеновой кислоте составляет ежедневно 38 мг на 1 кг веса тела или 3,2 мг на 1 кг корма (Pearson, Schmidt, 1948).

Глава 7

БИОТИН (витамин Н)

В 1871 году Пастер показал, что дрожжи могут нормально развиваться на искусственной питательной среде, состоящей из золы от сжигания дрожжей, аммониевых солей и сахара.

В том же году Либих доказал, что развитие дрожжей также происходит при замене прививаемых дрожжей мясным экстрактом.

Через 30 лет после этого открытия наличие каких-то питательных веществ, необходимых для роста дрожжей, было экспериментально доказано Вильдье (Wildiers, 1901), и эти вещества были названы биосом. Исследование природы биоса показало, что это вещество неоднородное и состоит из нескольких фракций. Фракция биоса, осаждаемая основным уксуснокислым свинцом или спиртовым раствором барита (биос I), была в 1928 году идентифицирована с инозитом, выделенным из чая. Фракция биоса, не осаждаемая вышеуказанными реактивами, была, в свою очередь, фракционирована на две: адсорбируемую углем—биос II и неадсорбируемую углем—биос III. Биосу II Кегль (Köge, 1935; Köge, Tonnis, 1936) предложил название биотина. 1 мг биотина был им выделен из 200 кг сухого яичного желтка и способствовал росту 25 кг дрожжей.

Одновременно с этим изучение биотина шло и по двум другим направлениям.

Изучался стимулятор роста клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum*, фиксирующих азот на корнях бобовых растений. Оказалось, что этот фактор роста *Rhizobium* присутствовал в экстрактах дрожжей, многих растениях и в культурах *Azotobacter*, сильно сти-

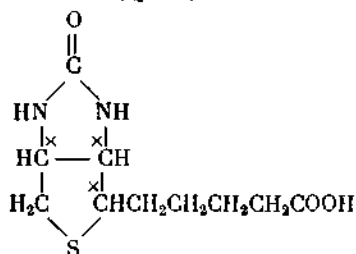
мулировал дыхание бактерий и был назван коэнзимом R или коэнзимом дыхания. В 1939 году было показано, что это вещество сравнительно низкого молекулярного веса, термоустойчивое и идентично с биотином (Hilsson, Bjälfve, Burstrom, 1939; West, Wilson, 1939).

Наконец, давно известно (Bateman, 1916), что введение в диету яичного белка в качестве единственного или доминирующего источника протеина вызывало у крыс уже по прошествии 2—3 недель токсические явления (описаны в разделе на стр. 321), устранявшиеся введением в диету яичного желтка, молока, печени или дрожжей. Другие животные: собаки, кролики, цыплята, утята и т. д. и человек—также чувствительны к яичному белку. Исследование токсического агента, содержащегося в яичном белке показало, что он является термолабильным веществом протеиновой природы—авидином. Фактором же, нейтрализующим токсическое вещество яичного белка, особенно богаты печень, почки и дрожжи. Это вещество было названо витамином H (от первой буквы немецкого слова Haut—кожа, так как отсутствие его вызывало заболевания кожи) (György, 1931).

В дрожжах и печени витамин H в основном находится в связанном состоянии и может быть освобожден автолизом, протеолитическим перевариванием или автоклавированием с кислотой. В 1939 г. (Gyorgy, 1939) удалось сильно сконцентрировать этот витамин (до ежедневной крысиной дозы = 30 мг). Изолирование этого вещества и изучение его физико-химических свойств (Gyorgy, 1940). доказали полную идентичность его с биотином и коэнзимом R.

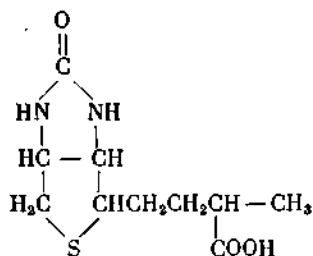
Выделение кристаллического высокоактивного биотина в виде метилового эфира из печени с активностью 27 000 ед. в 1 мг (по испытанию на дрожжах), позволило установить его элементарный состав $C_{11}H_{18}O_6N_2S$. Свободный биотин был получен путем омыления этого эфира щелочью на холоду (Gyorgy, Rose, Hofmann, Melville, Du Vigneaud, 1940; DuVigneaud, Hofmann, Melville, 1941) с элементарным составом $C_{10}H_{16}O_5N_2S$. На основании изучения продуктов распада биотин оказался 2-кето-3,4-имидазелидо-2-тетрагидро-тиофен-п-валерьяновой кислотой (DuVigneaud, Hofmann, Melville, 1942). Структура его была подтверждена синтезом, выполненным в 1943 году Гаррисом (Harris a. oth., 1943; 1944).

Строение биотина следующее:



β -Биотин

Эта структура относится к β -биотину, выделенному из печени и молока, α -биотин, выделенный из желтков куриных яиц, имеет другую конфигурацию, отличающуюся только изостроением боковой цепи (Безр, 1946).



α -Биотин

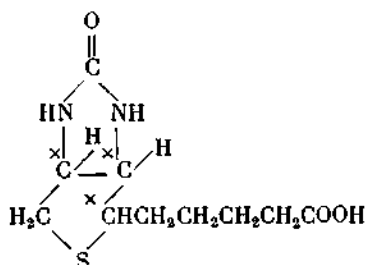
Оба биотина имеют одинаковую биологическую активность, но различаются по физико-химическим свойствам.

Физико-химические свойства и химические превращения

Биотин—гетероциклическое соединение, молекула которого состоит из конденсированных тиафанового и глиоксалидонового колец с присоединенной боковой цепью п-валерьяновой кислоты. В молекуле биотина имеется как *cis-trans*, так и оптическая изомерия. Вследствие наличия трех асимметрических атомов углерода, обозначенных звездочками, теоретически возможны четыре рацемических формы биотина. Из этих четырех рацемических форм, три формы были получены синтетически (Harris a. oth., 1945; Grussner, Bourguin, Schnider, 1946) и названы *dl*-биотином, *dl*-аллобиотином и *dl*-эпналлобиотином. *dl*-Биотин был *cis*-конфигурации с температурой

плавления 232° и обладал 50% биологической активности естественного биотина. dl-Аллобиотин и dl-эпиаллобиотин обладали трансконфигурацией и оказались биологически неактивными, при этом первый давал кристаллы с температурой плавления $194-196^{\circ}$, а второй—кристаллы, которые постепенно разлагались при нагревании выше 195° без заметного плавления.

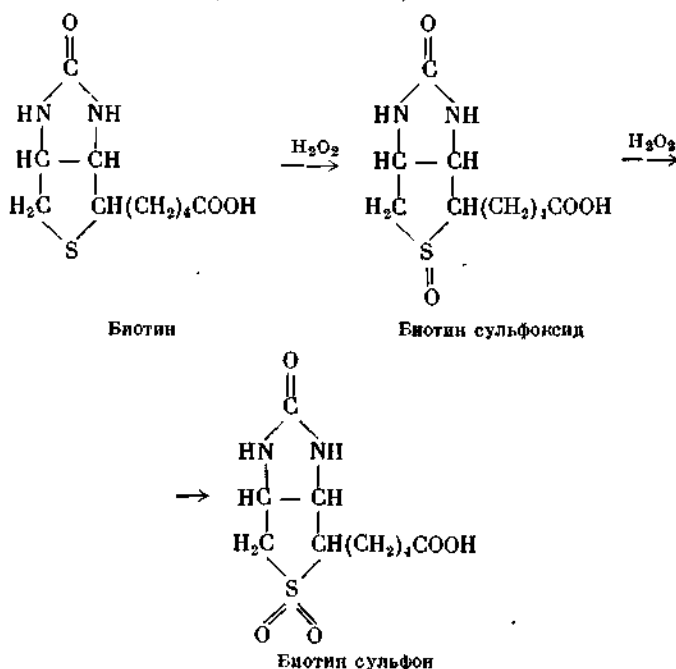
Природный биотин, выделенный из печени или молока, является d, β -биотином cis-конфигурации, пространственно его можно изобразить следующим образом:



Если представить тиафановое кольцо с боковой цепью молекулы d, β -биотина в плоскости чертежа, то оба атома водорода у углеродов, отмеченных крестиками, будут направлены вверх, а мочевинное кольцо—вниз от плоскости чертежа. Это вещество хорошо растворимо в воде и спирте. Кристаллизуется из воды в виде длинных тонких бесцветных игл с температурой плавления 232° и имеет удельное вращение $[\alpha]_D^{25} = +91$ (в $\frac{1}{10}$ N растворе едкого натрия). В отличие от β -биотина, α -биотин, выделенный из яичных желтков, плавится при 220° с удельным вращением $[\alpha]_D^{25} = +51$. Метилловые эфиры обоих биотинов также имеют различную точку плавления: метиловый эфир β -биотина плавится при 164° , а α -биотина при 161° . d, β -Биотин термостабилен и устойчив к окислению кислородом воздуха. Однако кипячение с HNO_3 , HCl и H_2O_2 разрушает биотин. Автоклавирование d, β -биотина с соляной кислотой вызывает почти полную потерю активности к *Lactobacillus casei* и *Str. faecalis* и примерно 50% к *Lactobacillus arabinosus* и *Saccharomyces cerevisiae*. Это различие активностей объясняется тем, что смесь d- и l- β -биотин сульфоксидов и биотин сульфонов—продуктов, полученных в результате действия соляной кислоты на d,

β -биотин, будучи неактивной к первым двум микроорганизмам, активны в своих d-формах к последним двум организмам (Axelrod, Hofmann, 1950).

Окисление биотина перекисью водорода идет согласно следующей схеме (Melville, 1954):

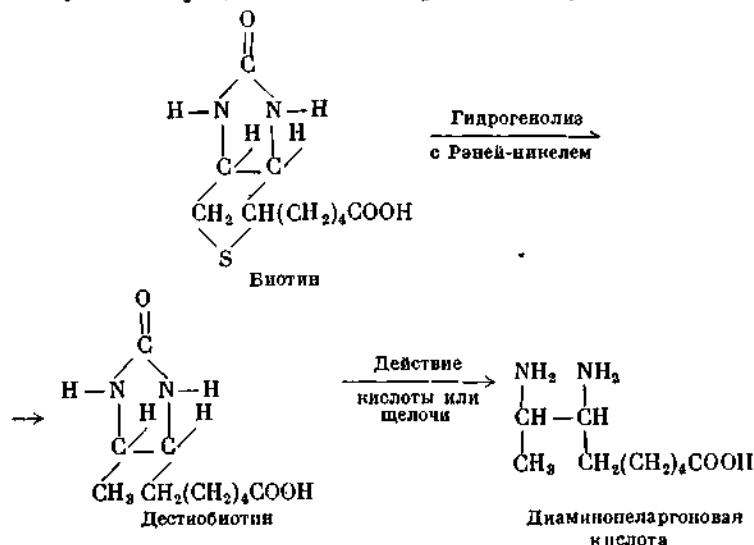


Таким образом, биотин сульфоксид является промежуточным продуктом окисления биотина и может быть получен окислением биотина в уксуснокислой среде эквимольным количеством перекиси водорода. При этом образуются две диастериоизомерные формы сульфоксида в зависимости от положения атома кислорода, присоединенного к атому серы в молекуле биотина. Атом кислорода, расположенный вверх от плоскости тиафанового кольца, дает d-биотин d-сульфоксид, а вниз — d-биотин l-сульфоксид (Melville, 1954). Оба сульфоксида отличаются по своим физико-химическим и биологическим свойствам. d-Биотин d-сульфоксид плавится при 200—203° и имеет удельное вращение +130° в 0,1 N NaOH, а d-биотин l-сульфоксид при 243—247° и —40° в том же растворителе.

Оба сульфоксида встречаются в природе. d-Биотин d-сульфоксид был выделен из молока (Melville, 1954), а d-биотин l-сульфоксид—из фильтрата культуры *Aspergillus niger* (Wright, Cresson a. oth., 1954). Нагревание в 1N растворе едкого калия при 120° в течение 17 часов разрушает 40—60% биотина, тогда как к автоклавированию в 1N растворе серной кислоты биотин устойчив (Axelrod, Hofmann, 1950). Освещение видимыми ультрафиолетовыми лучами не оказывает влияния на биотин.

При длительном автоклавировании (при 130° в крепком едком барии) происходит разрыв мочевинового (глиоксилидонового) кольца в молекуле биотина и образуется диаминофурокарбоновая кислота. При испытании биологической активности этой кислоты на дрожжах оказалось, что она обладала только 10% всей активности биотина. Одновременное добавление авидина не понижало активности диаминнокислоты. Это указывает, что авидин присоединяется к биотину при помощи мочевинового кольца.

При щелочном гидрогенолизе биотина в присутствии катализатора (Рэней-никеля) тиофановое кольцо в молекуле биотина расщепляется и получается дестинбиотин (Melville, 1942, 1943, 1944). Последний при обработке крепкой кислотой или щелочью дает диаминопеларгоновую кислоту. Весь процесс можно изобразить следующей схемой:

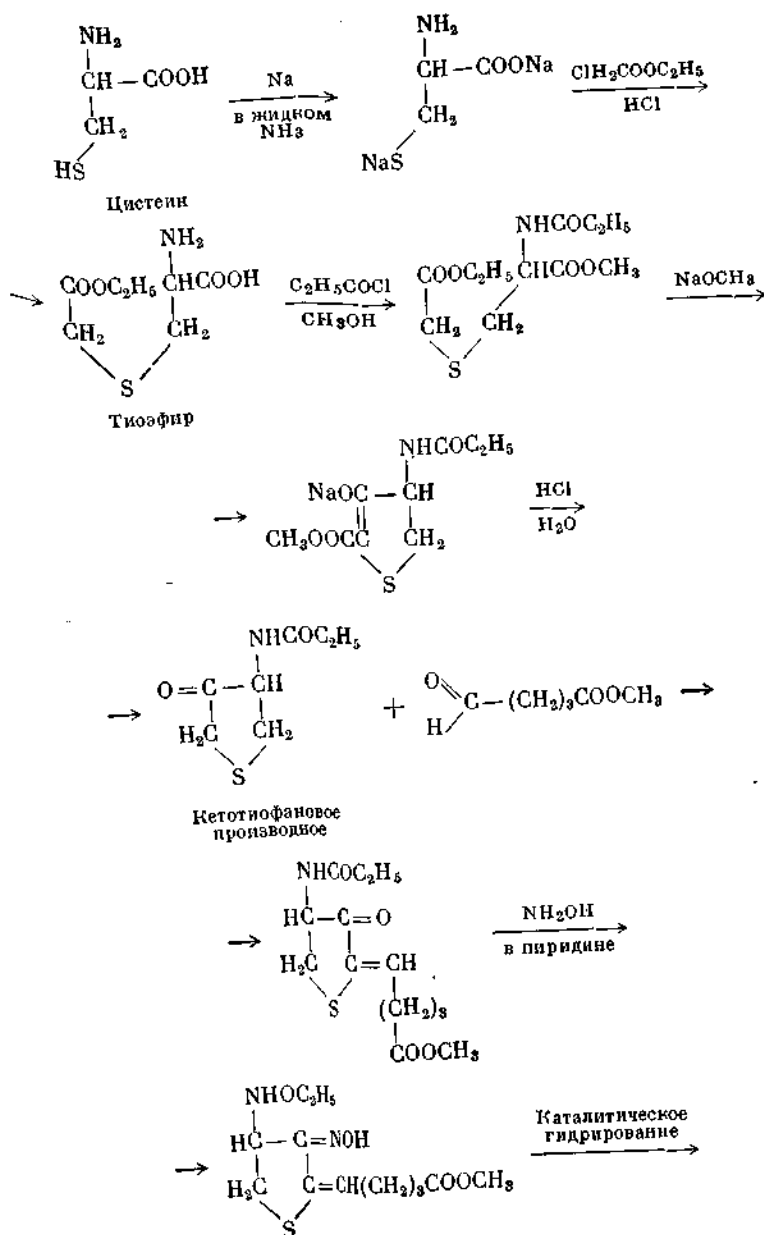


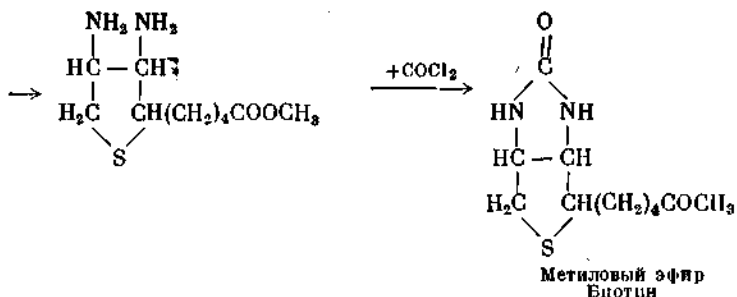
Дестиобиотин, обладая той же биологической активностью к дрожжам, что и биотин (т. е. в концентрации 1:400 000 000 000), оказался неактивным при испытании на *Lactobacillus casei* (Tatum, 1945; Stokes, Gunnes, 1945). Очевидно, дрожжи в своих клетках превращают дестиобиотин в биотин. Это превращение доказывается исчезновением дестиобиотина и повышением активности к *L. casei* дрожжей, выросших на среде, лишенной биотина, но содержащей дестиобиотин. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* сначала медленно растут на синтетической среде, содержащей вместо биотина дестиобиотин, а затем приспосабливаются к среде и их рост повышается до нормального. Добавление авидина устраняет биотинную активность дестиобиотина к дрожжам, что подтверждает присоединение биотина к авидину через мочевиное кольцо.

Крайняя чувствительность к авидину дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и других микроорганизмов, требующих биотин, указывает на прочность авидин-биотинного комплекса и неспособность его к диссоциации. Однако такое объяснение термодинамически является несправедливым и поэтому должно существовать какое-то равновесие между реакцией биотина с авидином. Изучение этой реакции с биотином, меченным радиоактивным углеродом C^{14} в мочевином кольце и чистым авидином, показало, что она обратима и имеет хотя и низкую, но ясную константу диссоциации $K = \frac{(A) \cdot (B)^2}{(AB_2)} = 0,6 \times 10^{-21}$ при 25° в 0,2 М карбонате аммония (Launer, Fraenkel—Conrat, 1951). Диссоциация увеличивается с повышением температуры. На это указывает также способность животных расщеплять авидин—биотинный комплекс. После введения крысам радиоактивного биотина вместе с авидином они в течение 3—5 дней выделяют с мочой примерно 50% всего введенного радиоактивного биотина в свободной форме (Hofmann, 1945).

Синтез биотина

Приводим схему синтеза биотина с построением кето-тиофанового производного, по данным швейцарских химиков (Schnider, Bourquin, Grüssner, 1945). Присоединение боковой цепи указано по данным Харриса (Harris a. oth., 1944).





Вследствие того что синтез биотина весьма сложен и длителен, Родионовым в 1945 году был разработан довольно простой способ приготовления биологически активного аналога дестинбиотина—гексилглиоксилидона. Последний отличался от дестинбиотина отсутствием метильной группы у углеродного атома в мочевином кольце и заменой карбоксилата в боковой цепи метилом. Это производное, по данным испытания на дрожжах, проведенных Мейселем (1949), показало примерно такую же активность, как и дестинбиотин. Очевидно, дрожжи способны превращать его в биотин.

В практике гораздо выгоднее получать более простым методом гексилглиоксилидон и вводить его в дрожжевую среду, чем получать синтетически сам биотин. При выращивании на такой среде дрожжей они сильно обогащаются биотином и в высушенном виде их можно применять как источник препарата витамина Н (биотина).

Биосинтез биотина

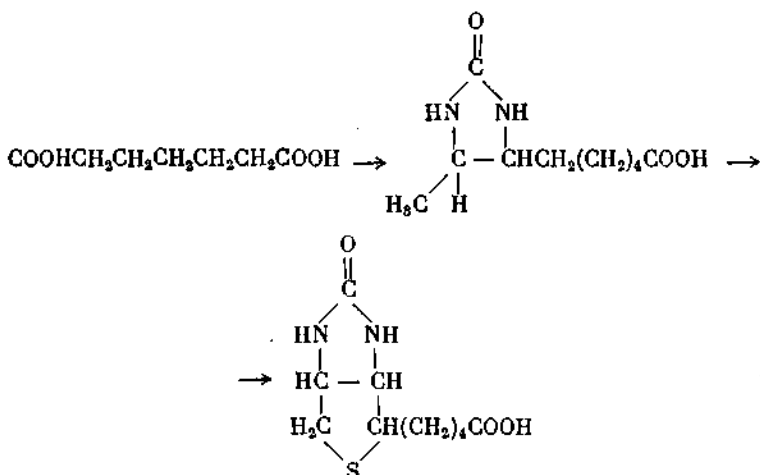
Биотин синтезируется в растениях. При прорастании пшеницы, люцерны и других культур Филиппов (1955) нашел непрерывное накопление биотина в проростках. Причем в первые 10 дней прорастания это накопление не зависит от освещения, а затем дальнейшее накопление биотина происходит лишь на свету и в зеленой части растения. Поэтому листья растений наиболее богаты биотином. Листья травянистых растений примерно в три раза богаче биотином, чем их стебли и корни, а кустарников в 8—9 раз. Содержание биотина в листьях разных растений колеблется от 0,1 до 1,64 мкг сухого вещества (Филиппов, Милич, Тарасик, 1956). Синтез биотина в зеленых ра-

стениях связан с освещением, поэтому светолюбивые виды содержат больше биотина, чем теневыносливые. Вместе со связанным биотином (Филиппов, Ильина, 1954) в растениях присутствует и свободный биотин, который легко переходит в корни и выделяется ими (Филиппов, 1955).

Мы уже отмечали, что дрожжи способны синтезировать биотин из дестиобиотина. Такой же способностью обладают и плесени (*Neurospora* и др.).

Биотин синтезируется бактериями кишечника животных (Peterson, Peterson, 1945; Harrill, Johnson, Parsons, 1954) и рубца жвачных (Mc Elroy, Jukes, 1940). Было показано, что некоторые дифтерийные бактерии (*Corynebacterium diphtheriae*) (DuVigneaud, Dittmer, Melville, 1942; Du Vigneaud a. oth., 1942) и плесени *Aspergillus niger* (Eakin, Eakin, 1942) используют пимелиновую кислоту для синтеза биотина. Оказалось (Tatum, 1945), что у этих микроорганизмов блокирована стадия синтеза пимелиновой кислоты, но они не утратили способности образовывать дестиобиотин и биотин из последней. Дрожжи и некоторые плесени (*Neurospora*) не способны превращать пимелиновую кислоту в дестиобиотин. Имеется также ряд микроорганизмов (*Lactobacillus casei*, *L. arabinosus*, *Rhizobium trifolii*, *Penicillium chrysogenum*), синтезирующих дестиобиотин, но в отличие от дрожжей, не способных превращать последний в биотин. *Penicillium chrysogenum*, освещенный ультрафиолетовыми лучами, усиленно синтезировал дестиобиотин. Добавление пимелиновой кислоты примерно в 10 раз повышало биосинтез дестиобиотина этим организмом. Указывалось (Eakin, Eakin, 1942), что добавление цистеина повышало биосинтез биотина у *Aspergillus niger* из пимелиновой кислоты. То же стимулирующее действие на синтез биотина в рубце жвачных оказывало введение мочевины (Lardinois, Mills, Elvehjem, Hart, 1944). Оказалось, что одновременное добавление пимелиновой кислоты, цистеина и мочевины в среду *Escherichia coli* сильно стимулировало синтез биотина, тогда как раздельное добавление их не повышало биосинтеза (Gothoskar, Sreenivasan, 1953). Действие пимелиновой кислоты довольно специфично, ибо никакая другая дикарбоновая кислота, за исключением азелаиновой, не заменяет ее. Поэтому можно полагать, что синтез биотина в живых организмах идет через стадию об-

разования пимелиновой кислоты, конденсируясь с мочевиной, она дает дестинбиотин, из которого и образуется биотин, согласно следующей схеме:



Однако данные Рейта (Wright, Cresson a. oth., 1954) указывают, что продуктом синтеза *Aspergillus niger* является не сам биотин, а продукт его окисления—d-биотин-1-сульфоксид. Последний образуется в результате биосинтеза, а не в процессе окисления синтезированного биотина.

Олеиновая кислота, стимулируя рост молочнокислых и маслянокислых бактерий, нуждающихся в биотине, обладает также биотинным действием и на личинок малярийного комара *Aedes aegypti*, которые для своего развития до взрослого состояния требуют биотин (Rosenwasser, Boyd, 1952). Однако в организме цыплят и других животных олеиновая кислота не может заменить биотин.

Истинным предшественником в биосинтезе биотина является пимелиновая или азелаиновая кислота, ибо, как установил Рейт с сотрудниками (Wright, Cresson, Driscoll, 1955), никакая другая дикарбоновая кислота не стимулирует синтез биотина или биотинсульфоксида грибом *Aspergillus niger*. Также не стимулируют этот биосинтез различные пуриновые и пиримидиновые производные, в том числе и адениловые кислоты. Стимулирующее действие олеиновой кислоты можно объяснить способ

ностью ее окисляться *in vitro* в азелаиновую кислоту. Скорее следует предположить обратное, что биотин стимулирует образование необходимых для живых организмов ненасыщенных жирных кислот, в том числе и олеиновой. Стимулирующее действие цистеина на биосинтез биотина, отмеченное предыдущими авторами, объяснялось способностью цистеина предохранять биотин от окисления его в 1-сульфоксид. Ввиду того что вышеуказанные авторы испытывали активность биотина на организмах, гораздо более чувствительных к биотину, чем к биотин 1-сульфоксиду, то они обнаруживали только биотин, полученный как в результате самого биосинтеза, так и в результате восстановления биотин 1-сульфоксида цистеином. Очевидно, включение серы в молекулу биотина происходит на более поздней стадии его биогенеза, чем образование мочевинового кольца. Это подтверждается активностью де-стиобиотина на ряде различных видов микроорганизмов.

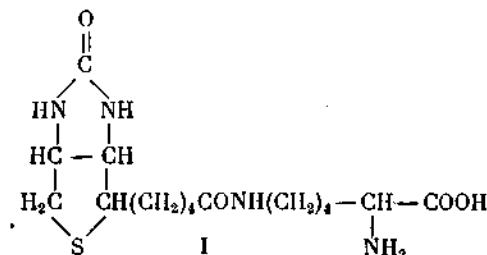
Биокаталитические свойства

Биотин участвует во многих процессах обмена. Указывалось его значение в 1) биосинтезе аспарагиновой (Stokes, Larsen, Gunnes, 1947) и олеиновой (Williams, Fieger, 1947) кислот; 2) деаминировании некоторых аминокислот (Lichstein, 1949); 3) декарбоксилировании поликарбоновых кетокислот (Plaut, Lardy, 1949); 4) окислении триптофана (Shanmuga, Sundaram a. oth., 1953, 1954) и 5) использовании β -метилжирных кислот (Fischer, 1955). Долго в мировой литературе оспаривалось мнение, что биотин участвует в процессах обмена не в качестве компонента энзиматической системы, как остальные витамины, рассмотренные нами ранее, а косвенно—способствуя синтезу протеиновых частиц, входящих в состав энзиматических систем. Эта точка зрения базировалась на следующих фактах: 1) живые организмы требуют биотин в незначительных количествах и содержат его гораздо меньше, чем другие витамины, и 2) добавление одного биотина *in vitro* не может активировать ряд энзиматических систем сильно подавленных у организмов, выросших на диете или среде, лишенной биотина. Последнее было отмечено (Ochoa a. oth., 1947) с карбоксилированием дикарбоновых кислот срезами печени индеек и на щавелевоуксусной декарбоксилазе *Azetobacter vinelandi* (Plaut, Lardy,

1949) и *Micrococcus lysodeikticus* (Herbert, 1950), а также с активностями пировиноградной, молочной дегидразы и серин-оксидазы у *Lactobacillus arabinosus* и аспарагиновой деаминазы у *E. coli*. Подобное косвенное действие биотина подтвердилось опытами с восстановлением активности как аэробной, так и анаэробной аспарагиновой деаминазы у *E. coli* с недостатком биотина после обогащения его аэробной инкубацией в фосфатном буфере pH 7 с биотином и глюкозой (Gothoskar, Srenivasan, 1953).

Однако открытие связанного биотина в очищенных препаратах щавелевоуксусной карбоксилазы, полученной из печени цыпленка, и повышение содержания этой формы биотина по мере очистки энзима (Lichstein, 1955), указывало на участие биотина в качестве компонента в энзиматической системе или на непосредственное участие биотина. Подобное же предположение подтверждалось и открытием в естественных продуктах связанной формы биотина—биоцитина.

Состояние биотина в природе. Мы уже указывали, что биотин в дрожжах, печени и прочих продуктах встречается в связанной форме. Это подтверждается более высокой активностью водных экстрактов указанных продуктов, полученной при испытании на *L. casei*, чем на *L. arabinosus*, который реагирует только на свободный биотин. Из водного экстракта дрожжей была изолирована (Wright a. oth. 1950, 1951) связанная форма биотина в виде бесцветных кристаллов с температурой плавления 228—232°, названная биоцитином. Оказалось, что биоцитин является ϵ -N-биотинил-1-лизином следующего строения (I), подтвержденного синтезом его (Peck, Wolf, Folkers, 1952):



Биоцитин является соединением биотина с 1-лизином посредством пептидной связи карбоксильной группы первого с ϵ -аминогруппой второго.

Биоцитин доступен как источник биотина для одного ряда микроорганизмов (*Lactobacillus casei*, *L. delbrückii* LDF, *L. acidophilus*, *Str. faecalis* R., *Neurospora crassa* и *Saccharomyces carlsbergensis*) и недоступен для другого ряда микроорганизмов (*Lactobacillus arabinosus*, *L. pentosus* и *Leuconostoc mesenteroides*) (Wright a. oth., 1952).

Биоцитин—довольно стабильное соединение. Он устойчив к протеазам и пептидазам и гидролизуеться только на 60% после 2-часовой обработки в 0,25 N соляной кислоты при 130° (Wright a. oth., 1952). Однако он быстро расщепляется на биотин и лизин энзимом—биоцитиназой, найденной в крови человека (Wright, Driscoll, Bogger, 1954).

Биоцитин обнаруживает такое же биологическое действие на энзиматические системы (описываемые ниже), как и биотин.

Лихштейн (Lichstein, 1949, 1950) нашел в дрожжах связанную форму биотина, которая стимулирует активность деаминазы аспарагиновой кислоты, треонина и серина примерно в 100 раз сильнее, чем свободный биотин или биоцитин. Из этого вытекает, что биоцитин является очевидно осколком более сложной связанной формы биотина, которая присутствует в дрожжах, легко расщепляется при автолизе последних и представляет собой коэнзимную форму биотина. Предполагается, что в эту коэнзимную форму, кроме биоцитина, входит и адениловая кислота. Возможно, что эта связанная форма биотина—та же форма, найденная тем же автором в 1955 году в щавелевоуксусной карбоксилазе печени цыпленка. Это подтверждается одинаковой обработкой, необходимой для освобождения биотина из обоих препаратов, именно 2-часовым гидролизом в 2 N серной кислоте при 121° (Williams, Christman, 1953; Lichstein, 1955).

Участие биотина в реакциях деаминирования. Как указывалось, биотин участвует в деаминировании аспарагиновой кислоты, серина и треонина. Это было подтверждено на живых клетках различных бактерий (*Escherichia coli* и др.), лишенных способности деаминировать вышеуказанные аминокислоты инкубацией их при pH 4 в течение 30 минут и 37°. Эта активность восстанавливалась биотином (Lichstein, Umbreit, 1947, 1948) и еще сильнее биотином с адениловой кислотой (Williams, Cristman,

1953), но не восстанавливалась каким-либо другим витамином. С другой стороны, как указывалось, Сринивазан (Gothoskar, Sreenivasan, 1953) обнаруживал восстановление активности аспарагиновой деаминазы у *E. coli* только после 30-минутной инкубации с биотином и глюкозой в нейтральной аэробной среде.

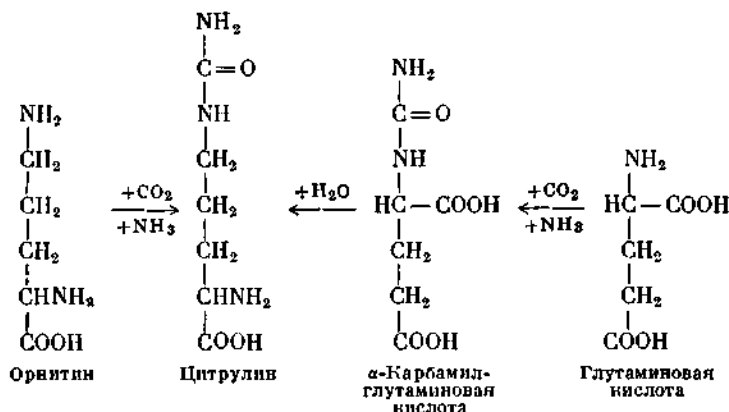
Гомогенаты печени крыс с недостатком биотина значительно слабее деаминируют серин, чем здоровых крыс (Nadkarni, Sreenivasan, 1957).

Участие биотина в реакциях карбоксилирования и декарбоксилирования. Рядом исследователей (Stokes, Larsen, Gunnes, 1947; Lardy, Potter, Elvehjem, 1947; Shive, Rogers, 1947) на многих молочнокислых бактериях было доказано участие биотина в реакциях карбоксилирования пировиноградной кислоты в щавелевоуксусную, из которой с помощью переаминирования образуется аспарагиновая кислота. Одновременно с этим было установлено (Lichstein, Umbreit, 1947; Ochoa a. oth., 1947) участие биотина и в обратной реакции—в декарбоксилировании 4-углеродных дикарбоновых кислот (аспарагиновой, яблочной и щавелевоуксусной). Включением углекислоты из C^{14} бикарбоната в клетках *Lactobacillus arabinosus* была доказана реакция карбоксилирования пировиноградной кислоты с помощью энзиматической системы, в которой участвует биотин. Клетки, растущие в среде, содержащей 2 мкг/мл биотина, быстро фиксировали изотопный бикарбонат, откладывая его в одну из карбоксильных групп аспарагиновой кислоты (Potter, Burris, 1949). В отсутствие же биотина фиксация бикарбоната не наступала.

Способность биотина стимулировать фиксацию углекислоты имеется не только у микроорганизмов, но и у животных.

Так, оказывается (MacLeod, Lardy, 1949), что крысы с недостатком биотина гораздо слабее фиксируют меченый C^{14} бикарбонат в аргинин, гуанин и лимонную кислоту, чем нормальные крысы. Понижение синтеза аргинина у крыс с недостатком биотина отражает пониженную скорость синтеза цитрулина, которая наблюдалась в бесклеточных системах (MacLeod, Lardy, 1949). Препараты печени крыс с недостатком биотина в присутствии глютаминовой кислоты превращают орнитин в цитрулин только примерно с $1/3$ скорости того же превращения теми же препаратами печени, но здоровых крыс.

Реакция протекала согласно следующей схеме:



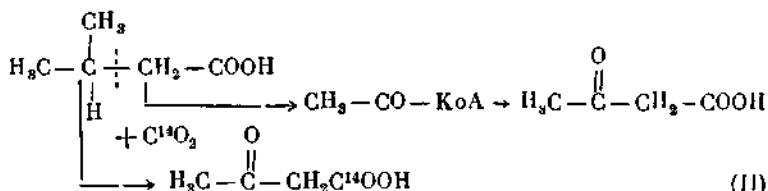
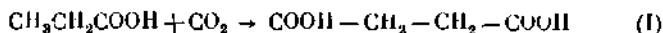
Синтез цитрулина препаратами печени крысы с недостатком биотина заметно повышался через 3 часа после инъекции ей 100 мг биотина, но достигал нормы в печени той же крысы только через 24 часа.

Промежуточным продуктом в синтезе цитрулина из орнитина является карбамил-глутаминовая кислота. В присутствии последней препараты печени животных с недостатком биотина прекрасно синтезируют цитрулин, так же как те же препараты печени здоровых животных (Feldoff, Lardy, 1951). Из этого следует, что биотин действует на превращение глутамата в карбамил-глутамат и если это соединение образовалось, то дальше синтез цитрулина протекает нормально, независимо от состояния биотинной недостаточности.

Однако добавление как биотина, так и биоцитина к печеночным препаратам крыс с недостатком биотина *in vitro* не повышало синтеза цитрулина (Lardy, Peanasky, 1953). Это доказывало, что печеночные бесклеточные препараты были лишены способности синтезировать коэнзимную форму из биотина или биоцитина.

Другая реакция карбоксилирования, протекающая в животных тканях,—это фиксация углекислоты пропионовой кислотой в янтарную (Lardy, 1952)—прямое карбоксилирование (I) и изопропиловой частью боковой цепи изовалериановой кислоты с окислительным расщеплением последней в ацетоуксусную кислоту (Plaut, Lardy,

1950, 1951, 1952)—непрямое карбоксилирование (II). Обе реакции можно изобразить следующими схемами:



Фиксация углекислоты этанол-амином с образованием серина также значительно ослаблена в гомогенатах печени крыс с недостатком биотина (Nadkarni, Sreenivasan, 1957).

Включение изотопного бикарбоната, меченного по углероду, в карбоксильную группу ацетоуксусной кислоты протекает гораздо медленнее в печеночных препаратах крыс с недостатком биотина по сравнению с таковыми же контрольных крыс. Было показано также, что митохондрии печени крыс с недостатком биотина совсем не окисляют изовалерьяновую кислоту, тогда как те же митохондрии печени здоровых крыс быстро используют изовалерьяновую кислоту (Plaut, Lardy, 1951; Drysdale, Lardy, 1953). Оказывается, что для обмена изовалерьяновой и других β -метил- C_3 -жирных кислот необходима стадия фиксации CO_2 . Поэтому обмен этих β -метил-жирных кислот в отличие от *n*-валерьяновой кислоты в печени крыс с недостатком биотина нарушен (Fischer, 1955). То же самое следует отметить в отношении пропионовой кислоты.

β -Оксиизовалерил-КоА, карбоксилируясь, дает β -окси- β -метилглутарил-КоА, который расщепляется на ацетоацетат и ацетил-КоА (Plaut, Lardy, 1951; Drysdale, Lardy, 1953; Bachhawat, Robinson, Coon, 1954). Таким образом, доказано (Bachhawat, Robinson, Coon, 1955), что β -окси- β -метил-глутарил-КоА является промежуточным продуктом в синтезе холестерина и жирных кислот. Действительно, более поздняя работа Грама (Gram, Okey, 1958) показала, что включение ацетата-2- C^{14} в жирные кислоты печени и туловища и холестерин печени было понижено у крыс с недостатком биотина, а количество выделенной $\text{C}^{14} \text{O}_2$ было повышено. Очевидно, недостаточность биотина тормозит синтез жирных кислот и холестерина.

Пропионовая кислота в животном организме не прямо окисляется в молочную и пировиноградную кислоты, а предварительно карбоксилируется в симметричное соединение—в янтарную кислоту, а последняя в организме окислительно расщепляется в пировиноградную и молочную кислоты. Это было доказано одинаковым распределением углеродных атомов пропионовой кислоты, меченных радиоактивностью как в α -, так и в β -положениях, в образованных из нее молочной и пировиноградной кислотах. Экстракт высушенных ацетоном митохондрий печени крысы хорошо карбоксилировал пропионовую кислоту, если крысы получали достаточное количество биотина, и карбоксилирование падало более чем в 10 раз, когда крысы питались пищей с недостатком биотина (Shreeve, 1952, Daus, Meinke, Calvin, 1952).

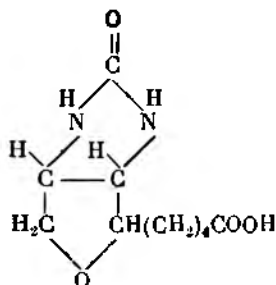
Познанская (1957) показала, что срезы поджелудочной железы цыплят с недостатком биотина утрачивают способность синтезировать белок амилазы, а срезы печени тех же цыплят—сывороточный альбумин. Внутривентрикулярная инъекция 100 мкг биотина таким цыплятам восстанавливала способность вышеуказанных органов синтезировать соответствующие белки. Добавление α -кетоглутарата к срезам поджелудочной железы авитаминозных цыплят или глутамина к срезам печени тех же цыплят восстанавливало синтезирующую способность. Это указывает, что при биотинной недостаточности нарушено образование дикарбоновых кислот в цикле Кребса, необходимых для синтеза аминокислот и дыхательного фосфорилирования, обеспечивающего синтез белков в энергетическом отношении. Эти данные подтверждают участие биотина в вышеуказанных реакциях.

Участие биотина в обмене триптофана. В главах 4 и 5 описывалось превращение триптофана в никотиновую кислоту и влияние на этот процесс различных витаминов. Биотин также участвует в этом превращении. Недостаток биотина, вызванный в прорастающих семенах гороха или у плесени *Neurospora* введением в ростовую среду антагониста биотина [γ - (3:4-уреиленициклогексил) масляной кислоты], тормозит использование триптофана, вызывая накопление последнего (Shanmuga, Sundaram, Tipunazayaman, Sarma, 1953, 1954). В то же время использование формилкинурина и остальных промежуточных продуктов превращения триптофана в никотиновую

кислоту протекает свободно. Таким образом, биотин участвует в процессе превращения триптофана в формилинуренин, т. е. в стадии окисления триптофана, вероятно, так же, как и в окислительном деаминировании различных аминокислот.

Биологически активные аналоги

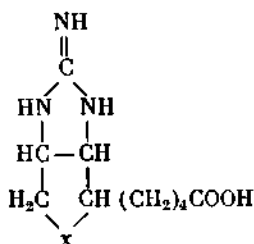
Из биологически активных аналогов биотина, обладающих биотинным действием на микробов и высших животных, следует отметить оксибиотин, у которого тиофановое кольцо в молекуле биотина заменено фурановым кольцом. Оксибиотин был синтетически получен в 1945 году Гофманом (Hofmann, 1945). Он кристаллизуется в виде бесцветных игл с температурой плавления 208—210°. Синтетический dl-оксибиотин обладал 50%-ной активностью d-биотина на *Lactobacillus arabinosus*, 25%-ной активностью на *Lactobacillus casei* и дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* (Rubin a. oth., 1945; Winnick a. oth., 1945), 20%-ной активностью на цыплятах (Hofmann, McCoy, Felton, Axelrod, Pilgrim, 1945) и 10%-ной активностью d-биотина на крысах с недостатком биотина, хотя по данным Рубина и др. (Rubin a. oth., 1945), на крысах он обладал 5%-ной активностью. Если предположить, что только одна энантиоморфная форма dl-рацемата активна, именно d-форма, то процент биологической активности оксибиотина следует еще увеличить в два раза. Структура биологически активного cis-изомера синтетического dl-оксибиотина следующая:



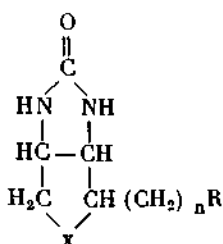
Изучение активности оксибиотина в стимуляции синтеза аспарагиновой кислоты у *Lactobacillus arabinosus* и *L. casei* показало, что dl-оксибиотин обладал 30%

активности биотина, если рН среды был не ниже 7,0, при более низком рН среды активность оксобиотина сильно падала и при рН 6,5 оксобиотин был почти неактивным (Potter, Elvehjem, 1950).

Биологическая активность оксобиотина и активность дестиобиотина на некоторые организмы указывают на неспецифичность тетрагидротиофеновой части молекулы биотина для биологической активности. Однако высокая специфичность циклической мочевиновой части молекулы биотина доказывается инактивностью (Hofmann, Axelrod, 1950) гуанидо-аналогов как d-биотина, так и dl-оксобиотина при испытании на *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus arabinosus*, *L. casei*. Специфичность боковой цепи доказывается образованием гомологов, практически лишенных биотинной активности, с укорочением или удлинением боковой цепи как в d-биотине, так и в dl-оксобиотине, хотя бы на одну CH_2 -группу (Hofmann, Chen, Bridgwater, Axelrod, 1947). Ниже изображены структуры этих аналогов:



$x=0$ — оксобиотин $n=4$, $\text{R}=\text{COOH}$,
 $x=\text{S}$ — биотин $n=5$, $\text{R}=\text{COOH}$,
 $n=4$, $\text{R}=\text{SO}_3\text{H}$,
 $n=5$, $\text{R}=\text{SO}_3\text{H}$,



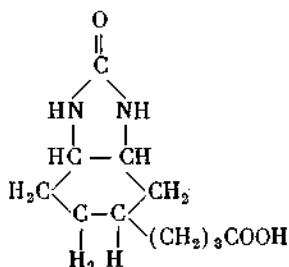
$x=0$ — оксобиотин
 $x=0$ — гомооксобиотин
 $x=0$ — сульфокислота оксобиотина
 $x=0$ — сульфокислота гомооксобиотина

Из производных с измененной боковой цепью полученные гомологи оксобиотина, наоборот, обладали слабым кривурентным торможением роста как *Saccharomyces cerevisiae*, так и *L. arabinosus*, причем отношение торможения было наиболее сильным в оксобиотиновом гомологе с n , равным 5. Для полного устранения торможения на 1 часть оксобиотина требовалось 7400 частей этого гомолога в случае *Saccharomyces cerevisiae* и 225 000 частей — в случае *L. arabinosus*. То же следует отметить и в отноше-

нии гомологов d-биотина, причем все гомологи оксибиотина проявляют несколько большую антивитаминную активность к оксибиотину, чем к биотину, и то же следует сказать в отношении гомологов биотина (табл. 49, стр. 318).

В биотине, как и в пантотеновой кислоте, замещение карбоксильной группы на сульфогруппу дает соединение с антагонистическим действием. Опишем четыре таких соединения: в первых двух карбоксильная группа в биотине и оксибиотине заменена сульфогруппой, а во вторых двух карбоксильная группа заменена сульфогруппой в гомобиотине и гомооксибиотине. Оказалось, что оксибиотинсульфоновая кислота обладала сильным антибиотинным и антиоксибиотинным действием на ряд микроорганизмов, гомооксибиотинсульфоновая же кислота, в противоположность, была слабым стимулятором роста тех же микробов. То же следует отметить и в отношении сульфокислот биотина и гомобиотина. Очевидно, замена карбоксильной группы сульфогруппой дает лишь тогда антивитамин, когда соединение, у которого произошла замена, обладало витаминными свойствами.

Кроме этих антибиотинных соединений, было еще синтезировано соединение, в котором тиофановое кольцо в биотине было заменено циклогексановым и боковая цепь укорочена на один метильный остаток, т. е. была получена (Axelrod, Purvis, Hofmann, 1948) γ -(3,4-урен-ленциклогексил)-масляная кислота следующего строения:



Это соединение обладало более слабыми антибиотинными свойствами как на рост, так и на брожение дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*), чем оксибиотинсульфоновая кислота и гомооксибиотин. Из трех антагонистов биотина (с изменением в мочевином кольце, в боковой цепи и заменой тиофанового кольца циклогексановым) последний обладал наибольшей активностью на дрожжах, причем

торможение роста во всех случаях шло всегда параллельно торможению брожения.

В таблице 49 показано, что биологическая активность обоих сульфоксидов на различных организмах различна (Melville, Genghof, Lec, 1954). Так, d-сульфоксид d-биотина при испытании на дрожжах и *Lactobacillus arabinosus* активен, как и сам биотин, тогда как на *L. casei* он почти лишен активности. Наоборот, l-сульфоксид d-биотина почти лишен биотинной активности на дрожжах и обладает 5%-ной активностью при испытании на молочнокислых микробах. d-Сульфоксид дрожжами превращается в биотин вследствие наличия у них высоко специфической d-сульфоксид редуктазы—энзима, отсутствующего у *L. casei*. На молочнокислых микробах сульфоксиды активны в обменных процессах, так как у них отсутствует соответствующая редуктаза.

Сульфоксиды и сульфоны d-биотина используются крысами гораздо хуже, чем d-биотин; так, ежедневная доза 10 мкг d- или l-сульфоксида не исцеляет крыс от синдрома недостатка биотина, но удлиняет продолжительность их жизни, а d-биотин-сульфон обладает целебными свойствами в ежедневной дозе не ниже 100 мкг.

Биотин-сульфон конкурентно тормозит функции биотина в синтезе аспарагиновой и олеиновой кислот у *Lactobacillus arabinosus* (Ravel, Shive, 1955). Добавление треонина, лизина и урацила сильно понижает торможение биотин-сульфоном от индекса торможения полумаксимального роста—1000:1 до 40 000:1 в присутствии 0,5 мг аспарагиновой кислоты. Более высокие концентрации аспарагиновой кислоты несколько понижают стимулирующее действие смеси указанных аминокислот, поскольку она сама снижает торможение (Ravel, Shive, 1955).

Интерес, который привлек к себе биотинил (ε-N-биотинил-лизин), заставил синтезировать (Wolf, Vallant, Folkers, 1951) и исследовать биологическое действие (Wright, Skeggs, Cresson, 1951) амида и ряда аминокислотных производных биотина. Оказалось, что на различные микроорганизмы даже одно и то же аминокислотное производное реагировало различно. Из всех производных только N-биотинил-глицин оказался одинаково активным к *L. casei* и *L. arabinosus*, в то время как остальные аминокислотные производные были к последнему микроорганизму инактивными.

Биологическая активность различных производных биотина
(в % от биотина или в отношении торможения аналога к dI-биотину или dI-оксбиотину)

Название аналога	Строение боковой цепи	Биологическая активность на микроорганизмах для биотина (в мкг на 100 мл среды или в % от биотина)				Биологическая активность	
		проявляющие <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus agalbiopsis</i>	на крысах (в мкг ежедневно)	на цыплятах (в мкг на 100 г диеты)	
d-Биотин естественный	$R^1(CH_2)_4COOH$	0,0025 мкг	0,04 мкг	0,04 мкг	1,0 мкг	0,08—0,1 мг	
dI-Биотин синтетический	$R^1(CH_2)_4COOH$	—	50%	50%	2,0 мкг	0,16 мг	
dI-Аллобиотин	$R^1(CH_2)_4COOH$	—	0,003%	0,002%	Инактивен	Инактивен	
d-Биотиноль	$R^1(CH_2)_4CH_2OH$	Инактивен	Инактивен	Инактивен	1,0 мкг	—	
Дестеобиотин	$R^2(CH_2)_6COOH$	0,01 мг или 40%	Инактивен	Инактивен	Инактивен	Инактивен	
dI-Оксбиотин в присутствии аспарагиновой кислоты, pH 7	$R^3(CH_2)_4COOH$	25%	25—40%	30%	10%	20%	
Гуанидо-аналог dI-биотина	$R^4(CH_2)_4COOH$	0,002%	0,002%	0,002%	—	—	
Гуанидо-аналог dI-оксбиотина	$R^5(CH_2)_4COOH$	0,002%	0,002%	0,002%	—	—	

Название аналога	Строение боковой цепи	Биологическая активность на микроорганизмах для биотина (в мкг на 100 мл среды или в % от биотина)			Биологическая активность	
		дрожжи Saccharomyces cerevisiae	Lactobacillus casei	Lactobacillus arabinosus	на крысах (в мкг ежедневно)	на пылятах (в мкг на 100 г диеты)
					на диете с 15% яичного белка	

Антагонисты

dL-Гомооксибигин . . .	$R^3(CH_2)_5COOH$	7400 : 1*	—	225 000 : 1**	—	—	—
dL-Сульфоксибигин . .	$R^3(CH_2)_4SO_3H$	375 000 : 1**	—	—	—	—	—
dL-Сульфогомооксибигин	$R^3(CH_2)_5SO_3H$	600 000 : 1**	—	Инактивен	—	—	—
dL-Нор-оксибигин . . .	$R^3(CH_2)_3COOH$	443 000 : 1*	—	Инактивен	—	—	—
dL-Биогомо-оксибигин . .	$R^3(CH_2)_6COOH$	30000 : 1*	—	Инактивен	—	—	—
d-Биотин d-сульфоксид	$R^6(CH_2)_4COOH$	100% <	0,00001	100%	Почти инактивен	—	—
d-Биотин l-сульфоксид	$R^6(CH_2)_4COOH$	0,002	5	5	То же	—	—

* Отношение частей аналога к 1 части dL-оксигибигина.

** Отношение частей аналога к 1 части dL-биотина.

Название аналога	Строение основной цепи	Биологическая активность на микроор- ганизмах для биотина (в мкг на 100 мл среды или в % от биотина)			Биологическая активность	
		дрожжи <i>Saccharo- myces cerevisiae</i>	<i>Lactobacil- lus casei</i>	<i>Lactoba- cillus arabinosus</i>	на крысах (в мкг ежедневно)	на цыплятах (в мкг на 100 г диеты)
		—	—	—	на диете с 15% яичного белка	на диете с 15% яичного белка
d,l-Биотин-сульфон	$R^7(CH_2)_4COOH$	—	—	Торможе- ние полу- максим- ального роста 1000:1***	100%	—
3,4-Уреиденинциклогек- симасляная кислота	$R^8(CH_2)_4COOH$	4000000 : 1**	—	30000 : 1 300000 : 1****	Тормозит рост и вы- зывает алопецию	—

*** На среде, содержащей 0,5 мг аспарагиновой и 5 мг олеиновой кислот в 5 мл (Ravel, Shive, 1955).

**** 30 000 : 1 на среде, лишенной аспарагиновой кислоты, в 300 000 : 1 на среде, содержащей 1 мг аспарагиновой кислоты в 5 мл.

Превращения биотина в организме, явления недостаточности биотина и потребность в нем

Изучение (Gardner, Parsons, Peterson, 1945) выделения биотина с мочой и калом у людей при различном содержании в их пище биотина показало, что при ежедневном потреблении здоровой женщиной средних лет от 9 до 171 мкг биотина выделение его сильно повышалось. Так, при повышении дозы от 9 до 33 мкг содержание биотина в моче не повышалось, а в кале повышалось на 40%. При дальнейшем повышении до 171 мкг выделение биотина с мочой повышалось более чем в пять раз, а с калом — на 80%.

При недостатке биотина в диете у взрослых людей (Berger, 1950) выделение биотина с мочой понижалось за 24 часа с 29—62 до 3,7—7,3 мкг и повышалось до нормы введением биотина в диету. Однако у грудных детей биосинтез биотина в кишечнике почти отсутствует и поэтому выделение его у них сведено до минимума; так, в 24-часовой моче у 1-месячного ребенка содержится 1,6 мкг биотина (в кале биотина не найдено), а у 6-месячного — 6,8 мкг. При недостатке биотина у грудных детей, который может быть следствием низкого содержания биотина в молоке матери, выделение биотина падает незначительно, что указывает на отсутствие биосинтеза.

Парентеральное введение меченого биотина с радиоактивным (мочевинным) углеродом C^{14} в дозах, равных 0,01—0,02 мг на крысу, показало (Frankel-Conrat, Frankel-Conrat, 1950), что 40% этой дозы выделяется с мочой в течение 24 часов, при этом большая часть выделяется в виде микробиологически инактивного осколка биотина. Введение мышам биотина, меченого радиоактивным углеродом C^{14} в карбоксильной группе, показало, что 60% выделенного биотина потеряло радиоактивность вследствие декарбоксилирования *in vivo* (Baxter, Quastel, 1953). Исследования (Baxter, Quastel, 1953), проведенные над срезами коркового вещества почек и других тканей морских свинок, установили, что биотин *in vitro* энзиматически расщепляется аэробно с потерей ростстимулирующей активности на дрожжах. При этом, вероятно, отщепляется двухуглеродный осколок, который впоследствии, окислительно декарбоксилируясь, вступает в лимонно-кислотный цикл Кребса.

Недостаточность биотина изучалась на многих животных. У крыс она заключалась в облысении и покраснении (кровоподтеки) с последующим шелушением кожи в углах рта, вокруг глаз с воспалением век, на шее и боках, под мышками и в пахах. Эти явления Георги (Georgy, 1939, 1940, 1941) охарактеризовал как себорейные. Шкура животных при этом постепенно приобретает ребристый вид. В дальнейшем появляются спазмы задних ног, спина изгибается, вес быстро падает, и животное погибает.

Диета с 40% яичного белка вызывала у хомяков симптомы недостаточности биотина, подобные таковым у мышей и крыс (Rauch, Nutting, 1958). Первые симптомы появлялись уже на 3-й неделе и выражались в задержке роста и алопеции с ахромотрихией. Волос достигал нормальной длины, но в результате недостаточной кератинизации волосяного стержня, примыкающего к луковице, обламывался. Интенсивность окраски пигмента по мере развития недостаточности биотина падает, и к концу пятой недели шерсть становится слабо окрашенной. К этому времени возникают и другие симптомы недостаточности: голые участки на брюшке и задней части спины, воспаление морды, выделение вокруг глаз до полного их закрытия и неврологические симптомы с походкой типа кенгуру.

Недостаток биотина в рационе цыплят (Patrick a. oth., 1942) и индюшат (Patrick a. oth., 1944) вызывает перозис, дерматит и высокую смертность. У индюшат, получающих рацион из 37% размолотой пшеницы, 25% овса, 15% ячменя, 8,75% пшеничных отрубей, 2,5% злаковой травы, 2,5% селечной муки, 3,5% мясокостной муки, 2,5% соевой муки, 1,25% муки льняных семян, 1% извести, 0,5% йодированных солей с добавкой витаминов А, D, B₂ и РР, в возрасте от 2 до 4 недель появлялись дерматит, редкие изломанные перья, перозис, диарея и повышенная смертность (до 27%). Причем симптомы прогрессировали у цыплят более позднего вывода. Оказалось, что эти симптомы являются результатом недостаточности пантотеновой кислоты и биотина в рационе (Robblee, Clandinin, 1953). Индейки имели малые запасы указанных витаминов, которых им не хватало для передачи в достаточном количестве своему более позднему потомству. Добавление пантотеновой кислоты (5 мг/100 г) в рацион значительно улучшило оперение и очень слабо

снизило остальные симптомы. Эффективность применения витамина значительно снижалась в более поздних выводах.

Добавление в рацион пантотеновой кислоты (5 мг/100 г) вместе с биотином (0,05 мг/100 г) быстро устраняло у индюшат все указанные симптомы. Индюшата нормально развивались.

Содержание биотина в яйцах зависит от содержания его в рационе кур, но в среднем оно равно 10,76 мкг, причем в желтке 8,52 мкг и в белке 2,25 мкг; при хранении яиц в течение года на холоду оно не меняется (Evans a. oth., 1953).

У людей, питавшихся однообразной пищей с ежедневным содержанием в ней 2888 калорий, из которых 30% составлял сырой яичный белок, появлялись следующие симптомы, описанные Бергером (Berger, 1950). После 3—4 недель начиналась незначительная зудящая себорейная экзема, которая то внезапно исчезала, то вновь появлялась. По прошествии следующих 3—4 недель появилась бледность кожи. Через 9—10 недель сухость кожи усилилась и в области конечностей появился эзофолиативный дерматит. По прошествии 15 недель наступили тяжелые явления слабости, депрессии, галлюцинации, испуга, парестезии, потери аппетита, головокружения, мышечные боли и боли в области предсердия. Введение биотина устранило все указанные симптомы.

Тем же автором были описаны некоторые формы преимущественно себорейного дерматита, встречающиеся у грудных детей в основном 3-месячного возраста, вследствие низкого содержания биотина в молоке матери. Заболевание, как правило, начиналось изменениями кожи преимущественно на частях тела, покрытых волосами, и проходило после парентерального введения биотина.

Следует отметить, что в женском молоке биотина содержится примерно 0,625—1,0 мкг/100 мл и повышается до 1,15 мкг/100 мл при употреблении пищи, богатой биотином (Pratt, Hamil, Moyer, Kancher, 1951).

В товарном коровьем молоке, согласно данным Давидова и Кругловой (1959), содержится 62 мкг биотина в 1 литре. В только что надоенном молоке биотина 49 мкг/л. Повышение содержания биотина в коровьем молоке при хранении объясняется биосинтезом его микрофлорой.

Нарушения эндокринной системы. Кроме трех основных симптомов: 1) отечности век, образующей «очки» вокруг глаз, 2) алопеции и 3) ненормальной походки—при недостатке биотина у крыс отмечались (Delost, Terroine, 1954) нарушения мужских половых желез. Последние появляются у крыс-самцов уже после трех недель содержания на диете, лишенной биотина, когда кожные симптомы еще не проявились, и характеризуются понижением веса семенников, отсутствием в них сперматозоидов и слабой активностью интерстициальной железы. При дальнейшем течении авитаминоза (на 7-й неделе опыта) вес семенников немного повышается и появляются сперматозоиды. Однако на 9-й неделе опыта, когда проявляется резкая алопеция и наблюдается нарушение движений, вес семенников очень сильно понижается, семяпровод атрофируется и все сперматозоиды пропадают.

При полной недостаточности биотина быстро появляются симптомы авитаминоза, заканчивающиеся параличом, параличием и гибелью животных, так что глубокие нарушения в семенниках еще не успевают образоваться, хотя и были отмечены нарушения в эпителии семенников: синхизия семяпроводов и полная стерильность. При и полной недостаточности биотина у крыс образуются более глубокие и необратимые повреждения семенников и семяпроводов (Communal, 1957).

Каких-либо гистологических изменений в надпочечниках и щитовидной железе при недостатке биотина не обнаружено.

Минимальная суточная потребность в биотине (в мкг для крысы составляет 0,04, для цыпленка 2,5 и для человека 9. Однако последняя величина является условной и сильно колеблется в зависимости от диеты, окружающей среды и т. д. Для излечения себорейного дерматита у грудных детей требуется ежедневно от 5 до 10 мкг биотина в течение 4 недель (Berger, 1950).

Глава 8

ХОЛИН

Холин впервые был найден (Strecker) в 1849 году в желчи, а через 13 лет его выделили (Strecker, 1862) в чистом виде и тогда же он получил свое название. Структура холина, соответствующая триметиламиноэтанола, была подтверждена синтезом его, выполненным в 1867 году. Вскоре после этого Дьяконов (1868) установил, что холин входит в состав лецитина в качестве его постоянного структурного компонента. Сначала это было установлено для лецитина, выделенного из яичного желтка (Дьяконов, 1867), а затем из мозга (Дьяконов, 1868). Дальнейшие исследования физиологической роли лецитина и значения его в качестве пищевого фактора, необходимого животному организму, принадлежат нашим соотечественникам Данилевскому (1895) и Гулевичу (1895, 1896, 1898, 1900).

Почти целое столетие прошло со времени открытия холина до его исследований, показавших, что холин относится к числу необходимых составных частей пищи. Это послужило основанием отнести холин к витаминам группы В (Gyögy, Goldblatt, 1939, 1940).

В 1932 году было установлено (Best, Huntsman, 1932), что заболевание, известное как ожирение печени, вызванное расстройством функции поджелудочной железы, предотвращается лецитином или входящим в состав его молекулы холином. Дальнейшие исследования (Best, Huntsman, 1935) показали, что холин способен также предупреждать ожирение печени, вызванное не только депанкреатизацией, но и рядом других факторов. Оказалось, что исключение из пищи холина приводило к ожирению печени, а при введении его в пищу этот вид ожирения исчезал. В соответствии с этим холин был отнесен к группе витаминов.

У животных недостаток холина в пище вызывает резкое накопление жира в печени, сопровождающееся нарушением ряда ее функций с последующим развитием цирроза и некроза. Этот синдром включает также так называемую «геморрагическую дегенерацию» почек; геморрагии являются часто и в других органах. У молодых животных нарушается процесс роста и преждевременно атрофируется зубная железа. У птиц недостаток холина ведет также к развитию своеобразного патологического состояния, уже известного нам под названием перозиса (скользящего сустава).

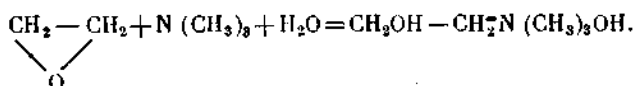
Физико-химические свойства и синтез холина

Холин представляет собой бесцветную некристаллизующуюся сиропообразную жидкость щелочной реакции. Он очень гигроскопичен, легко растворим в воде и алкоголе и нерастворим в эфире. Характерны солянокислая соль холина C_5H_4ONCl , которая кристаллизуется из спирта в виде длинных расплывающихся игл, и бромистоводородная соль холина, которая кристаллизуется из смеси спирта и эфира в виде пластинок. Обе соли не имеют точек плавления.

Еще более характерны для холина его комплексные соли хлористого холина с хлорным золотом или с хлорной платиной. Первая $C_5H_4ONClAuCl_3$ кристаллизуется из воды в виде желтых игл с температурой плавления $244-245^\circ$, а вторая кристаллизуется из воды в виде ромбических игл, которые затем превращаются в моноклинические и, наконец, в призматические иглы с температурой плавления $232-233^\circ$. Следующие две реакции характерны для холина и применяются при количественном определении его, это: 1) осаждение ренековской солью в виде холин-реноката и 2) осаждение избытком йода в йодистом калии в виде холин-перперида (или холин-эннаейодида), который представляет собой зеленые иглы, не растворимые в воде, но растворимые в спирте, этилендихлориде (Appleton a. oth., 1953) и в концентрированной соляной кислоте. Состав перперида $C_5H_4ONJ+8J$. При стоянии на воздухе он постепенно теряет йод и превращается в холин-йодид (C_5H_4ONJ).

Синтез холина. Холин издавна получают наиболее простым синтетическим методом, который состоит в дей-

ствии концентрированного водного раствора trimethyl-аминa на этиленоксид при комнатной температуре согласно следующей реакции:

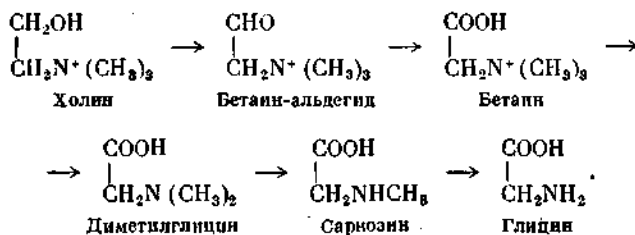


Исходные продукты легко доступны, а сам синтез довольно прост.

Превращения холина в организме и его биологическое значение

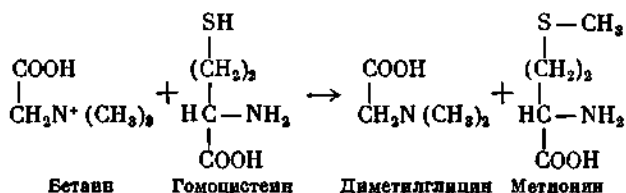
В животном организме холин выполняет три основные функции: 1) он служит донатором лабильных метильных групп для эндогенного синтеза ряда биологически важных соединений; 2) действует как липотрофный фактор; 3) является исходным субстратом ацетилирования для образования ацетилхолина, медиатора нервного возбуждения, а также и для бутирил-холина, найденного в мозге быка (Holtz, Schümann, 1954).

Холин как донатор метильных групп. Холин, попадая в животный организм, прежде всего окисляется в бетаин (Muntz, 1950), а последний постепенно деметилируется в глицин, передавая при этом свои метильные группы какому-либо акцептору, например гомоцистеину. Это предварительное превращение холина через бетаин-альдегид в бетаин и далее в глицин было доказано (Soloway, Stetten, 1953) и протекает с одинаково интенсивным деметилированием холина и бетаина в организме крыс. Причем, оба соединения, меченные N^{15} и введенные в организм крысы, одновременно с бензоатом, одинаково давали гиппуровую кислоту. Весь процесс деметилирования холина можно изобразить следующей схемой:



Холин-оксидаза оказалась (Ebisuzaki, Williams, 1951, 1953) флавопротеином с флавинадениндинуклеотидным коферментом. Ее функция заключается в переносе водорода холина на цитохромную систему. Энзим, окисляющий холин в бетаин в сахарных гомогенатах печени крысы, был разделен (Christensen, Daniel, 1953; Mondy, Daniel, 1954) на два энзима: холин-оксидазу, связанную с митохондриями (Kensler, Langemann, 1951; Williams, 1952), и бетаин-альдегид-оксидазу, переходящую в всплывшую жидкость.

Коферментом обоих энзимов служит кодегидраза I (DPN) (см. гл. 4, табл. 29). Аденозинтрифосфат (АТФ) тормозит активность холин-оксидазы, конкурируя с DPN за присоединение к апоферменту. Однако сродство DPN к последнему гораздо выше, чем АТФ (Christensen, Daniel, 1953; Mondy, Daniel, 1954). Оптимальное значение pH для холин-оксидазы лежит в области 6,7, а для бетаин-альдегид-оксидазы — в области 7,8. Активность холин-оксидазы печени молодых крыс была низкой и с возрастом повышалась. К моменту рождения она составляла лишь 25 % таковой у взрослой крысы. В то же время активность бетаин-альдегид-оксидазы печени новорожденных крыс составляла 90 % таковой взрослых. Известно (см. гл. 4, стр. 183), что содержание DPN в печени новорожденных ниже, чем в печени взрослых. Поэтому это может также служить причиной низкой активности холин-оксидазы. Однако ввиду того, что оба энзима холин- и бетаин-альдегид-оксидазы одинаково требуют DPN, но активность первого сильно понижена у новорожденных, тогда как активность второго примерно одинаковая в печени крыс любых возрастов, следует полагать, что низкая активность холин-оксидазы новорожденных связана с недостатком холин-аподегидразы у них (Mondy, Strength, Gray, Daniel, 1954). Метильные группы бетаина передаются гомоцистеину в реакции переметилирования с образованием метионина согласно следующей схеме:



Таким образом, использование метильных групп холина для образования метионина возможно лишь через деметилирование бетаина, полученного в результате окисления холина. У хомяков (Handler, Bernheim, 1949), проводящих половину своей жизни в состоянии спячки, активность холин-оксидазы в печени и почках гораздо ниже, чем у крыс, и ожирение печени при недостатке холина, к которому они одинаково чувствительны, также понижено.

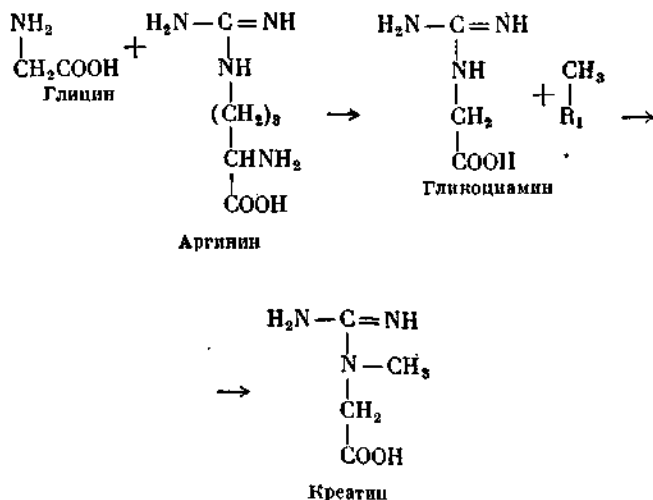
Однако морские свинки, кролики и цыплята (Muntz, 1950) лишены холин-оксидазы и поэтому не способны окислять холин в бетаин. Поэтому печени вышеуказанных животных не способны образовывать метионин при инкубации их с холином и гомоцистеином (Dubnoff, 1949). Из этого не следует заключать, что вышеуказанным животным не нужен холин. Так, у морской свинки метильные группы холина, хотя и слабо, но все же метилируют гомоцистеин. Очевидно, организмы вышеуказанных животных имеют иной механизм метилирования, ибо диета с недостатком холина, вызывающая у крыс и других животных ожирение печени, не оказывала такого влияния на содержание жира в печени морской свинки (Handler, Bernheim, 1950).

Однако в своих работах Рид (Reid, 1953, 1954, 1955) показал образование симптомов холиновой недостаточности у морских свинок, характеризовавшихся задержкой роста, мышечной слабостью и понижением числа красных кровяных шариков, и только иногда, как указывали Кассельман и Вильямс (Casselman, Williams, 1954), у этих животных отмечалось отложение жира в печени. Цыплята также крайне чувствительны к недостатку холина. На рационах, лишенных холина, они быстро заболевают перозисом, выражающимся в уплотнении костей голени с частыми случаями растяжения и вывиха в коленном суставе.

Добавление бетаина к рациону предупреждает цыплят от перозиса и дает возможность образованию метионина, что говорит о возможно слабом окислении холина в организме цыпленка (Burke, Nystrom, Johnson, 1951).

Холин и бетаин участвуют также в образовании такого биологически важного вещества, как креатин, с помощью метилирования гликоциамин. Метионин также способен метилировать гликоциамин и является более

эффективным донатором метильных групп (Stekol, Weiss Smith, Weis, 1953). Образование креатина идет по следующей схеме:

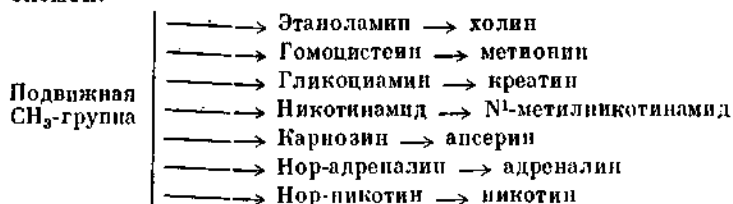


где R является остатком метионина, холина или бетаина. Метильный радикал в креатине потерял свою подвижность и способность к обратному метилированию, т. е. процесс метилирования гликоциамида, в противоположность вышеуказанным процессам метилирования, является необратимым.

Кроме этих процессов, в животном организме способны также метилироваться: никотинамид в N¹-метилникотинамид, карбозин в ансерин, этаноламин в холин и нор-адреналин в адреналин (Утевский, 1947).

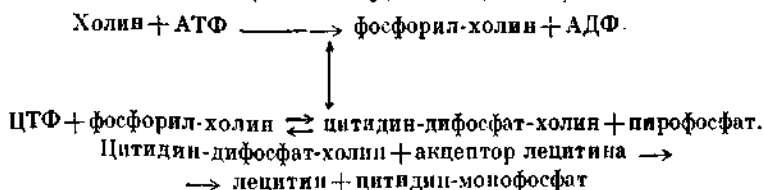
Если широкое значение метильных групп холина в различных реакциях обмена в животном организме доказано давно, то в растениях этого не было доказано. Только недавно (Bueggem, Wing, 1953) было установлено, что метильная группа холина переходит на азот нор-никотина в растении *Nicotiana rustica* с образованием никотина. Это было доказано введением меченного C¹⁴ по метилу холина в растение и выделением никотина с той же меткой метильной группы у N-атома. Возможно, что в растениях табака имеются ферменты, окисляющие холин в бетаин, а последний уже метилирует норникотин.

Все реакции метилирования можно представить общей схемой:



Холин как липотрофный фактор. Как мы уже отмечали, при недостатке в пище холина у животных наблюдается ожирение печени. Жир, отложенный в печени, образуется не из пищевого жира. Лейтес (1948, 1951) показал, что жир печени в основном образуется из углеводов. Печень является органом, в котором происходит образование фосфолипидов плазмы и ассимиляция их. Образование фосфолипидов и переход их в плазму нарушаются при недостатке холина в пище. Одновременно с этим в печени происходит отложение нейтрального жира. Добавление холина к такой пище устраняет ожирение печени и повышает оборот фосфолипидов плазмы (Friedlander, Chaikoff, Enteman, 1945).

Существует два пути включения холина в фосфолипиды (лецитин), катализируемые энзиматическими системами митохондрий печени крысы. Первый путь требует наличия аденозинтрифосфата (АТФ) и коэнзима А и состоит во включении в фосфолипид холина как такового, без образования промежуточного фосфорил-холина (Kennedy, 1954). Этот путь включения имеет оптимум pH около 9,4 (Kennedy, Weiss, 1955). Второй путь состоит в образовании промежуточного продукта фосфорил-холина при взаимодействии аденозинтрифосфата с холином и последующего переноса его на акцептор лецитина—фосфатидную кислоту при помощи цитидин-5-трифосфата (ЦТФ). Вся реакция идет согласно следующей схеме (Kornberg, Pricer, 1952, 1954; Kennedy, Weiss, 1955):



Цитидин-5'-трифосфат является специфическим коэнзимом. Этот путь включения в отличие от первого пути не требует наличия коэнзима А, но требует АТФ и ЦТФ, тормозится фторидом и имеет оптимум рН в области 7 (Kennedy, Weis, 1955). Основной путь включения холина в фосфолипиды, катализируемый митохондриями печени морской свинки, идет через образование фосфорилхолина. Оказалось, что для включения последнего в лецитин, кроме АТФ, требуется и КоА, и промежуточные стадии идут согласно циклу Кребса (Rodbell, Hanaham, 1955). Очевидно, на характер включения холина в лецитин влияет видовая специфичность животного.

Включение холина в фосфолипиды находится в обратном отношении с окислением холина холин-оксидазой. Так, при малобелковом кормлении (Artom a. oth., 1951) или недостатке фолиевой кислоты (Dinning, Neatour, Day, 1950) (см. гл. 11, стр. 386) значительно уменьшается количество холин-оксидазы и одновременно повышается включение холина в фосфолипиды костным мозгом птиц. Установлено (Artom, 1953), что, кроме включения в фосфолипиды и удаления их из печени, функция холина сводится также к окислению высокомолекулярных жирных кислот в печени. Это было доказано более интенсивным окислением пальмитата или стеарата при инкубации их с гомогенатом печени крыс на полноценной диете по сравнению с окислением тех же жирных кислот при инкубации с гомогенатом печени крыс на диете с недостатком холина. Степень окисления учитывалась по выделению $C^{14}O_2$ из пальмитата или стеарата, меченных C^{14} в первом положении. Введение холина животным незадолго до убоя восстанавливало способность ткани окислять жирные кислоты. Параллельно с выделением $C^{14}O_2$ наблюдалось и повышенное образование меченой ацетоуксусной кислоты, полученной в результате окисления жирной кислоты. Однако добавление *in vitro* холина, бетанна или фосфорилхолина к инкубируемому гомогенату печени с жирной кислотой не повышало скорость ее окисления. Это показывает, что липотрофное действие холина связано с некоторым веществом, образуемым из холина только *in vivo*. Возможно, что таким веществом является холин, содержащий фосфолипид, ибо введение холина животному повышает как содержание фосфолипидов в печени, так и окисление в ней жирных кислот. Позднее тем же автором (Artom,

1954, 1955) было доказано, что подобной же способностью окислять жирные кислоты обладают и другие ткани: почки, сердце и мозг. Однако в этих органах из холина, введенного *in vivo*, активное вещество образуется в течение более длительного времени, чем в печени. Поэтому инъекция холина незадолго до забоя крыс на диете, бедной холином, вызывая интенсивное окисление жирных кислот в печени, дает лишь слабое окисление их в почках и сердце и еще более слабое в мозге. В то же время длительное скармливание животным холина повышает окислительную способность в почках и сердце до такой же степени, как и в печени. В мозге окислительная способность повышается гораздо меньше, а в семенниках совсем не повышается. Поэтому при холиновой недостаточности некротическим и дегенеративным изменениям, всегда протекающим с отложением жира (Wilgram, Hartrot, Best, 1954), подвержены почки, сердце, печень—органы, которые способны к окислению жирных кислот под влиянием холина.

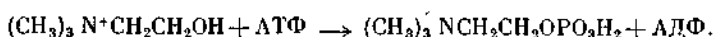
Понижение протеина в диете, а также введение холестерина, как известно, способствуют ожирению печени и в то же время понижают удерживание холина печенью (Okey, Goossen, 1953). Это говорит о том, что для липотрофного действия холина необходимы факторы, которые бы удерживали его в печени.

Холин как материал для образования ацетилхолина. В главе 6, на стр. 269 мы описывали механизм ацетилирования, в частности ацетилирования холина в ацетилхолин. Как мы видели, для ацетилирования холина необходим активный ацетат (ацетил-коэнзим А), источником которого служит пировиноградная кислота, окисляющаяся в ацетат при посредстве липотиамидапирофосфата. Отсюда становится очевидным значение тиамина для образования ацетилхолина и те поражения нервной системы, которые возникают при В₁-авитаминозе вследствие недостатка ацетилхолина (Корягина и Каргина, 1940; Коштоянц, 1945, 1948). В подтверждение этому в 1946 году Аносов нашел пониженное содержание ацетилхолина в крови людей, страдавших В₁-авитаминозом.

Ацетилхолин участвует в биохимических превращениях, лежащих в основе нервно-мышечного возбуждения, и, по данным Кошеттани (1950), вместе с холинэстеразой—ферментом, расщепляющим ацетилхолин, содержится в

наибольшем количестве в тех местах центральной нервной системы, где имеется наибольшее количество ганглиозных клеток. Кометиани (1952) было доказано наличие в головном мозге трудногидролизуемого фосфорил-холина, который легко превращается ацетилирующей системой головного мозга (с помощью коэнзима А) в ацетилхолин. При этом оказывается, что в гомогенатах мозга, где фосфорил-холин гидролизуется, синтез ацетилхолина происходит гораздо медленнее, чем в вытяжках из ацетонового порошка мозга, где фосфорил-холин не гидролизуется.

Кроме того, в присутствии холина и глутамата, когда происходит усиленный синтез ацетилхолина, наблюдается также накопление и фосфорил-холина. Это дало основание Кометиани (1953) предположить, что фосфорил-холин является промежуточным продуктом синтеза ацетилхолина из холина. Из ацетонового порошка пивных дрожжей, печени, мозга, почек и кишечника был выделен (Wittenberg, Kornberg, 1953) фермент холин-фосфокиназа, фосфорилирующий холин согласно следующей реакции:

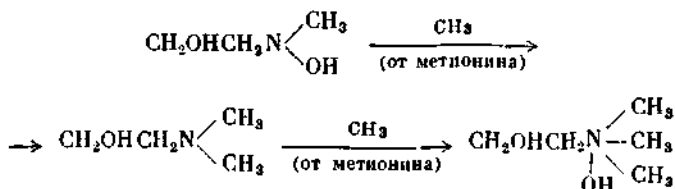


Таким образом, становится понятным происхождение фосфорил-холина в мозге не как продукта гидролиза лецитина, а скорее как продукта фосфорилирования холина.

Биосинтез холина

Акцептором метильной группы для эндогенного биосинтеза холина в животном организме служат этаноламин, метиламиноэтанол и диметиламиноэтанол. В тканях животных, которым вводили одновременно метионин, меченный дейтерием по метильной группе, и аминокислоту, меченную N^{15} , был обнаружен холин, содержащий оба изотопа (Stetten, 1941, 1942). Монометиламиноэтанол и диметиламиноэтанол предохраняют цыплят, содержащихся на рационе с недостатком холина, от перозиса (Jukes, Oleson, Dornbush, 1945). При этом диметиламиноэтанол стимулировал рост, в противоположность монометиламиноэтанолу. Одновременное добавление метионина к рациону стимулировало рост в обоих случаях (Jukes, Oleson, Dornbush, 1945; Burke, Nystrom, Johnson, 1951).

Таким образом, организм цыпленка, не способный метилировать метионином этаноламин, метилирует моно- и диметиламиноэтанолы с образованием холина согласно следующей схеме:



Организм морской свинки может использовать вместо холина только диметиламиноэтанол (Reid, 1955), очевидно, ни этаноламин, ни монометиламиноэтанол он не метилирует. У поросят диметиламиноэтанол понижает потребность в синтезе метильных групп, а аминоэтанол сильно повышает эту потребность и тем самым вызывает холиновую недостаточность (Johnson, Firth, Mistry, 1955).

Биосинтез холина можно разбить на две стадии: 1) метилирование этаноламина в диметилэтаноламин, которое стимулируется производным фолиевой кислоты и сильно снижено у крыс с недостатком ее, и 2) метилирование диметилэтаноламин метильной группой метионина, которое не зависит от фолиевой кислоты (Stekol, Weiss, Anderson, 1955).

Биосинтез холина по вышеуказанной схеме был воспроизведен (Ackerman a. oth., 1953) *in vitro* при инкубации срезов печени с l-метионином и диметиламиноэтанолом в присутствии KCN, который добавлялся в качестве тормозителя холин-оксидазы. Образование метильных групп холина идет из β-углеродов серина (Stekol, Weiss, Smith, 1953).

Позднее (Elwyn, Weisbach, Henry, Sprinson, 1955) было найдено, что серин может обмениваться с глицином, а также путем декарбоксилирования давать этаноламинную часть молекулы холина. Как мы увидим ниже, в этих превращениях β-углерода участвует фолиевая кислота, тогда как витамин B₁₂ способствует использованию α-углерода глицина, восстанавливая его в метильную группу (Stekol a. oth., 1952; Johnson a. oth., 1955).

Большинство микроорганизмов способны синтезировать холин и поэтому в нем не нуждаются.

В тонком кишечнике свиньи имеются микробы, способные расщеплять холин. Оказалось, что это действие их сильно заторможено хлортетрациклином (Michel, 1956). Поэтому хлортетрациклин можно рассматривать как холиногенный фактор, стимулирующий рост свиньи.

Биосинтез холина был доказан также и в прорастающих семенах высших растений, в частности мелкого горошка (*Cicer arietinum*) (Ahmad, 1953). Накопление холина в проростках *Cicer arietinum* происходит в течение первых 96 часов прорастания до максимальной величины, равной около 3,8 мг/г, а затем постепенно падает. Биосинтез холина стимулируют ионы калия, аммония и нитрата, тиамин, рибофлавин, метионин, креатинин, ацетон и метанол. Наоборот, аскорбиновая кислота, никотинамид и гомоцистин тормозят биосинтез холина. Таким образом, соединения, обладающие метильными группами, стимулируют синтез холина прорастающими семенами, а соединения, являющиеся акцептором метила, тормозят вышеуказанный синтез.

Нарушения при недостатке холина

Клинические явления холиновой недостаточности подробно изложены в книге Черкеса (1953), и поэтому на описании их мы не будем останавливаться. Отметим только последние данные о симптомах холиновой недостаточности. У молодых крыс на диете, лишенной холина, в течение первых четырех недель нет заметных изменений в почках, но явно выражено ожирение печени. Однако вскоре наступают жировые изменения (переполнение жиром почечных канальцев), некроз, увеличение размеров и цвета почек (Вахер, Goodman, 1955). Описанная ранее геморагия почек при холиновой недостаточности, вероятно, является следствием сужения сосудов, ввиду накопления жира в клетках почечных канальцев. Жировые изменения в почках были описаны также и у мышей по прошествии 20 дней содержания на диете, лишенной холина (Buckley, Hartroft, 1955). Добавление цистина в диету, бедную холином, ускоряет появление повреждения почек, причем в первую очередь страдают молодые крысы-самцы. Содержание беременных крыс на такой диете вызывает у сосунков образование геморагии почек на 7-й день жизни. Добавление к диете беременных крыс 1 мг

холина на 1 г корма слабо предохраняет потомство самцов и совершенно предохраняет самок от геморрагии. В то же время при одновременном добавлении 0,06 мг витамина В₁₂ на 1 г той же диеты рождается нормальное потомство обоих полов (Mulford, 1955). У крыс с холиновой недостаточностью были обнаружены сердечно-сосудистые расстройства вследствие ожирения сердца (Wilgram, Best, Blumen, Stein, 1954, 1955). К этим нарушениям были более чувствительны самцы, чем самки. Число сердечно-сосудистых повреждений может повыситься при введении в диету, лишенную холина, 1 % холестерина для самцов и 2% последнего для самок. Подобное же действие оказывает и инъекция гормона надпочечников (5 мг на 120-граммовую крысу). Это согласуется с данными Моргана (Morgan, Lewis, 1953), что при пантотеновой недостаточности, когда нарушены жировой обмен и образование гормона надпочечников, симптомы одновременной холиновой недостаточности в виде ожирения печени и других органов не проявляются.

У кроликов, в дополнение к вышеуказанным симптомам, при недостатке холина были отмечены (Hove, Coreland, Salmon, 1954) также умеренная анемия и мышечная дистрофия, последняя несколько отличалась от таковой при авитаминозе Е и напоминала скорее прогрессивную мышечную дистрофию человека. Она характеризуется гиалиновой дегенерацией, повышенным выделением креатина и пониженным—креатинина. Добавление в диету витамина Е не устраняет ее, тогда как после введения холина креатинурия и мышечная слабость проходят в течение трех дней. Однако обе мышечные дистрофии (вследствие недостатка холина и витамина Е) патогенетически связаны между собой. Причина возникновения мышечной дистрофии при недостатке холина лежит в нарушении образования ацетилхолина. Подобная же дистрофия может возникнуть и при недостатке пантотеновой кислоты или витамина Е, ибо для образования ацетилхолина из холина необходим коэнзим А в своей восстановленной активной форме, которая поддерживается витамином Е (см. гл. 16, стр. 523).

Холиновая недостаточность может возникнуть не только вследствие недостаточности холина в пище, но и в результате нарушения функции определенных органов, ответственных за обмен холина и обеднение организма

метильными группами. Так, при отравлении селеном, который выводится из организма предварительно метилированным, наступают явления холиновой недостаточности (жировая инфильтрация печени и др.).

Фармакодинамические свойства холина. Внутривенная инъекция собакам небольших доз холина (1 мг/кг веса тела в растворе 1:1000) вызвала понижение кровяного давления с 130 до 70 мм, а 5 мг/кг в растворе 1:10—повышение кровяного давления с 100 до 170 мм (Leimdorfer, 1955). Это гипертоническое (адренэргическое) действие больших доз холина следует учитывать при применении его в качестве терапевтического средства.

Антагонисты холина

Введение в диету, содержащую более 20% жира и лишенную холина, 2-амино-2-метилпропанола или α, α -диметилтриэтилхолина в соответствующих количествах—1 и 2,4% вызывает у крыс симптомы холиновой недостаточности (ожирение печени и геморрагию почек), исчезающие после включения в такую диету холина (Wells, 1954).

В случае 2-амино-2-метилпропанола было отмечено (Wells, 1955) строгое конкурентное торможение для всех доз холина. Так, при наличии 0,33% 2-амино-2-метилпропанола в диете, содержащей 18% казеина и 21% жира, требовалось 100 мг% холина для полного предупреждения от симптомов недостаточности. После включения 0,67% антагониста требовалось 150 мг% холина, а при 1% того же антагониста требовалось 200 мг% холина. Обычно 1 мг холина заменяют 4 мг dl-метионина и столько же бетанина или β -диметилпропиотетина, наличие 0,33% антагониста в диете требовало в 4,5 раза больше dl-метионина или в 5,15 раза больше бетанина или β -диметилпропиотетина (Wells, 1956). Это указывает, что 2-амино-2-метилпропанол не только тормозит использование холина молодыми крысами, но и биосинтез его из метионина и бетанина.

Содержание холина в яйцах и в молоке. В яйцах холин содержится только в желтке (175—308 мг). В процессе инкубации яиц он переходит сначала в белок, а затем и в эмбрион. С 16-го по 21-й день инкубации одновременно с значительным переходом холина в эмбрион отмечаются

и потери его в яйце. К 21-му дню инкубации эти потери холина составляют около 30% первоначального содержания его в яйце, а потребление зародышем—53—67% от оставшегося количества. Скармливание курам корма с белком только растительного происхождения повышает потери холина, а добавление в корм дрожжей или фолиевой кислоты и витамина B₁₂ понижает потери его (Циеленс, 1953, 1954).

Таблица 50

Содержание холина в молоке и молозиве в разное время лактации (в мг на 100 мл)

Вид и порода животных	Месяц отела	Молозиво		Молоко			
		1-й день	2-й день	10-й день	4-й месяц	5-й месяц	6-й месяц
Коровы бурой латвийской породы	IV	51	30	6	33	40	4
То же	V	48	25	6	—	—	31
»	XI	72	25	15	—	—	—
Козы Латвии	IV	143	47	15	34	35	66
»	V	69	15	—	—	—	18
Овцы латвийские темного- ловые	III	94	25	5	—	—	—
То же	IV	77	25	—	—	—	—
Кобылы латвийские уп- ряжные	III	60	15	4	—	—	—
Кобылы метисы арденов	IV	36	15	3	—	40	—
Свиньи крупной белой по- роды	IV	70	10	6	—	—	—
То же	V	30	13	0	—	—	—
»	X	90	45	28	—	—	—

Как видно из данных таблицы 50, в молозиве всех животных холина содержится гораздо больше, чем в молоке (Циеленс, 1954). Осенью после длительного пребывания животных на пастбище в молозиве и молоке содержится гораздо больше холина, чем весной.

Потребность в холине

Потребность в холине крыс составляет в среднем 5 мг в день на крысу. Эта доза полностью предохраняет крысу от жировой инфильтрации печени и поражения почек.

Однако потребность самок в холине несколько ниже, чем самцов. Потребность в холине колеблется в зависимости от возраста крысы (у молодых потребность выше), от породы ее, от внешней температуры (повышение температуры с 20 до 32° увеличивает потребность в 4—5 раз) (Mills, 1943), а также и от состава диеты. Поэтому потребность крыс считается равной около 100 мг холина на 100 г корма диеты, содержащей 18% казеина при 20°. Если же содержание белка снижается до 10%, то потребность в холине повышается.

Потребность крыс-сосунов составляет 3 мг на крысу ежедневно. Однако полное удовлетворение потребности в холине достигается ежедневным введением каждой крысе на диете, лишенной холина, 1—2 мг последнего. Это указывает, что крысы-сосуны синтезируют ежедневно около 1—2 мг холина (Wells, 1956).

Потребность цыплят в холине для роста и предупреждения перозиса составляет 0,05% в рационе. Однако при отсутствии фолиевой кислоты в диете, даже повышение холина в диете до 0,8% не давало максимального роста цыплят и не предупреждало перозиса у них (Joung, Norgis, Neuser, 1955). Холин необходим и для яйценоскости взрослой птицы. Наибольшая яйценоскость была отмечена у кур, получавших в диете одновременно с холином метионин и витамин B₁₂ (Welch, Couch, 1955).

Щенкам нужно около 10 мг холина на 100 г пищи или 50 мг на 1 кг веса тела (Mc Kibbin, Tayer, Stare, 1944); взрослым собакам—30—35 мг на 1 кг веса тела.

Таблица 54

Потребность в холине домашней птицы
(в мг на 100 г рациона)

Вид птицы	Потребность в холине	Критерий
Цыплята	50	Предупреждение перозиса
	100	Рост
	150	Рост и предупреждение перозиса
Индошата	100	Рост
	200	Предупреждение перозиса

Содержание холина в пище человека в среднем составляет 0,1—0,2% и достигает в сутки от 1,5 до 4 г, этого вполне достаточно, чтобы удовлетворить потребность в нем (Черкес, 1953).

Кроликам требуется примерно 0,13 г холина на 100 г кормов (Hove, Copeland, Salmon, 1954).

Морским свинкам нужно от 100 до 150 мг холина на 100 г кормов (Reid, 1955).

Потребность в холине свиней всех возрастов составляет 10 мг на 1 кг живого веса (Colborn, 1957).

В таблице 51 показана потребность в холине домашней птицы (Colborn, 1957).

Глава 9

ИНОЗИТ

Химическая природа инозита, так же как и многих других витаминов (никотиновой кислоты, холина и парааминобензойной кислоты), была известна задолго до выяснения его свойств. История изучения циклитолов, к которым относится инозит, начинается с открытия в 1848 году (Liebig, 1848) в мясном бульоне вещества, которое несколько позднее Шерер (Scherer, 1850) выделил в кристаллическом виде и назвал инозитом, или мясным сахаром, вследствие его сладкого вкуса. В 1856 году изомерное сахароподобное вещество было выделено (Vohl, 1856, 1857, 1858) из бобов и гороха и названо спиллитом. В 1868 году Балико-Ивановская выделила из алеироновых зереп злаков фосфорсодержащее вещество, идентифицированное в 1895 году Палладиным с фосфорным эфиром инозита и названное им фитином.

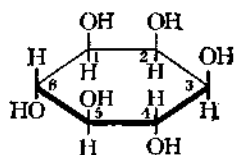
Большую услугу в выяснении химической природы инозита оказали работы Маккена (Maquenne, 1853, 1887, 1897), который установил, что широко распространенный в природе инозит представляет собой оптически неактивное соединение, названное им мезо-инозитом. Изомерный, правовращающий d-инозит был получен гидролизом (йодистоводородной кислотой) метилового эфира d-инозита—пинита, выделенного (Berthelot, 1855) ранее из сока калифорнийской сосны (*Pinus Lambertiana*). Позднее были получены и другие изомеры инозита как синтетически, так и из естественных источников.

В 1914 году Виландом (Wieland, Wilhart, 1914) был выполнен общий синтез инозита, а в период с 1932 по 1950 год Постернаком (Posternak, 1932, 1936, 1944, 1946, 1950) была изучена стереоизомерия и установлено химическое строение изомеров инозита.

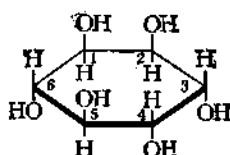
Изучение биологического значения инозита начинается с 1928 г., когда Исткотт (Eastcott, 1928) идентифицировал фракцию биоса I с кристаллическим инозитом, выделенным им из чая. В 1940 г. Вуллей (Woolley, 1940, 1941) обнаружил, что синтетическая диета, содержащая все известные в то время витамины в виде чистых препаратов, не обеспечивала нормальный рост мышей и вызывала облысение. Эти явления устранялись включением в диету водного экстракта печени. Активным веществом в печени оказался инозит. Исследования пищевого значения инозита показали, что он также необходим и другим животным (крысам, морским свинкам, хомякам, цыплятам и человеку).

Стереокизомерия, физико-химические свойства и синтез инозита

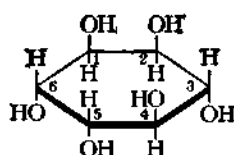
Инозит—шестиатомный спирт, производное от циклогексана. Теоретически для такого соединения возможны семь недеятельных стереокизомеров, два оптических антипода и один рацемический стереокизомер. В природе найдены одна недеятельная форма (мезоинозит), две оптически деятельные формы (d- и l-инозиты) и рацемическая форма (d,l-инозит). Кроме того, синтетически были получены и остальные две недеятельные *cis*-формы инозита: эпи-инозит и сциллит.



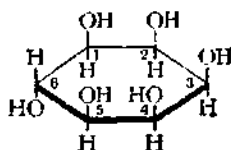
Мезо-инозит, или
циклогексан-(1,2,3,5)-
cis-гексол



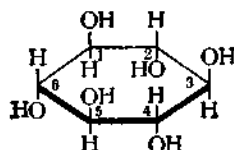
d-Инозит, или
циклогексан-(1,2,5)-
cis-гексол



l-Инозит, или
циклогексан-(1,2,4)-
cis-гексол



Эпи-инозит, или
циклогексан-(1,2,3,4,5)-
cis-гексол



Сциллит, или
циклогексан-(1,3,5)-
cis-гексол

На предыдущей странице изображены пространственные конфигурации этих пяти *cis*-форм инозита. Рацемическая форма является смесью равных частей своих антиподов, а остальным трем недействительным формам инозита будут соответствовать их *trans*-формы.

Из всех изомеров мезо-инозит наиболее широко распространен в природе и в то же время является единственно активной формой инозита для животных и дрожжей (Woolley, 1941, 1944). Поэтому мы подробнее остановимся на физико-химических свойствах мезо-инозита.

Мезо-инозит кристаллизуется безводным из горячей уксусной кислоты или воды, а из теплой воды (до 50°) с двумя молекулами кристаллизационной воды в виде моноклинических кристаллов. Температура плавления мезоинозита 217—218°, *d*-инозита 247—248°, *l*-инозита 247°, рацемата 253°, эпиинозита 285° и сциллита 345°. Вращение *d*-инозита $[\alpha]_D^{25} = +65$ и *l*-инозита $[\alpha]_D^{25} = -64,1$ (в 4%-ном водном растворе.)

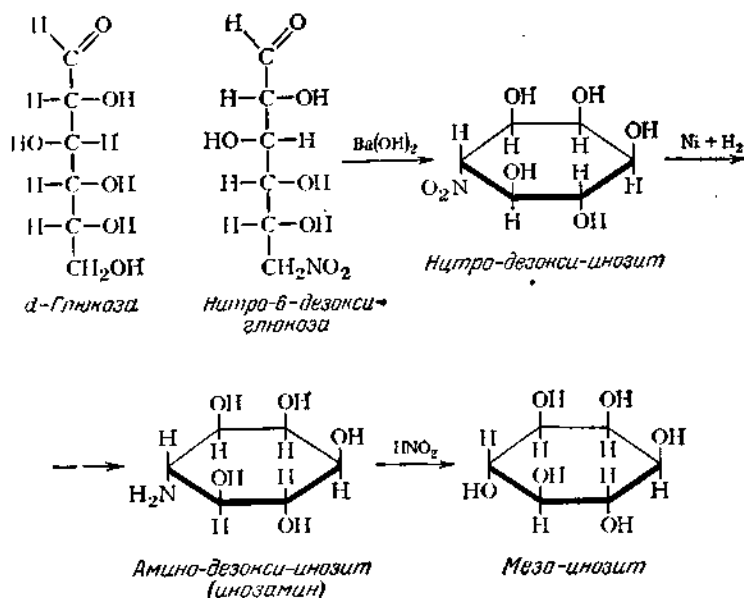
Мезо-инозит легко растворим в воде (1 часть растворяется при 12° в 10 частях, а при 23,6°—в 5,7 частях воды) и в уксусной кислоте, слабо растворяется в холодном спирте и нерастворим в абсолютном спирте и эфире. Мезо-инозит, как и другие его изомеры, имеет сладкий вкус. При нагревании инозит дает фурфурол.

При окислении инозита хромовой кислотой образуется углекислота и муравьиная кислота, а при длительном кипячении с концентрированной азотной кислотой—щавелевая кислота.

Инозит восстанавливает аммиачный раствор серебра в сильно разбавленном едком натрии с образованием серебряного зеркала. Инозит устойчив к кипячению с разбавленными растворами кислот и щелочей. Уксусный ангидрид или ацетилхлорид ацетилируют при 170° все шесть гидроксильных групп инозита, и добавление $ZnCl_2$ ускоряет этот процесс.

При добавлении к концентрированному раствору инозита одной капли раствора нитрата ртути появляется желтый осадок, который при осторожном нагревании окрашивается в красный цвет, а при охлаждении эта окраска вновь исчезает.

Синтез мезо-инозита. Здесь мы представим только схему синтеза мезо-инозита, разработанную Постернаком (Posternak, 1950):



Кроме того, вследствие своего широкого распространения, мезо-инозит может быть получен кислотным гидролизом фитина, выделенного из листьев грецких орехов, где он находится в большом количестве.

Биосинтез инозита

В моче диабетиков найдено гораздо большее количество инозита, чем принято с пищей, поэтому заключили, что в организме человека имеет место синтез инозита (Woolley, 1941, 1944). Позднее было показано, что биосинтез инозита происходит и в организме крыс, выделявших повышенное количество мочи (Woolley, 1942) вследствие введения им солей. Оказалось, что в кишечном тракте мышей и крыс имеются бактерии, синтезирующие инозит. Этот биосинтез часто вызывает у них спонтанное излечение от алопеции, возникающей от недостатка инозита в пище.

Однако причина повышенного выделения инозита у животных пока еще не выяснена. В то же время уста-

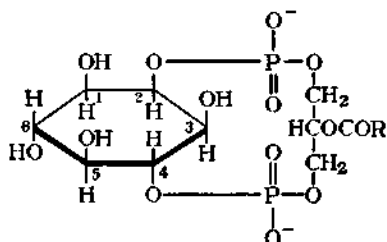
новлено, что ткани крыс и птиц синтезируют инозит. Последнее доказано (Daughaday, Larner, Hartnett, 1955) переходом глюкозы, меченной C^{14} и введенной внутрибрюшинно молодым крысам, в инозит печени и туловища и переходом той же глюкозы, введенной в хориоаллантоидную мембрану эмбриона цыпленка, в инозит, т. е. в случаях полного исключения биосинтеза инозита кишечной флорой.

Инозит синтезируется большинством бактерий (Thompson, 1942), а также туберкулезными бактериями, у которых были найдены инозитсодержащие фосфатиды.

Все зеленые растения синтезируют инозит, причем в фруктах и семенах содержание инозита достигает максимума перед созреванием, а затем постепенно исчезает по мере накопления сахара, крахмала или масла.

Биологическое значение и превращение инозита в организме

В растительных и животных тканях инозит встречается в свободной форме, но в основном в связанной, в виде инозитовых фосфолипидов. Установлены следующие три типа инозитовых фосфолипидов. I тип наиболее изучен — это мозговой дифосфоинозитид, освобожденный при слабом щелочном гидролизе инозитового фосфолипида мозга быка (Folch, 1949). Этому дифосфоинозитиду была предложена (Hawthorne, 1955) следующая структура:



в которой показано, что инозит связан двумя ортофосфатными мостиками с крайними гидроксильными группами глицерина, в свою очередь этерифицированного жирной кислотой¹. II тип также встречается в животных тканях, но при слабом гидролизе из него освобождается инозит-5-монофосфат жирной кислоты и глицерин (Mc. Kibbin, 1954,

Hawthorne, 1955). III тип встречается только в липоидах растений и бактерий (Hawthorne, Chargaff, 1954) и также содержит инозит-монофосфат. При кислотном гидролизе инозитового фосфолипида, полученного как из соевых бобов, так и из земляного ореха, освобождался идентичный инозит-монофосфат, галактоза и арабиноза. Последнее в фосфолипиде было гликозидно связано с инозит-монофосфатом (Hawthorne, 1955).

Однако, кроме инозитовых фосфолипидов, в тканях животных была найдена еще одна форма инозита, именно растворимая в воде и прочно связанная с частицами тканей, из которых никакими растворителями инозит не удавалось извлечь (Anderson, Halliday, Coots, 1955). Эта последняя форма составляет 7—31% от общего инозита.

Наоборот, у хряков в секрети семенников, которая служит наиболее богатым источником инозита (до 2—3%), последний находится в основном в свободной форме (Mann, 1954).

Сперма хряков отличается от спермы других млекопитающих большим объемом, меньшим количеством сперматозоидов и более медленным извержением, инозит же, поддерживая постоянное осмотическое давление в ней, участвует тем самым в продлении жизни сперматозоидов.

Общность конфигурации мезо-инозита и глюкозы привела к мысли о возможности их взаимопревращения в организме.

Еще недавно отмечалось (Fischer, 1945), что в биологических системах инозит находится в равновесии с глюкозой, а Штеттен (Stetten, Stetten, 1946), вводя мезо-инозит, меченный дейтерием, фторидизированным крысам, обнаружил в их моче глюкозу с небольшой концентрацией того же дейтерия. На основании этого он заключил, что мезо-инозит превращается в организме крысы в глюкозу. Это предположение позднее было подтверждено Постернаком (Posternak, Schopfer, Reymond, 1955) и доказано, что разрыв циклогексанового кольца в инозите происходит между 1 и 2 углеродными атомами.

В цитоплазме клеток мозга содержится в 10 раз больше свободного мезо-инозита, чем в печени (Maibauer, Herken, 1956), и в 100 раз больше, чем в сыворотке крови. После смерти животного значительная часть мезо-инозита мозга

переходит в цереброспинальную жидкость, так что содержание его там повышается от 3 до 72 мг% (Nixon, 1955). В печени мезо-инозит легко обменивается и содержание его повышается, в мозге же он обменивается очень медленно и концентрация его постоянна (Herken, Maibauer, Weygand, 1958).

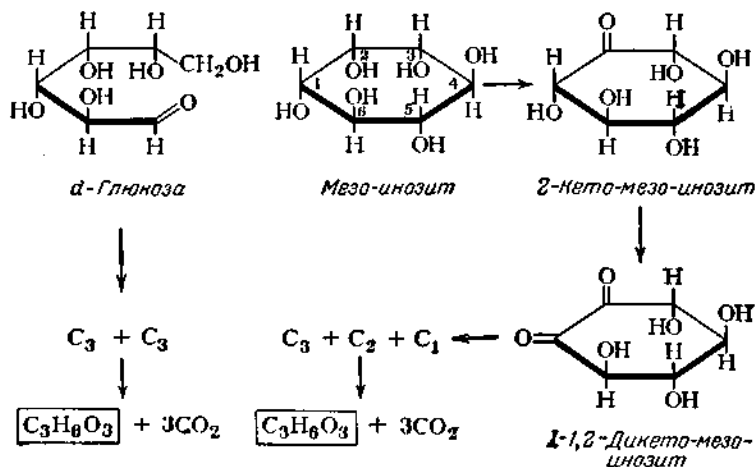
В нервной системе мезо-инозит в энергетическом отношении заменяет глюкозу. После удаления глюкозы из перфузированной жидкости изолированного нервного ганглия кошки последний не реагирует на ацетилхолин и введение мезо-инозита восстанавливает возбуждающее действие ацетилхолина.

Мезо-инозит в основном откладывался в органах. При дозах, не превышающих 5 мг/кг, 20% введенного мезо-инозита окисляется в течение 24 часов после введения в CO_2 , около 10% переходит в глюкозу и примерно 5% выделяется с мочой. При более высоких дозах выделялись большие количества мезо-инозита: при дозе 10 мг—20%, а при дозе 100 мг—около 80% (Herken, Maibauer, Weygand, 1957, 1958).

При сбраживании глюкозы и мезо-инозита в анаэробных условиях граматрицательной расой *Aerobacter* получались различные продукты. При сбраживании глюкозы образовывался 2,3-бутиленгликоль, при сбраживании мезо-инозита этот продукт никогда не обнаруживался, но накапливались двухуглеродные соединения: этанол и уксусная кислота (Volk, Pennington, 1951). Исследования (Magasanik, 1951, 1953) диссимиляции инозита в организме *Aerobacter aerogenes* показали, что первым этапом в превращении мезо-инозита является дегидрогенизация его в 2-кето-мезо-инозит, а затем потеря еще двух атомов водорода и превращение в 1-1,2-дикето-мезо-инозит.

Эти промежуточные продукты были изолированы, и оказалось, что добавление каждого из них вместо мезо-инозита к среде *A. aerogenes* дает те же конечные продукты, что и сам мезо-инозит. Дальнейшее превращение мезо-инозита происходит с разрывом циклогексанового кольца и образованием молочной кислоты, этилового спирта или уксусной кислоты и углекислоты в противоположность глюкозе, которая расщепляется до пиروвиноградной в аэробных условиях или до молочной— в анаэробных.

Общая схема сравнительного распада глюкозы и мезо-инозита в организме изображается следующим образом:



Таким образом, очевидно, что дейтерий инозита в опытах Штеттена переходил на гликогенное вещество $[C_3H_6O_3]$, в данном случае на молочную кислоту, из которой в организме образовывалась глюкоза, переноса на себя и дейтерий молочной кислоты.

Расы *Aerobacter aerogenes*, растущие на глюкозе, могут адаптироваться к инозиту и вырабатывать соответствующие ферменты для диссимилиации его. При переносе бактериальных клеток из глюкозной среды на инозитовую отмечается первоначально период задержки роста, а затем быстрый рост. Этот период необходим для перестройки соответствующих ферментатических систем. Из всех стереоизомеров инозита организмами диссимилируются только мезо-инозит и d-инозит. Кроме того, как было уже указано, расщепляются также кето-производные мезо-инозита: 2-кето-мезо-инозит, 1-кето-мезо-инозит и 1,1,2-дикето-мезо-инозит.

Биологически активные изомеры и производные мезо-инозита

Окисление инозитов микроорганизмами еще не свидетельствует об их ростстимулирующей активности, так как окисление может остановиться и на промежуточной

стадии на соответствующей инозозе, если строение последней перестает удовлетворять стереохимическим требованиям, необходимым для дальнейшего окисления. Из всех инозитов рост капсулируемых бактерий стимулируют только мезо-инозит и d-инозит (Magasanik, 1953). Хотя последние наиболее слабо окисляются, но они активны, а наиболее сильно окисляющийся эпи-инозит (Magasanik, Franzl, Chargaff, 1948, 1952) оказался биологически неактивным. Все эфиры и производные мезо-инозита оказались не активными к дрожжам, в опытах же на мышцах активными были только три эфира мезо-инозита: фосфорный (фитин), уксусный (инозит-гексаацетат) и липозит соевых бобов. Для крыс фитин оказался неактивным (Woolley, 1944).

Из антагонистов мезо-инозита следует отметить активный инсектицид—гексахлороциклогексан—это мезо-инозит, в котором все гидроксилы заменены атомами хлора.

Гексахлороциклогексан тормозит рост дрожжей (*S. cerevisiae*), и это торможение снимается мезо-инозитом (Kirkwood, Phillips, 1946). *Neurospora crassa* не нуждается в инозите, однако после освещения ультрафиолетом она становится чувствительной к мезо-инозиту. Гексахлороциклогексан тормозит рост дикой расы *Neurospora crassa* и дефективной, освещенной ультрафиолетом. Притом мезо-инозит снимает это действие только у дефективной расы (Fuller, Barratt, Tatum, 1950). Таким образом, торможение роста гексахлороциклогексаном обратимо лишь у тех организмов, которые требуют мезо-инозита.

Инозит способствует образованию α -амилазы в поджелудочной железе животных и в клетках микробов и, как указывалось ранее, стимулирует синтез рибофлавина у ряда грибов. Гексахлороциклогексан, наоборот, тормозит образование α -амилазы и рибофлавина (Tirupatayana, Sarma, 1953, 1954). Введение гексахлороциклогексана в диету крыс вызывает у них по прошествии 10—12 недель явления алопеции и падение амилазной активности в крови (Ramachandran, Sarma, 1954).

Липотрофное действие инозита

В 1942 году было установлено (Engel, 1942, 1943, 1948), что добавление крысам инозита к диете, содержащей все необходимые пищевые факторы, в том числе

и холин, понижает содержание жира в печени. Дальнейшие исследования (Best, Ridout, Patteson, Lucas, 1951) липотрофного действия инозита показали, что оно гораздо слабее, чем действие холина, и в отличие от холина проявляется у животных лишь на диетах, не содержащих жира, но содержащих витамин В. Особенно эффективно липотрофное действие инозита, когда крысы после предварительного истощения на диете, лишенной витаминов группы В, переводились на ту же гиполипотрофную диету, но содержащую обильное количество витаминов группы В. Липотрофное действие инозита сильнее у самок, у которых оно иногда даже наблюдалось на диете, содержащей жир. Возможно, что здесь имеется лишь мобилизация свойственных самкам больших отложений жира. Как указывает Черкес (1949), инозит, усиливая липотрофное действие холина, тормозит также ожирение печени при апротеинозе. Однако это действие инозита при апротеинозе гораздо слабее, чем холина. Липотрофное действие инозита Хартман (Hartman, 1954) приписывает способности его освобождать метионин из протеина.

У больных раком желудочно-кишечного тракта часто наблюдается жировая инфильтрация печени. Введение таким больным 120 мг инозита или 3 г холина понижает содержание жира в печени. Инозит в этих случаях является более активным и снижает жир печени до нормы (Abels, Kupel a. oth., 1943).

Инозит также понижал более чем в два раза нейтральный жир в плазме крови (Mc Kibbin, Brewster, 1953), тогда как содержание фосфолипидов и холестерина незначительно повышалось после введения инозита.

Учитывая все вышеуказанное, механизм липотрофного действия инозита остается все же неясным.

Недостаточность инозита и потребность в нем

В то время как Вуллей (Woolley, 1940, 1941, 1942, 1944) наблюдал у мышей после 4-недельного содержания на диете, лишенной инозита, прекращение роста и симметрическое облысение (алопецию), у крыс таких симптомов выявить не удавалось. Отмечалось, что в отсутствие инозита избыток биотина вызывал ожирение печени, которое устранялось инозитом, а также инозит способствовал липотрофному действию холина. Поэтому ряд исследо-

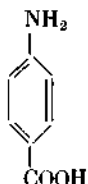
вателей последних лет (Kligler, Krehl, 1952; Maddy Switt, 1952) включали инозит в рационы крыс. Однако работа Кормика с сотрудниками (Cormick, Harris Anderson, 1954) показала, что для оптимального роста крыс не требуется вводить инозит в полноценную синтетическую диету.

Вопрос о потребности в инозите человека и животных окончательно не решен, но все же есть больше оснований считать инозит витамином, необходимым для большинства животных и некоторых микроорганизмов. Одно из них—это отложение инозита в тканях в виде связанных форм, очевидно необходимых для каких-то функций, в то же время биосинтез его всеми организмами не установлен.

Глава 10

ПАРААМИНОБЕНЗОЙНАЯ КИСЛОТА

Парааминобензойная кислота, давно известное в органической химии соединение, имеет следующее строение:



Парааминобензойную кислоту долго считали витамином, но в настоящее время нет доказательств о потребности в ней высших животных и человека. Не установлено пищевой недостаточности в парааминобензойной кислоте у позвоночных на синтетической диете, содержащей фолиевую кислоту (Reid, 1954; Woodruff a. oth., 1953; Harris a. oth., 1954). Парааминобензойная кислота стимулирует синтез многих витаминов кишечными бактериями.

Снижение содержания парааминобензойной кислоты в диете понижает получение макроорганизмом ряда витаминов и в том числе пантотеновой кислоты.

Мы видели (гл. 6), что недостаточность в последней приводит к ахромотрихии. Но поседение шерсти у черных мышей при отсутствии в диете парааминобензойной кислоты или пигментация волос у человека при введении чрезмерных доз ее, приписываемые зарубежными авторами непосредственно воздействию парааминобензойной кислоты, являются лишь косвенным действием ее. Поэтому парааминобензойную кислоту все же не следует рассматривать как самостоятельный витамин, несмотря на необ-

ходимость в ней некоторых микроорганизмов. При отсутствии в диете фолиевой кислоты, недостаточность в составной части ее—парааминобензойной кислоте, может усугубить симптомы недостаточности и, наоборот, введение последней ослабляет их. Это косвенное пищевое значение парааминобензойной кислоты будет объяснено в следующей главе.

Исходя из изложенного, не будем рассматривать парааминобензойную кислоту подробно.

Глава 11

Фолиевая кислота (витамин В₉)

В 1926 году в Закавказье Ефремов (1940) обнаружил у беременных женщин случаи макроцитарной анемии, которые, протекая в более тяжелой форме, чем при спру, не вызывали поносов. Так как печеночная терапия оказывала хороший эффект, то Ефремов высказал предположение об авитаминозном характере этой анемии и о наличии в печени антианемического витамина. Вскоре после этого установили (Wills, 1931, 1932), что дрожжи при лечении больных оказывают такое же действие, как терапия печенью, а также устраняют лейкопению и гранулоцитопению, встречающуюся у обезьян. Этот антианемический фактор в дрожжах был назван витамином М (Day, Langstron, Darby, 1935, 1938).

Дальнейшее изучение новых факторов шло одновременно по двум направлениям.

1. Известно, что все витамины группы В стимулируют рост микроорганизмов. Поэтому факторы, необходимые для питания микроорганизмов, нужны также и для высших животных, следовательно микроорганизм может служить модельным организмом. С помощью микробиологического исследования была выяснена природа пантотеновой кислоты, биотина и др.

В 1940 году было установлено (Snell, Peterson, 1940), что для роста *Lactobacillus casei* в дополнение ко всем известным витаминам требуется еще фактор, содержащийся в дрожжевом экстракте, адсорбируемый углем и названный норитно-элюатным фактором. После этого этот фактор был очищен и получен в виде кристаллического метилового эфира (Stokstad, 1941, 1943). Тот же кристаллический препарат был выделен и из печени. Однако оба препарата, имея одинаковый состав, физико-

химические свойства и активность к *L. casei*, обладали различной активностью к *Streptococcus faecalis* R. Препарат из печени оказался в два раза активнее дрожжевого препарата. Дальнейшие исследования показали, что антианемический витамин M, необходимый обезьянам и содержащийся в дрожжах, является связанной, микробиологически (на *S. faecalis* R.) неактивной формой фолиевой кислоты.

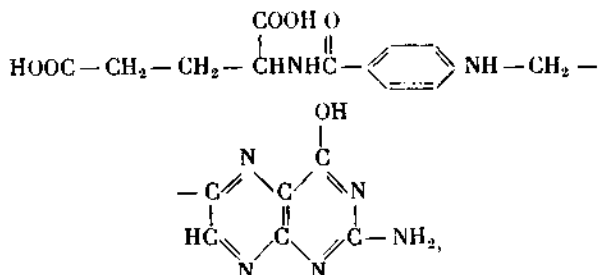
Одновременно с этим в 1941 году из листьев пшпната была выделена активная фракция, стимулирующая рост *Str. faecalis* R. (Mitchell, Snell, Williams, 1941, 1944). В дальнейшем оказалось, что эта фракция стимулировала рост *Lactobacillus casei* и других микроорганизмов. Эту фракцию назвали фолиевой кислотой. Позднее (1944) фолиевая кислота теми же исследователями была очищена, установили ее элементарный состав и молекулярный вес, равный 400. Испытание норитно-элюатного фактора печени и фолиевой кислоты на *L. casei* и *S. faecalis* показало их идентичность.

II. Исследование потребности животных в фолиевой кислоте одновременно протекало в нескольких самостоятельных направлениях и в основном на цыплятах. В 1939 году Хоган (Hogan, Parrott, 1939, 1940) показал, что цыплята на синтетической диете, содержащей все известные тогда витамины, заболевали гипохромной макроцитарной анемией. Добавление к такой диете водного экстракта печени устраняло эту анемию. Активный фактор, присутствующий в печени, был назван теми же авторами (1943) витамином B_c . Несколько позднее удалось выделить (Pfiffner a. oth., 1943) витамин B_c из печени в кристаллическом виде. Кристаллический витамин B_c в дозе 2,5 мкг на 1 г рациона вызывал нормальный рост цыплят и предохранял их от анемии, а в дозе 0,00005 мкг на 1 мл среды, лишенной норитно-элюатного фактора обеспечивал полумаксимальный рост *L. casei*. Тем самым витамин B_c был идентифицирован с элюатным фактором и фолиевой кислотой. Кроме того, оказалось (Mills a. oth., 1942), что фолиевая кислота необходима цыплятам и для оперения, а курам—для нормального развития эмбриона, высокой яйценоскости и выводимости.

Изучение потребности животных в фолиевой кислоте показало, что она необходима также морским свинкам (Woolley, Sprince, 1944, 1945), собакам (Krehl, Elvehjem,

1945), обезьянам (Day a. oth., 1945) и др. Однако одни животные в кишечнике синтезируют ее в достаточном количестве (крысы, мыши), а синтез ее в кишечнике других (птицы, морские свинки, обезьяны) не может удовлетворить полностью потребность в ней и поэтому этим животным требуется вводить ее.

В 1945 году фолиевая кислота была получена (Angier a. oth., 1945) синтетически и было окончательно доказано следующее ее строение:



т. е. она оказалась птероилглутаминовой кислотой (N-[4{[2-амино-4-окси-6-птеридил)-метил]-амино}-бензоил]-глутаминовой кислотой).

Синтетическая фолиевая кислота в дозе 25 мкг на 100 г корма предохраняла цыплят от задержки роста, слабого оперения и низкого содержания гемоглобина.

Физико-химические свойства и синтез фолиевой кислоты

Кристаллы фолиевой кислоты представляют собой желтоватые тонкие пластинки элементарного состава $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$ с молекулярным весом 441 и тремя максимумами поглощения в областях 260, 280 и 380 мμ. Соответственные величины $E_{1\text{см}}^{1\%}$ поглощения при pH 11 равны 407, 418 и 127. Кристаллы фолиевой кислоты не имеют видимой точки плавления, так как, не достигнув ее, они темнеют и обугливаются при нагревании выше 250°.

Фолиевая кислота плохо растворима в воде: 0,16 мг в 100 мл, при pH 3 и 25° и 100 мг в 100 мл кипящей воды при том же pH. Немного хуже растворима в метаноле и ледяной уксусной кислоте и еще хуже — в этаноле и бутаноле и совсем нерастворима в ацетоне и хлороформе.

При гидрировании уксуснокислого раствора фолиевой кислоты над платиновым катализатором она поглощает две молекулы водорода и переходит в дигидрофолиевую кислоту, которая легко окисляется в фолиевую даже при встряхивании с воздухом. Это указывает, что фолиевая кислота, по аналогии с рибофлавином, может служить акцептором водорода в окислительно-восстановительных системах.

Фолиевая кислота, так же как и другие птеридины с гидроксильной группой в 4-м положении пиримидо-пиазинового кольца, обладает способностью образовывать комплексы с ионами тяжелых металлов (Albert, 1950).

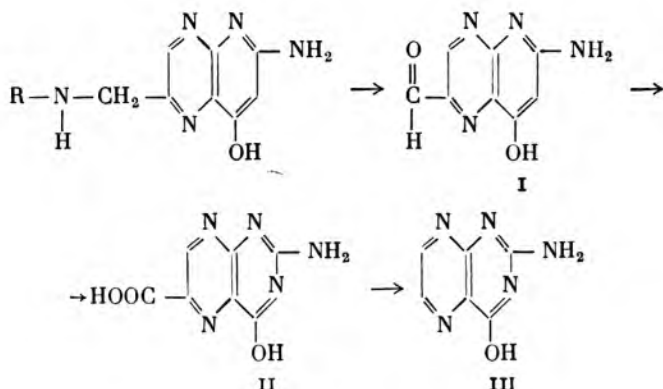
Вследствие наличия двух карбоксильных групп фолиевая кислота дает хорошо растворимые в воде соли щелочных металлов. При подкислении концентрированного водного раствора натриевой соли выделяется свободная фолиевая кислота в виде мелкокристаллического хлопьевидного осадка.

Фолиевая кислота адсорбируется грубыми коллоидами (суперфильтролем, фуллеровой землей и т. д.), а также и углем из кислых растворов. Однако извлечение фолиевой кислоты аммонием из угля происходит неполное, вследствие того что уголь адсорбирует фолиевую кислоту двумя слоями, причем нижележащим слоем более прочно, чем вышележащим. Если же уголь предварительно обработать анилином или другим органическим основанием и заместить нижележащий слой, то адсорбированная фолиевая кислота будет извлекаться полностью.

Растворы фолиевой кислоты не флуоресцируют, но после окисления их перманганатом в кислой среде получается производное ее — птеридил-6-карбоновая кислота, интенсивно флуоресцирующая в области 470 мμ. На этом свойстве основан метод количественного определения фолиевой кислоты (Андреева, 1953).

Фолиевая кислота разрушается от действия света и в большей степени от ультрафиолетовых лучей. При освещении фолиевой кислоты в слабокислом растворе она претерпевает окислительное расщепление с разрывом связи между птеридином и парааминобензоилглутаминовой кислотой с образованием 2-амино-4-окси-6-формилптеридина (I), последующим окислением в соответствующую 6-карбоновую кислоту (II) и возможным декарбоксилированием последней в 2-амино-4-оксиптеридин (III).

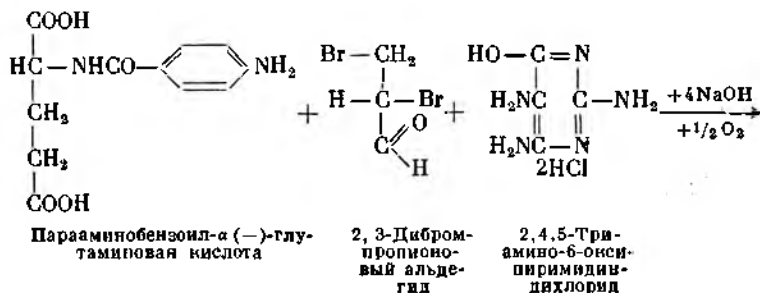
Вся реакция идет согласно следующей схеме (Lowry Bessey, Crawford, 1949):

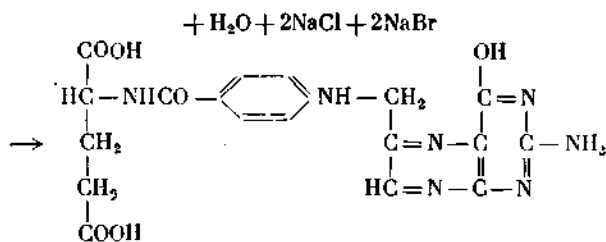


Процесс превращения фолиевой кислоты при фотолизе, так же как и при окислении ее перманганатом в кислой среде, приводит к образованию птеридил-6-карбоновой кислоты.

Синтез фолиевой кислоты. В настоящее время в промышленности фолиевую кислоту получают исключительно синтетическим путем. У нас в Союзе синтез фолиевой кислоты впервые был разработан Кирсановой и Труфановым в 1948 году и с некоторыми изменениями внедрен в производство.

Синтез фолиевой или птеронилглутаминовой кислоты состоит из отдельных синтезов трех ее исходных продуктов и в одновременной конденсации их в молекулу фолиевой кислоты. Процесс конденсации проходит по следующей схеме:





Птероилглутаминовая (фолиевая) кислота

Как видно из схемы, для конденсации фолиевой кислоты требуются следующие три продукта: 2,4,5-триамино-6-оксипиримидиндихлорид, 2,3-дибромпропионовый альдегид и парааминобензоил-d (—)-глутаминовая кислота.

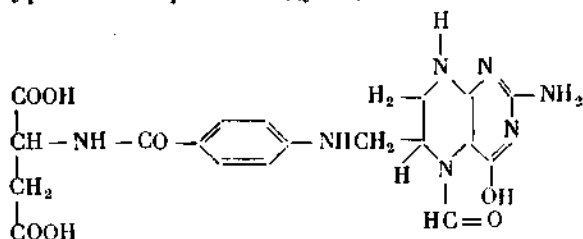
Полученная в результате конденсации фолиевая кислота может быть очищена различными методами. Очищенная фолиевая кислота перекристаллизовывается из горячей воды, после чего получают желтые кристаллы примерно 95%-ной чистоты.

Природные биологически активные формы фолиевой кислоты

Фолиевая кислота в чистом виде редко встречается в живых клетках, она присутствует там в основном в виде своих производных. В природе было найдено несколько биологически активных форм фолиевой кислоты. Три природные формы фолиевой кислоты отличались наличием или отсутствием в ее молекуле остатков глутаминовой кислоты. Один ферментированный фактор *L. casei* (птероилтриглутаминовая кислота) отличается от фолиевой кислоты двумя дополнительными остатками глутаминовой кислоты, соединенными в γ -положении. Это соединение было выделено (Hutchings a. oth., 1944, 1948) из сброженных дрожжей и получено синтетически (Hutchings a. oth., 1948). Вторая форма связанной фолиевой кислоты (птероилгептаглутаминовая кислота) отличается от чистой фолиевой кислоты шестью дополнительными остатками глутаминовой кислоты. Она была выделена из дрожжей (Pfiffner a. oth., 1945). Третий фактор *Streptococcus faecalis* (птериновая кислота) отличается от фолиевой кислоты отсутствием в своей молекуле остатков глутаминовой кислоты. Он был выделен из природных источников

и получен синтетически (Keresztesy, Rickes, Stokes, 1943, 1944). Близок к птериновой кислоте ризоптерин.

Четвертая, самая распространенная природная форма фолиевой кислоты, существенно отличается от первых трех. В 1948 году (Saubertlich, Baumann, 1948) она была впервые найдена в естественных продуктах (печени, рисовых отрубях и дрожжевом экстракте), при исследовании ростовых факторов, необходимых для *Leuconostoc citrovorum*, и поэтому названа фактором *Leuconostoc citrovorum*, сокращенно лейковорином, или фоллиновой кислотой. Фолиевая кислота, добавленная в среду *Leuconostoc citrovorum* вместо лейковорина, даже в больших дозах не стимулировала в такой степени рост этого микроба, как малые количества последнего. Дальнейшие биологические и химические исследования (Broquist, Stokstad, Jukes, 1950, 1951, 1952) фактора *L. citrovorum*, или лейковорина, выделенного из печени, показали, что он является формильным производным 5, 6, 7, 8-тетрагидрофолиевой кислоты. Это было подтверждено (Roth a. oth., 1952) и синтезом этого вещества из фолиевой кислоты. Синтетический лейковорин оказался (Saubertlich, 1952) идентичным с природным фактором *L. citrovorum*. Изучение структуры (Saubertlich, 1952; Cosulich, Roth a. oth., 1951, 1952) лейковорина показало, что формильная группа присоединена в 5-м положении птеридиновой части молекулы. Структура лейковорина следующая:



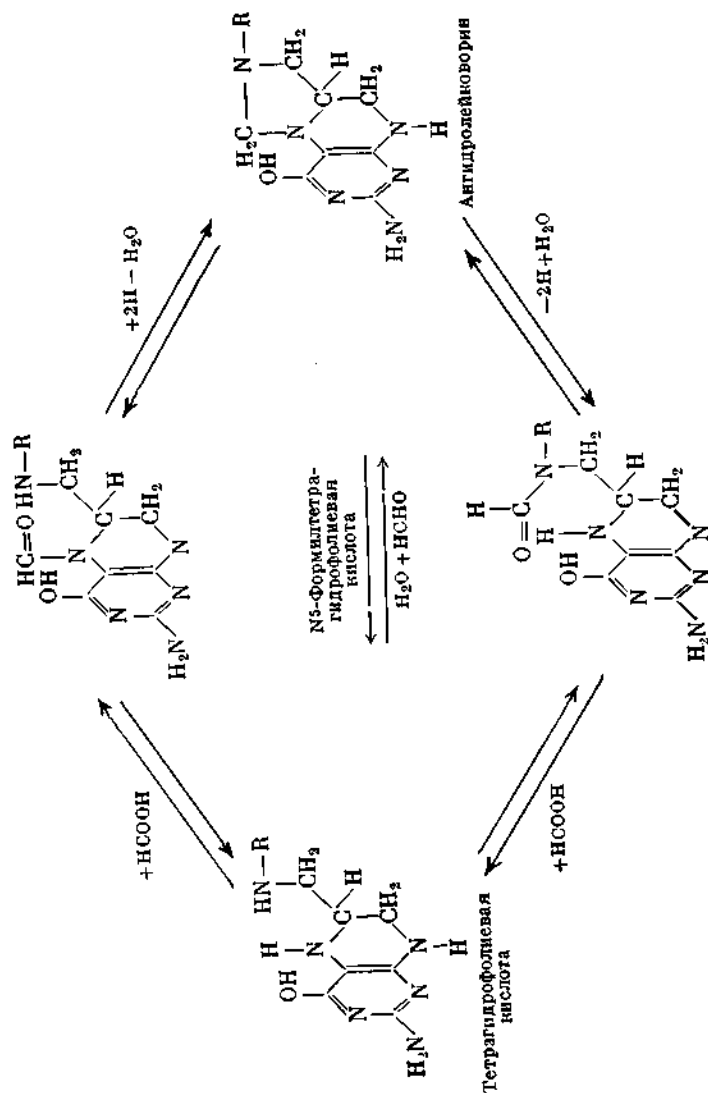
В кислой среде гидроксил в 4-м положении птеридиновой части лейковорина принимает кетонный характер и делает формильную группу в соседнем 5-м положении более подвижной. Поэтому в кислой среде лейковорин, отщепляя формильную группу, превращается в восстановленную лейкоформу фолиевой кислоты (Broquist a. oth., 1950, 1951, 1952). Однако биологическая активность синтетического продукта к *Str. faecalis* примерно в два

раза меньше, чем естественного. Это происходит вследствие образования нового асимметрического центра у 6-го углерода при восстановлении, в результате чего образуется смесь двух стереоизомеров, из которых только один активен (Silverman, Keresztesy, 1951). Обработка кислотой и последующее окисление ядра устраняет этот новый асимметрический центр и поэтому повышает активность к *Str. faecalis* до таковой соответствующей фолиевой кислоты.

Из автолизатов печени лошади была изолирована N^{10} -формилтетрагидрофолиевая кислота — N^{10} -СНОТГФК (Silverman, Keresztesy, 1954). Оказалось, что экстракты печени свиньи при инкубации с муравьиной кислотой, аденозинтрифосфатом и тетрагидрофолиевой кислотой переводят последнюю в N^{10} -СНОТГФК, которая и была изолирована из продуктов инкубации (Jaenicke, 1955). Таким образом, в природе возможно существование обоих формильных производных тетрагидрофолиевой кислоты. Указывалось (Blakley, 1954), что при восстановлении как лейковорин (N^5 -СНОТГФК), так и N^{10} -СНОТГФК переходят в соединение с тетрагидроглиоксалиновым кольцом (ангидролейковорин) согласно следующей схеме (см. на стр. 363).

Ангидролейковорин может превращаться обратно в 5- или 10-формилтетрагидрофолиевую кислоту.

Так же как фолиевая кислота, фолиновая (лейковорин) тоже существует в природе в связанной микробиологически неактивной форме и автолиз в анаэробных условиях освобождает из нее свободный лейковорин (Change, 1953). Оказалось, что клетки *Bacillus subtilis* (Hakala, Welch, 1955) или *Streptococcus faecalis*, инкубированные с фолиевой кислотой (Zakrzewski, Nichol, 1955) синтезировали 5-формил-5,6, 7,8 тетрагидроптероил- γ -глутамил- γ -глутамилглутаминовую кислоту или триглутаминовый гомолог лейковорина. Тот же продукт был найден Райтом (Wright, 1955) среди кофакторов, катализирующих превращение серина в глицин, в экстрактах *Clostridium cylindrosum*. Среди остальных кофакторов в экстракте вышеуказанного организма были найдены гекса- и гептаглутаматы лейковорина, содержавшие в своей молекуле, кроме того, и другие аминокислоты (две и три части глицина и серина) и обладавшие примерно 50%-ной коэнзиматической активностью первого.



Н¹⁰-Формилтетрагидрофолиевая кислота

Переход связанной фолиевой кислоты в ее формилтетрагидропроизводное подтвердили опыты Эльведжима (Dietrich, Monson, Elvehjem, 1952), в которых птероилдиглицил- и птероилтриглутаминовые кислоты переходили в соответствующие формилтетрагидропроизводные при инкубации их со срезами печени цыплят с недостатком фолиевой кислоты с такой же легкостью, как и свободная птероилглутаминовая кислота.

Из своей связанной формы фолиевая кислота может быть освобождена действием энзима поджелудочной железы цыпленка при pH 7 или энзима почки свиньи при pH 4,5.

Точно в таких же условиях освобождается и лейковорин из своего связанного состояния (Hill, Scott, 1952; Doctor, Couch, 1953; Nakawa, Welch, 1955). Из этого вытекает, что связанная форма фолиевой кислоты может превращаться в связанную форму лейковорина, так же как свободная фолиевая кислота в свободный лейковорин.

В таблице 52 представлены биологические активности всех вышеуказанных производных фолиевой кислоты.

Таблица 52

Биологическая активность природных производных фолиевой кислоты

Соединение	Для полумаксимального роста требуется в мкг на 1 мл среды			Цыплята	
	Str. faecalis	L. casei	Leucos- toc citro- vorum	мкг в 100 г диеты	мкг ежеднев- но
Фолиевая кис- лота	0,18 0,25	0,09 0,055	30000	25 75	5
Ферментирован- ный фактор . .	4,20	0,061	—	110	—
Связанная фолие- вая кислота . .	125,00	11,00	—	70	—
Фактор Citrovor- um	0,045	140,00	—	—	—
Фолинивая кис- лота (лейково- рин)	0,37	0,17	0,15	25	5

Биосинтез фолиевой кислоты и дальнейшие превращения ее в организме

Фолиевая кислота синтезируется большинством микроорганизмов, дрожжей и плесеней. *Streptococcus faecalis* R., не способный синтезировать фолиевую кислоту, синтезирует ее из птериновой и глутаминовой кислот, поэтому требует птериновую или готовую фолиевую кислоту. Большинству животных (крысы, мыши и др.) в нормальных условиях не требуется давать с пищей фолиевую кислоту, ибо кишечная флора достаточно обеспечивает их этим витамином. При блокировании же этого синтеза введением сульфамидных препаратов у этих животных образуются симптомы фолиевой недостаточности. Добавление клетчатки к любой диете стимулирует синтез фолиевой кислоты в кишечнике (Yano, 1957). В кишечнике цыплят фолиевая кислота синтезируется главным образом колиобразными бактериями, а потребляется молочнокислыми (лактобациллами). Введение в рацион цыплят антибиотиков ауромицина или смеси бацитрацина с пенициллином повышает в кишечнике цыплят содержание колиобразных бактерий и подавляет развитие лактобацилл, в результате чего повышается синтез фолиевой кислоты, а вместе с тем и рост цыплят (Monson и др., 1954).

Ауромицин был более эффективен в верхних отделах кишечника, а бацитрацин с пенициллином — в нижних. Последние сильнее подавляли рост лактобацилл, чем ауромицин.

В 1936 г. было выделено (Koscharka, 1936) из мочи человека желтое вещество, названное уроптерином и идентифицированное позднее (Purmann, 1940; Wieland, Purmann, 1940) с синтетическим ксантоптерином (9-дезоксилейкоптерином). Оказалось (Wright, Welch, 1943), что при инкубации ксантоптерина с печенью последний превращается в фолиевую кислоту (приобретает активность к *Str. faecalis* и *L. casei*). При этом никакой другой птеридин не может заменять ксантоптерин.

Фолиевая кислота синтезируется из парааминобензойной в эмбрионе цыпленка. Этот синтез начинается с момента образования зародышевых листков. Это доказано тем, что хотя содержание парааминобензойной кислоты в эмбрионе обнаруживается в очень ранних стадиях

развития, но торможение его сульфаниламидом и устранение этого торможения парааминобензойной или фолиевой кислотой проявляется только с этой стадии развития (Ebert, 1952).

Растения способны к биосинтезу фолиевой кислоты. Однако вопрос этот был освещен лишь недавно (Андреева, 1952, 1953) у нас в Союзе. В прорастающих семенах протекает энергичный биосинтез фолиевой кислоты аналогично биосинтезу рибофлавина и аскорбиновой кислоты. Как в зеленых ростках, так и в листьях биосинтез фолиевой кислоты идет только на свету, т. е. параллельно с фотосинтезом. В данном случае имеется тот же параллелизм с биосинтезом аскорбиновой кислоты. При созревании семян, наоборот, содержание фолиевой кислоты в них падает, как это видно из данных таблицы 53.

Таблица 53

Динамика содержания фолиевой кислоты при созревании семян (в мкг на 1 г сухого вещества)

Культура	Зеленая	Молочно-спелая	Восковая	Спелая
Пшеница	6,9	6,21	1,28	1,25
Рожь	10,54	3,75	2,24	1,42
Овес	14,80	6,18	4,20	2,48
Горох	12,90	—	6,50	4,08

Растение реагирует на ранение как повышенным биосинтезом рибофлавина (см. гл. 3) и аскорбиновой кислоты (см. гл. 13), так и усиленным биосинтезом фолиевой кислоты.

Введение пиримидиновых оснований (урацила) в воду с прорастающими семенами вызывало повышение биосинтеза фолиевой кислоты в проростках. Это указывает, что урацил является возможным предшественником птеридиновой части фолиевой кислоты.

Биокаталитические функции фолиевой кислоты

Основная биокаталитическая функция фолиевой кислоты—это процесс трансформилирования. Выполняется он постоянным превращением фолиевой или птероилглу-

таминовой кислоты в N^{6,10}-формил-5,6,7,8-тетрагидроптеронилглутаминовую кислоту (или вернее в N^{5,10}-метилтетрагидрофолиевую кислоту) и передачей своего формильного остатка соответствующему акцептору. Таким образом, тетрагидроптеронилглутаминовая кислота является коэнзимом, выполняющим вышеуказанную функцию, аналогично коэнзиму А, выполняющему процесс ацетилирования.

Превращение фолиевой кислоты в коэнзимную форму и участие в реакции взаимопревращения глицина и серина. Мы уже указывали на способность микроорганизмов переводить фолиевую кислоту в ее коэнзиматическую форму.

Этот процесс является энзиматическим и поэтому происходит в равной степени в безклеточных экстрактах бактерий *Str. faecalis* R. (Nichol, 1954; Zakrzewski, Nichol, 1955) или *L. casei* (Heisler, Schweigert, 1955), а также в срезах или гомогенатах печени крыс и цыплят (Nichol, Welch, 1950; Nichol, 1953; Doctor a. oth., 1954).

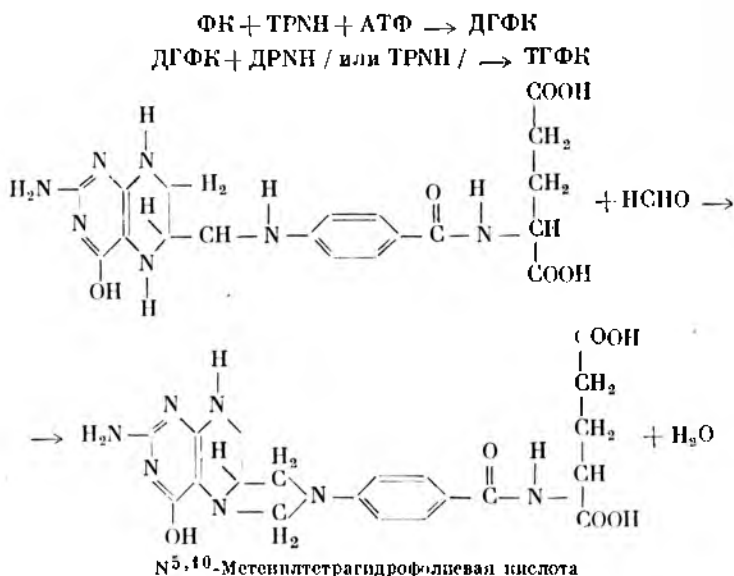
Это превращение изучалось многими авторами (Couch, Reid, 1955; Doctor, Couch, Trunnell, 1954, 1955). Энзиматическая система, восстанавливающая фолиевую кислоту (ФК) в тетрагидрофолиевую, требует наличия двух энзим: одного восстанавливающего фолиевую кислоту в дигидрофолиевую (ДГФК) и другого восстанавливающего дигидрофолиевую кислоту в тетрагидрофолиевую (ТГФК) (Futterman, 1957). Для обоих энзимов необходима лимонная кислота, Mg⁺⁺ и восстановленный трифосфопиридин-нуклеотид (TPNH). Энзим, восстанавливающий ДГФК в ТГФК с помощью восстановленного ди- или трифосфопиридин-нуклеотида (ДРПН или ТРПН), был выделен из печени овцы в очищенном виде и назван дигидрофолиевой редуктазой (Peters, Greenberg, 1958).

Дальнейший процесс формилирования ТГФК, как показали Блэкли (Blakley, 1957) и Кизлюк (Kisliuk, 1957), протекает неэнзиматическим путем.

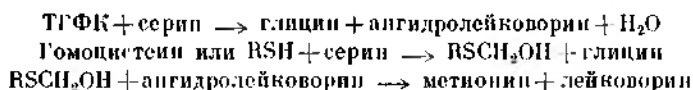
В результате взаимодействия 5 и 10 атомов азота ТГФК с формальдегидом получается легко диссоциируемое соединение.

Реакция протекает в течение 45 секунд, причем 1 моль ТГФК связывает примерно 1 моль формальдегида (Blakley, 1957).

Весь процесс образования формильного производного идет согласно следующей схеме:



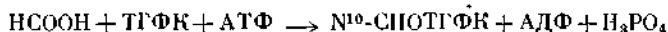
Из всех производных фолиевой кислоты только тетрагидрофолиевая дает с формальдегидом указанный продукт; лейковорин не реагирует, так как у него заблокировано 5-е положение у атома N присоединением формильной группы. Образование лейковорина идет энзиматически следующим путем.



Это превращение сильно стимулируется восстанавливающими агентами, особенно аскорбиновой кислотой. Добавление гомоцистеина неспецифично, и он может быть заменен любым другим сульфгидрильным соединением (цистеином, метионином или глутатионом). В данном случае серин является источником формальдегида. В 1951 году Браунштейн и Виленкина доказали, что превращение серина в глицин в печени крыс и цыплят было полностью нарушено при недостаточности фолиевой кислоты. Позднее, Виленкиной (1952, 1955) была доказана

специфичность сериназы к L-серину и наличие в ней кофактора, родственного производному лейковорина, образование которого стимулируется анаэробными условиями.

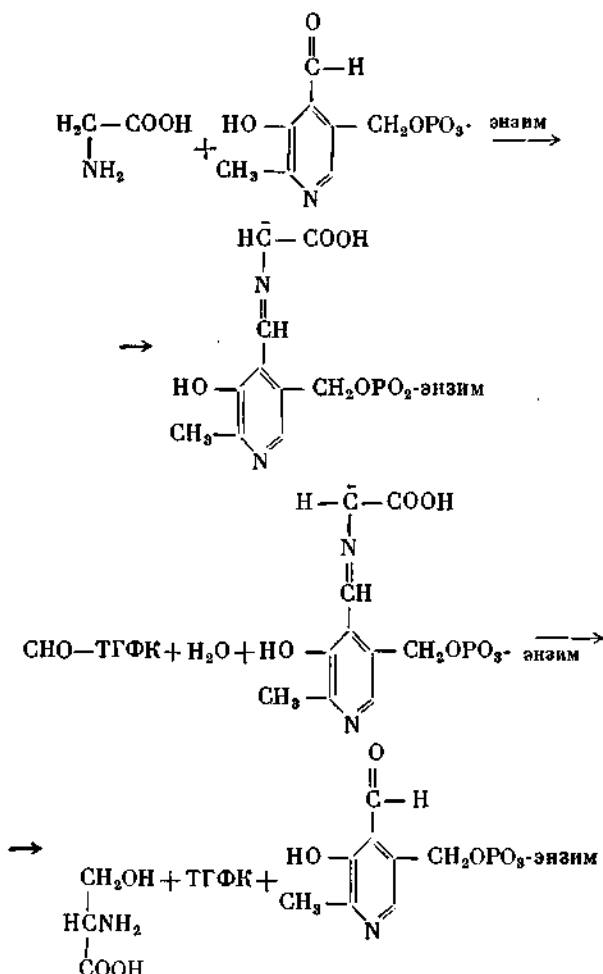
Исследования Блекли (Blakley, 1954) и Кислинг (Kislink, Sakami, 1954) показали, что производное фолиевой кислоты катализирует и обратную реакцию образования серина из формальдегида и глицина. Коэнзимом как в реакции образования серина, так и в расщеплении его до глицина служит тетрагидрофолиевая кислота. Выделение N¹⁰-формилтетрагидрофолиевой кислоты (Greenberg, Janicke, Silvermann, 1955) из продуктов реакции экстракта печени голубя с тетрагидрофолиевой кислотой, муравьиной кислотой и АТФ показало, что реакция формилирования тетрагидрофолиевой кислоты тетрагидрофолатформиазой может идти согласно следующей схеме:



N¹⁰-СНОТГФК может быть количественно превращен в N⁵-N¹⁰—вышеуказанное имидазоловое производное тетрагидрофолиевой кислоты, а при нагревании со щелочью в анаэробных условиях—в лейковорин (N⁵-СНОТГФК). Поэтому N¹⁰-СНОТГФК является первичным продуктом формилирования.

Следует еще отметить, что необходимым кофактором в реакциях взаимопревращения серина и глицина служит фосфопиридоксал. Необходимость в нем была доказана (Lascelles, Woods, 1954) при синтезе серина из глицина клетками *Str. faecalis* R. Индифферентность фосфопиридоксала к синтезу серина экстрактами печени объясняется наличием прочно связанного фосфопиридоксала с апоэнзимом некоторых аминотрансфераз. Это устраняет необходимость активировать их добавлением последнего. Однако для синтеза серина из глицина экстрактом печени требуется фосфопиридоксал, если был добавлен антагонист—дезоксипиридоксинфосфат (Alexander, Greenberg, 1955). Роль фосфопиридоксала в механизме биосинтеза серина, вероятно, состоит в образовании шиффова основания с глицином, которое активирует метиленовый углеродный атом (Metzler, Ikawa, Snell, 1954). В то время как в животных тканях наиболее активным донатором формила является формальдегид (Blakley, 1954), в бактериях таковым является муравьиная кислота (Broquist a. oth.,

1953; Lascelles, Woods, 1954; Zakrzewski, Nichol, 1955).
Ниже представлена схема биосинтеза серина:



Установлено (Arnstein, 1955; Arnstein, Stankovic, 1956), что только при фолевой недостаточности нарушается у крыс биосинтез глицина и превращение его в серин.

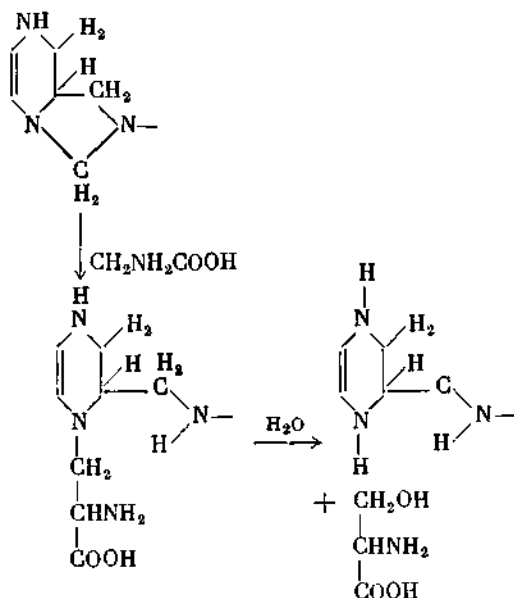
Понижение включения радиоактивного углерода аланина или глюкозы в глицин у крыс с фолевой недо-

статочностью также доказывает последнее (Arnstein, Keylevic, 1956).

В печени индюшат с недостатком фолиевой кислоты значительно понижен синтез серина из глицина (Vohra и др., 1956).

Введение глицина в рацион таких индюшат замедляло рост, вызывало повышенную смертность и шейные параличи, характерные для фолиевой недостаточности (Kratzer, Lantz, 1957). При избыточном количестве в рационе индюшат глицина потребность в фолиевой кислоте сильно повышена вследствие необходимости ее для использования всего глицина.

Учитывая последние данные о возможности образования метенильного производного фолиевой кислоты, типа ангидролейковорина, биосинтез серина может быть изображен следующей схемой (Kisliuk, 1957):



Эта реакция катализируется ферментом экстракта печени голубя и пиродоксальфосфатом.

Участие в синтезе пуринов и пиримидинов. В 1945 году из культуры *Escherichia coli* был изолирован (Stetten, Fox, 1945) амид, дальнейшее превращение которого было

заторможено сульфонамидом или антагонистом фолиевой кислоты.

В 1947 году (Shive a. oth., 1947) этот амид был идентифицирован с 5-амино-4-имидазолкарбоксамидом и рассматривался как предшественник в синтезе пуринов.

В дальнейшем оказалось, что свободное основание не существует, но функционирует лишь в форме своего 5'-фосфориботида (Greenberg, 1954). Экстракты печени голубя переводят этот риботид при помощи конденсации с формальдегидом в инозиновую кислоту, причем C^{14} -формат обнаруживается во 2-м положении последней (Buchanan, Schulman, 1952, 1953).

Образованная таким путем инозиновая кислота может превратиться в гипоксантин. Этот процесс, как показали вышеуказанные авторы, стимулируется лейковорином.

Отсюда следует, что сульфаниламид тормозит как превращение парааминобензойной кислоты в кофактор формилирования, так и сам процесс формилирования 5-амино-4-имидазолкарбоксамид-5'-фосфориботида у *E. coli* (Greenberg, 1954).

Образование самого 5-амино-4-имидазолкарбоксамид-5'-фосфориботида также требует наличия формилирующего кофактора.

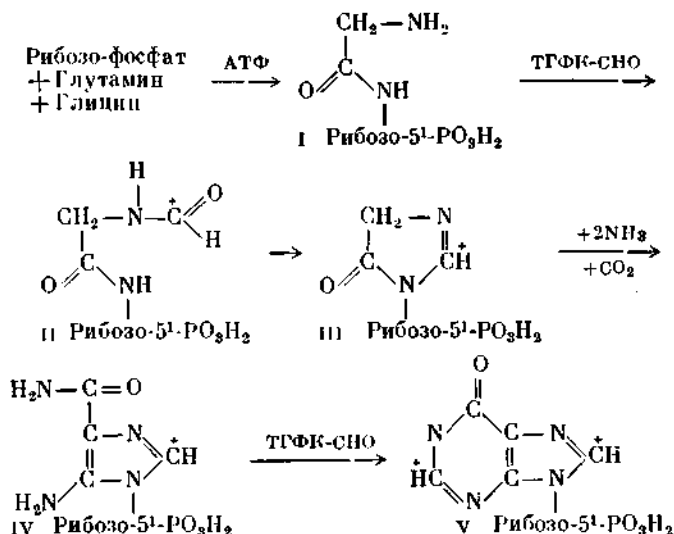
Согласно современной концепции, механизм биосинтеза пуриновых нуклеотидов начинается с взаимодействия рибозо-фосфата с глютамином и глицином с образованием алифатического риботида: глицин-N-амидо-5'-фосфориботида (I) (Greenberg, 1954).

Для превращения последнего в вышеуказанный риботид требуется формилирование с замыканием промежуточного формильного производного (II) в имидазовое кольцо (III). Таким образом, C^{14} -формат образует 8-углеродный атом будущего пурина.

Участие фолиевой кислоты в образовании этого формильного производного экстрактом печени голубя было доказано Гринбергом (Goldthwait, Peabody, Greenberg, 1954). Этот процесс протекал лишь в присутствии фактора *citrovorum* или тетрагидрофолиевой кислоты.

В противоположность биосинтезу II, для образования глицин-N-амидо-5'-фосфориботида производные фолиевой кислоты не требовались.

Весь биосинтез инозиновой кислоты может быть изображен следующей схемой:



Таким образом, углеродные атомы в положениях 2-м и 8-м инозиновой кислоты (V), отмеченные на схеме крестиками, произошли от углеродов формиата, которые были включены в нее под влиянием производного фолиевой кислоты. Это доказывалось постоянством отношения радиоактивностей углерода в положении 2-м к таковой же углерода в положении 8-м и в гуанине нуклеиновой кислоты крысы, меченных *in vitro* C^{14} формиатом, как у животных, получавших антагонист фолиевой кислоты—аминоптерин, так и у контрольных (Goldthwait, 1954).

Участие в метилировании. Формильный остаток формилтетрагидрофолиевой кислоты идет не только на построение пуринового или пиримидинового скелета, он может также восстанавливаться до метильной группы и переходить на соответствующий акцептор. В этом восстановлении, как мы ниже увидим, участвует витамин B_{12} . В случае образования холина акцептором такой метильной группы будет служить этаноламин, образованный при декарбоксилировании *l*-серина (Arnstein, 1950, 1951). Доказано, что в отсутствие фолиевой кислоты печень

животных лишена способности декарбоксилировать *l*-серин в этаноламин (Nadkarni, Sreenivasan, 1957). В случае образования метионина акцептором метильной группы будет гомоцистеин, при образовании креатина — глюкоциамин, тимина (5-метилурацила) — урацил и *N'*-метилникотинамида — никотинамид. В подтверждение вышеуказанной гипотезы имеется ряд работ (Verly, Kinney, DuVigneaud, 1952; Fatterpaker, Marfatia, Sreenivasan, 1951, 1952, 1954), в которых отмечено пониженное включение C^{14} -метанола или формиата в холин, метионин, креатин, тимин и никотинамид у крыс с недостатком фолиевой кислоты и повышение этого включения у тех же крыс после перорального введения им фолиевой кислоты или лейковорина (табл. 54). Однако слабое действие фолиевой кислоты мы объясняем недостаточным превращением ее в коэнзимную форму, для образования которой требовался АТФ, но его не добавляли.

Таблица 54

Влияние фолиевой кислоты на процесс метилирования

Группы	Холин мг/г печени	Метионин мг/г печени	Фосфокреатин мг/г мышцы
Основная диета	$5,17 \pm 0,07$	$4,89 \pm 0,56$	$0,337 \pm 0,026$
Основная диета + метанол + серин	$5,50 \pm 0,1$	$5,23 \pm 0,14$	$0,355 \pm 0,034$
Основная диета + фолиевая кислота	$6,07 \pm 0,02$	$5,64 \pm 0,09$	$0,457 \pm 0,042$
Основная диета + метанол + серин + фолиевая кислота	$6,35 \pm 0,48$	$5,76 \pm 0,33$	$0,415 \pm 0$

Поскольку в образовании метильных групп участвуют одновременно оба витамина (фолиевая кислота и витамин B_{12}), то при отсутствии в диете молодых крыс хотя бы одного из них, в данном случае фолиевой кислоты, введение им никотинамида вызывает обеднение метильными группами (истощение запасов холина и метионина в печени), в результате чего возникает токсикоз. Последний может быть устранен введением фолиевой кислоты или холина (Fatterpaker a. oth., 1955). Этим же можно объяснить пониженную экскрецию креатина при недостатке фолиевой кислоты или витамина B_{12} , понижение креатина

удваивалось при одновременном недостатке обоих витаминов (Fatterpaker a. oth., 1955).

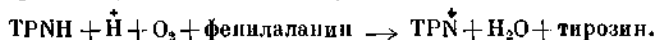
Стимуляция фолиевой кислотой образования метильных групп из C^{14} -формата была также доказана (Sakami, Welch, 1950; Stekol a. oth., 1951) и в опытах *in vitro*.

Действие фолиевой кислоты на ферментатические системы. При недостатке фолиевой кислоты нарушено окисление муравьиной кислоты в органах (Friedmann a. oth., 1954). Это окисление не связано с одновременным понижением активности каталазы в печени, так как в остальных органах содержание ее остается в норме. Последнее обстоятельство повышает накопление муравьиной кислоты в органах, где использование ее блокировано при фолиевой недостаточности (Weinhouse, Friedmann, 1954).

Рядом авторов (Kalckar, Klenow, 1948; Williams, Nichol, Elvehjem, 1949, 1950) было отмечено, что активность флавопротеина ксантин-оксидазы в печени крыс и цыплят при недостатке фолиевой кислоты сильно повышается, и, наоборот, понижается с введением ее в диету. Ксантин-оксидаза окисляет ксантин и гипоксантин в мочевую кислоту, синтез которых стимулируется фолиевой кислотой. Поэтому при фолиевой недостаточности организм особенно сильно обедняется этими пуринами. Повышение активности ксантин-оксидазы настолько характерно для фолиевой недостаточности, что высокое содержание мочевой кислоты в крови может служить биохимическим показателем (Machlin a. oth., 1952; Barnett—Zumoff, 1953) заболеваний (спру, макроцитарных анемий и т. д.), связанных с недостатком фолиевой кислоты.

Активность другого флавопротеина—d-аминокислотной оксидазы в печени тех же животных, наоборот, понижается при недостатке фолиевой кислоты и повышается с добавлением ее в диету (Труфанов, Павлова, 1951).

Фолиевая кислота в своей коэнзимной форме—тетрагидрофолиевой кислоте участвует также в животном организме в реакции гидроксирования фенилаланина в тирозин (Kaufmann, 1958):



Реакция требует наличия восстановленного трифосфопридин-нуклеотида (TPNH).

Активность холин-оксидазы, локализованная в митохондриальной фракции печени, понижается при недостатке

фолиевой кислоты и повышается с введением последней в диету. Активность холин-оксидазы повышается параллельно с увеличением содержания фолиевой и фолининовой кислот в митохондриях печени (Williams, Sreenivasan a. oth., 1953) и совершенно отсутствует в костном мозге цыплят с фолиевой недостаточностью (Dinning a. oth., 1954). Это обстоятельство указывает, что фолиевая кислота оказывает определенное влияние на липотрофное действие холина. Действительно, введение фолиевой кислоты снижает потребность животного в холине и повышает использование последнего.

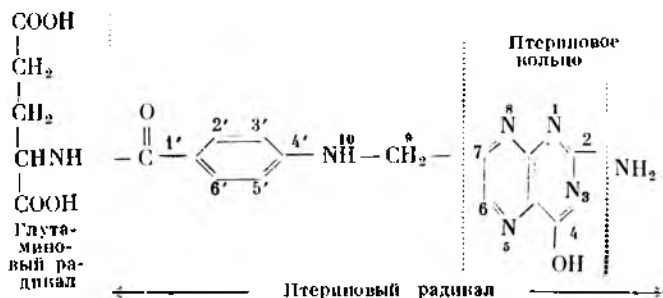
Добавление 0,066% холина к рациону цыплят вызывает на 17% падение их роста, которое предупреждается введением 4,4 мкг% фолиевой кислоты. Фолиевая кислота также повышала примерно на 7% привес цыплят на диете, богатой метионином—0,2% (McDonald, 1957). Очевидно, фолиевая кислота требовалась для использования избытка метильных групп.

Антагонисты фолиевой кислоты

Из всех витаминов наибольшее количество производных было получено от фолиевой кислоты. Зависимость активности фолиевой кислоты от изменения заместителей в ее молекуле изучали с самых разнообразных сторон: 1) заменяли остаток глутаминовой кислоты остатком другой аминокислоты (Кирсанова, Труфанов, 1950, 1951, 1952; Hutchings a. oth., 1947, 1949); 2) изменяли конфигурацию в положениях 9, 10 (Cosulich, Smith, 1948, 1949); 3) изменяли заместителей во 2-м и 4-м положениях птеридинового ядра (Seeger a. oth., 1947, 1949, 1950; Oleson a. oth., 1948; Roth a. oth., 1951); 4) заменяли водороды в бензольном кольце галоидами (Cosulich a. oth., 1951); 5) присоединяли птеридиновую часть не в 6-м, а в 7-м положении (Waller a. oth., 1952); 6) заменяли водород в 7-м положении птеридиновой части метилом (Boothe a. oth., 1952); 7) заменяли птеридиновую часть другой циклической системой (King a. oth., 1948, 1949) и 8) заменяли парааминобензойную кислоту в том же положении изомером ее и сульфаниловой кислотой (Viscontini, Meier, 1949).

Ниже представлена структура фолиевой кислоты с обозначением отдельных атомов и радикалов, составляющих

ее молекулу, которые могут быть замещены в птериновом радикале:



Все эти соединения синтезированы конденсацией соответствующих производных, исследовано их биологическое действие на различные организмы. За краткостью, остановимся лишь на наиболее важных соединениях первых трех групп и укажем активность их (табл. 55).

1. Чтобы определить зависимость активности от аминокислотного остатка в молекуле фолиевой кислоты, были приготовлены гомологи фолиевой кислоты, отличающиеся от нее на одну или несколько CH_2 -групп в аминокислотном остатке. Так, укорочение аминокислотной цепи в молекуле фолиевой кислоты на одну CH_2 -группу давало гомолог—птероиласпарагиновую кислоту (Nutchings a. oth., 1947, 1948) с антагонистическими свойствами по отношению к *S. faecalis* R. и *L. casei*, которое снималось введением в ростовую среду фолиевой кислоты. Птероиласпарагиновая кислота вызывала у цыплят явления недостатка фолиевой кислоты в концентрациях, в 500 раз превышающих нормальную потребность в фолиевой кислоте. В опытах на крысах она оказалась неактивной.

В случае удлинения аминокислотной цепи молекулы фолиевой кислоты на одну или несколько CH_2 -групп отмечалась определенная закономерность в отношении действия на *L. casei* и *S. faecalis* R. Все подобные гомологи обладали ростовой активностью, свойственной фолиевой кислоте. Однако в опытах с *L. casei* активность их падала по мере удлинения углеродной цепи (Кирсанова, Труфанов, 1950, 1951, 1952). Птероиламиноадипиновая кислота, отличающаяся от фолиевой на одну CH_2 -группу, была в 9 раз слабее последней, птероиламинопимелино-

вая (с двумя лишними CH_2 -группами) в 12 раз слабее, а птеропламиноазелаиновая (с четырьмя лишними CH_2 -группами) обладала лишь наиболее слабой ростстимулирующей активностью на указанные микроорганизмы.

При замене остатка глутаминовой кислоты в молекуле фолиевой остатком глицина, валина или аланина получались аналоги с весьма слабой активностью к *S. faecalis* R. и отсутствием таковой к *L. casei* и животным.

2. Для выяснения зависимости от замены водорода в положении 9 или 10 метилом была получена α -метилфолиевая кислота. Продукт вызывал торможение роста микробов, нуждающихся в фолиевой кислоте, и явления фолиевой недостаточности у крыс. У цыплят и мышей он вызывал анемию. Все эти симптомы предупреждались или устранялись введением фолиевой кислоты. α -Метилфолиевая кислота оказалась смесью 9- и 10-метилфолиевых кислот. Были синтезированы (Cosulich, Smith, 1948 и 1949) три метилированных продукта фолиевой кислоты: 10-метил-, 9-метил- и 9,10-диметил-производные. Первое оказалось активным антагонистом фолиевой кислоты для *S. faecalis* R., но очень слабо действовало в опытах на цыплятах. Второе соединение (9-метилфолиевая кислота), наоборот, показало очень слабую активность на *S. faecalis* R., но вызывало явные признаки недостаточности у крыс и цыплят в дозах 30 мг на 1 кг корма, аналогичные таковым описанным для α -метилфолиевой кислоты и устраняемые введением в диету фолиевой кислоты. Третье соединение (9, 10-диметилфолиевая кислота), подобно 10-метилфолиевой кислоте было высокоактивным на *S. faecalis* R., но гораздо менее активным, чем 9-метилфолиевая кислота в опытах на крысах и цыплятах.

3. Наиболее сильный антагонист фолиевой кислоты — 4-аминоптерин (или сокращенно аминоптерин) представляет собой фолиевую кислоту, в которой OH-группа в 4-м положении птеринового радикала замещена NH_2 -группой. Это соединение вызывало сильное торможение роста у *L. casei*, несколько слабее у *S. faecalis* R. и яркие явления фолиевой недостаточности у разных видов животных (мышей, крыс, обезьян, морских свинок и жвачных).

Выяснение природы такого активного антагониста фолиевой кислоты побудило к изучению его терапевтического применения. Фолиевая кислота, будучи необходи-

мой для гематоза у многих видов животных, в том числе и человека, является вредной в тех случаях, когда имеется заболевание с усиленным образованием белых кровяных шариков—т. е. лейкоми злокачественного характера. Фолиевая кислота усиливает размножение лейкомических клеток в костном мозге, селезенке и лимфатических узлах. В этом случае введение антагониста фолиевой кислоты могло бы иметь терапевтическое значение. Однако аминоптерин, нашедший применение при лечении лейкомии, наряду с благоприятным действием, обнаруживал также и токсичность. Это побудило искать другие менее токсические лечебные препараты. Был получен ряд производных аминоптерина. Исследования Кирсановой и Труфанова (1953) показали, что замена в аминоптерине остатка глутаминовой кислоты остатком дикарбоновой аминокислоты с более длинной углеродной цепью почти устраняет антагонистические свойства при испытании на *Str. faecalis* R. и на крысах. При испытании же на *L. casei* антагонистические свойства гомолога аминоптерина ослабевают с удлинением углеродной цепи, аминокислотного радикала (табл. 55).

Оказалось, что 4-аминоптероиламиноадипиновая кислота, будучи в 15—20 раз менее токсичной, чем аминоптерин, тормозит рост опухолей (лимфомы) у мышей и увеличивает продолжительность жизни. Она, так же как аминоптерин, избирательно тормозит включение C^{14} -формиата в нуклеиновые кислоты селезенки (примерно в 4,5—5 раз)—орган, в основном страдающий при лимфоме (Кирсанова, Тустиневский, 1955). Аминоптерин избирательно понижал содержание аденозинтрифосфата в опухолях примерно в два раза и не влиял на содержание его в других тканях (Zahl, Albaum, 1955). Очевидно, такое же действие оказывала и 4-аминоптероиламиноадипиновая кислота.

Замена остатка глутаминовой кислоты в аминоптерине остатком аспарагиновой кислоты дает гомолог аминоптерина (анфол) с более слабыми антагонистическими свойствами. Хлорирование или бромирование бензольного кольца и алкилирование аминогруппы во 2-м или 4-м положениях в молекуле аминоптерина также снижает антифолиевую активность в опытах с *Str. faecalis* R.

Замена водорода в 9-м или 10-м положениях в молекуле аминоптерина дает соответствующие аминоптерины:

Биологическая активность производных фолиевой кислоты

Производные птеройлглютаминовой кислоты (ФК)	Торможение до полумаксимального роста			
	Str. faecalis R. (при содер- жании ФК 0,1—1,0 мг в 1 мл)	L. casei (при содер- жании ФК 0,01—0,05 мг в 1 мл)	крыс	цыплят
			частей на 1000000 частей норма	
9-Метил-ФК	400	—	30—1000	30—1000
10-Метил-ФК	0,8—1	—	Слабое	Слабое
9,10-Диметил-ФК	2	—	30	30
4-Амино-ФК	2	0,15	1—3	3
4-Аминоптероиламино- адипиновая	Слабое	0,25	Торможения нет	
4-Аминоптероиламино- пимелиновая	»	1,50	Торможения нет	
4-Аминоптероиламино- субериновая	»	3,00	—	—
4-Аминоптероиламино- азеланиновая	Слабое	5—10	—	—
4-Амино-9-метил-ФК	2	—	10	—
4-Амино-10-метил-ФК	0,3—0,5	—	3	5
4-Амино-9,10-диметил- ФК	0,2	—	3	3
4-Амино-3,5-дихлоро- ФК	5,4	—	—	—
7-Метил-ФК	0,62% тор- можение	—	—	—
7,10-Диметил-ФК	49,3% тор- можение	—	—	—
4-Амино-2-диметилами- но-ФК	—	—	—	—
4-Алкиламино-ФК	Более сла- бое тормо- жение,	—	—	—
2-Алкиламино-ФК	чем 4-ами- но-ФК	—	—	—
2-Амино-4,7-диокси- птеридин-6-карбокси- лил-парааминобензо- илглютаминовая кис- лота	11 000	350	—	—
Хиноксалин-2-карбокс- ил-парааминобензо- илглютаминовая кислота	Инактивна	3000	—	—
Птероиласпарагиновая кислота	5—50	75	Ина- активна	500

Производные птероилглутаминовой кислоты (ФК)	Стимуляция роста в частях от ФК			
	<i>Str. faecalis</i> R.	<i>L. casei</i>	крыс	цыплят
Птероиламиноадионино- вая кислота	15	9	5—10	20
Птероиламинопимели- новая кислота	11,2	8,4	5	Активна
Птероилалаанин	Инеактивен			Инеакти- вен
Птероил-лейцин	Слабая активность	—	—	—
3,5-Дихлоро-ФК	0,50	—	—	—
7-Метил-ФК	Стимули- рует рост	—	—	—
6-Метил-7-ФК	Инеактивна	—	—	—

4-амино-9-метил, 4-амино-10-метил и 4-амино-9,10-диметилптероилглутаминовые кислоты. Из них две последние обладают более сильным антифолиевым действием на *Str. faecalis* R., чем сам аминоптерин, и примерно таким же действием на крыс и цыплят, тогда как первый является более слабым антагонистом (Jukes, Franklin, Stokstad, 1950).

Кроме лейкемии, развитие многих злокачественных опухолей, в частности саркомы Рауса у цыплят (Woll, 1948, 1951; Taylor, Carmichael, 1951), отличающихся высоким содержанием фолиевой кислоты, также задерживается антагонистами фолиевой кислоты.

Действие антагонистов фолиевой кислоты в основном направлено на подавление митотического деления клеток на стадии метафазы (Jacobson, 1954).

Физиологическое значение фолиевой кислоты

Обмен фолиевой кислоты в зависимости от введения различных количеств фолиевой и аскорбиновой кислот. Фолиевая кислота, введенная в животный организм с пищей, в большей своей части (46—70%) выделяется

в неизменном виде с мочой (Тихомирова, Пенар, 1956), часть ее превращается в печени в фактор *citrovorum* (CF), а остальная часть, вероятно, в той же печени, подвергается энзиматическому расщеплению и окислению до соединения близкого 6-оксиметилптеридину (Jamamoto, 1954). Последнее подтверждается тем, что уроптерин выделяется с мочой человека (Koschaga, 1936). Блэр (Blair, 1958), выделив изоксантоптерин из мочи, предложил следующую схему разложения фолиевой кислоты в организме животного, которая в основном состоит в дегидрогенизации, гидролизе и окислении ксантин-оксидазой фолиевой кислоты (Blair, 1957, 1958) (см. схему на стр. 383).

Из крови человека была выделена энзиматическая система, расщепляющая фолиевую кислоту на парааминобензойную и 2-амино-4-оксиптеридил-6-альдегид (Braganza и др., 1957). Система расщепляла фолиевую кислоту в две стадии согласно вышеуказанной схеме. При подкожной инъекции 0,05 мг дозы на 100 г веса тела в мочу переходит около 30% неизменной фолиевой кислоты и только 0,2% CF.

При повышении инъекцируемой дозы до 20 мг/100 г выделение неизменной фолиевой кислоты составляет только 2%, а CF—0,015% от инъектированной дозы (Guggenheim а. oth., 1956). В противоположность моче, большая часть фолиевой кислоты откладывается в печени в виде CF и только 6—13% в форме неизменной фолиевой кислоты.

В таблице 56 представлены данные выделения фолиевой кислоты (ФК) и фактора *citrovorum* (CF) с мочой и содержание их в печени молодых крыс, которым ежедневно инъектировали подкожно разные дозы фолиевой и аскорбиновой кислот (Guggenheim а. oth., 1956).

Из таблицы 56 видно, что малые дозы ФК (0,05—0,1 мг/100 г) незначительно повышают содержание CF в печени без повышения ФК, большие дозы (1,0—20,0 мг/100 г) вызывают большее отложение неизменной ФК без дальнейшего повышения содержания CF.

Аскорбиновая кислота, инъектированная вместе с фолиевой кислотой, повышает выделение с мочой как ФК, так и CF. В небольших дозах она повышает содержание в печени как ФК, так и CF, а с повышением дозы отложение ФК повышается, тогда как CF остается на том же уровне.

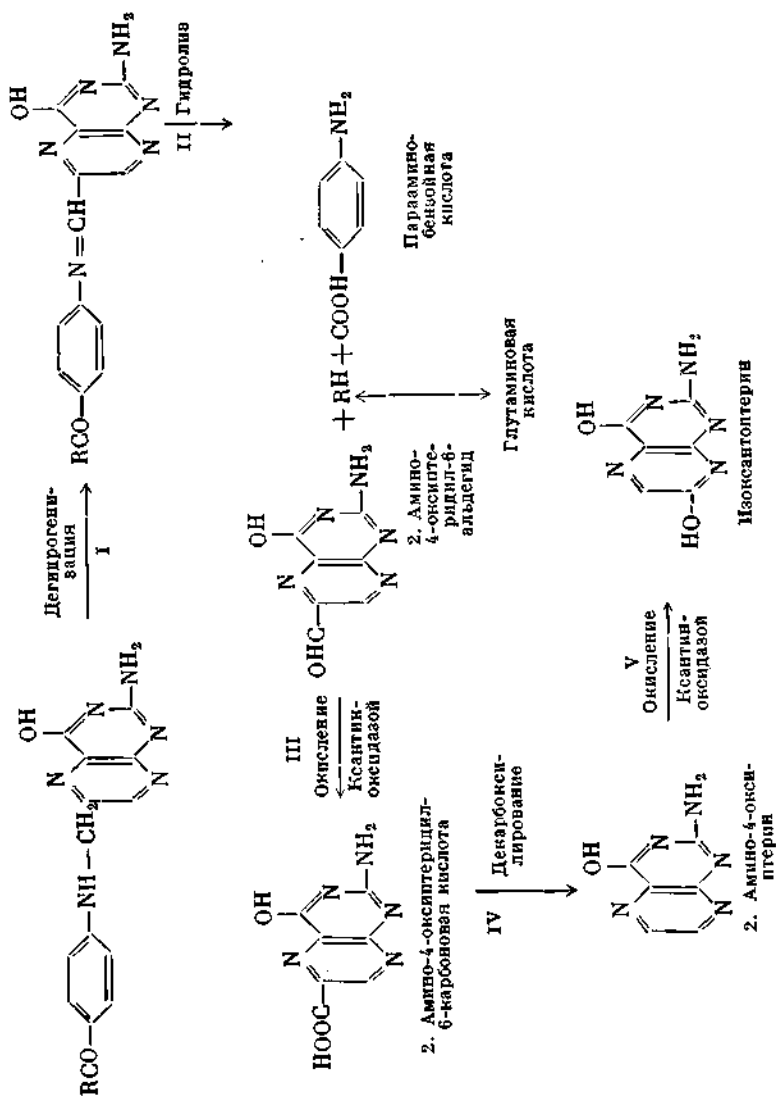


Таблица 56

Выделение с мочой фолиевой кислоты (ФК) и фактора *citrovorum* (CF) и содержание их в печени в зависимости от подкожно инъецированной дозы ФК и аскорбиновой кислоты (АК)

Инъецированная доза в мг на 100 г веса тела	Выделение с мочой (мг/100 г веса тела) за сутки		Вес печени (в г)	Содержание в печени		
	фолиевой кислоты	фактора CF		фолиевой кислоты (в мг/г)	фактора CF (в мг/г)	отношение CF к фолиевой кислоте
Нет	2,7	0,025	3,3	0,55	3,3	6,0
0,05 ФК	17,4	0,11	3,3	0,50	3,6	7,2
0,10 »	17,7	0,10	3,5	0,40	5,8	14,5
0,25 »	53,8	0,19	3,3	1,15	6,9	6,0
1,00 »	163	0,61	3,3	1,00	8,3	8,5
5,00 »	421	2,44	3,5	2,10	9,8	4,7
20,00 »	438	3,03	2,9	8,70	8,1	0,9
0,25 » + 0,25 АК	130	0,75	3,6	1,90	13,7	7,2
0,25 » + 1,00 »	223	1,27	3,6	2,31	12,3	5,3
0,25 » + 5,00 »	207	3,97	3,7	4,79	15,5	3,2
0,25 » + 25,00 »	228	3,59	3,4	6,80	10,9	1,5

Обмен фолиевой кислоты в зависимости от состава диеты. Поскольку фолиевая кислота связана с белковым обменом и синтезом пуклещновых кислот, а превращение ее в кофактор формилирования (CF) связано с энзиматической системой белковой природы, содержание белка в диете должно было бы отразиться на ее обмене. Действительно, из данных таблицы 57 (Guggenheim a. oth., 1956) видно, что при диете, бедной протеином и лишенной последнего, содержание фолиевой кислоты (ФК) понижается и особенно сильно отражается на содержании CF в печени, а вследствие этого и отношение $\frac{CF}{ФК}$ сильно падает.

Все это указывает, что при недостатке белка способность печени превращать фолиевую кислоту в фактор *citrovorum* нарушена. Хотя количество жира в рационе и ожирение печени вследствие холиновой недостаточности не нарушало роста животного и способности его печени образовывать фактор *citrovorum*, качество жира влияло

Таблица 57

Влияние состава диеты на содержание фолиевой кислоты (ФК) и фактора *citrovorum* (CF) в печени крыс

Состав диеты (в %)						Средний привес крыс за 3 недели	Инъецировано под кожу ежедневно 0,25 мг ФК+5,0 мг АК	Вес печени (в г)	Содержание в печени		Отношение CF/ФК
казеин	кукурузный крахмал	жир		солевая смесь	холин				фолиевой кислоты (в мкг)	фактора CF (в мкг)	
		растительное масло	сало								
18	58	10	10	4	0,01	+43	—	4,4	0,35	3,07	8,8
18	58	10	10	4	0,01	+48	+	4,6	2,43	7,70	3,2
8	68	10	10	4	0,01	+20	—	2,9	0,40	0,19	0,5
8	68	10	10	4	0,01	+23	+	3,1	2,51	1,14	0,5
8	83	5	0	4	0,01	+28	+	3,1	0,50	0,47	0,9
8	83	5	0	4	0,01	+27	+	3,4	2,45	1,41	0,6
8	68	10	10	4	0	+21	—	3,9	0,66	0,34	0,5
8	68	10	10	4	0	+20	+	3,7	2,38	1,02	0,4
0	91	5	0	4	0,01	-13	—	1,4	0,40	0,09	0,2
0	91	5	0	4	0,01	-12	+	1,4	0,63	0,24	0,4

на рост животных при отсутствии фолиевой кислоты. Так, при введении селедочного жира в рацион с недостатком фолиевой кислоты рост цыплят сильно угнетался и добавление фолиевой кислоты устраняло вредное действие жира (March, Biely, 1955). Несколько слабее угнетался рост индюшат, получавших кукурузное масло, при отсутствии в рационе фолиевой кислоты.

Связь с эндокринной системой. Фолиевая кислота стимулирует действие половых гормонов. При введении неполовозрелым жабам или кастрированным самкам неполовозрелых крыс одновременно с эстрадиолем фолиевой кислоты у первых усиленно растет яйцепроток, у вторых—матка (Penhos, 1955). Размер яйцепотока у неполовозрелых цыплят с фолиевой недостаточностью примерно в четыре раза меньше, чем у нормальных цыплят того же возраста (Brown, Jackson, 1957). Подобным же образом фолиевая кислота способствует мужскому половому гормону—тестостерину стимулировать рост семенного яичка как у неполовозрелых жаб, так и у крыс. Фолиевая кислота также стимулирует действие соматотропного гормона передней доли гипофиза на рост яични-

ков, матки, костей и надпочечников у гипофизэктомированных крыс (Penhos, Foglia, 1954).

Следует также отметить и обратное, т. е. действие половых гормонов на обмен фолиевой кислоты. Оказывается, тогда как введение крысам-самцам женского полового гормона — эстрадиола повышает примерно в два раза выделение у них фактора *citrovorum* с мочой, введение мужского полового гормона понижает примерно на столько же выделение этого фактора (Doctor, Trummell, 1955).

Содержание фолиевой кислоты в молоке. Содержание фолиевой кислоты в молоке различных животных значительно колеблется (табл. 58) (Collins a. oth., 1951).

Таблица 58

Содержание фолиевой кислоты в молоке различных животных и человека (мкг в 1 л)

Молоко	Среднее	Колебание
Женщины	0,71	0,1—1,8
Коровы	1,3	0,2—4,0
Овцы	2,2	0,8—5,6
Козы	2,7	0,6—5,7
Свиньи	3,9	1,2—7,5
Лошади	1,3	

В молозиве фолиевой кислоты гораздо больше, чем в молоке. Так, в молозиве козы первого удоя содержится 18 мкг фолиевой кислоты в 1 л, а в молозиве коровы первого удоя 7,5 мкг в 1 л (Collins a. oth., 1951).

Недостаточность фолиевой кислоты

Основными симптомами фолиевой недостаточности у цыплят являются задержка роста, нарушение оперения, макроцитарная гипохромная анемия, лейкопения и шейные параличи. У индюшат на рационе с недостатком фолиевой кислоты появляются те же симптомы. На рисунке 21 изображены две индейки 28-дневного возраста одного выводка, слева индюшонок, которому давали корма, лишенные фолиевой кислоты, вес индюшонка 202 г, а справа — на тех же кормах, но с фолиевой кислотой,

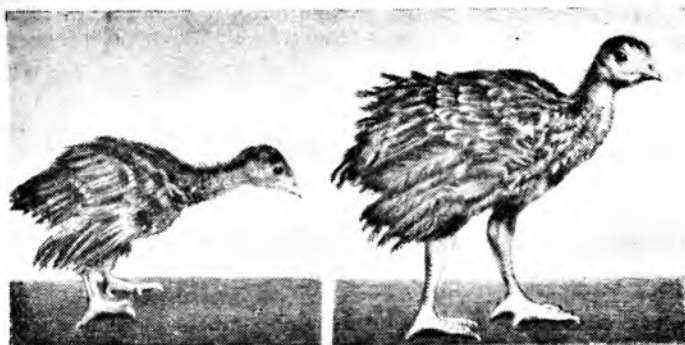


Рис. 21. Идущата одного возраста: *слева*—на синтетическом рационе без фолиевой кислоты, *справа*—на том же рационе, но с фолиевой кислотой.

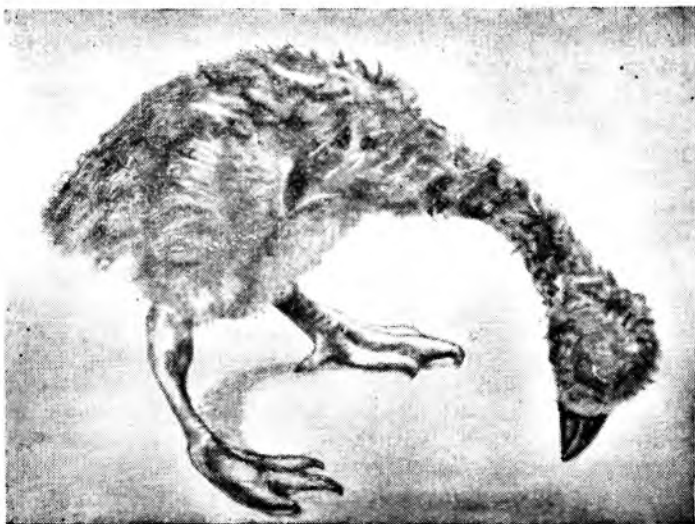


Рис. 22. Гусенок при фолиевой недостаточности.

нес 510 г (Richardson, Hogan, Kempster, 1945). У гусят с фолиевой недостаточностью, кроме вышеуказанных симптомов, была отмечена также слабость ног, сходная с таковой при заболевании перозисом (рис. 22) (Briggs, Hill, Canfield, 1953). Инъекция фолиевой кислоты устраняла шейные параличи и вызывала прибавку в весе, но слабость ног не устранялась и требовалась длительная терапия фолиевой кислотой для устранения заболевания. При содержании кур на рационе*, бедном фолиевой кислотой (34 мкг фолиевой кислоты в 100 г), в потомстве повышена смертность, плохой рост и ненормальная пигментация и структура пера (Lillie, Combs, Briggs, 1950). Причем петушки более чувствительны к недостаточности фолиевой кислоты в рационе кур-матерей, чем курочки. Содержание цыплят в течение двух недель на рационе, бедном фолиевой кислотой, а затем содержание на том же рационе, но дополненном фолиевой кислотой, все же отражается на ненормальной пигментации перьев к 6-недельному возрасту. Очевидно, накопление фолиевой кислоты в яйцах, которое зависит от содержания ее в рационе кур, имеет большое значение для развития нормального потомства. Среднее содержание фолиевой кислоты в яйцах равно 6,5 мкг, оно остается постоянным в течение всего периода инкубации (Hayes, Luckey, 1957). Следует еще отметить, что недостаток лизина в рационе петушков в возрасте четырех недель приводит также к депигментации перьев с небольшой гипохромной анемией и лейкопенией. Добавление фолиевой кислоты к таким рационам устраняет вышеуказанные ненормальности (Klein, Hill, Branion, 1957).

При фолиевой недостаточности у щенков было отмечено (Михлин, Павлова, 1958) резкое снижение содержания энтерокиназы и щелочной фосфатазы в кале и слизистой тонкого кишечника. Образование красных и белых кровяных шариков связано с синтезом нуклеиновых кислот, а вместе с ними и пуриновых и пиримидиновых оснований. Как мы видели, синтез пуриновых оснований и тимина при недостатке фолиевой кислоты нарушен и это отражается в понижении содержания адениловой кислоты в тканях цыплят с недостатком фолиевой кислоты (Strehler, Totter, 1952; Totter, 1953). В свою очередь,

* Состав рациона описан на странице 390.

Симптомы, относящиеся к недостаточностям различных витаминов группы В

Симптомы	Недостаток никотиновой кислоты		Недостаток пантотеновой кислоты		Недостаток фолиевой кислоты		Пернициозная анемия у человека	Служу у человека
	человек	собака	крыса	обезьяна	крыса	крыса		
Лейкопения	+	+	+	++	++	++	+	+
Анемия	+	+	+	+	+	+	++	++
Костный мозг	?	Мегало-бластичен	Гипопластичен	Мегало-бластичен			Мегало-бластичен	Мегало-бластичен
Кишечник	Поврежден		Гастро-энтерит	Поврежден				Поврежден
Пигментация			Немор-мальная		Немор-мальная		Немор-мальная	Немор-мальная
Расстройство нервной системы	++	++	+	+	+	+	+	++

+ Указывает, что симптом часто встречается.

++ Указывают, что симптом характерен для недостатка данного витамина.

понижение адениловой системы вызывает пониженное образование коэнзима А из пантотеновой кислоты и кодегидразы из никотиновой кислоты. Поэтому при фоллиевой недостаточности животные одновременно могут проявлять симптомы пантотеновой и никотиновой недостаточности, хотя их диета будет адекватна в отношении последних витаминов. Действительно, в тканях крыс с фоллиевой недостаточностью, вызванной аминоптеринем, было установлено (Strenght, Mondy, Daniel, 1954) пониженное содержание кодегидразы, которое повышалось с добавлением аденозинтрифосфата. Наоборот, при недостатке никотиновой или пантотеновой кислоты у крыс были отмечены те же симптомы, что и при фоллиевой недостаточности.

В таблице 59 дано сравнение симптомов, характерных для каждой из вышеуказанных недостаточностей.

Весьма вероятно, что подобные же отношения существуют и между фоллиевой недостаточностью и недостатком других витаминов: рибофлавина, пиридоксина и тиамина, ибо превращения последних в соответствующие им коэнзимы также зависят от наличия адениловой системы в тканях животного.

Потребность в фоллиевой кислоте

Потребность цыплят в фоллиевой кислоте зависит от целого ряда условий: породы кур (Lillie, Briggs, 1947), рациона производителей (Lillie, Combs, Briggs, 1950) и от синтеза фоллиевой кислоты в кишечнике (Monson и др., 1954).

Установлено, что цыплятам породы нью-гемпшир на синтетическом рационе, лишенном фоллиевой кислоты, требуются 150 мкг на 100 г рациона для оптимального роста и 200 мкг на 100 г—для нормального оперения. Однако 200 мкг/100 г рациона не дают одинакового привеса у цыплят того же возраста, но другой породы (табл. 60) (Lillie, Briggs, 1947).

Тэйлор (Taylor, 1947) считает, что годовалым курам-леггорнам на хозяйственном рационе (риса 75% и рыбьей муки 15%) требуется для нормальной яйценоскости 12 мкг фоллиевой кислоты на 100 г рациона. Однако даже при содержании 26 мкг фоллиевой кислоты в 100 г рациона (26% желтой кукурузы, 30% овса, 16% пшеничных высевок, 10% глютеина, 7,5% рыбной муки, 7,5% сухой

Действие фолиевой кислоты на цыплят различных пород

Порода цыплят	Основная диета, лишённая фолиевой кислоты		Та же диета + 200 мкг фолиевой кислоты на 100 г кормов	
	% смертности	вес 4-недельных цыплят (в г)	% смертности	вес 4-недельных цыплят (в г)
Нью-гемпшир	52,0	109	1,5	326
Леггорн	50,0	104	0	225
Белые плимутроки . . .	60,0	86	0	309
Желтые плимутроки . . .	92,5	63	16,0	314
Помеси нью-гемпшир × × плимутрок	62,5	64	0	375

молочной сыворотки и 2% раковин устриц) куры породы нью-гемпшир недостаточно эффективно использовали корма, выводимость яиц была низкая, а при 34 мкг/100 г корма, хотя использование кормов было эффективным, выводимость нормальной, но потомство росло неполноценным. Поэтому потребность кур-несушек в фолиевой кислоте соответствовала величине большей, чем 34 мкг на 100 г рациона (Lillie, Combs, Briggs, 1950).

Потребность индеек в фолиевой кислоте для полноценного потомства равна 80 мкг на 100 г рациона, а индюшатам требуется несколько больше (Schweigert и др., 1948).

Для остальных животных потребность в фолиевой кислоте точно не установлена и сильно колеблется в зависимости от состава диеты, а следовательно, и синтеза фолиевой кислоты кишечной флорой и от окружающих условий (температуры и т. д.). В среднем она соответствует 100 мкг на 100 г диеты при отсутствии кишечного синтеза, блокированного сульфамидными препаратами.

Большие дозы фолиевой кислоты (ежедневно по 20 мг на 1 кг веса тела) являются токсичными (Clark, Dorgon, Darby, 1950, 1953) и вызывают у морских свинок патологические изменения в почках, выражающиеся в увеличении их размеров и образовании красных пятен на поверхности, вследствие геморрагии.

Глава 12

ВИТАМИН B_{12} (кобаламин)

Более ста лет назад, в 1849 году, Томас Аддисон описал клиническую картину анемии, которая позднее, в 1868 году, Бирмером была названа пернициозной, или злокачественной, анемией. Эта болезнь характеризовалась появлением незрелых и ненормально больших красных кровяных шариков, атрофией слизистой оболочки желудка и неврологическими симптомами.

Долго считали это заболевание инфекционным, и только в 1926 году было установлено, что введение в пищу таких больных сырой печени вызывало довольно быстрое ослабление тяжелых симптомов. Стало ясным, что пернициозная анемия является болезнью пищевой недостаточности.

В 1929 году Кэстль сделал вывод, что это заболевание можно объяснить недостаточностью двух факторов: одного «внешнего», содержащегося в печени, яйцах, мясе и т. д., и другого «внутреннего», образующегося в слизистой желудка и также содержащегося в сырой печени.

Антипернициозно-анемическая активность внешнего фактора Кэстля находилась в прямой пропорциональности с ростовой активностью к *Lactobacillus lactis* Dorner на синтетической среде, содержащей все известные витамины группы В. В 1948 году этот фактор был выделен из печени в кристаллическом виде (Rickes a. oth., 1948, Smith, 1948) и назван витамином B_{12} , или кобаламином, так как в его молекуле содержался кобальт.

Витамин B_{12} , принятый здоровым человеком или перорально введенный цилятам, в два раза менее ак-

тивен, чем та же доза его, введенная внутримышечно.

В случае же пернициозной анемии ежедневные пероральные дозы 30 мг витамина B_{12} не оказывали никакого действия, тогда как дозы в 10 раз меньшие, введенные внутримышечно, быстро излечивали от анемии (West, 1948). В зависимости от способа введения, витамин B_{12} различно действовал при лечении им и тропического спру (Snarey, 1952).

Таким образом, оказалось, что внутренний фактор Кэстля, вырабатываемый в желудке, необходим для связывания витамина B_{12} и тем самым предохраняет его от разрушения в желудочно-кишечном тракте и удерживает в кишечнике, это способствует усвоению витамина. Слизистая оболочка желудка человека, больного пернициозной анемией или тропическим спру, теряет способность вырабатывать внутренний фактор, и поэтому перорально введенный витамин B_{12} не усваивается.

Позднее была изучена (Latner a. oth., 1953) также природа и внутреннего фактора. Последний был выделен (Latner, Ungley, 1954) из желудка свиньи и желудочного сока здорового человека.

На основании аналитических и электрофоретических данных оба препарата оказались идентичными и гомогенными мукопротеинами с содержанием 11—12% гексоамина, 9—9,7% азота, 1,2—1,5% триптофана и 16—21% сахаров.

Протеин, связывающий витамин B_{12} , был найден также и в яичном желтке (Couch a. oth., 1954), молоке различных животных (Gregory, Holdsworth, 1953, 1954) и в сыворотке крови человека (Kennedy, Smith, 1954).

Однако последний протеин отличается от остальных и относится к α -глобулиновой фракции.

Уименга с сотрудниками (Wijmenga a. oth., 1954) выделили из желудка свиньи мукопротеиновую фракцию, которая была активной в качестве внутреннего фактора в дозе 2,3 мг и на 1 мг связывала 3,7 мкг B_{12} . Внутренний фактор как желудочного сока человека, так и полученный из желудка свиньи одинаково термостабилен при нагревании в кислой среде, инактивируясь 30-минутным кипячением в 0,1 N HCl при pH 1,2.

В нейтральной среде он термостабилен, полностью сохраняя активность после 30-минутного кипячения при

pH 6,0 (Glass, Jones, 1955). Однако небольшая часть пероральной дозы витамина B_{12} может быть усвоена и без участия внутреннего фактора (Cox, Ross, Ungley, 1955). Это доказано тем, что больные пернициозной анемией или с удаленным желудком, не вырабатывающие внутреннего фактора, усваивают от 0,1 до 10% пероральной дозы витамина B_{12} .

Холдсуорт (Holdsworth, 1957) получил из слизистой желудка свиньи очищенный внутренний фактор—мукопротеин с молекулярным весом 40 000, который оказался очень активным в отношении связывания витамина B_{12} .

Витамин B_{12} изучали и по другому направлению при кормлении домашней птицы. Оказалось, что у птицы на рационах, состоящих исключительно из растительных продуктов, рост и выводимость сильно понижены. Добавление к таким рационам 2% рыбной муки повышало рост цыплят (Hammond, Titus, 1944).

Печень или молочная сыворотка вызывали то же действие. Активное начало было связано с протсином животного происхождения, и поэтому его называли «животным протеиновым фактором» (Scott, Norris, Heuser, 1947; Stokstad a. oth., 1948, 1949).

Активность указанных продуктов животного происхождения в отношении роста цыплят изменялась параллельно с активностью к *Lactobacillus lactis D*. В то же время добавление 1,5 мг кристаллического витамина B_{12} к 100 г растительного рациона способствовало нормальному росту цыплят. Это доказывало, что животный протеиновый фактор был идентичен витамину B_{12} (Ott a. oth., 1948; Nichol a. oth., 1949).

Вскоре оказалось, что витамин B_{12} обладал таким же действием животного протеинового фактора на поросят (Johnson, Neumann, 1949; Luecke a. oth., 1949), цыплят (Charkey a. oth., 1953) и других животных, питавшихся кормами, в которых белок был полностью растительного происхождения.

В муке соевых бобов имеется неидентифицированное вещество — сойин, тормозящее рост животных. При добавлении сойина к казеиносахарной диете усвоение казеина снижается и рост животных задерживается. Витамин B_{12} противодействует сойину и восстанавливает рост и усвоение казеина (Frölich, 1954, Baliga a. oth., 1954). Несмотря

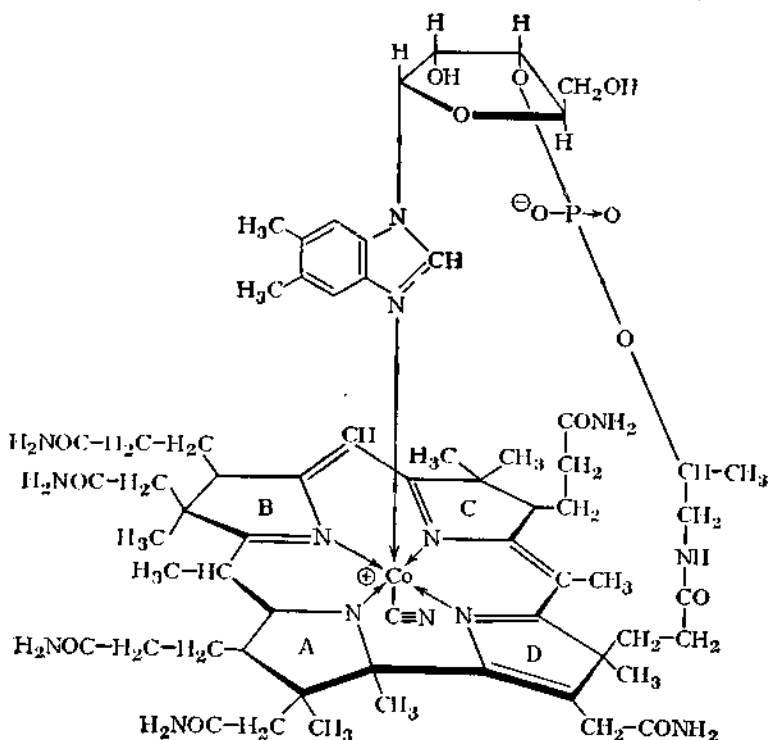
на термолабильность сойина, автоклавирование муки соевых бобов не повышает усвоение протейна, и для использования его требуется витамин B_{12} . Очевидно, помимо того, что витамин B_{12} нейтрализует действие сойина, он также повышает усвояемость некоторых аминокислот, присутствующих в соевой муке.

Химическое строение и физико-химические свойства витамина B_{12}

Структура нуклеотидной части витамина B_{12} была установлена Бринк и Фолкерсом в 1953 году (Brink, Folkers, 1950; Brink a. oth., 1950, 1952; Kaczka, Folkers, 1953) и оказалась 3'-фосфат-1- α -рибофуранозил-5,6-диметилбензимидазолом. Строение кобальтсодержащей части витамина B_{12} было открыто лишь в 1955 году (Bonnett a. oth., 1955; Hodgkin a. oth., 1955), благодаря кристаллографическому исследованию x-лучами продукта щелочного гидролиза (в 30% NaOH при 150°) витамина B_{12} — гексакарбоновой кислоты (Brink a. oth., 1954; Cannon a. oth., 1954). Образование 6 молей аммиака, как указывалось, происходит в результате отщепления из 6 амидных групп гексакарбоновой кислоты (Armitage a. oth., 1953). Существование пирролидиновых колец в гексакарбоновой кислоте было также доказано Куелем (Kuhel, Shunk, Folkers, 1955) при изолировании оксипирролидинового производного как из продуктов окислительного гидролиза хромовой кислотой витамина B_{12} , так и гексакарбоновой кислоты.

При окислении гексакарбоновой кислоты перекисью водорода образуется оксамовая кислота ($NH_2-CO-COOH$) (Bonnett a. oth., 1955), которая никогда не образовывалась при окислении порфирина, но была найдена при окислении его восстановленных продуктов. Это привело к выводу о наличии в структуре гексакарбоновой кислоты восстановленных пиррольных колец, т. е. пирролиновых (дигидропиррольных) и пирролидиновых (тетрагидропиррольных).

На основании вышеуказанных данных и рентгено-структурного изучения кристаллов витамина B_{12} и его продукта разложения, для витамина B_{12} была предложена (Hodgkin a. oth., 1955; Bonnett a. oth., 1955) следующая структурная формула:



Физико-химические свойства. Витамин B_{12} кристаллизуется из воды в виде пучка мелких игл темно-красного цвета, содержащих около 12% кристаллизационной воды. Эмпирическая формула $C_{63}H_{20}N_{14}O_{14}PCo$ (Bonnett a. oth., 1955) и молекулярный вес 1490 ± 150 (Schmid, Ebnöther, Karger, 1953). Кристаллы витамина B_{12} не имеют ни запаха, ни вкуса.

Витамин B_{12} хорошо растворим в воде и спирте, но не растворяется в эфире, хлороформе и ацетоне. Витамин B_{12} оптически активен, удельное вращение его водного раствора $[\alpha]_{589}^{20} = -59 \pm 9^\circ$ (Brink a. oth., 1949). Спектр поглощения водного раствора витамина B_{12} характеризуется максимумами в области 278, 361 и 548 м μ и коэффициентами поглощения в указанных точках соответственно ($E_{1\%}^{1\text{см}}$): 115, 207 и 64 (Букин, Арешкина, Куцева, 1955).

Кристаллы витамина B_{12} темнеют при $190-215^{\circ}$ и разлагаются без видимой точки плавления при 300° .

Витамин B_{12} в $0,015N$ $NaOH$ ($0,2$ мкг/мл) инактивируется при комнатной температуре на 45% через 6 часов и на 90% через 23 часа, а в $0,01N$ HCl (10 мкг/мл) на 18% через 3 часа и на 75% через 23 часа (Brink a. oth., 1949). В нейтральных водных растворах витамин B_{12} не разрушается даже при 15 -минутном автоклавировании (121°).

При действии различных восстановителей (цистеин в щелочном растворе, литий-бор гидрида и др.) на витамин B_{12} он восстанавливается в коричневый продукт. Тот же продукт восстановления B_{12} образуется при действии ацетата хрома в атмосфере водорода при pH 3 . При добавлении избытка ацетата хрома и подщелачивании среды до pH $9,5$ восстановление идет дальше и образуется серовато-зеленый продукт. Оба продукта могут быть обратно окислены взбалтыванием с воздухом в витамин B_{12a} (оксикобаламин, см. ниже) (Beaven, Johnson, 1955). При восстановлении органическая часть молекулы витамина B_{12} изменяется незначительно, а восстанавливается лишь атом кобальта, при этом максимумы поглощения передвигаются к длинноволновой части спектра (Boos, Carr, Conn, 1953).

Ионы железа стабилизируют витамин B_{12} к нагреванию в щелочной среде (при pH 10) в экстрактах печени (Shenoy, Ramasarma, 1955). Однако механизм этой стабилизации еще неясен.

Биологически активные производные витамина B_{12}

Природные биологически активные производные отличаются от витамина B_{12} структурно, либо заменой CN -группы другой группой (гидроксильной, нитро-группой и т.д.), либо заменой азотистого основания в нуклеотидной части.

Производные с заменой CN -группы. При каталитическом гидрировании витамина B_{12} отщепляется его цианистая группа, связанная координированно с кобальтовым атомом, а на ее место встает гидроксил, при этом образуется витамин B_{12a} , т. е. оксикобаламин, в отличие от исходного цианокобаламина (Kaczka, Wolf, Folkers, 1949, 1951). Витамин B_{12} может быть регенерирован действием $HSCN$ на витамин B_{12a} . Спектр поглощения витамина B_{12a} несколько отличается от такового витамина B_{12} и имеет следующие 5 максимумов: $270-277$, 315 , $352,5$, 415 и

530 м μ с соответствующими коэффициентами поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) 137, 80, 150, 29 и 58. Биологическая активность витамина B_{12a} на *Lactobacillus lactis* D и *L. leichmannii* равна половине, а антипернициозно-анемическая активность равна 30% таковой витамина B_{12} . Из *Neomyses Fermentations* был выделен в виде красных кристаллов витамин B_{12b} (Jackson a. oth., 1951), который оказался идентичным с вышеописанным витамином B_{12a} .

Вскоре из продуктов брожения *Streptomyces griseus* было выделено (Smith a. oth., 1952) другое биологически активное производное витамина B_{12} , названное витамином B_{12c} . Витамин B_{12c} может быть получен из витамина B_{12a} или B_{12b} действием на последний азотистой кислоты и представляет собой нитрито-кобаламин. При удалении нитритной группы с помощью сульфамовой кислоты вновь образуется витамин B_{12a} . Физико-химические свойства витамина B_{12c} и B_{12a} очень близки, за исключением более широкой области поглощения у витамина B_{12c} в зоне 352 м μ . Биологическая активность витаминов B_{12c} и B_{12a} как на микробах, так и на больных пернициозной анемией одинакова. Кроме указанных окси- и нитрито-кобаламинов из витамина B_{12} были получены сульфито-, йодо-, хлоро-, тиоцианато-, дициано- и другие кобаламины (Smith, Ball, Ireland, 1952).

Производные с заменой азотистого основания в нуклеотидной части. После того как Армитадж (Armitage a. oth., 1953) предложил удобный метод разделения молекулы витамина B_{12} с помощью гидролиза соляной кислотой на нуклеотидную и кобальтсодержащую части, возник интерес к изучению ряда производных кобаламина, выделенных из естественных источников. Оказалось, что наиболее богатые источники подобных производных — кал животных и сточные воды. Так, из сточных вод (Wijmenga, 1952) и кала телят (Ford, Porter, 1952) был выделен фактор А — витамин B_m , отличающийся от B_{12} заменой 5,6-диметилбензимидазола 2-метиладенином. Фактор В (витамин B_{12p}) — кобаламин, лишенный нуклеотидной группы, был выделен из кала животного (Ford, Porter, 1952) и из пропионовокислых бактерий (Janicki, Pawelkiewicz, 1954, 1955). Фактор III, отличающийся от B_{12} заменой 5,6-диметилбензимидазола 5-оксибензимидазолом (Friedrich, Bernhauer, 1955; Robinson a. oth., 1955), был выделен Бернгауером (Friedrich, Bernhauer, 1953, 1954) также

из сточных вод. Из сточных вод были выделены: неидентифицированный фактор С (Ericson, Lewi, 1953; Ford a. oth., 1953), фактор V (Friedrich, Bernhauer, 1953, 1954), который по номенклатуре Бернгауэра (1954) относится к этиокобаламинам, и к подобным же, лишенным нуклеотида, кобаламинам относятся фактор J и L (Råbek с сотр., 1956).

Из гниющей грязи был выделен (Friedrich, Bernhauer, 1957) 2-метилмеркантоаденин-кобаламин, отличающийся от витамина B_{12} заменой 5-6-диметилбензимидазола 2-метилмеркантоаденином. Этот кобаламин отличается от всех выделенных отсутствием максимума поглощения в области 278 м μ и новым максимумом в области 302 м μ .

Большую заслугу в деле открытия новых и идентификации уже многих установленных природных кобаламинов оказал метод электрофореза на бумаге (Holdsworth, 1953). Этим методом была установлена идентичность факторов D, E, F, G и H. Бернгауэр и Фридрих (Bernhauer, Friedrich, 1954) предложили номенклатуру для производных витамина B_{12} , которая основана на различии их строения. Согласно этой номенклатуре, все известные витамины B_{12} делят на две основные группы, так называемые полные витамины B_{12} — кобаламины и неполные или этио-кобаламины. Последние отличаются отсутствием нуклеотидной части в молекуле B_{12} . Основание этой нуклеотидной части может быть бензимидазоловым (истинные кобаламины) или пуриновым (псевдо-кобаламины).

Полные витамины B_{12} при pH 7 представляют собой моноцианокомплексы красного цвета с наибольшим поглощением в области 361 м μ и при подкислении не изменяют окраски. Этио-кобаламины при том же pH — дицианокомплексы фиолетового цвета с максимумом поглощения в области 367 м μ , при подкислении теряют CN-группу и становятся оранжевыми.

Бензимидазоловые кобаламины активны как на микробах, так и на цыплятах (животный протейновый фактор) и человеке (антипернициозно-анемический фактор). Пуриновые кобаламины (псевдо-кобаламины) активны только на микробах, а этио-кобаламины — биологически инактивны (табл. 61).

В желудочно-кишечном тракте любых животных содержится примерно 70% всех кобаламинов, в печени же этих животных обнаруживается лишь 5,6-диметилбензимидазоловый кобаламин. Очевидно, животное избирательно

Новая номенклатура		Прежнее обозначение	Различительные	
обозначение			физико-химические	
общее	рациональное		максимумы поглощения и окраска	элементарно-ретиические данные
Полные (содержащие нуклеотиды) кобаламины—нуклеотидо-кобаламины				
Пурин-кобаламины	Бензимидазольные кобаламины	5,6-Диметилбен- зимидазол-ко- баламин	Витамин В ₁₂ , α-кобаламин, В ₁₂ -фактор II	При pH 7,0—моноцианокомплекс с 361 мμ, красный
		5-Метилбензими- дазол-кобала- мин	—	
		Бензимидазол- кобаламин	—	
		5-Оксибензими- дазол-кобала- мин	В ₁₂ -фактор III	
		Аденин-кобала- мин	φ-Витамин В ₁₂ β-Кобаламин, Витамин В ₁₂ /, В ₁₂ -фактор IV	
	2-Метиладенин- кобаламин	В ₁₂ -фактор A, ω-Кобаламин, Витамин В ₁₂ т, φ-Витамин В ₁₂		
			Нейтральные	
			Основные	
			Нейтральные	

признаки					Где содержатся и как образуются	Ссылка на литературу
биологические (активность)						
B. coli	L. teichmannii	Escheria gracilis	целлента (APF)	пернициозная анемия		
+	+	+	+	+	Печень животных, слизистая кишечника при биосинтезе микроорганизмами	Rickes a. oth., 1958; Smith, 1948; Bernhauer, Friedrich, 1954; Brown a. oth., 1955; Pawelkiewicz, 1954, 1955; Букин, Арешкина, Купева, 1955
+	+			+	При биосинтезе микроорганизмами	Bernhauer, Friedrich, 1954; Ford, Holdsworth, 1954; Pawelkiewicz, 1954, 1955
+	+			+		
+	+			+	Отстой сточных вод	Friedrich, Bernhauer, 1953, 1954
+	+	+	0	0	Кал животных, слизь кишечника, при биосинтезе микроорганизмами	Ford, Holdsworth, 1954, 1955; Holdsworth, 1953; Pliffner a. oth., 1952
+	+	+	0	0	Кал теленка, сточные воды	Wijmenga, 1952; Ford, Holdsworth, 1954, 1955; Pliffner a. oth., 1954

Новая номенклатура		Прежнее обозначение	Различительные	
обозначение			физико-химические	
общее	рациональное		максимумы поглощения и окраска	электрофизические данные
Неполные кобаламины (без нуклеотида) — этио-кобаламины	Этио-кобаламин карбоновые кислоты	Гипоксантин-кобаламин	V ₁₂ -фактор G	Нейтральные
		2-Метилгипоксантин-кобаламин	V ₁₂ -фактор H	
		Этио-кобаламин	V ₁₂ -фактор B, V ₁₂ -фактор I	
		C изопропанол-аминогруппой Без изопропанол-аминогруппы	V ₁₂ -факторы V	
			При pH 7,0 — дициано-комплекс с 367 мμ, фиолетовый (без CN — оранжевый)	

усваивает лишь физиологически активные формы кобаламина, либо синтезирует его из неактивных форм. Последнее предположение подтверждает небольшая активность витамина B₁₂, которой обладает нуклеотидный продукт отщепления витамина B₁₂ — α-рибазол (1-α-D-рибофуранозил-5,6-диметилбензимидазол) при испытании его на крысах, лишенных запасов витамина B₁₂, и на цыплятах, получающих рацион с растительным белком (Emerson a. oth., 1951; Cooperman a. oth., 1952).

В опытах на крысах и цыплятах активность α-рибазола была примерно в 10 000 раз слабее, чем витамина B₁₂. Исследование активности витамина B₁₂ у ряда производных α-рибазола показало, что наличие сахара в молекуле последнего не имеет такого значения, как его фурановое

признаки					Где содержатся и как образуются	Ссылка на литературу
биологические (актив- ность)						
B. coli	L. leichman- nii	Euglena gra- cilis	целлюла (APF)	перниозная анемия		
+	+				Кал животных	Brown, Cain a. oth., 1955; Brown, Cain a. oth., 1955
+	+					
+	0	0	0	0	Кал животных, сточные воды	Ford, Porter, 1952; Janicki, Pawelkiewicz, 1954, 1955; Brown, Cain a. oth., 1955
0	0	0	0	0	Сточные воды	Friedrich, Bernhauer, 1953, 1954

кольцо и α -положение в глюкозиде (Neyl a. oth., 1954). Адениновый псевдо-кобаламин обладал 70%-ной микробиологической активностью витамина B_{12} при испытании на *Lactobacillus leichmannii* (Plittner a. oth., 1952, 1954) и только 8%-ной активностью на *Bacterium coli*. Другой псевдо-кобаламин содержал 2-метиладенин вместо 5,6-диметилбензимидазола и обладал 30%-ной микробиологической активностью на *L. leichmannii* (Plittner a. oth., 1952, 1954). Оба псевдо-кобаламина в водных растворах обладали одинаковыми спектрами поглощения с максимумами в области 278, 308, 320, 361, 518 и 548 м μ и $E_{cm}^{1\%}$ соответственно: 130, 62, 60, 204, 54,5 и 57,5.

Испытания псевдо-кобаламинов на молочных телятах показали их полную инактивность (Horper, Johnson, 1953).

Антагонисты витамина B_{12}

При слабом кислотном гидролизе витамина B_{12} у части амидных групп отщепляется аммиак и образуются свободные моно-, ди- или три-карбоксильные группы, при обработке которых аммиаком можно вновь получить витамин B_{12} (Armitage a. oth., 1953). Однако, если вместо аммиака взять какой-либо амин или аминокислоту, то получится соответствующий амид. Оказалось, что некоторые амиды одноосновной кислоты витамина B_{12} обладали конкурентными антагонистическими свойствами к микроорганизмам, нуждающимся в витамине B_{12} , например, *Escherichia coli* (Smith, Parker, Gant, 1956). К таким моно-амидам с активностью антивитамина B_{12} относились: метиламид, этиламид, моноэтаноламид, этилендиамид, диметиламид, диэтиламид, пиперидил, фенилэтиламид, циклогексиламид, анилид и сульфанилид. Из них наиболее активным к *E. coli* оказался метиламид с индексом торможения (отношение антивитамина к витамину) 150, анилид обладал индексом торможения 2000, а диэтиламид 3000 (Guthbertson a. oth., 1956).

При испытании указанные амиды подавляли рост крыс, лишенных в диете витамина B_{12} . Рост восстанавливался после введения в диету витамина B_{12} (Guthbertson a. oth., 1956).

Мы видели, что азотистое основание нуклеотидной части витамина B_{12} —5,6-диметилбензимидазол может заменить витамин B_{12} в больших концентрациях при росте микроорганизмов, крыс и цыплят. Оказывается, что структурный аналог его—2,5-диметилбензимидазол, отличающийся смещением метильной группы из положения 6 в положение 2, обладает свойствами конкурентного антагониста в отношении витамина B_{12} . Это проявляется в торможении роста микроорганизмов и крыс (Emerson, Brink a. oth., 1950) и в понижении процента выводимости при инъекции по 50 ммкг его в оплодотворенные яйца кур, не получавших в рационе витамин B_{12} , и по 500 ммкг в яйца кур, получавших 0,23 ммкг витамина B_{12} на 100 г кормов (Arscott, Shorb, Boggs, 1955).

Биосинтез витамина B_{12}

Большинство кишечных бактерий способны к биосинтезу витамина B_{12} . Так, из 142 форм микроорганизмов, изолированных из помета домашней птицы, лишь 3% были

не способны к биосинтезу, а 42,2% из них синтезировали более 0,4 мкг витамина B_{12} на 1 мл среды (Halbrock и. oth., 1950). Наиболее эффективно синтезировала витамин B_{12} раса *Aerobacter aerogenes*. Среди микроорганизмов, наиболее интенсивно производящих витамин B_{12} , следует отметить грибы, относящиеся к актиномицетам, плесень вида *Streptomyces*, сине-зеленые водоросли и почвенные бактерии. Поэтому этими витаминами особенно богат гниющий ил (Букин, Куцева, Зайцева, 1954; Zernhauer, Friedrich, 1954).

Зеленые растения не способны к биосинтезу витамина B_{12} и поэтому его не содержат. Если растительные корма и содержат незначительное количество витамина B_{12} , то это происходит лишь благодаря микроорганизмам, заселяющим их. Однако морские водоросли довольно богаты витамином B_{12} , так в водорослях Черного моря его содержится от 2,0 до 31,1 мкг/100 г и от 0,4 до 2,6 мкг/100 г — в водорослях Баренцова моря (Куцева, Букин, 1957). Так как сами водоросли не синтезируют витамин B_{12} , а его накопление объясняется деятельностью бактерий-эпифитов, то водоросли *Callithamnion* и *Enteromorpha*, обитающие в более загрязненных местах Черного моря, отличаются наибольшим содержанием витамина B_{12} .

Этио-кобаламин, добавленный к ростовой среде *V. coli*, одновременно с 5-6-диметилбензимидазолом превращается в полный кобаламин. Пропионовокислые бактерии синтезируют этио-кобаламин — фактор В или витамин B_{12p} (Janicki, Pawelkiewicz, 1954, 1955). Однако, если к культуре этих бактерий, по истечении некоторого времени, достаточного для образования этио-кобаламина, добавить какой-либо из следующих аналогов 5,6-диметил-бензимидазола: бензимидазол, 5-нитробензимидазол, 5- или 6-нитро- 6 или 5-метилбензимидазол, 5-этоксibenзимидазол, бензотриазол или 2-меркаптобензимидазол, то после 24-часовой инкубации обнаруживаются соответствующие нуклеотицианокобаламины (Pawelkiewicz, Nawakowska, 1955). Последние обладают активностью витамина B_{12} в опытах с ростом расы *Vac. coli*, чувствительной к B_{12} и *Euglena gracilis*. Добавление аурамицина* к культуре пропионовокислых бактерий повышает биосинтез актив-

*Аурамицин идентичен биомицину.

ных витаминов B_{12} за счет синтеза биологически неактивного этио-кобаламина (Pawelkiewicz, 1955).

Добавление аурамицина к отстою сточных вод (10 мг на 1 л), гниющих в аэробных условиях при pH 6,5—7, повышает синтез 5,6-диметилбензимидазолового кобаламина, а то же добавление к отстою, гниющему в анаэробных условиях при том же pH среды, повышает синтез 5-оксibenzимидазолового кобаламина (Neujahr, 1957). Добавление тетраамицина (25 мг на 1 л) или пенициллина к отстою в аэробных условиях вызывает то же действие на синтез витамина B_{12} , хотя и менее резкое.

У нас в СССР витамин B_{12} получают одновременно с биомицином при биосинтезе культуры *Actinomyces anagolasiensis* или с стрептомицином при биосинтезе культуры *Actinomyces globisporus* Streptomycini (Сурикова, Попова, 1957). Для биосинтеза витамина B_{12} необходимо наличие 0,05 мг% $Co(NO_3)_2$ в первой культуре и 0,10—0,15 мг%—во второй. Еще лучше витамин B_{12} синтезирует *Actinomyces olivaceus*. Актиномицеты, благодаря автолизу, по прошествии 24 часов после засева выделяют витамин B_{12} в среду, из которой он легче может быть извлечен, а пропионовокислые бактерии сохраняют его в своих клетках. Накопление витамина B_{12} актиномицетами зависит от аэрации, а накопление пропионовокислыми бактериями не зависит от аэрации и прямо пропорционально бактериальной массе (Макаревич и др., 1958).

Биосинтез витамина B_{12} может быть использован также в процессе силосования кормов. На силосе, как питательной среде, развиваются микроорганизмы, синтезирующие B_{12} , и добавка солей кобальта в силосуемую массу в концентрации 0,1 мг% значительно повышает биосинтез витамина. В таблице 62 представлены данные биосинтеза витамина B_{12} при силосовании различных кормов и влияние на него добавленных солей кобальта (Ряцкая, Зубрилина, 1958).

Из данных таблицы 62 мы видим, что почти при всех видах сырья добавка кобальта стимулирует биосинтез витамина B_{12} при силосовании. Однако наибольший синтез витамина B_{12} и наибольшая стимуляция его кобальтом происходит в овсяном силосе. Из всех животных только жвачные не нуждаются в экзогенном витамине B_{12} , вследствие усиленного биосинтеза этого витамина колиформными бактериями в рубце их желудка.

Влияние кобальта на биосинтез витамина В₁₂ в различных силосах

Силосное сырье	Содержание витамина В ₁₂ (в мкг)											
	10-й день		30-й день		60-й день		90-й день					
	добавлено кобальта (в мг/%)											
	нет	0,1	1,0	нет	0,1	1,0	нет	0,1	1,0	нет	0,1	1,0
Лупин в стадии цветения . .	1,00	1,40	1,00	1,30	2,00	1,80	2,6	3,20	3,00	2,31	2,29	2,15
Клевер в стадии цветения . .	1,00	1,10	1,30	1,20	1,15	1,00	1,14	1,15	0,95	—	—	—
Овес в стадии колошения . .	1,80	1,90	1,60	1,80	4,80	3,60	3,20	6,60	6,90	4,40	5,16	11,94
Ячменя в стадии цветения	1,40	1,20	1,4	1,60	2,60	1,50	1,41	1,86	1,27	—	—	—
Вика в стадии образования бобов	2,10	2,40	2,30	2,60	3,00	2,30	2,46	2,34	2,23	2,02	2,34	2,02
Цельные растения кукурузы в стадии налива зерна . .	следы	следы	следы	0,83	0,81	0,79	0,51	0,60	0,80	следы	следы	следы
Кукуруза с добавлением мочевины	0,60	1,00	0,70	0,70	1,00	0,60	—	—	—	—	—	—

Исследование выделения витамина B_{12} коровами показало, что при суточном потреблении с кормами 47,6 мкг витамина B_{12} с мочой выделяется 7,5—15,3 мкг витамина, а с калом выделяется в 40—50 раз больше, чем поступает с кормом, и колеблется у отдельных животных от 1967 до 2664 мкг (Feeri, Enos, Pomerantz, Colovos, 1955). Однако для такого синтеза витамина B_{12} жвачным животным нужны неорганические соли кобальта. Введение быку в рацион, лишенный витамина B_{12} , хлористого кобальта вызывает повышение содержания витамина B_{12} в кале от 142 до 960 мкг на 1 г (Bentley a. oth., 1950). Включение в корм овцы минеральной соли меченого кобальта (Co^{60}) вызывало связывание его в форму витамина B_{12} , который был обнаружен в большом количестве в тонком кишечнике и в меньшем — в печени, сердце, почках и поджелудочной железе (Rothery a. oth., 1953). Это же было установлено Ковальским и Расцкой (1955), которые в районах с низким содержанием кобальта в кормах добавляли в корм жвачных животных кобальтовые соли, отчего содержание витамина B_{12} в рубце, тонком кишечнике, молоке и печени этих животных резко повысилось. Жвачные часто страдают не от недостатка витамина B_{12} , а от недостатка кобальта, если его не хватает в кормах. Это и проявляется у них симптомами, характерными при недостатке витамина B_{12} .

Доказана известная прямо пропорциональная зависимость между содержанием кобальта в почве и количеством витамина B_{12} в молоке коров. Даже минеральная подкормка коров в основном $NaCl + CaSO_4$ давала повышение содержания витамина B_{12} в молоке. Добавка же к этой подкормке еще 0,12% $CaCl_2$ и 0,2% $MnSO_4 + ZnSO_4$ повышала еще в 1,5 раза витамин B_{12} в молоке (Лагановский, 1958). Подкормка кобальтом повышала вес поросят и баранов примерно на 9—10,5%. Это указывало на биосинтез витамина B_{12} из кобальта (Шергин, 1957). Однако на кроветворение введение витамина B_{12} оказывало более сильное действие, чем добавка кобальта.

Способность тканей животных, особенно печени, синтезировать витамин B_{12} пока еще не установлена. Однако эмбрион цыпленка синтезирует его. В то время как содержание в яйцах фолиевой кислоты в процессе их инкубации оставалось постоянным, общее содержание витамина B_{12} в оплодотворенном курином яйце в процессе

инкубации повышалось и достигало максимума к 18—20-му дню инкубации (Fischer, Benson, Swendsen, 1958). Прирост к этому времени составлял от 120 до 212 мкг витамина B_{12} в каждом яйце. Из диаграммы рисунка 23 видно, что в процессе инкубации яиц содержание витамина B_{12} в желтках постепенно падает: витамин переходит в желточные мешки и эмбрионы. В последних витамин

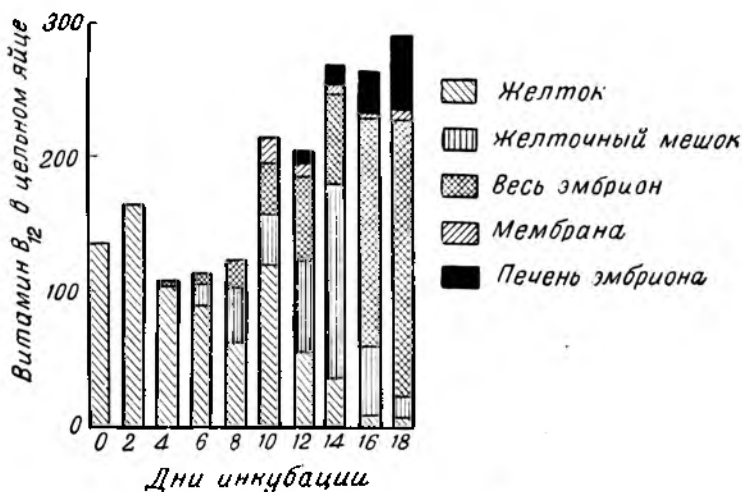


Рис. 23. Распределение витамина B_{12} в яйцах кур в процессе инкубации.

B_{12} особенно накапливается к 16—18-му дню инкубации, когда содержание его превосходит исходное в цельных яйцах. К этому времени инкубации содержание витамина B_{12} в желточном мешке снижалось. С 12-го дня инкубации витамин B_{12} начинал откладываться в печени эмбриона. К 20-му дню его количество достигало 70 мкг или 122 мкг/г (Fischer a. oth., 1958). Это указывало на возможность синтеза витамина B_{12} в эмбриональной ткани так же, как и в опухолевой (Wolley, 1953, 1954, 1955).

При введении ауромидина в корм с недостаточным содержанием витамина B_{12} крыс (Johnson a. oth., 1953; Chow a. oth., 1953), цыплят (Monson a. oth., 1953. Siedlet a. oth., 1953) и поросят (Carpenter, 1950) рост их и содержание свободного витамина B_{12} в кишечниках и кале повышается; этот антибиотик, введенный перорально,

изменяет характер кишечной флоры у животных и в первую очередь подавляет рост бактерий молочнокислой группы и бактерий рода *Clostridium*. Первые требуются к витаминам, в частности к B_{12} , и конкурируют за поглощение их с хозяином, а вторые образуют экзотоксины, подавляющие рост других организмов, синтезирующих витамины. Вероятно, поэтому в кишечнике крыс, получавших аурамицин, и было найдено повышенное количество свободного витамина B_{12} . Однако исследование тканей таких крыс не показало повышения витамина B_{12} ни в печени, ни в почках. Очевидно, в нижних отделах кишечника имеются минимальные количества внутреннего фактора, способствующие усвоению витамина B_{12} , в количестве достаточном для обмена и повышения роста, но недостаточном для отложения его в тканях.

Характер питания скота оказывает влияние на содержание различных витаминов группы B_{12} в рубце. Так, при выгульном содержании овец на тучных пастбищах в их рубце накапливается больше бензимидазоловых кобаламинов, тогда как при стойловом содержании на пшеничной соломе с добавкой клейковины и кобальта в рубце овец значительно синтезируются псевдо-кобаламины и фактор В (Dawbarn, Hine, Smith, 1957).

Биокаталитические функции витамина B_{12}

Участие в синтезе метильных групп (липотропное действие). Основное биологическое действие витамина B_{12} —это участие его в синтезе лабильных метильных групп. Эта функция его была доказана рядом исследователей на различных животных. Арнштейн (Arnstein, 1950, 1951) впервые показал, что формиат, β -С-серина и α -С-глицина могут служить предшественниками метильных групп холина у крыс, но только в присутствии витамина B_{12} . Причем, наиболее эффективными из них оказались оксиметильная группа серина и формиат, тогда как α -углерод глицина был несколько менее эффективным (Arnstein, Neuberger, 1952, 1953). Образованная метильная группа сначала включается в метионин, а затем переметилированием переходит на холин. Так, витамин B_{12} способствует метилированию гомоцистеина в метионин у крыс (Edwards, Carter, 1953), птиц (Kratzner, 1952, 1953; Jukes, 1952) и микроорганизмов (Kalan, Ceithaml, 1953).

Подобное участие витамина B_{12} в синтезе метильных групп холина из α -углерода глицина и формата было доказано на поросятах, получающих рационы, протеин которых составляли соевые бобы (Johnson, Firth, Mistry, 1954, 1955), на свиньях (Chang, Johnson, 1955), крысах (Ericson, Harper, Williams, Elvehjem, 1955) и цыплятах (Johnson, Norris, Heuser, 1954). В то время, как большинство авторов (Jonhson a. oth., 1954; Joung, Norris, Heuser, 1954; Mistry a. oth., 1953, 1954, 1955) объясняли способность стимулировать переметилирование наличием фолиевой кислоты, но не витамина B_{12} , Эриксон с сотрудниками (Ericson a. oth., 1955) показали, что недостаток витамина B_{12} понижал как способность печени крысы синтезировать метильные группы, так и активность бетаин-гомоцистеин трансметилазы.

В подтверждение вышеуказанных данных, Арнштейн (Arnstein, 1958) доказал, что введение формата C^{14} (соли муравьиной кислоты) одновременно с витамином B_{12} в диету крысе, которая лишена запасов витамина B_{12} , вызывало включение формата главным образом в холин и меньшее в протеин. $2C^{14}$ -Гистидин, будучи предшественником формата в организме, также вводили крысе.

Таблица 63

Действие витамина B_{12} на включение C^{14} -формата и $2C^{14}$ -гистидина в нуклеиновые кислоты, протеин и холин во всех внутренностях крысы

Фракция изолированных соединений	Обнаруженная радиоактивность микюри/г			
	опыт с форматом		опыт с гистидином	
	+ B_{12}	- B_{12}	+ B_{12}	- B_{12}
Нуклеиновые кислоты (смесь)	358	453	50,9	82,6
Дезокси-нуклеиновая кислота	103	117	54,6	57,9
Протеин	51,6	26,3	116	108
Серин (выделен из протеина)	57,5	21,3	—	—
Метионин (выделен из протеина)	59,0	24,7	—	—
Холин	378	117	40,1	36,6

Однако витамин B_{12} не оказывал такого же действия на включение гистидина, как на включение формиата. Очевидно, образование формиата из $2C^{14}$ -гистидина протекало без влияния витамина B_{12} .

Витамин B_{12} подобно тетрагидрофолиевой кислоте, реагирует *in vitro* с формальдегидом, меченным C^{14} , образуя довольно прочный комплекс, из которого витамин B_{12} не удавалось освободить ни кристаллизацией, ни электрофорезом (Volgra, Lants, Kratzer, 1958). Витамин B_{12} имеет в своей молекуле 6 амидогрупп, которые могут реагировать с формальдегидом, давая оксиметильные производные. Действительно, подобные комплексы содержали на 1 моль витамина B_{12} от 1 до 3 молей формальдегида. Это указывает, что механизм действия витамина B_{12} близок к таковому фолиевой кислоты и состоит в присоединении одноуглеродного элемента, восстановлении его до метила и переносе на соответствующий акцептор.

Вышеуказанная способность витамина B_{12} стимулировать образование метионина и холина обуславливает его выраженное липотропное действие, т. е. предохранение печени от жировой дегенерации (Dumm a. oth., 1952). В связи с этим при недостатке витамина B_{12} отмечено (Ling Chow, 1954) чрезмерно малое содержание фосфолипидов в крови.

Действие витамина B_{12} на сульфгидрильные соединения и углеводный обмен. В связи с вышеуказанными свойствами восстанавливать формильный остаток в метильную группу следует отметить также способность витамина B_{12} восстанавливать сульфгидрильные соединения. Указывалось, что при недостатке витамина B_{12} понижалось содержание восстановленного глутатиона в крови и тканях человека и животных (Ling, Chow, 1952, 1954; Jaffe, 1958) и в бактериях (Dubnoff, Bartrow, 1954). При недостатке B_{12} понижалось содержание и других не протеиновых сульфгидрильных групп в крови и печени крыс (Register, 1954). Вместе с этим повышалось содержание коэнзима А (Boxer a. oth., 1954), очевидно вследствие наличия его в более устойчивой и каталитически неэффективной окисленной форме. Это подтверждается повышением процессов ацетилирования после введения витамина B_{12} животным (Fatterpaker a. oth., 1955).

Указывалось (Hadnagy, Horvath, 1957), что подкожная инъекция витамина B_{12} нормализует кривую сахара

крови в случае тех заболеваний, когда она имеет гипергликемический характер.

У крыс с недостатком витамина B_{12} всегда отмечалась гипергликемия, причем введение как витамина B_{12} , так и глутатиона приводило содержание сахара в крови к норме. Это объясняется нарушением способности эритроцитов крови использовать глюкозу на образование рибозы (Ling, Chow, 1954), ибо процесс превращения глюкозы в рибозу связан с ферментативной системой 3-фосфоглицеральдегид дегидразой, простетической группой которой служит глутатион (Krimsky, Racker, 1952).

Образование нуклеиновых кислот и действие на белковый обмен. В 1948 году было установлено (Shive a. oth., 1948; Wright a. oth., 1948), что витамин B_{12} необходим для превращения тимина в тимидин, т. е. тимин-дезоксирибозид. После этого на ряде организмов было подтверждено участие витамина B_{12} в синтезе нуклеиновых кислот. Так, с повышением концентрации B_{12} в среде увеличивается концентрация дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДРН) в клетках *L. casei* (Rege, Sreenivasan, 1950), а при недостатке витамина B_{12} в среде в клетках *Euglena* на 12% понижается содержание обеих рибонуклеиновых кислот (ДРН и РНК) (Soldo, 1955).

Арништейн (Arnstein, 1958) нашел в своих опытах, что включение формата в нуклеиновые кислоты всех внутренних под влиянием витамина B_{12} не повышалось, но в отдельных органах было констатируемо значительное повышение. В печени оно соответствовало 160%, в мозге 145% и в селезенке 134% по сравнению с таковыми же у крыс, не получивших витамин B_{12} .

В печеночных клетках крыс с недостатком B_{12} было обнаружено (Seigel, Worley, 1951) на 10% меньше рибонуклеиновой кислоты (считая на сухой вес), чем у соответствующих контролей. Участие в синтезе нуклеиновых кислот подтверждается также способностью витамина B_{12} поддерживать нормальный цитологический состав крови. Механизм действия витамина B_{12} в образовании нуклеиновых кислот еще неясен, однако указывалась его роль в превращении l-лейцина, глицина, глутаминовой кислоты и метионина в глюкозу (Machlin a. oth., 1952; Peng—Tung Hsu, Combs, 1950, 1951) и последней в рибозу. Первое превращение даст некоторое представление о роли витамина B_{12} в усвоении растительных белков, обычно

богатых глицином, лейцином и глутаминовой кислотой. В отсутствие витамина B_{12} растительные болки, в частности зеин, так же тормозят рост животных, как и указанные аминокислоты; добавление витамина устраняет это торможение и одновременно обуславливает повышение содержания глюкозы в крови.

Наличие в организме постоянно связанного витамина B_{12} с протеином внутреннего фактора в кишечнике, с сывороточным α -глобулином в крови (Ostrowski, 1955) и с протеином в митохондриях печени и почек (Skarzynski, Ostrowski, Niewiakowska, Zak, 1955) обуславливается, вероятно, участием его в соответствующих энзиматических системах.

Физиологическое действие и пищевое значение витамина B_{12}

Поглощение витамина B_{12} в кишечнике и участие в нем внутреннего фактора. Витамин B_{12} , введенный перорально, прежде чем всосаться в кишечнике, связывается в желудке с внутренним фактором и в таком виде всасывается. Наиболее интенсивно витамин B_{12} всасывается в среднем отделе тонкого кишечника, расположенном ближе к слепой кишке (Latner, Green, Raine, 1958; Wolff, 1958; Coates, Holdsworth, 1958). На изолированном кишечнике живой крысы те же авторы доказали (Wolff, 1958; Coates, Holdsworth, 1958), что поглощение витамина B_{12} слизистой оболочкой кишечной стенки сильно повышалось при одновременном добавлении экстракта желудка крысы. Печень, эмбриологически образованная выпячиванием кишечника, также поглощает витамин B_{12} , и это поглощение сильно стимулируется с одновременным добавлением к срезам печени вместе с витамином B_{12} препарата внутреннего фактора, полученного из желудка свиньи (Herbert, 1958; Miller, Raney, Hunter, 1957).

Латнер показал на изолированном кишечнике (Latner, Raine, 1958) и кишечнике крысы (Latner, Green, Raine, 1958), что в поглощении витамина B_{12} кишечником участвуют две энзиматические системы—неконкурентная и конкурентная. Неконкурентная система—это связывание витамина B_{12} с высокоспецифичным к нему внутренним фактором. Кишечной стенкой (Latner, Raine, 1958; Latner, Green, Raine, 1958) и печенью (Latner, Raine, 1957)

поглощается витамин B_{12} . Добавление антивитамина B_{12} моноэтиламида витамина B_{12} или псевдовитамина B_{12} понижает поглощение витамина. При этом псевдовитамин B_{12} тормозит поглощение в гораздо меньшей степени. Очевидно, между аналогом и витамином B_{12} происходит конкуренция за место всасывания в ткани. Этим можно объяснить действие антивитаминов B_{12} .

Введение крысам внутреннего фактора других животных несколько тормозило усвоение ими витамина B_{12} (Chow, Quattlebaum, Rosenblum, 1955; Coates, Holdsworth, 1958). Долго приписывали это видовой специфичности. Однако торможение усвоения витамина B_{12} в кишечнике крысы большой дозой, равной 0,5 мл желудочного сока человека, и стимуляция его малыми (Latner, 1958) говорит скорее в пользу наличия в препаратах желудочных соков других животных и человека тормозящих веществ характера антивитамина B_{12} .

Связь с эндокринной системой. Известно (Dryden a. oth., 1951, 1952; Meyer a. oth., 1951) о влиянии витамина B_{12} на размножение и лактацию животных. Подобное же действие этот витамин оказывал на яйценоскость и выводимость. Так, выводимость оплодотворенных яиц от кур, не получавших витамин B_{12} , была 19—64%, а получавших витамин B_{12} —более 82% (Welch a. oth., 1954; Arscott a. oth., 1955). Половое развитие крысят от самок, питавшихся молоком матерей, не получавших витамина B_{12} в течение периода лактации, задерживалось по сравнению с контрольными (Dryden, Hartman, Cary, 1954).

Витамин B_{12} примерно с такой же интенсивностью, как фолиевая кислота, стимулирует реакцию яйцевода молодых кур к стильбестерину (Kline, 1955). Из всех витаминов это действие присуще только витамину B_{12} и фолиевой кислоте, вероятно, вследствие того, что только эти два витамина участвуют в обмене одноуглеродных соединений.

Витамин B_{12} оказывает защитное действие при тиреотоксикозе. Так, у гипертироидных крыс содержание глутатиона в крови повышено, а в печени и надпочечниках понижено, понижены процессы ацелирования и бензоилирования. После введения витамина B_{12} таким крысам содержание глутатиона в печени и почках и процессы ацелирования повышаются, а содержание глутатиона в крови понижается (Fatterpaker a. oth., 1955).

При недостатке витамина B_{12} у кур понижено поглощение J^{131} щитовидной железой, а в щитовидной железе эмбрионов яиц от таких кур было резко снижено количество восстановленных сульфгидрильных групп за счет повышения окисленных дисульфидных (Ferguson a. oth., 1957).

Отношение витамина B_{12} к другим витаминам. Витамин B_{12} способствует переходу каротина в витамин А и отложению последнего, вследствие чего повышается упитанность животного (High, Sherman, 1953). С его присутствием понижается потребность в холине (Arnstein, Neuburger, 1952, 1953), очевидно вследствие стимуляции эндогенного образования последнего. Витамин B_{12} обезвреживает никотиновую кислоту, повышая выделение N-метилникотинамида (Liener, Schultzer, 1952). Добавление 500 мкг витамина B_{12} на 1 кг корма яйценосных кур повышает содержание фолиевой кислоты в желтке яиц от 176 до 529 ммкг/г и лейковорина от 59 до 89 ммкг (Welch, Perrett a. oth., 1954). Введение одного витамина B_{12} больным аддисоновской пернициозной анемией не оказывало такого благоприятного терапевтического действия, как применение его вместе с фолиевой кислотой (Harris, 1956).

Недостаток витамина B_{12} в рационе кур усугубляет недостаточность пантотеновой кислоты, если этот рацион был беден ею. Для кур требуется 6,7 мг пантотеновой кислоты в 1 кг кормов рациона при условии адекватного содержания в нем витамина B_{12} . В рационе, лишенном витамина B_{12} , ее должно быть 10 мг на 1 кг кормов рациона (Balloun, Phillips, 1957).

Усвояемость пищи и содержание витамина B_{12} в органах. Витамин B_{12} повышает рост, усвояемость пищи и отложение жира в теле. Отложение жира в ткани было прямо пропорционально содержанию B_{12} в диете (Black, Bratzler, 1952). Увеличение содержания витамина B_{12} до 24 мкг/кг в зерновых кормах повышало привес птицы на 5% и усвояемость пищи на 3,5% (Matterson a. oth., 1954). Содержание витамина B_{12} в количестве 22 мкг/кг кукурузно-соевого рациона влияло на привес птиц, увеличивая привесы в течение первых 4 недель на 22,1% для петушков и на 18,9% для курочек (Titus a. oth., 1955). Чтобы витамин B_{12} откладывался в яйцах, инъекция его более эффективна, чем введение с пищей. Около 33% ежедневной дозы витамина откладывается в яйцах при инъекции,

а при пероральном введении откладывается лишь около 20% (Denton a. oth., 1954). Обычно яйца содержат по 387 мкг витамина B_{12} каждое, или 6,54 мкг/г, причем на долю желтка приходится 352 мкг, или 18,53 мкг/г, и белка — 25 мкг, или 0,63 мкг/г (Evans, Baudemer, Bauer, Davidson, 1955). Эти величины довольно устойчивы при хранении яиц в течение 7 месяцев на холоду. Однако они могут быть сильно повышены введением яйценокским курам витамина B_{12} в пищу. Так, добавление 50 мкг B_{12} на 1 кг корма повышает содержание его в желтке до 46,2 мкг/г (Welch a. oth., 1954).

У животных наибольшее содержание B_{12} в печени 35—50 мкг/100 г (Куцева, 1954), 60—70 мкг/100 г (Scheid, Schweigert, 1954), затем в почках 24—32 мкг/100 г (Scheid, Schweigert 1954), мозге 5 мкг/100 г и мышцах 2 мкг/100 г.

Содержание витамина B_{12} в сыворотке, плазме и цельной крови человека примерно одинаковое и, по данным Розенталя и Саретта (Rosenthal, Sarett, 1952), колеблется от 0,1 до 0,72 мкг/мл, в среднем 0,33 мкг/мл. Эта величина согласуется с таковой, полученной Райтом (Wright, 1958), Патриком (Patrick, 1955), в плазме крови здоровых детей 8—15-летнего возраста обоего пола. Почти весь витамин B_{12} в крови находится в связанном состоянии. Единичная пероральная доза, равная 500—1000 мкг витамина B_{12} здоровому человеку, незначительно повышает содержание витамина в крови и в моче.

С возрастом и при беременности содержание витамина B_{12} в крови падает (Wright, 1958).

Содержание витамина B_{12} в крови к моменту рождения ягнят равно 1 мкг в 1 мл. У группы ягнят, получивших в рационе достаточно кобальта, содержание витамина B_{12} в крови повышалось примерно до 1,5 мкг в 1 мл (Moynudhin a. oth., 1953).

При скармливании овцам кормов, бедных кобальтом, содержание витамина B_{12} в плазме крови падало до 0,2 мкг в 1 мл. Это указывало на недостаточность витамина B_{12} (Dawborn a. oth., 1957).

Содержание витамина B_{12} в молоке. Содержание витамина B_{12} в коровьем молоке значительно колеблется в зависимости от сезона. Наибольшее количество витамина B_{12} содержится в осеннем молоке—5,3 мкг в 1 л и наименьшее в весеннем—2,9 мкг в 1 л (Давидов, Круглова, 1958). По Лагановскому (1958), в молоке коров зимне-

го стойлового содержания количество витамина B_{12} колеблется от 3,0 до 7,7 мкг в 1 л, а в молоке летнего пастбищного от 2,2 до 6,3 мкг в 1 л. Уменьшение количества витамина B_{12} в молоке в весенне-летнее время зависит от меньшего потребления коровами кобальта в это время. Минеральная подкормка коров может сгладить эту разницу.

Содержание витамина B_{12} в молоке различных животных значительно колеблется, как это видно из данных таблицы 64 (Лагановский, 1958).

Таблица 64

Содержание витамина B_{12} в молоке жвачных животных

Молоко	Витамины B_{12} (в мкг/л)	
	среднее	колебание
Коровье:		
в подопытных хозяйствах	4,1	1,8—9,7
рыночное	2,8	1,0—6,4
Овечье	7,0	2,3—13,4
Козье	0,38	0,18—0,77
Свиньи	1,05—1,67 (Lucas, Lodge, 1958)	

Молозиво коров и коз гораздо богаче витамином B_{12} , чем молоко. Так, в молозиве соответственно содержится 16 и 4,2 мкг в 1 л, а в молоке 7,5 и 0,29 мкг в 1 л (Collins a. oth., 1951).

Содержание витамина B_{12} в молоке зависит от породы коров. При одинаковом летнем содержании в 1 л молока коров красной степной породы в среднем было 2,6 мкг витамина B_{12} , а у коров алатауской породы—в среднем 3,9 мкг витамина B_{12} . Содержание витамина B_{12} в молоке также зависит от индивидуальных особенностей коров и при одинаковых условиях содержания может колебаться от 3,8 до 7,1 мкг в 1 л (Давидов, Круглова, 1958).

Усвояемость витамина B_{12} . Скармливание ягнятам на рационах с недостатком кобальта 0,5 мг витамина B_{12} ежедневно в течение 5 недель так же благоприятно действует на аппетит, привес и содержание гемоглобина, как инъекция 0,5 мг витамина в течение 2 недель (Kercher, Smith, 1953). Поэтому только около 3% перорально вве-

денного витамина B_{12} усваивается ими. На усвояемость витамина B_{12} в кишечнике решающее влияние оказывает оптимальное отношение внутреннего фактора к пероральной дозе витамина B_{12} (Glass и др., 1952; Wallerstein и др., 1953). Установлено, что эта усвояемость зависит от связывания витамина B_{12} внутренним фактором. Однако какое значение имеет эта связываемость витамина B_{12} с белком внутреннего фактора для усвоения, предохраняет ли она от кишечных бактерий или способствует проницаемости кишечной стенки, пока еще не ясно. Опыты *in vitro* показали, что наиболее высокая концентрация внутреннего фактора связывает больший процент B_{12} (70% и более) (Raine, 1955). В опытах *in vivo* на людях, больных пернициозной анемией, установлено, что определенную дозу витамина B_{12} не следует повышать более чем на 50% при неизменной пероральной дозе внутреннего фактора. Так, для наибольшего усвоения пероральной дозы в 0,8 мкг B_{12} требуется 45 мг внутреннего фактора, а для дозы 1,5 мкг B_{12} — 80 мг, т. е. отношение дозы витамина B_{12} к дозе внутреннего фактора остается почти постоянным (Baker, Mollin, 1955). То же оптимальное отношение было найдено и в работе Гласса с сотрудниками (Glass, Boyd, Stephanson, Jones, 1955) на препаратах внутреннего фактора желудка свиньи и желудочного сока здорового человека. Однако последние выяснили, что повышение дозы внутреннего фактора до 300 мг при 1 мкг B_{12} или 400 мг при 2 мкг B_{12} приводило в большинстве случаев к понижению усвояемости витамина B_{12} . Подобное понижение усвояемости витамина B_{12} Гласс с сотрудниками объяснял либо наличием загрязняющих протеинов в препаратах внутреннего фактора, в комплексе с которыми витамин B_{12} не усваивается, либо торможением усвояемости вследствие сдвига в ту или другую сторону от оптимального отношения. У людей и животных образование внутреннего фактора в желудке находится под влиянием нейрогуморального фактора, действуя на который некоторыми парасимпатическими ядами (например, карбамилхолином), можно повысить экскрецию внутреннего фактора (Baker, Mollin, 1955).

Существуют возрастные различия в связывающих свойствах желудочного сока. Желудочный сок пожилых людей содержал меньше внутреннего фактора (около 52 ммкг/г), чем желудочный сок молодых (около 72 ммкг/г).

То же относится к связывающим витамин B_{12} протеннам сыворотки крови; 1 мл сыворотки молодых людей связывает 158 мкг B_{12} , а пожилых—108 мкг B_{12} . Поэтому доза 0,25 мг B_{12} вызывала повышение содержания витамина B_{12} в крови у молодых и не оказывала такого повышения у пожилых людей (Chow, 1954).

В случае заболевания крупного рогатого скота тейлериозом (заражение клещом) возникает анемия, от которой скот погибает. Оказывается, что эта анемия связана с недостаточностью витамина B_{12} . Это доказывается снижением содержания витамина в крови, которое еще более усугубляется, если животные содержались в районах, бедных кобальтом. Развитие анемии, вероятно, связано с значительными изменениями слизистой сычуга, где происходит биосинтез витамина B_{12} и вырабатывается внутренний фактор, способствующий его усвоению. Подкожное введение 80—120 мкг витамина B_{12} корове весом 250—350 кг (Гончаров, Данилова и Зотова, 1958) или 40—110 мкг корове весом 300—400 кг (Дубовый, 1958) вызывало ослабление и устранение анемии.

Ненормальности в тканях при недостатке витамина B_{12} . Известно, что у крыс-самок, содержащихся на диете, бедной витамином B_{12} , наблюдались лишь небольшие изменения в тканях (Seigel, Worley, 1951), но эти изменения более ярко проявлялись в их потомстве (Dryden a. oth., 1951). Оказалось, что степень недостаточности роста крыс-сосунков и патология их органов зависела от веса новорожденных, чем меньше был их вес, тем тяжелее протекала патология. В результате B_{12} -авитаминозной диеты у взрослых крыс (Seigel, Worley, 1951) и свиней (Cartwright a. oth., 1951) отмечались повреждения печени.

Однако у сосунков от матерей на диете, лишенной B_{12} , те же симптомы были в более тяжелой форме и характеризовались закупоркой сосудов и жировой дегенерацией. Сердце и почки были недоразвиты. Почечные каналы были сильно сужены, местами закупорены и растянуты. В селезенке наблюдалась потеря основных ретикулярных клеток и превращение их в большие компактные массы (Jones, Brown a. oth., 1955). Очень близкие патологические изменения описаны Фергусоном у эмбрионов цыплят от кур, питавшихся кормами с недостатком витамина B_{12} . Максимальная смертность та-

ких эмбрионов наблюдалась на 16—18-й день инкубации.

Симптомы недостаточности проявлялись в атрофии мышц ног, геморрагии в желточном мешке, общей отечности и утончении стенок пищеварительного тракта. Отмечалось также увеличение размеров и неправильная форма сердца, бледность печени, накопление жира в печени, почках и сердце и увеличение щитовидной железы (Ferguson, Couch, 1954). Инъекция витамина B_{12} курам с недостатком B_{12} или в яйца от таких кур предупреждала описанные ненормальности.

Витамин B_{12} в откорме свиней. Витамин B_{12} имеет большое значение в откорме свиней. Он повышает усвояемость растительного белка, который входит в состав обычной растительной пищи свиней. Замена в рационе свиней 30% растительного белка животным повышала вес свиней с 72 до 75,6 кг, однако при том же растительном белке добавление 35 мкг витамина B_{12} на 1 кг рациона влияло на вес так же, как 30% животного белка (Wohlbiert u. andere, 1958). Приведем несколько опытов наших отечественных исследователей по влиянию витамина B_{12} на откорм свиней. В колхозе имени Ленина Лебединского района Сумской области свиньям при мясном откорме в течение 110 дней давали растительные корма. Одной группе (I) витамина B_{12} не добавляли, а другой (II) добавляли на голову 16—25 мкг в первый период и 30—36 мкг—во второй (Коротун, 1958). В таблице 65 представлены полученные результаты.

Т а б л и ц а 65

Влияние витамина B_{12} на изменение веса и затраты корма при мясном откорме свиней на растительных рационах

Группы	Возраст в начале опыта (в днях)	Вес в начале опыта (в кг)	Привес за опытный период (в кг)	Среднесуточный привес (в кг)	Затрачено корма (в корм. ед.)		Переваримость белка (в г)
					на 1 животное	на 1 кг привеса	
I	91	24,2	59,6	0,54	354	5,9	462
II	88	24,2	67,5	0,61	356	5,2	409

В следующих двух сериях опытов исследовалось действие витамина B_{12} отдельно и в комбинации с био-

мицином на привес и расход корма при откорме свиней на растительных рационах.

Первая серия опытов проводилась Караваевой (1958) на свиньях крупной белой породы. Всех свиней, получавших растительный рацион, делили на 4 группы по 17 голов в каждой: I группа свиней не получала добавок, II давали по 12 мг витамина B₁₂ на 1 т корма, III вводили по 8 г биомидина на 1 т корма и IV—12 мг витамина B₁₂ и 8 г биомидина на 1 т корма.

В таблице 66 приведены результаты опыта.

Таблица 66

Влияние витамина B₁₂ и биомидина на откорм свиней

Группы	Средний живой вес (в кг)		Средне-суточный привес (в г)	Израсходовано корма (в норм. ед.)	
	в начале опыта	в конце опыта		в сутки на голову	на 1 кг привеса
I	34,4	88,1	502	2,42	4,82
II	33,3	92,1	539	2,48	4,60
III	33,4	92,9	546	2,50	4,58
IV	33,4	102,6	634	2,80	4,52

Вторая серия опытов была поставлена Алейкиным и Поповым (1958) на 2-месячных поросятах-отъемышах латвийской белой породной группы. Все поросята получали одинаковый рацион, состоящий из концентрированных, сочных, зеленых кормов и обрата. 100 поросят раз-

Таблица 67

Влияние витамина B₁₂ и биомидина на откорм поросят

Группы	Средний живой вес (в кг)		Средний привес одной головы за период опыта (в кг)	Средне-суточный привес (в кг)	Израсходовано за период опыта корма (в норм. ед.)	Всего переваримого белка (в кг)
	в начале	в конце				
I	17,86	44,43	26,57	430	101,0	10,810
II	17,67	45,90	28,23	478	104,2	11,397
III	18,06	47,09	29,03	492	105,5	11,435
IV	18,11	50,39	32,28	547	106,0	11,504

делили на четыре группы: I группа не получала дополнителей; II группа получала в день по 0,7 мг биомидина на 1 кг живого веса; III группе давали по 0,7 мг биомидина + 0,3 мг CoCl_2 на 1 кг живого веса и IV группе — по 0,7 мг биомидина + 0,7 мкг витамина B_{12} на 1 кг живого веса. Опыт длился 60 дней. В таблице 67 представлены результаты опыта.

Из цифр таблиц 65, 66 и 67 видно, что добавка витамина B_{12} к растительным рационам свиней и поросят значительно повышает привес, эффективность корма. Однако это действие витамина B_{12} значительно возрастает при даче его вместе с биомидином.

Потребность в витамине B_{12}

Для полумаксимального роста *Lactobacillus lactis* D. требуется 0,000013 мкг витамина B_{12} в 1 мл среды (Rickses a. oth., 1948).

Определяющим фактором потребности животных в витамине B_{12} является содержание метионина и холина в диете. Наличие 0,15% свободного метионина в рационе цыплят полностью замещает витамин B_{12} , а наличие 0,2% холина лишь понижает потребность в витамине B_{12} (Fox, Briggs, Ortiz, 1957). Метионин, содержащийся в казеине, обладает меньшей активностью, чем свободный. Поэтому при наличии казеина в диете потребность в витамине B_{12} снижается, а при значительном количестве казеина совсем устраняется.

Для максимального роста цыплят на кормах с растительным белком требуется 6 мкг витамина B_{12} на 1 кг кормов (Ott a. oth., 1948), а для полумаксимального роста на рационе с 0,5% йодированного казеина требуется 7,5 мкг на 1 кг (Nichol a. oth., 1949). Индюшатам в течение первых 4 недель их жизни требуется 5—10 мкг витамина B_{12} на 1 кг рациона (Sherwood, Sloan, 1954).

Петерсон (Petersen a. oth., 1953) указывает, что молодым курам леггорнам нужно 2,2—3,3 мкг витамина B_{12} в 1 кг рациона.

Джонсон (Johnson, 1954) определяет потребность для кур нью-гемпширов в 1,0—2,0 мкг на 1 кг кормов. Оказывается, при наличии адекватного количества рибофлавина в рационе кур леггорнов им требуется только 0,5—1,0 мкг витамина B_{12} для нормальной яйце-

носкости и выводимости. Когда же рацион беден рибофлавином, то потребность тех же кур в витамине B_{12} повышается до 2—4 мкг на 1 кг (Chin a. oth., 1958).

Пороссятам на кукурузно-соевых кормах требуется около 11 мкг витамина B_{12} на 1 кг кормов при добавлении антибиотика и около 22 мкг на 1 кг кормов, не содержащих антибиотиков (Richardson, Catron a. oth., 1951).

Согласно Люкасу (Lucas, Lodge, 1958), пороссятам весом 4,5 кг требуется 15, 11 мкг витамина B_{12} на 1 кг корма сухого веса, а весом 18 кг—10,66 мкг.

Глава 13

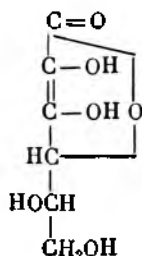
ВИТАМИН С (аскорбиновая кислота)

Цинга—давно известное заболевание людей. Однако экспериментальное доказательство того, что цинга обусловлена отсутствием какого-то пищевого фактора, было получено лишь в 1907—1912 годах, когда Хольсту (Holst, Frolsch) удалось вызвать у морских свинок на овсяной диете геморрагические явления, тождественные таковым у человека при цинге.

Свежий сок овощей и фруктов оказался хорошим профилактическим и лечебным средством против экспериментальной цинги морских свинок—скорбута. После этого было много попыток выделить активный фактор, названный антискорбутным витамином С, из овощей и фруктов и изучить его химический состав. Наиболее важные из них—это исследования Бессонова (1921, 1923, 1925, 1926), выделившего впервые активный препарат из сока капусты. Он доказал, что этот препарат—органическое соединение, обладающее окислительно-восстановительными свойствами, связанными с энольной группой, входящей в состав его молекулы.

В 1927 г. Сент-Гюрги (Sz.—Györgyi, 1927, 1928) выделил из коры надпочечников неустойчивое вещество с резко выраженными окислительно-восстановительными свойствами. Это вещество в ежедневной дозе 1 мг предохраняло морских свинок от скорбута. Химические исследования (Sz.—Györgyi, 1932. Svirbely, Sz.—Györgyi, 1931, 1932. Haworth a. oth., 1932) вещества показали, что оно является производным сахаров с эмпирической формулой $C_6H_8O_6$. Вскоре работами ряда исследователей (Michel, Kraut, 1933, 1934; Hirst, 1933; Euler, Martins, 1933) было доказано строение витамина С, он оказался лактоном 2,3-

диэнol-1-гулоновой кислоты следующей структуры:



Строение было подтверждено синтезом витамина C, выполненным в том же году Рейхштейном (Reichstein, Grüssner, Oppenauer, 1933, 1934).

Физико-химические свойства аскорбиновой кислоты

Аскорбиновая кислота кристаллизуется из пересыщенных водных растворов в виде кристаллов моноклинической системы с температурой плавления 192° . Оптически действительна, удельное вращение в водном растворе $[\alpha]_D^{20} = +32,5^\circ$ (по Даманскому, Ивановичу, 1955) и в метанольном растворе $[\alpha]_D^{25} = +48^\circ$. Аскорбиновая кислота — одноосновная кислота с константой диссоциации, равной 4,2. 0,1N раствор аскорбиновой кислоты в воде имеет pH 2,2. В водном растворе она обладает типичным спектром поглощения в ультрафиолетовой части с максимумом при $265\text{ м}\mu$ и небольшим поглощением в области $330\text{—}350\text{ м}\mu$.

Аскорбиновая кислота хорошо растворяется в воде (13,6% при 0° , 22,4% при 20° , 38,2% при 50° и 57,5% при 100°) и в метиловом спирте, плохо растворима в этиловом спирте (3,3% при 0° , 4,6% при 20° , 8,3% при 50° и 17,8% при 80° в 96%-ном этиловом спирте), ацетоне и нерастворима в эфире. Соли аскорбиновой кислоты — аскорбинаты -Na, -Ca, -Fe и $-\text{NH}_4$ — растворимы в воде. Основная свинцовая соль нерастворима в воде и спирте, а нейтральная свинцовая соль растворима в воде, но не растворима в спирте. На этом основаны методы выделения аскорбиновой кислоты из растительных экстрактов. Аскорбиновая кислота хорошо адсорбируется углем.

Аскорбиновая кислота обладает сильной восстановительной способностью, обусловленной наличием в ее структуре диэнolной группы. Раствор фелинга, азотнокислое

серебро, перманганат и красящие вещества, в частности 2,6-дихлорфенолиндифенол, восстанавливаются аскорбиновой кислотой уже при комнатной температуре. На способности последнего восстанавливаться в свое лейкосоединение основано количественное определение аскорбиновой кислоты (Tillmans, 1932).

В водных растворах при продувании воздуха аскорбиновая кислота быстро окисляется при комнатной температуре. Процесс окисления ускоряется в присутствии тяжелых металлов: меди, железа, серебра, вследствие катализа, а также ферментными системами (Энгельгард, Букин, 1937) (аскорбин-оксидазой и др.). Окисление аскорбиновой кислоты кислородом воздуха ускоряется также с повышением щелочности среды и температуры. В отсутствие воздуха растворы аскорбиновой кислоты выдерживают нагревание до 100°.

Весь процесс окисления аскорбиновой кислоты может быть изображен схемами, предложенными Хербертом (Herbert a. oth., 1939) и Шнайманом (1953) (см. стр. 428).

Окисление протекает в две стадии. 1. Обратимое окисление до дегидроаскорбиновой кислоты, из которой аскорбиновая кислота может быть регенерирована восстановлением сероводородом или другими восстановителями. 2. Необратимое окисление в 2,3-дикетогулоновую кислоту и дальнейшее превращение ее в щавелевую и треоновую кислоты. При необратимом окислении аскорбиновой кислоты, образованная 2,3-дикето-1-гулоновая кислота взаимодействует с другой молекулой аскорбиновой кислоты, отнимает у нее 2 атома водорода за счет окисления ее в дегидроаскорбиновую кислоту, сама при этом превращается в CO_2 и фурфурол. Последний при этом образуется в эквимолярном количестве. На основании этого более вероятной является схема, предложенная Шнайманом, поскольку вследствие возбуждения цепной реакции по этой схеме доказывается быстрое разрушение аскорбиновой кислоты малым количеством кислорода.

* Обратимое окисление, или окислительно-восстановительная способность аскорбиновой кислоты, является наиболее важным свойством ее для биологического действия. Продукт обратимого окисления — дегидроаскорбиновая кислота лишена кислых свойств, это понятно, если учесть, что кислотный характер аскорбиновой кислоты обуславливается водородом гидроксила в положении 3.

Константа диссоциации дегидро-аскорбиновой кислоты pK равна 9.

В качестве стабилизатора дегидроаскорбиновой кислоты следует отметить пирокатехин. Как мы увидим ниже (гл. 14), его можно рассматривать в качестве составной части молекулы витамина P (Gero, 1955). Причем 2 моля пирокатехина полностью стабилизируют 1 моль дегидро-аскорбиновой кислоты.

Фактором, повышающим обратимое окисление аскорбиновой кислоты, является селенистая кислота. Реакция идет количественно по уравнению: $2C_6H_7O_6 + H_2SeO_3 \rightarrow 2C_6H_6O_6 + 3H_2O + Se$ и может быть применена для определения аскорбиновой кислоты (Deshmukh, Vapat, 1955).

Из факторов, повышающих необратимое окисление, следует отметить фотохимическое окисление аскорбиновой кислоты, катализируемое солями железа. Это окисление сильно повышается с добавлением щавелевой кислоты. Щавелевая кислота вообще повышает окисление аскорбиновой кислоты на свету и понижает его в темноте. Эти потери аскорбиновой кислоты следует учитывать при анализе, поскольку часто из растительных продуктов, содержащих железо, применяется экстракция ее 0,25%-ной щавелевой кислотой (Baker, Lampitt, Wittenberg, 1955).

Стабилизаторы витамина С и состояние его при кулинарной обработке

При приготовлении пищи часто происходит каталитическое окисление аскорбиновой кислоты ионами тяжелых металлов (меди, железа), поступающими в пищу из посуды и водопроводной воды.

Действие стабилизаторов аскорбиновой кислоты от каталитического окисления ее ионами тяжелых металлов по природе разнообразно и может быть разбито на четыре группы.

1. Стабилизаторы, непосредственно связывающие ионы металлов и тем самым понижающие их ионизацию, это — альбумин, казеин, сахар в нейтральной (pH 6,8—7,0) и поваренная соль в кислой (pH 3,7—4,0) средах.

2. Стабилизаторы, содействующие устойчивости в силу высокой плотности, вязкости и коллоидной структуры своих растворов: концентрированные растворы сахаров

и 1%-ный раствор оклейстеризованного крахмала (Брюханова, 1955).

3. Стабилизаторы, обладающие восстановительными свойствами: глутатион, цистеин, тиамин при pH 7 (Гего, 1954), тиомочевина в уксуснокислой среде (Удалов, Быкова, 1956).

4. Стабилизаторы, способные связывать аскорбиновую кислоту и тем самым понижать способность ее окисляться, к ним относится танин.

Практически большое значение имеет сохранность аскорбиновой кислоты в пище в условиях общественного питания.

В пищевых продуктах имеются вышеуказанные стабилизаторы, которые сохраняют витамин С при варке. Доказано (Ярусова, 1952; Брюханова, 1955), что белки яйца или яичного порошка, мяса, печени, соевой муки, фасоли, риса и казеин творога, а также крахмал, особенно перловой и овсяной крупы, стабилизируют аскорбиновую кислоту при варке пищи. В таблице 68 указаны стабилизирующие витамин С свойства ряда продуктов.

Таблица 68

Сохранность витамина С в течение двух часов при 70°

Продукт	pH	Сохранность витамина С в мг % от исходного при концентрации стабилизатора	
		1%	3%
Ржаная мука	—	0—11	32—35
Пшеничная мука	7,5	14—19	40—46
Картофельная мука	7,3	11—15	44—54
Перловая крупа	7,1	14—33	49—67
Овсяная крупа	6,7	14—32	51—66
Казеин из творога	4,9	42—51	53—56
Яичный порошок	5,8	13—26	57—67
Поваренная соль	6,4—6,8	—	3—10
Глюкоза	3,7—4,0	—	39—47
Сахароза	6,8—7,0	3—9	22—43
Сахароза	6,8—7,3	0—2	0—7
Сахароза в 50% концен- трации	6,8—7,3		54—67

Исследования Комана (Kohman, 1955) показали, что при стерилизации консервов без доступа воздуха происхо-

дит восстановление дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую. В мясо-овощных консервах, содержащих до автоклавирования 6,76 мг% аскорбиновой кислоты, после автоклавирования содержание ее повышалось до 8,51 мг%, очевидно, вследствие восстановления дегидроаскорбиновой кислоты, частично образованной при приготовлении консервов. Это доказывалось восстановлением дегидроаскорбиновой кислоты, добавленной к консервам до стерилизации. Притом, чем меньше было добавлено дегидроаскорбиновой кислоты, тем больший процент ее восстанавливался в аскорбиновую кислоту (табл. 69). Это восстановление повышалось при большем измельчении мяса.

Таблица 69

**Восстановление дегидроаскорбиновой кислоты
при стерилизации мясо-овощных консервов**

Добавлено дегидроаскорбиновой кислоты к 100 г консервов (в мг)	Обработка	Содержание аскорбиновой кислоты (в мг %)	Восстановление (в %)
Нет	Не автоклавирована . .	4,00	—
»	Пропускали H_2S . . .	4,35	—
»	Автоклавировали 35 минут при $115,5^\circ$. . .	4,35	—
10	Автоклавировали 35 минут при $115,5^\circ$. . .	7,10	30
20	То же	9,15	25
40	» »	13,00	22
100	» »	21,50	17

Пропускание сероводорода и стерилизация давали одинаковый эффект образования аскорбиновой кислоты.

Синтез аскорбиновой кислоты

Аскорбиновая кислота вырабатывается нашей витаминной промышленностью в виде концентратов из растительного сырья и в виде чистой кристаллической—синтетическим путем. Не будем останавливаться на производстве концентратов витамина С, укажем лишь, что сырьем для него могут служить шиповник (Дронов, 1940), черная смородина (Ярусова, Яновская, 1932), грецкий орех

(Герголежиу, 1937) или хвоя деревьев (Шенплевская, 1933, 1934; Лавров, 1938, 1939).

Схема синтеза, которая в настоящее время применяется в промышленном получении аскорбиновой кислоты, в основном осталась такой же, какой была предложена Рейхштейном с сотрудниками (Reichstein u. and., 1933, 1934), и у нас в Союзе—Максимовым с сотрудниками (1933). С тех пор были усовершенствованы только отдельные стадии. На стр. 432—433 приведена схема синтеза аскорбиновой кислоты (Шнайдман, 1948).

Биосинтез аскорбиновой кислоты

Биосинтез аскорбиновой кислоты осуществляется многими видами микроорганизмов, растениями, животными, за исключением морской свинки, обезьяны и человека.

Особенно широко биосинтез аскорбиновой кислоты изучали в растениях—главных поставщиках витамина С для человека.

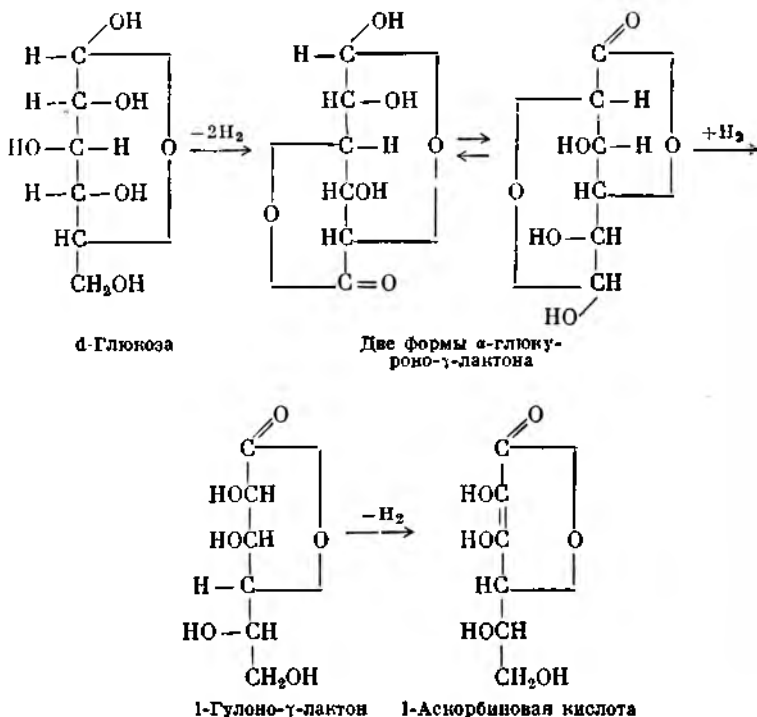
Рэй (Ray, 1934) и Рубин (1940), вводя сахар в ткань растений с помощью вакуум-инфильтрации, наблюдали превращение последнего в l-аскорбиновую кислоту. Позднее Девятин (1950, 1953) установил, что из производных сахаров, инфильтрированных в растения, только сахароза, глюкоза, левулеза, сорбоза, сорбит, инозит и 2-кето-l-гулоновая кислота повышают биосинтез аскорбиновой кислоты. Это указывает, что только те сахара превращаются в витамин С, которые имеют конфигурацию у 5-го и 6-го углеродных атомов, одинаковую с таковой у аскорбиновой кислоты. Стимулирующее действие 2-кето-l-гулоновой кислоты указывает, что биосинтез аскорбиновой кислоты из сахаров идет примерно по тому же пути, что и органический синтез ее.

Подобный же путь биосинтеза имеется и у животных. Введенная крысам глюкоза, меченная радиоактивным углеродом C^{14} в положении 6 или 1, передает свою метку соответственно углероду аскорбиновой кислоты в положении 1 или 6 (Hogowitz a. oth., 1952, 1953). Повышение биосинтеза аскорбиновой кислоты хлорэтаном (Jackel a. oth., 1950, 1954; Яновская и Крайко, 1952) и другими ядами, депрессирующими нервную систему (Яновская, Маллер, 1949); объясняется компенсаторной реакцией организма на повышение ее расходов. Действительно,

у животных, неспособных к биосинтезу витамина С (морских свинок), введение подобных веществ приводит к обеднению организма аскорбиновой кислотой. Подобной же компенсаторной реакцией организма объясняется и наблюдаемый повышенный биосинтез витамина С у крыс при тиаминовой недостаточности (Маллер, Яновская, 1951; Крайко, 1951; Яновская, 1953) или добавлением цистина (Яновская, 1954) к диете с белковой недостаточностью.

Введение d-глюкозы с радиоактивным C^{14} в 1-м положении крысам как нормальным, так и с введенным хлорэтаном вызывает выделение аскорбиновой кислоты с радиоактивным C^{14} в положении 6 (Burns, Mosbach, 1956). Это указывает на использование цельной углеродной цепи глюкозы для синтеза аскорбиновой кислоты.

Биосинтез аскорбиновой кислоты у растений и животных может быть изображен следующей схемой (Isherwood, Chen, Mapson, 1953):



Эта схема подтверждается легкой окисляемостью γ -лактона-1-гулоновой кислоты в 1-аскорбиновую, катализируемой ионами железа (Berends, Konings, 1955). Позднее, авторы (Islerwood a. oth., 1954, 1955), предложившие эту схему, показали, что биосинтез витамина С более вероятно протекает из галактозы путем: 1) окисления ее в галактуроновую, 2) восстановления галактуроновой кислоты в галактоновую и 3) окисления γ -лактона последней в 1-аскорбиновую кислоту. Этот процесс был установлен в растениях. Возможно, что процесс образования аскорбиновой кислоты идет по обеим схемам у различных организмов, а возможно, что у некоторых из них глюкоза предварительно изомеризуется в галактозу. Однако сорбоза в животном организме не может служить предшественником 1-аскорбиновой кислоты, так как подвергается разрыву углеродной цепи с ресинтезом из ее трехуглеродных осколков глюкозы, которая и служит предшественником 1-аскорбиновой кислоты (Burns a. oth., 1955). Оказалось, что стадия превращения 1-гулоно- γ -лактона в аскорбиновую кислоту нарушена у морской свинки. Введенный внутривенно 1-гулонолактон, меченный C^{14} в положении 1-м, не переходил у морской свинки на C^{14} аскорбиновой кислоты, а у крысы 9% метки лактона обнаруживали в 1-аскорбиновой кислоте (Burns, Peyser, Moltz, 1956). Из всех органов крысы только печень была способна к этому превращению.

В организме крысы с помощью биосинтеза образуется от 5 до 8 мг аскорбиновой кислоты в день, что вполне обеспечивает ее этим витамином (Kurtin, King, 1955).

Некоторые микроорганизмы (*Acetobacter suboxydans* и *Pseudomonas fluorescens*) настолько интенсивно синтезируют витамин С и его предшественник—2-кетоглулоновую кислоту из глюкозы, что их можно применять в производстве (Yamazaki, 1954).

Биосинтез витамина С—ферментативный процесс, который находится в зависимости от разнообразных факторов. Так, растительные ткани реагируют на механическое ранение повышенным биосинтезом аскорбиновой кислоты (Поволоцкая, 1937; Карманова, 1936; Львов и др., 1945), а раненые ткани животных жадно поглощают витамин С и быстрее регенерируются при орошении этих ран водным раствором аскорбиновой кислоты (Шамрай, Гудэ, 1951).

Было доказано, что углекислота, накапливающаяся при дыхании растительных тканей, сильно задерживает в них биосинтез витамина С (Прокошев, Данчева, 1943, 1944, 1946, 1947). Летучие сульфидные и сульфоксидные соединения чеснока и сероводород (Винокуров, Казначей, 1947), а также и окуривание сернистым газом (Шамрай, 1950), наоборот, стимулируют указанный биосинтез. Для биосинтеза витамина С необходим кислород, замена воздуха инертным газом полностью приостанавливает указанный процесс (Прокошев с сотр., 1947; Десятин, 1953). Это подтверждается исследованиями Рубина и Арциховской (1937) о том, что окислительные условия способствуют синтетическим процессам, а восстановительные—гидролитическим. Так, биосинтез витамина С в прорастающих семенах бобовых идет параллельно с интенсивностью эндогенного дыхания и окисления различных субстратов—сахаров и органических кислот цикла Кребса (Kulkarki, Sreenivasan, 1954). Хотя свет благоприятствует биосинтезу витамина С (Прокошев, Данчева, 1946; Рубин и др., 1939), последний не всегда связан с фотосинтезом. Так, витамин С очень интенсивно образуется в клубнях картофеля (Завсруха, 1951). Образование витамина С в томатах, картофеле и других продуктах зависит и от удобрений, вносимых в почву. Избыток азотных удобрений понижает биосинтез витамина С, а добавление фосфорных удобрений и увлажнение почвы, наоборот, повышают содержание витамина С в плодах и клубнях (Асляян, Вартаньян, 1952). Точно так же на биосинтез витамина С у живогных влияет состав рациона. Так, снижение содержания белка в диете крыс (Капланский, Машбиц, 1947) понижает содержание, а следовательно и биосинтез витамина С в органах, а устранение фолиевой кислоты из рациона цыплят (Кирсанова и др., 1953) приводит к повышению аскорбиновой кислоты в селезенке и надпочечниках при неизменном содержании ее в других органах, что указывает на повышение биосинтеза витамина С.

Введение овцам хлорэтона в водно-спиртовом растворе увеличивало биосинтез витамина С, констатируемый повышенным выделением его с мочой. После десятикратного введения хлорэтона этим же овцам вводили один растворитель, при котором выделение аскорбиновой кислоты с мочой также повышалось (Лев, 1958). Это указывало на то, что биосинтез витамина С у овец регулируется цен-

тральной нервной системой. В подтверждение этому у животных, возбужденных электрическим током, содержание витамина С в плазме крови повышается (Allisen, 1955).

Природные формы аскорбиновой кислоты

В природе найдены две формы свободной аскорбиновой кислоты: восстановленная и окисленная и связанные. Из изложенного ниже мы увидим, что, вероятно, существует несколько связанных форм аскорбиновой кислоты.

При описании процесса обратимого окисления аскорбиновой кислоты уже указывалось, что продуктом его является дегидроаскорбиновая кислота, часто встречающаяся в растительных и животных тканях вместе с восстановленной формой (аскорбиновой кислотой).

На существование в природе связанной аскорбиновой кислоты впервые указал Бессонов (Bezssonoff, 1921, 1923, 1925, 1926). Он обнаружил, что при действии молибденофосфорновольфрамовой кислоты на аскорбиновую фиолетовая окраска подкисленных и нагретых вытяжек растительных и животных тканей была гораздо ярче, чем тех же вытяжек, но не нагретых. После этого ряд исследователей (Mc Henry, Graham, 1935, 1938; Holtz, 1940, 1942; Guha a. oth., 1936, 1937, 1939; Banerjee, Guha, 1941, 1942; Lauersen, Orth, 1942; Günther, 1943) в различных странах подтвердили наличие связанной формы аскорбиновой кислоты в растениях и животных титрованием индофенолом (по Харрис—Тильмансу) (Birch, Harris, Ray, 1933) вытяжек из тканей после нагревания в кислой среде в анаэробных условиях. Тогда же было высказано предположение о существовании витамина С—протеида. В Советском Союзе связанную форму витамина С в растительных и животных тканях впервые экспериментально изучал Матусис (1943, 1945), который, в остатке после многократной экстракции картофеля метафосфорной кислотой, обнаружил аскорбиновую кислоту, освобождающуюся лишь после гидролиза. То же самое было найдено Матусисом и в тканях животных, а также было установлено, что при заболевании скорбутом содержание связанной аскорбиновой кислоты в тканях, в противоположность свободной форме ее, остается почти постоянным.

Существуют три связанные формы аскорбиновой кислоты. Первая—аскорбинген была сконцентрирована при-

мерно в 100 раз Сумцовым (1947—1950) и оказалась устойчивой к окислению, она диффундировала через коллоидную пленку и не осаждалась белковыми осадителями. Это было соединение аскорбиновой кислоты с полипептидом (Терентьева, 1952, 1953, 1955). Молекулярный вес аскорбигена 400. В опытах на морских свинках аскорбиген обладал антискорбутной активностью примерно $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ таковой аскорбиновой кислоты, отнесенной к эквиваленту последней, содержащейся в нем (Prochazka, 1954). Он не восстанавливал 2,6-дихлорофенолиндофенол, но после гидролиза (кипятиением с H_2S) обнаруживал восстанавливающие свойства к вышеуказанному реактиву в вследствие освобождения аскорбиновой кислоты повышение антискорбутной активности.

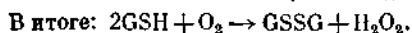
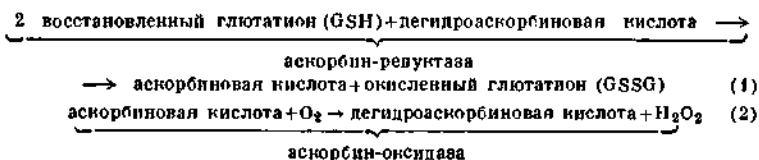
Второй связанной формой аскорбиновой кислоты было соединение ее посредством минерального железа с нуклеиновой кислотой (Гольдштейн с сотр., 1941, 1947, 1950) (Fe—АК). Эта форма аскорбиновой кислоты не идентична с аскорбигеном, так как последний не содержит железа, и, в противоположность аскорбигену, эта форма легко расщепляется на холоду 20%-ной метафосфорной кислотой.

Следует отметить еще и третью связанную форму аскорбиновой кислоты, которая находится в лимонном соке и, по данным Шамрай с сотрудниками (1953), вероятно, связана с каким-то другим компонентом и витамином Р. Подобная же связанная аскорбиновая кислота присутствует и в соке стручков сладкого красного перца. Возможно, что эта связанная форма аскорбиновой кислоты идентична с аскорбигеном.

Биокаталитические свойства аскорбиновой кислоты

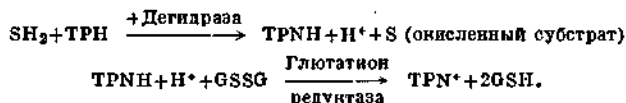
Окислительно-восстановительные свойства аскорбиновой кислоты. Энзиматическое окисление аскорбиновой кислоты было установлено в 1930 г. (Szent-Györgyi, 1928, 1930, 1931), а восстановление—лишь в 1936 г. (Horkins, Morgan, 1936). Экспериментальные же доказательства и изучение механизма этого энзиматического окислительно-восстановительного действия аскорбиновой кислоты было проведено Букиным (1943). Аскорбин-оксидаза и аскорбин-редуктаза обладают различными свойствами в распространением и поэтому являются двумя различными ферментами. Окислительно-восстановительное дей-

ствие аскорбиновой кислоты в растительных тканях связано с наличием глутатиона и идет по следующей схеме:



Подобно глутатиону, восстановление дегидроаскорбиновой кислоты могут вызывать также SH-группы белков, денатурированных мочевиной или нагреванием (Винокуров, 1947; Никонова, 1947).

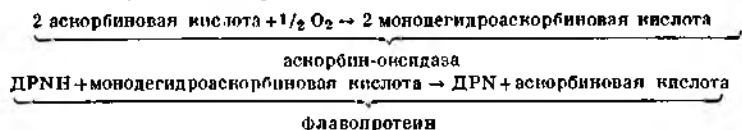
Аскорбиновая кислота, полученная в результате восстановления дегидроаскорбиновой кислоты глутатионом или SH-группами других веществ, обратно окисляется кислородом воздуха с помощью аскорбин-оксидазы. Эта схема позднее была подтверждена Мэйпсоном (Marson, Goddard, 1951). Было доказано, что в семядолях прорастающего гороха около 70% от общего поглощения кислорода связано с системой взаимодействия восстановленного глутатиона с окисленной аскорбиновой кислотой (Marson, Moustala, 1956). Это дыхание совершается путем окисления субстрата (SH₂) с помощью передачи водорода кодегидразе II (TPN⁺) а от последней (TPNH) — на окисленный глутатион (GSSG), образованный по вышеуказанной схеме. Поэтому путь окисления субстрата будет следующий:



В процессе дыхания прорастающих семядолей гороха участвуют четыре фермента: дегидраза, глутатион-редуктаза, аскорбин-оксидаза и аскорбин-редуктаза. В период развития растения, отличающийся высокой интенсивностью процессов обмена, соотношение обеих форм аскорбиновой кислоты смещается в сторону восстановленной формы, тогда как в период окончания созревания и зимнего покоя — в сторону окисленной формы (Курц, 1953). Тот же сдвиг в сторону восстановленной аскорбиновой кислоты и глутатиона наблюдался (Spragg, Yemm,

1954) в течение первых шести часов прорастания семян гороха, когда происходит активация SH-энзим и быстрый подъем поглощения кислорода.

Восстановленная кодегидраза I (DPNH) также окисляется аскорбиновой кислотой в присутствии очищенного препарата аскорбин-редуктазы, полученной из гороха, и очищенной аскорбин-оксидазы (Nason, Wosilait, Terrell, 1954). Та же система была получена заменой редуктазы из гороха дрожжевым экстрактом (Kern, Racker, 1954). Энзим, переносящий электрон от DPNH на продукт обратимого окисления аскорбиновой кислоты, оказался термолабильным флавопротеином (см. гл. 3). Восстановленная кодегидраза II (TPNH) в тех же условиях не окислялась или окислялась очень слабо. Дегидроаскорбиновая кислота, в качестве продукта обратимого окисления аскорбиновой кислоты, не могла заменить аскорбиновую кислоту. Очевидно, продуктом окисления аскорбиновой кислоты в этой системе была не дегидроаскорбиновая кислота, а промежуточный продукт этого окисления — монодегидроаскорбиновая кислота (Букин, 1943). В таком случае вся схема окисления DPNH может быть изображена следующим образом:



В животных тканях имеется также система, в которой аскорбиновая кислота стимулирует дегидрирование DPNH. Дегидроаскорбиновая кислота в этой системе оказалась также неактивной. Шмидт с сотрудниками (Kersten, Schmidt, Staudinger, 1954, 1955) показали, что аскорбиновая кислота стимулирует перенос водорода между DPNH и цитохромной системой или между флавинэнзимом и цитохромной системой в гомогенатах надпочечников. Несколько слабее стимулирует дегидроаскорбиновая кислота в цельных гомогенатах, однако последняя совершенно неактивна в системе митохондриальной фракции тех же гомогенатов. Очевидно, в более очищенной системе удаляется энзим, восстанавливающий дегидроаскорбиновую кислоту. Поэтому перенос водорода происходит так же, как и в схеме между аскорбиновой кислотой и монодегидроаскорбиновой или активной формой аскорбиновой кислоты.

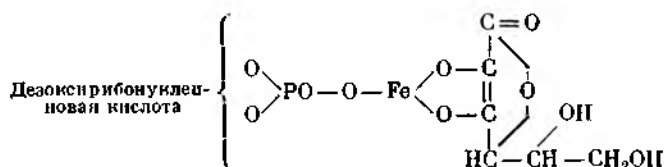
Суспензии митохондрий печени, почек, мозга и других органов крысы способны к фосфорилированию АДФ, сопряженному с окислением аскорбиновой в дегидроаскорбиновую кислоту (Lehninger, Nassan, Sudduth, 1954). При этом отношение Р : О для печени равно 1, а для почек и мозга оно ниже и равно 0,5—0,64. Это окислительное фосфорилирование протекает при участии системы цитохром С—цитохром С-оксидаза. Хотя ряд веществ (цистин, гидрохинон, адреналин) способны неэнзиматически восстанавливать цитохром С, так же как и аскорбиновая кислота, ни одно из них не может служить в качестве восстановителя цитохрома С в процессе сопряженного фосфорилирования. Это является специфическим свойством аскорбиновой кислоты.

Аскорбиновая кислота в животном организме участвует в лимоннокислом цикле, активируя фермент аконитазу.

Ферменту аконитазе требуются в качестве кофактора ионы железа и аскорбиновая кислота. Как в отсутствие ионов железа, вызванном у животных инъекцией $\alpha\alpha'$ -дипиридила, так и при недостатке аскорбиновой кислоты, нарушается окисление лимонной кислоты и вследствие этого отмечается выделение с мочой кетонových соединений (Takeda, Naga, 1955). Последнее повышается при введении таким животным лимонной и масляной кислот. Введение ионов железа вместе с аскорбиновой кислотой (но не раздельно) восстанавливает у морских свинок аконитазную активность и устраняет кетонурию. То же понижение активности аконитазы было показано в митохондриях печени морских свинок (Takeda, Naga, 1955). Функция аскорбиновой кислоты, вероятно, сводится к мобилизации ионов железа и связыванию их в форме, указанной Гольдштейном (стр. 439).

В животном организме аскорбиновая кислота может окисляться в свою окисленную форму также за счет восстановления некоторых органических соединений, присутствующих в желудочном соке. Подобные соединения в восстановленной форме тормозят желудочное переваривание и вследствие этого желудок опорожняется более медленно (Breidenbach, Ray, 1953). В желудке язвенных больных пищевые массы мешают соприкосновению слизистой оболочки с кислотой и поэтому у таких больных аскорбиновая кислота понижает количество и тяжесть припадков.

Участие аскорбиновой кислоты в превращении нуклеиновых кислот в организме. Окислительно-восстановительные свойства аскорбиновой кислоты обнаруживаются в процессе образования ядерной дезоксирибонуклеиновой кислоты из протоплазматической рибонуклеиновой кислоты (Гольдштейн, Кондратьева, Герасимова, 1950, 1952). При этом образование комплекса аскорбиновой кислоты с трехвалентным железом (АК-Fe) ускоряет этот процесс. Введение морским свинкам комплекса (АК-Fe) удерживает аскорбиновую кислоту и активнее стимулирует образование ядерной дезоксирибонуклеиновой кислоты, чем введение свободной аскорбиновой кислоты (Кручакова, 1953, 1954). Очевидно, АК-Fe соединяется с нуклеиновой кислотой посредством трехвалентного железа, схематически это изображено Гольдштейном (1952, 1953):



и представляет собой форму, способную легко восстанавливаться с отщеплением дезоксирибонуклеиновой кислоты. При этом трехвалентное железо превращается в двухвалентное. Вышеуказанная схема подтверждается также понижением включения неорганического фосфата (P^{32}) в дезоксирибонуклеиновую, а не в рибонуклеиновую кислоту в слизистой кишечника, печени и в селезенке у С-авитаминозных морских свинок. Введение аскорбиновой кислоты уже через 24 часа приводило это включение к норме (Гольдштейн, Герасимова и Кондратьева, 1954). Действительно, интенсивность процесса образования дезоксирибонуклеиновой кислоты из рибонуклеиновой находится в прямой пропорциональности с содержанием аскорбиновой кислоты и подавлено при авитаминозе С. Последнее подтверждается повышением отношения содержания рибоз к дезоксирибозам (Гольдштейн и др., 1952) и понижением митотической активности в эпителии тонкого кишечника морской свинки, больной скорбутом.

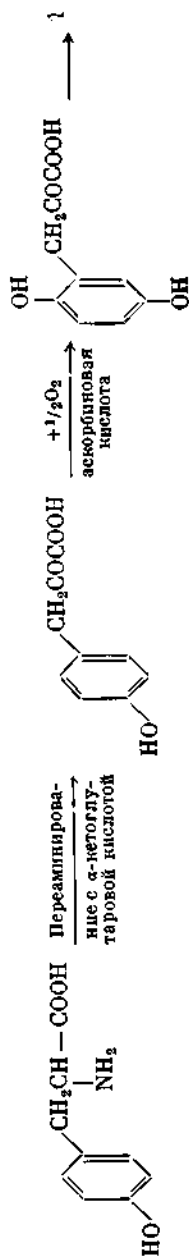
Участие аскорбиновой кислоты в окислении тирозина. Давно замечено, что у грудных детей при гиповитаминозе С, возникшем вследствие питания коровьим моло-

ком, моча содержала продукты неполного окисления тирозина (Levine a. oth., 1939, 1941, 1943). Также было отмечено, что ткани печени и почек скорбутных морских свинок не были способны окислять тирозин *in vitro* и эта способность восстанавливалась с добавлением аскорбиновой кислоты (Sealock, Goodland, 1951; Sealock, Lan, 1944, 1947; Sealock, Silberstein, 1933, 1940, 1946). В настоящее время весь процесс окислительного распада тирозина в печени представляется схемой, указанной на стр. 445 (Williams, Sreenivasan, 1953).

В этой схеме долго оставались неясными стадии, на которые действует аскорбиновая кислота. Азарх (1949) нашла, что действие аскорбиновой кислоты направлено на окислительный разрыв ароматического ядра тирозина, именно на окисление параоксифенилпировиноградной кислоты. Это было подтверждено в опытах Ладу (La Du, Greenberg, 1952, 1953) и Зильва (Painter, Zilva, 1950). Последние также доказали, что многие производные аскорбиновой кислоты (d-изоаскорбиновая, d-аскорбиновая, d-глюкоаскорбиновая) также стимулируют это окисление. Аскорбиновая кислота действительно служит кофактором окисления параоксифенилпировиноградной кислоты (продукта переаминирования тирозина с пируватом) в 2,5-3-диоксифенилпировиноградную, протекающего без разрыва кольца, и стимулирует также другую реакцию—зоксиление гомогентизиновой кислоты с разрывом бензольного кольца (Williams, Sreenivasan, 1953). Гомогентизиновая оксидаза, так же как аконитаза, требует в качестве кофактора ионы двухвалентного железа (Takeda, Naga, 1952, 1955). Аскорбиновая кислота мобилизует эти ионы и связывает их, вероятно, так же, как в случае уже рассмотренной нами аконитазы.

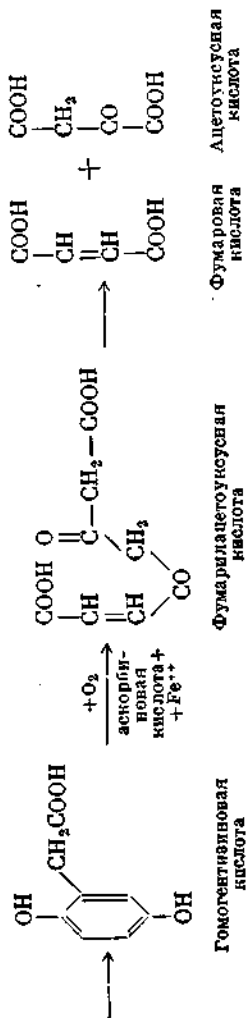
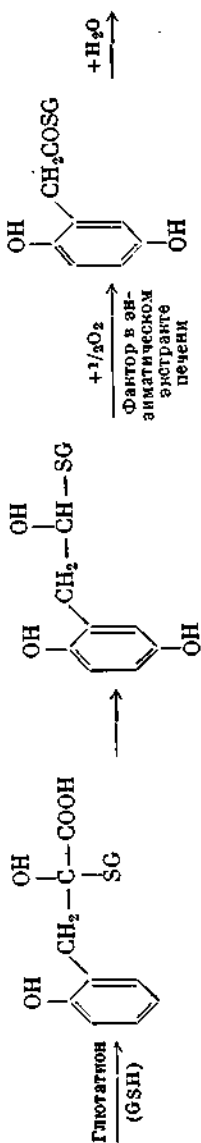
Энзиматическая система окисления l-тирозина найдена только в печени и почках различных животных, при этом в почках она менее активна (Crandall, Halikis, 1953, 1954). Механизм окисления l-тирозина в обеих тканях одинаков и требует, кроме аскорбиновой кислоты, и другие кофакторы: пиридоксальфосфат—для переаминирования тирозина в глутатион с кофактором экстракта печени—для превращения 2,5-диоксифенилпировиноградной кислоты в гомогентизиновую.

Аскорбиновая кислота и другие витамины. При добавлении больших количеств аскорбиновой кислоты в диету



1.1. Триван

р-Оксифенил- α -пировиноград-
ная кислота



крыс, лишенную некоторых витаминов группы В, ослабляется или предупреждается соответствующая недостаточность этих витаминов. Так, при 5%-ном содержании аскорбиновой кислоты в синтетической диете с недостатком всех витаминов группы В, кроме тиамина, крысы жили 275 дней, их вес был равен половине веса крыс на полноценной диете. Добавление пиридоксина, повышало длительность жизни более чем до 300 дней, средний вес крыс был равен 225 г, а крысы на полноценной диете весили в среднем 247 г (Mc Daniel, Dalt, 1954). Аскорбиновая кислота повышает выведение рибофлавина с мочой у животных. Оно тем выше, чем больше аскорбиновой кислоты содержится в пище. Это указывает, что аскорбиновая кислота понижает потребность в рибофлавине (Удалов, 1956). Очевидно, то же самое относится и к другим витаминам группы В. Аскорбиновая кислота служит кофактором энзиматической системы, превращающей фолиевую кислоту в ее активную форму (см. гл. 11, стр. 366). Добавленная к гомогенату печени цыпленка, инкубируемому в анаэробных условиях с фолиевой кислотой, она стимулирует превращение последней в лейковорин (Nichol, 1953; Broquist a. oth., 1953). То же было доказано и в опытах *in vivo*: после одновременного введения фолиевой и аскорбиновой кислот скорбутным пациентам отмечалось повышение выделения лейковорина с мочой (Welch a. oth., 1951) и более быстрое излечение от пищевой анемии (Jandl, Grabuzda, 1952, 1953; May a. oth., 1953). О связи аскорбиновой кислоты с витамином Р см. гл. 14.

Физиологическое значение аскорбиновой кислоты

Участие аскорбиновой кислоты в образовании соединительно-тканых и опорных белков. Аскорбиновая кислота участвует в образовании коллагена из проколлагена (Van Robertson, Schuwartz, 1952, 1953) и тем самым способствует более быстрому заживлению ран. Даже у животных, синтезирующих аскорбиновую кислоту, ее становится недостаточно при глубоких ранениях и поэтому избыток аскорбиновой кислоты в их диете ускоряет заживление ран (Giangrasso, 1933, 1939). В роговой оболочке и водянистой жидкости передней камеры нормального глаза содержится соответственно 51,35 мг/100 г и 22,16 мг/100 г аскорбиновой кислоты, в тех же частях глаза

после удаления хрусталика (афакическом) количество аскорбиновой кислоты понижается соответственно до 12,45 мг и 9,70 мг на 100 г; после заживления оно вновь повышается до 31,5 мг и 11,6 мг на 100 г (Boyd, 1955). Местное применение аскорбиновой кислоты способствует более быстрому заживлению роговой оболочки и повышает концентрацию аскорбиновой кислоты в ней и в водянистой жидкости. В таблице 70 представлены данные действия местного применения аскорбиновой кислоты на регенерацию коллагена.

Таблица 70

Действие аскорбиновой кислоты на регенерацию коллагена

Материал опыта	Животное или ткань	Действие аскорбиновой кислоты при местном применении	Ссылка на литературу
Культура тканей	Образование фибробластов и волокон	Повышает рост	Jeney, T6go, 1936
	Образование остеогенных клеток и коллагеновых волокон	Повышает рост	Querido, Gail-lard, 1939
Экспериментальные раны у скорбутных животных	Морская свинка	Ускоряет исцеление	Saitta, 1929
	» »	То же	Galloway a. oth., 1948
	» »	» »	Persson, 1953

Изучение содержания проколлагена в коже скорбутных морских свинок (Орехович и Орехович, 1951) показало, что оно в два раза ниже, чем в коже здоровых животных, и в 1,5 раза ниже, чем в коже голодавших. Это указывает, что аскорбиновая кислота также необходима и для образования предшественника коллагена—проколлагена.

Аскорбиновая кислота стимулирует образование и другого белка, идущего на построение соединительных и опорных тканей, хондромукоида. При цинге у морских свинок примерно в 3—4 раза понижена способность хряща включать введенный внутривенно сульфат в хондронитинсерную кислоту (Reddi, Norstrom, 1954), идущую на образование хондромукоида.

Эти нарушения приводят к потере эластичности и проницаемости кровеносных сосудов, вследствие чего появляется характерный для цинги синдром — геморрагический диатез. В результате возникают кровоизлияния в различных частях тела, в частности в деснах, а следовательно и расшатывание зубов.

Аскорбиновая кислота и гормоны. Высокое содержание аскорбиновой кислоты в надпочечниках указывало на возможную зависимость их функции от аскорбиновой кислоты. Оказалось, что при скорбуте у морских свинок нарушена адренокортикальная функция. О характере нарушения функции надпочечных желез при скорбуте в литературе имеются противоречивые данные. На гиперпродукцию адренокортикальных гормонов при скорбуте указывает повышенное выделение с мочой 17-кетостерина (Oertel, Hein, 1954, 1955), кортизола (гидрокортизона) и 6-оксикортизола (Burstein, Dorfman, Nadel, 1955) и повышенное включение $1C^{14}$ -ацетата в холестерин (Becker a. oth., 1953). Однако, в противоположность этим данным, Бейверджи с сотрудниками доказывают гипофункцию надпочечников при хроническом скорбуте, характеризующуюся пониженным выделением 17-кетостероидов с мочой (Banerjee, Deb, 1952; Bacchus, Heiller, 1953) и сниженной способностью ацетилировать парааминобензойную кислоту, одновременно со снижением синтеза холестерина в надпочечниках (Belavady, Banerjee, 1954). Возможно, что обе группы авторов правы, так как первые имели дело с острым (15—28 дней на авитаминозной диете), а вторые с хроническим скорбутом (12 недель на гиповитаминозной диете). Однако наиболее убедительная взаимосвязь между функцией надпочечников и аскорбиновой кислоты была установлена в работах Бокера с сотрудниками (Booker a. oth., 1951, 1952, 1953, 1955). Они нашли, что действие аскорбиновой кислоты на выживаемость адреналэктомированных животных, подвергнутых воздействию холода, гораздо менее эффективно, чем на выживаемость полноценных животных от действия такого же холода. Но эта эффективность аскорбиновой кислоты сильно повышается при одновременном введении кортизона. Кортизон удерживает аскорбиновую кислоту в надпочечниках животных, подвергнутых воздействию низких температур. Возможно, что это свойство аскорбиновой кислоты частично связано с ее окислительно-восстановительными свойствами, ибо

подобное же действие, хотя и более слабое, оказывает и глутатион (Booker, Fugeman a. oth., 1955). Однако более вероятно, что, кроме того, имеет место и ее специфическая функция. Последняя связана с «регулированием» баланса электролитов (калия и натрия) в организме (Booker, DaCosta a. oth., 1955) и с переносом водорода между DPNH и цитохромной системой в митохондриях надпочечников (Kersten и др., 1955).

Аскорбиновая кислота предохраняет адреналин от окисления в дегидроадреналин и, наоборот, восстанавливает дегидроадреналин в адреналин, окисляясь при этом в дегидроаскорбиновую кислоту (Утевский, 1950). При длительном наркозе содержание адреналина в надпочечниках падает, поэтому для устранения этого снижения организм больного перед наркозом необходимо насыщать аскорбиновой кислотой (Липовецкая, 1955). У с-гиповитаминозных морских свинок введение адреналина вызывает менее выраженное повышение сахара в крови, чем у животных, насыщенных аскорбиновой кислотой. Адреналин вытесняет аскорбиновую кислоту из ее связанного с белком состояния и, наоборот, при насыщении организма животного аскорбиновой кислотой она вытесняет адреналин из связанной формы, т. е. в белковых системах имеется конкурентное взаимодействие между адреналином и аскорбиновой кислотой (Эйдельман, Гордон, 1949; Эйдельман, 1955).

Аскорбиновая кислота также действует на гормон передней доли гипофиза—адренокортикотропин (АКТГ): она повышает реакцию надпочечной железы к этому гормону (Dugal a. oth., 1955). Сообщалось (Dugal, Therien, 1949, 1952; Khalil, 1954), что аскорбиновая кислота предупреждает атрофию надпочечников у гипофизэктомизированных животных, хотя в более поздней работе (Knobil, Fregly, 1955) это действие аскорбиновой кислоты оказалось весьма слабым. Однако установлено (Rinfret, Hane, 1955), что гипофизарный экстракт молодых крыс до 7-дневного возраста понижал содержание аскорбиновой кислоты в надпочечниках и тем самым в значительной степени лишался кортикотропной активности. Инкубация аскорбиновой кислоты с АКТГ вызывает инактивацию хроматофорной активности последнего (Holzbauer, Rigler, 1954). Это свойство является специфическим, и выражено очень слабо у дегидроаскорбиновой и l-гулоновой кислот.

Аскорбиновая кислота не снижала потери веса при тиреотоксикозе, однако одновременное введение инсулина с аскорбиновой кислотой повышало вес гипертироидных животных (Эйдельман, 1956). Тироидин вызывал увеличение в надпочечниках свободной аскорбиновой кислоты и понижение связанной формы. Поэтому при скорбуте гипертироидный организм скорее терял витамин С, хотя в печени отмечалась тенденция к небольшому повышению связанной с железом аскорбиновой кислоты.

Гликогенообразовательное действие аскорбиновой кислоты. Одной из основных функций аскорбиновой кислоты является способность ее к образованию и отложению гликогена в печени. У скорбютных морских свинок отмечалось резкое понижение гликогена в печени, которое устранялось с введением аскорбиновой кислоты (Nadel, Mulay, Saslaw, 1955). Подобное же повышение гликогена в печени наблюдалось у голодавших животных после введения им аскорбиновой кислоты. Гликогенообразовательная функция печени также нарушается при длительном снe, вызванном снотворными (мединалом и др.). Введение аскорбиновой кислоты одновременно с мединалом более чем в два раза повышает содержание гликогена в печени (Мартинсон, Тязапильд, 1955).

В организме скорбютных морских свинок нарушен углеводный обмен, это в первую очередь отражается в резком понижении в печени и скелетной мышце активности гексокиназы — фермента, фосфорилирующего глюкозу (Banerjee, Ghosh, 1955).

При недостатке инсулина введение аскорбиновой кислоты может быть противопоказано, поскольку введение ее кроликам с аллоксановым диабетом сильно повышает содержание сахара в крови одновременно с повышением выделения мочевой кислоты, креатина и общего азота в моче (Fukudo, Mashiko, 1955). Рысс (1955) не обнаружил положительного влияния аскорбиновой кислоты на клиническое течение диабета.

Желудочная секреция и аскорбиновая кислота. На снижение желудочной секреции при скорбуте впервые обратил внимание Боткин (1889). Позднее у больных скорбутом было найдено снижение кислотности и падение ферментативной функции желудка (Меньшиков, 1934, 1937, 1938; Шульцев, Бондарь, 1941). Оказалось, что падение кислотности и содержания аскорбиновой кислоты в желу-

дочном соке может служить ранним показателем скорбута. Так, у предскорбутных морских свинок отмечалось понижение кислотности в желудке на 20%, и содержание в нем аскорбиновой кислоты падало от 4,5—5 мг% до 1—1,5 мг% (Breidenbach, Ray, 1955). Введение аскорбиновой кислоты (50 мг) таким свинкам быстро повышает кислотность в желудке и постепенно—содержание в нем аскорбиновой кислоты. Следует отметить, что подобное же действие оказывало и введение 0,08 мг гистамина.

Преращения аскорбиновой кислоты в животном организме

Изучение превращения I-аскорбиновой кислоты в организме морской свинки показало, что она переходит в свою обратимую дегидро-форму, из которой обратно восстанавливается и частично окисляется дальше в дикетогулоновую кислоту. В среднем $\frac{1}{3}$ инъецированной аскорбиновой кислоты окисляется дальше в дикетогулоновую кислоту, которая затем быстро исчезает из организма (Damron a. oth., 1952).

Меченая $1C^{14}$ —I-аскорбиновая кислота, введенная внутривенно в дозе 30 мг человеку, в противоположность введенной морской свинке, в течение первых суток выделялась: 3% от всей дозы в виде окисленной до $C^{14}O_2$, 10% с мочой и 1% с калом. В течение последующих 50 дней выделялось с мочой всего 90% от всей дозы. Изучение выделенной с мочой аскорбиновой кислоты показало (Hellman, Burns, 1955, 1958), что 20% общей радиоактивности составляла неизменная аскорбиновая кислота, 20% — дикето-I-гулоновая, менее 2% — дегидроаскорбиновая кислота и 44% — щавелевая кислота. Аскорбиновая кислота выделяется у человека также с потом. У боксеров при тренировке выделяется за 1,5 часа около 0,9 л пота, содержащего 6,12 мг аскорбиновой кислоты (Витчикова, 1956).

Продолжительность удерживания организмом человека половины дозы введенной аскорбиновой кислоты (ежедневно по 1 мг/кг) составляет 16 дней (Hellman, Burns, 1958).

Морская свинка выделяет около 70% введенной аскорбиновой кислоты в выдыхаемом CO_2 и только 20% с мочой в течение 10 дней. Поэтому продолжительность удерживания половины дозы аскорбиновой кислоты составляет

4 дня при ежедневном введении 9,3 мг/кг (Hellman, Burns, 1958). Из этого вытекает, что потребность человека в витамине С примерно в 10 раз меньше (1 мг/кг веса тела), чем морской свинки (10 мг/кг).

Крыса синтезирует витамин С и выделяет его гораздо быстрее, чем человек и морская свинка. В течение первых суток она выделяет около 11% введенной дозы в виде выделяемой CO_2 и 20—30% с мочой (Dayton, Burns, 1958).

В противоположность l-аскорбиновой кислоте, d-аскорбиновая кислота выделяется гораздо интенсивнее с мочой как морской свинки, так и крысы (Dayton, Burns, 1958). Тогда как $\frac{1}{2}$ часть введенной l-аскорбиновой кислоты остается еще у морской свинки через 4 дня после введения, d-аскорбиновая кислота уже через сутки почти полностью исчезает из организма.

Кинг с сотрудниками (Chan, Becker, King, 1957, 1958) доказали, что окислительный распад аскорбиновой кислоты в животном организме начинается с процесса окисления ее в обратимую дегидро-форму. Последняя, декарболируясь и претерпевая ряд превращений, переходит в l-ксилозу, а l-ксилоза, согласно общей схеме, превращается в глюкозу. Поэтому следует считать, что в животном организме аскорбиновая кислота, распадаясь, дает CO_2 , щавелевую кислоту и глюкозу.

Таблица 71

Содержание аскорбиновой кислоты в тканях (в мг%)

	Надпочечники	Печень	Почки	Мозг	Селезенка
40 видов животных, синтезирующих витамин С	104—295	18—40	4—25	—	—
Морская свинка на диете, богатой витамином С	135	28	12	—	—
Морская свинка с минимальными признаками недостатка	45	6	4	—	—
Морская свинка с тяжелым скорбутом	4,5	0,8	0,6	—	—
Человек на диете, богатой витамином С*	119	24	9	19	43

* Lowry, 1952.

Пищевое значение аскорбиновой кислоты. Витамин С оказывает физиологическое действие главным образом в восстановленной форме, которая составляет $\frac{9}{10}$ всего витамина С. Кроме того, окисленная форма в организме легко переходит в восстановленную. Учитывая это, данные, которые следуют ниже, будут относиться к восстановленной форме аскорбиновой кислоты. Колебание в содержании аскорбиновой кислоты в тканях в зависимости от количества ее потребленной с пищей чрезвычайно велико. Так, при исключении аскорбиновой кислоты из диеты морской свинки содержание ее в тканях падает до 3—10% от содержания потолка насыщения (Girond и др., 1948; Kuether a. oth., 1948) (см. табл. 71).

Состояние насыщенности аскорбиновой кислотой у человека

Содержание аскорбиновой кислоты в тканях человека колеблется. По материалам вскрытия потолок насыщения аскорбиновой кислотой человека очень близок таковому морской свинки.

Однако индексом насыщенности организма аскорбиновой кислотой может служить не содержание ее в тканях, а содержание в цельной крови (Нодия, 1956; Rowlands a. oth., 1955), плазме (Allison, 1955; Fisher, Dodds, 1954) или сыворотке крови (Morgan a. oth., 1955; Potgieter a. oth., 1955), а также и в моче (Нодия, 1956; Potgieter a. oth., 1955). Содержание аскорбиновой кислоты в цельной крови здорового человека среднего возраста на полноценной диете колеблется от 0,2 до 1,32 мг% и в среднем равно 0,88 мг% (Rowlands a. oth., 1955). В плазме крови здорового человека, получавшего ежедневно 60 мг аскорбиновой кислоты, содержалось 0,66—0,87 мг% аскорбиновой кислоты (Fisher, Dodds, 1954). Женщины среднего возраста имеют несколько более высокое содержание аскорбиновой кислоты в сыворотке крови, равное 1,07 мг%, мужчины—0,83 мг% (Morgan a. oth., 1955). В возрасте от 60 до 64 лет это содержание наивысшее и в среднем составляет для женщин 1,21 мг% и для мужчин 0,94 мг%. При больших дозах витамина С содержание его в цельной крови не поднималось выше 1,8—2,8 мг% (Кадыков и др., 1955). Содержание аскорбиновой кислоты в цельной крови при снижении потребления ее падало, так, на диете, лишенной

фруктов, содержание падало до 0,5—1,0 мг%, а на диете, лишенной овощей и фруктов, — до 0,1—0,5 мг% (Rowlands a. oth., 1955).

В 24-часовой моче здоровых людей содержание аскорбиновой кислоты при ежедневном потреблении 60 мг составляет в среднем 8,8 мг, а при 75 мг—11,8 мг (Fisher, Dodds, 1954). Среднее содержание аскорбиновой кислоты в 8-часовой (ночной) моче, равное 5 мг, повышалось очень медленно после ежедневных доз ее в 25 мг и 50 мг

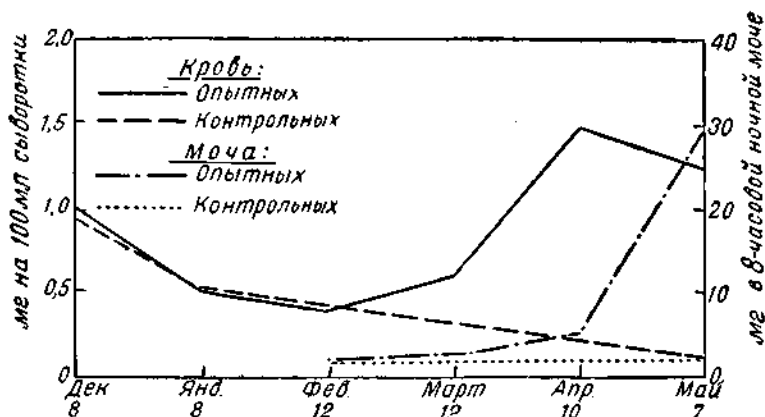


Рис. 24. Среднее содержание аскорбиновой кислоты в сыворотке крови и 8-часовой ночной моче у 10 контрольных и опытных субъектов, получавших ежедневно 45 мг аскорбиновой кислоты.

витамина С и только после ежедневных доз по 100 мг оно повысилось до 30 мг (см. рис. 24). Это указывает, что ежедневная доза витамина С, равная 100 мг, является дозой, достигающей порога насыщения.

Содержание витамина С в женском молозиве колебалось от 0,84 до 10,7 мг%, в среднем 4,77 мг%, а в молоке — от 0,47 до 6,96 мг%, в среднем 2,91 мг% (Богданова, 1955). Ежедневное введение кормящим женщинам по 100 мг витамина С повышало содержание его в молоке по прошествии 25—30 дней до 4—5 мг%, а ежедневные дозы по 300—500 мг витамина С вызывают повышение его в молоке уже по прошествии 5—10 дней до 13—15 мг% (Кадыков и др., 1955).

Состояние насыщенности аскорбиновой кислотой у сельскохозяйственных животных

Для большинства сельскохозяйственных животных биосинтез аскорбиновой кислоты все же не достаточен для удовлетворения потребности их в витамине С. К таким животным относятся лошади, свиньи и домашняя птица. При скормливания цыплятам и поросятам хвои, богатой витамином С, содержание его в органах повышается и рост животных улучшается (Вальдман, 1957). На возможность расстройств у сельскохозяйственных животных вследствие недостатка витамина С указывал Лискун.

Жвачные менее нуждаются в экзогенном витамине С, ибо у них более интенсивен биосинтез. Однако и у этих животных, когда состав рациона их беден витамином С, белком, минеральными солями, биосинтез понижен. При таком составе рациона у крупного рогатого скота Мартынюк (1952) наблюдал настоящий скорбут.

В зависимости от содержания витамина С и переваримого белка в рационе наблюдали содержание витамина С в крови и выделение его с мочой у овец. I группа овец ежедневно получала по 1,5 кг сена и 0,5 кг комбикорма на голову. В рационе содержалось 140 г переваримого белка; II группа — получала тот же рацион, но автоклавированный,

Таблица 72

Содержание витамина С в крови овец и выделение его с мочой
в зависимости от количества переваримого белка
(среднее по 6 животным)

Группы животных	Содержание витамина С в крови (в мг%)				Содержание витамина С в моче (в мг%)			
	до опыта	длительность опыта (в днях)			до опыта	длительность опыта (в днях)		
		40	80	120		40	80	120
I {	0,60 0,73	0,73 0,79	0,71 0,83	0,76	3,8	3,6	3,8	3,4
II {	0,65 0,76	0,67 0,83	0,63 0,78	0,67	4,2	10,7	6,4	2,8
III {	0,65 0,74	0,65 0,71	0,53 0,63	0,56	4,0	5,3	4,1	2,4

чтобы удалить витамин С, переваримого белка было столько же, сколько в рационе овец I группы. III группа овец получала ячменную солому, в которой содержалось 27 г переваримого белка. У овец исследовалось содержание витамина С в крови, выделение его с мочой и содержание в тканях. Опыт длился 120 дней, для исследования тканей овец забивали по прошествии 80 дней опыта. В таблице 72 представлены данные о содержании витамина С в крови и выделении его с мочой, а в таблице 73 показано содержание витамина в тканях органов.

Таблица 73

Содержание витамина С в тканях овец в зависимости от содержания переваримого белка в рационах

Органы	Содержание витамина С (в мг %)		
	I группа	II группа	III группа
Надпочечники	208,0	123,0	144,0
Легкие	42,0	24,0	30,0
Селезенка	40,0	29,0	35,0
Печень	31,6	23,0	24,4
Почки	15,0	12,6	26,6
Мозг	23,3	22,0	22,0
Гипофиз	23,6	12,3	14,3

Из данных таблиц вытекает, что содержание витамина С в крови и тканях овец и выделение его находятся в зависимости от кормления. Хотя в рационе II группы овец не было витамина С, но содержание его в крови и выделение с мочой было выше, чем в I группе. Это указывало на более высокий биосинтез витамина С, вызываемый повышенным содержанием в рационе переваримого белка. Поэтому при пастбище овец на хороших пастбищах содержание в крови витамина С повышается до 0,88 мг%, а в зимний стойловый период при неполноценном питании соломой оно снижается до 0,56 мг%.

Возраст овец также влияет на содержание витамина С в крови. В крови одномесечных ягнят содержалось 0,32 мг% витамина С, в крови трехмесячных—0,53 мг% и полуторалетних овец—0,76 мг%. У баранов содержание витамина С несколько выше и равно 1,07 мг%. Понижение окружающей температуры повышает у овец выделение витамина С

с мочой, что указывает на повышенный биосинтез (Лев, 1958).

Лошади более чувствительны к недостатку в кормах витамина С, чем жвачные. При этом у лошадей понижается содержание витамина С в крови и моче, снижается качество спермы, процент зажеребляемости кобыл падает и сохранность молодняка ухудшается, понижается резистентность к инфекциям, замедляется заживление ран и т. д. Гудин (1958) исследовал содержание витамина С в крови и выделение его с мочой у лошадей в различные времена года (табл. 74).

Таблица 74

Содержание витамина С в крови лошадей и выделение его с мочой в разные сезоны года

Время года	Содержание витамина С в крови (в мг%)		Выделение витамина С с мочой	
	колебание	среднее	нагрузочная доза (в г)	число лошадей (в %), выделивших больше 2 мг%
Лето	0,029—1,515	0,603	2—4	57
Осень	0,081—1,563	0,408		
Зима	0,006—0,499	0,154		
Весна	0,001—0,371	0,068	12—18	50

Летом и осенью, когда лошади получали свежескошенный овес, содержащий 45 мг витамина С в 100 г, и клевер с содержанием около 100 мг витамина С в 100 г, их организм был насыщен витамином С, что следует из высокого содержания его в крови и выделения с мочой. Зимой и весной, когда лошади получали сено и овес, в котором содержалось 9,9 мг% витамина С, организм их был слабо насыщен витамином С.

Ежедневная дача лошадям по 2 г аскорбиновой кислоты с питьевой водой в течение 3½ зимних месяцев, как указал Лобанов (1956), значительно повышает интенсивность обмена витамина С, содержание его в крови, улучшает морфологический состав крови, а перед случкой и в период случки способствует оплодотворяемости.

Свиньи еще более чувствительны к недостатку витамина С. Характерным показателем этого служит больший при-

вес поросят, получавших витамин С. Ежедневная дача, равная 20 мг, витамина С поросенку повышает на 75 г его суточный привес, или на 19%, а 40 мг—на 112 г, или на 32% (Мяник, 1957). В совхозе «Шлях индустрии» Харьковской области был поставлен (Горб, Рось, 1956) опыт на двух группах поросят, которым скармливали ячменную и овсяную дерть, отруби, картофель, свеклу и сено. Одна группа поросят не получала витамина С (контрольная), а другая получала ежедневно 75 мг (опытная). Опыты проводили в осенне-зимний период, когда корма богаче витамином С и в весенне-зимний период, когда корма теряли значительную часть витамина С. Результаты опыта показаны в таблице 75.

Таблица 75

Изменение живого веса поросят от витамина С в корме

Возраст поросят (в днях)	Осенне-зимний период			Зимне-весенний период		
	средний живой вес 1 поросенка (в кг)		вес опытной группы (в % к контрольной)	средний живой вес 1 поросенка (в кг)		вес опытной группы (в % к контрольной)
	контрольная	опытная		контрольная	опытная	
5	2,35	2,33	99,0	2,19	2,18	99,0
20	4,78	5,13	107,5	4,35	4,79	109,2
30	5,93	6,46	109,0	5,40	6,13	113,5
60	12,90	14,40	111,6	11,80	13,70	116,1

Как видно, больший привес поросят дала добавка витамина С в зимне-весенний период, когда корма бедны витамином С.

В таблице 76 представлено содержание витамина С в крови и надпочечниках поросят, насыщенных витамином С, в зависимости от возраста и содержание витамина С в молоке маток в различные периоды лактации (Горб, Рось, 1956).

Витамин С в коровьем молоке. Содержание витамина С в коровьем молоке сильно колеблется в зависимости от сезона и даже в течение суток. Среднее содержание витамина С в молоке в торговой сети 6—7 мг/л с колебаниями от 4 до 11 мг/л (Давидов, Гулько, 1953). Больше витамина С в зимнем и весеннем молоке (в апрельском молоке фермы ТСХА 15,3—27,1 мг/л) и меньше в молоке летних и осен-

Содержание витамина С (в мг%) в крови и надпочечниках поросят и в молоке свиноматок с изменением возраста и лактации

Возраст поросенка или период лактации	В крови	В надпочечниках	В молоке
Новорожденные	1,5—1,7	75—80	20,1—28,0
5 дней	2,1—2,25	105—110	13,7—20,1
30 »	2,35	225—240	9,6—13,4
60 »	2,30	235—240	10,5—15,1

них удоев (в августовском молоке фермы ТСХА 5,2—11,3 мг/л). Причем молоко вечернего доения летом содержит на 50% больше витамина С, чем молоко утренних удоев. Зимой эта разница меньшая и не превышает 20% (Давидов, Гулько, 1953). Различие между содержанием витамина С в молоке в торговой сети и у коров фермы ТСХА указывает на значительное разрушение, которое претерпевает витамин С в молоке с момента выдаивания до поступления к потребителю. Указанные колебания зависят не от режима питания коров и величины удоя, а в основном от биосинтеза витамина С в организме коров. Содержание витамина С в молоке повышается в первые 2—3 месяца лактации (на 10—40%), затем снижается до 8 месяцев (на 3)—40% к исходному) и в последние месяцы лактации вновь повышается.

Более высокое содержание жира в молоке сопровождается меньшим содержанием в нем витамина С. Как утверждает Буренина (1956) это зависит от большего потребления витамина С на образование жира. Это доказывается повышенным содержанием витамина С в артериальной крови и большей разницей между содержанием его в артериальной и венозной крови у коров, дающих более жирное молоко (Инихов, Буренина, 1956). Однако такой зависимости между содержанием жира и витамина С в молоке различных удоев Бабаеву (1957) не удалось установить.

Панич (1956) дает несколько отличные результаты содержания витамина С в молоке коров Югославии, чем в молоке коров Московской области (Давидов). По Паничу, в молоке коров содержится около 23 мг/л, а по Давидову, около 12 мг/л. Для коров Туркменистана, по

Самойлову и Балакаеву (1956), содержание витамина С в молоке около 16 мг/л.

Очевидно, такое различие между данными Панича. Давидова (1953), Самойлова и Балакаева (1956) можно отнести за счет различных климатических условий и пород коров.

Зависимость витамина С от внешних условий и патологических факторов. Содержание витамина С в органах и крови и выделение его с мочой зависят не только от потребления витамина С с пищей, но также и от различных внешних условий, заболеваний печени, желудка и др. В условиях пониженного парциального давления кислорода происходит перераспределение витамина С в органах. Содержание его в надпочечниках, почках и сердечной мышце понижается, а в печени и мозге повышается (Климов, 1956). При физической работе в условиях разреженного воздуха происходит повышенное окисление аскорбиновой кислоты в органах и выведение ее с мочой. Поэтому в высокогорных условиях организм требует больше витамина С.

Введение хлорэтана повышает выделение аскорбиновой кислоты с мочой у крыс до 48% (Jackel a. oth., 1954) и у овец до 50% (Лев, 1956), очевидно, за счет повышенного биосинтеза ее. Из других лекарственных веществ следует отметить действие белого стрептоцида, понижающего содержание аскорбиновой кислоты в крови кролика без наркоза и повышающего последнее при магнезиальном или хлорэтановом наркозе (Смирнова, 1956).

Поскольку аскорбиновая кислота тесно связана с эндокринной системой (см. стр. 448), а также и пейро-гуморальными факторами, то показателем ряда заболеваний печени, желудка и других органов может служить содержание витамина С в крови и выделение его с мочой. Так, у пациентов с желудочными заболеваниями (язва, расстройство и т. д.) содержание витамина С в крови падало до 0,42 мг% с максимальными колебаниями у большинства больных от 0,2 до 0,4 мг% (Rowlands a. oth., 1955). У хирургических больных оно составляло в среднем 0,41 мг% с теми же колебаниями у большинства больных.

У кроликов при нарушениях печени, вызванных четыреххлористым углеродом, выделение витамина С с мочой повышается и понижается содержание его в печени и надпочечниках, при этом эти изменения в обмене витамина С

тем больше, чем сильнее вызвано расстройство печени (Yamada, 1954). Введение витамина С таким кроликам вызывает повышение содержания его в надпочечниках и более быстрое излечение. При легочном туберкулезе выделение витамина С с мочой понижается. При острых инфекционных заболеваниях потребность в витамине С повышается и поэтому выделение его понижается.

Недостаточность витамина С и потребность в нем

За краткостью изложения мы не будем останавливаться на описании клинической картины цинги, тем более, что при описании участия витамина С в образовании коллагена и соединительнотканых белков мы вкратце уже указывали на основные клинические явления при цинге. Потребность в витамине С установлена лишь для человека, морской свинки и поросят.

Потребность в витамине С для морской свинки—16 мг ежедневно. Если суточную дозу—16 мг увеличить в семь раз и давать один раз в неделю, то она будет недостаточна. Чтобы удовлетворить потребность морской свинки, суточную дозу нужно увеличить в 28 раз (Мацко и др., 1956). Для сельскохозяйственных животных потребность в витамине С еще не выяснена, так как считали, что биосинтез вполне удовлетворяет их этим витамином. Однако теперь ясно, что большинство из них нуждается в добавке витамина С в рационы. Поросятам требуется ежедневно в дополнение к рациону около 75 мг витамина С на голову (Горб, Рось, 1956; Мянник, 1957).

Суточная потребность витамина С, установленная Министерством здравоохранения СССР, для взрослого человека составляет 50—100 мг, в зависимости от интенсивности и характера труда. Поскольку усвояемость аскорбиновой кислоты у мужчин в возрасте свыше 50 лет несколько больше, чем у женщин, соответственно 1,36 и 1,28 мг на 1 кг веса тела, то и потребность у мужчин в витамине С несколько выше (Morgan a. oth., 1955). Для детей потребность в витамине С несколько ниже 30—50 мг, а для женщин в период беременности и лактации—выше 75—100 мг. При приеме снотворных (люминала и др.) потребность в витамине С у человека возрастает. Это происходит, вероятно, вследствие частичного разрушения витамина С при действии снотворных (Розанов, 1955).

Глава 14

ВИТАМИН Р

В 1936 году было отмечено (Rusznayak, Sz.—György, 1936, 1937, 1938), что лечение кристаллической аскорбиновой кислотой больных цингой людей не устраняло хрупкости кровеносных капилляров и их проницаемости.

В то же время лимонный сок и другие естественные источники витамина С быстро восстанавливали устойчивость капилляров. Эти же данные были получены и на цинготных морских свинках (Bentsath a. oth., 1936).

Отсюда следовал вывод, что в лимонном соке и других продуктах, богатых витамином С, имеется активное вещество, отличное от аскорбиновой кислоты и устраняющее хрупкость кровеносных капилляров.

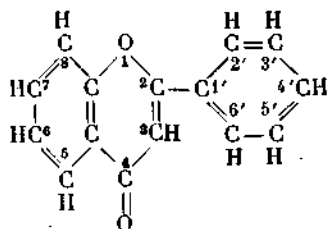
Новое вещество было названо цитрином или витамином Р.

Оно было найдено в тех же самых источниках, которые были богаты витамином С. Изучение природы этого вещества показало, что оно относится к группе растительных пигментов—флавонов.

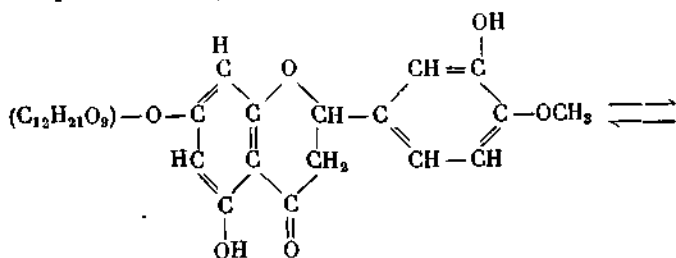
Химическая природа витамина Р

Флавоновые вещества широко распространены в природе, особенно среди высших растений. Они находятся в близком родстве с антоцианами и конденсированными дубильными веществами типа катехина. Все эти вещества являются производными фенилбензо- γ -пирона (флавона) и отличаются друг от друга степенью восстановления γ -пиринового ядра.

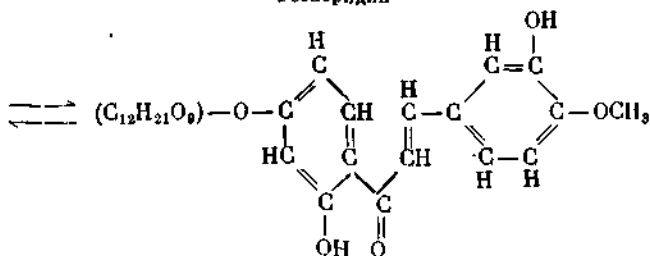
В основе всех флавоновых веществ лежит скелет, представленный следующей формулой:



В случае флавона двойная связь в положении 2,3 восстановлена. Флавоновые вещества находятся в природе, главным образом в форме глюкозидов. Витамин Р, названный цитрином, оказался смесью таких флавоновых глюкозидов: гесперидина и эриодиктина (Wawra, Webb, 1942). Гесперидин оказался 5,3'-двокси-4'-метокси-флаво-рамноглюкозидом, а эриодиктин — халконной формой гесперидина. В растворе цитрина оба они находятся в химическом равновесии (Higby, 1941, 1943).



Гесперидин



Эриодиктин или халкон-гесперидин

Это равновесие зависит от ионов водорода в растворе, и в кислой среде сильно сдвинуто вправо. Нагревание также сдвигает это равновесие вправо.

Было доказано (Леонтьев, 1945), что в кожуре лимонов халкон находится в форме, связанной с протеином, и в таком виде участвует в переносе водорода в ферментных системах (глутаминовой дегидразы и др.).

Кристаллы гесперидина светло-желтого цвета, гигроскопичны, плавятся при 255—256° (Scarborough, 1945), плохо растворимы в воде и спирте, но хорошо в горячей уксусной кислоте. Обладают поглощением в зоне 285 мμ с $E_{1\text{ см}}^{1\%} = 335$. Эриодиктин—оранжево-желтые кристаллы с температурой плавления 110—112°, гораздо лучше, чем гесперидин, растворимы в воде.

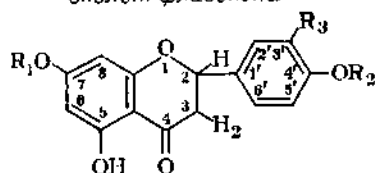
Из естественных источников были выделены многие флавоновые вещества с активностью витамина Р, из них отмытим рутин (кверцетин-3-рамноглюкозид) (Scarborough a. oth., 1949) в виде желтых игл с температурой плавления 189—190° и молекулярным весом 610,5 был выделен из спаржи, эвкалипта и листьев гречихи; кверцитрин (кверцетин-3-рамнозид) с температурой плавления > 256° и молекулярным весом 448,2; кверцетин (3,3',4',5,7-пентаокси-флавои) с температурой плавления 315° и изокверцитрин (кверцетин-3-глюкозид) с температурой плавления 227°—выделены из черной смородины (Williams a. oth., 1952); l-эпикатехин с температурой плавления 235—237°; l-эпикатехин-галлат с температурой плавления 235°; l-эпигалло-катехин с температурой плавления 218°; l-эпигаллокатехингаллат с температурой плавления 213°; dl-галлокатехин, dl-катехин с температурой плавления 216 и кверцитрин с температурой плавления 256°—выделены из листьев чая (Запрометов, 1952); d-катехин и l-галлокатехин—из винограда (Дурмашидзе, Букин, 1951); нарингин (5,4-диоксифлавои-7-рамноглюкозид) с температурой плавления 193—194° и роифолин (5,4-диоксифлавои-7-рамноглюкозид) с температурой плавления 250—260°—из кожуры зрелых японских апельсинов (Hattori a. oth., 1949, 1952).

Кроме вышеуказанных, из растительных источников были выделены и другие производные флавонов.

При мягком гидролизе рамноглюкозидных флавонов и флавоновых соединений муравьиной кислотой удается от них отщепить остаток рамнозы и получить соответственно из рутина—изокверцитрин (кверцетин-3-глюкозид), из гесперидина—гесперидин-7-глюкозид и из нарингина—прунин (нарингенин-7-глюкозид) (Fox a. oth., 1953).

Гесперетин (I), гесперидин (II) и парингин (III) являются производными эриодиктиола (IV) и относятся к группе флавононов, рутин (V), кверцитрин (VI) и изокверцитрин (VII) имеют общий скелет кверцетина (VIII) и относятся к группе флавонолов, а I-эпикатехин (IX), I-эпикатехингаллат (X), I-эпигаллокатехин (XI) и I-эпигаллокатехингаллат (XII) являются производными dl-катехина (XIII) и относятся к группе катехинов.

Скелет флавонона



I $R_1-H; R_2-CH_3; R_3-OH$

II $R_1-рамноглюкоза;$

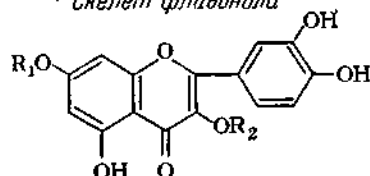
$R_2-CH_3; R_3-OH$

III $R_1-рамноглюкоза;$

$R_2-H; R_3-H$

IV $R_1-H; R_2-H; R_3-H$

Скелет флавонола



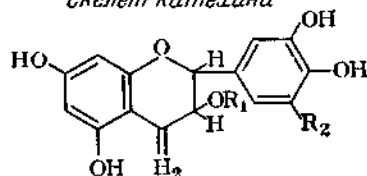
V $R_1-H; R_2-рамноглюкоза$

VI $R_1-H; R_2-рамноза$

VII $R_1-H; R_2-глюкоза$

VIII $R_1-H; R_2-H$

Скелет катехина



IX $R_1-H; R_2=H$

X $R_1-галловый кислот; R_2=H$

XI $R_1-H; R_2-OH$

XII $R_1-галловая кислота;$

$R_2=OH$

XIII $R_1=H; R_2=H$

Биологическая активность препаратов витамина Р и образование их

Биологическая активность витамина Р характеризуется повышением прочности кровеносных капилляров и определяется временем появления точечных кровоизлияний (петехий) на брюшке крысы при наложении вакуумных присосок (Scarborough a. oth., 1949, 1950; Parrot a. oth., 1944; Zilva, 1949).

Активность витамина Р может быть также определена по понижению гиперфункции щитовидной железы, вы-

званной включением в диету йодированного казеина (Gabe, Parrot, 1946, 1948). Гиперфункция щитовидной железы влечет за собой повышение обмена, а вместе с тем и задержку роста. Введение витамина Р, наоборот, восстанавливает рост и нормализует обмен.

Еще в 1943 году было отмечено (Lavollay et al., 1943), что d-эпикатехин и его хорошо растворимый в воде халкон обладают высокой Р-витаминной активностью, превышающей примерно в 500 раз таковую цитрина. Исследования Курсанова и других (1950) показали, что 1 мг l-эпикатехина, выделенного ими из зеленых листьев чая, резко повышает резистентность капилляров у мышей и усиливает накопление витамина С в органах морских свинок. Чистый гесперидин обладал 100 единицами в 1 г*.

В то же время Ярусова с сотрудниками (1957) в опытах на морских свинках не нашли какого-либо влияния препаратов витамина Р на уровень аскорбиновой кислоты в органах, рост и патоморфологическую картину цинги. Витамин Р также не обладал ростовым действием на молодых крыс. Однако в дозах 5—10 мг катехины и другие препараты витамина Р обладали явным капилляроустойчивым действием у крыс. Поэтому оба витамина С и Р обладают различными свойствами. Такое различное мнение по поводу влияния витамина Р на сохранение витамина С можно объяснить тем, что витамин Р экономизирует витамин С лишь в случае наличия последнего в организме морской свинки в достаточном количестве.

Рутин несколько более эффективен, чем гесперидин, а кверцитрин еще более активен, чем рутин (Ambrose, De Eds, 1940), 75 мг кверцитрина вызывают то же действие, что 100 мг рутина или 150 мг гесперидина. Это возможно потому, что молекулярный вес гесперидина немного больше, чем рутина, а последнего больше, чем кверцитрина, а также и вследствие большей растворимости кверцитрина и рутина в воде, чем гесперидина. При одновременном сравнении (Букин, Дорофеева, 1954) Р-витаминной активности рутина, катехина из листьев чая и дубильных веществ винограда нашли отношение 7:9:5.

По данным Березовской (1956), катехины и другие флавоны, обладая ярко выраженной капилляро-укрепляющей

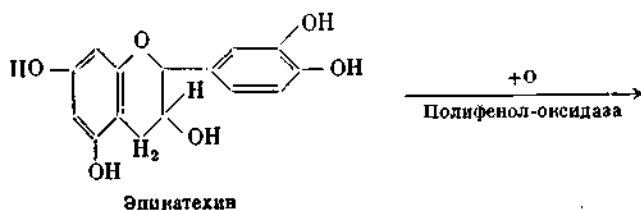
* Единица активности витамина Р эквивалентна активности 1 мг концентрата цитрусовых на морских свинках с недостатком витамина Р.

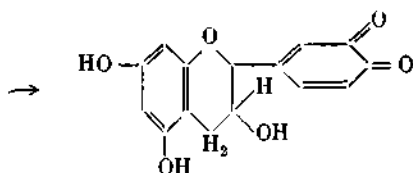
активностью, не оказывают влияния на рост животных. На щитовидную железу эти препараты действуют только при ее гиперфункции, вызванной йодированным казеином, нормализуя ее деятельность.

Биосинтез полифенолов, к которым относятся флавоноиды, катехины и другие соединения группы витамина Р, по данным Курсанова и др. (1949), осуществляется из углеводов через промежуточное образование мезо-инозита. Из последнего в чайном листе первоначально образуется наиболее простая форма катехина, именно 1-эпикатехин или dl-катехин, которые могут гидроксилироваться и галлироваться в соответствующие 1-эпигаллокатехин и галлаты 1-эпикатехина и 1-эпигаллокатехина (Запрометов, 1954). Подобно этому осуществляется в морской водоросли *Chlamidomonas Eugametos* биосинтез флавона—кверцетина (Birch a. oth., 1953) из флороглюцина и 3,4-диоксициннамовой кислоты. При этом предшественником флороглюцина также является мезо-инозит.

Физиологическое действие витамина Р

Более полвека назад Палладин (1907) впервые высказал предположение о биологической функции в растительных организмах полифенольных веществ, которые были им выделены из растений и названы «дыхательными хромогенами». Это положение позднее было экспериментально обосновано Опариным (1921, 1922, 1927). В 1935 году Опарин высказал мысль, что подобными переносчиками водорода в чайном листе служат дубильные вещества. Позднее Богучаева с сотрудниками (1951) показала, что аскорбиновая кислота обратимо окислялась очищенным препаратом полифенол-оксидазы чайного листа только в присутствии полифенолкатехинов или танинов чайного листа. Окисление аскорбиновой кислоты шло согласно следующей схеме:





Орто-хинон

Орто-хинон + аскорбиновая кислота → эпикатехин + дегидроаскорбиновая кислота.

В других случаях полифенолкateхины и другие подобные соединения с активностью витамина Р действуют в подобной же, но обратной реакции и тем самым предохраняют аскорбиновую кислоту от окисления. Поэтому введение животных соединений с активностью витамина Р всегда сопровождается повышением содержания аскорбиновой кислоты в их тканях (Курсанов с сотр., 1950; Шамрай, Гудэ, 1952; Eddy a. oth., 1952).

Шамрай с сотрудниками (1952, 1953) считают, что витамин Р предохраняет аскорбиновую кислоту от окисления, образуя с ней в нейтральных растворах рыхлый комплекс, устойчивый к окислению. Подобный комплекс, но с включением в него какого-то третьего вещества, образуется между витаминами С и Р в лимонном соке, также предохраняющем аскорбиновую кислоту от окисления. При нагревании обоих комплексов аскорбиновая кислота освобождается и становится чувствительной к окислению.

Тем же механизмом можно объяснить действие витамина Р на повышение и продление адренаиновой активности (Lavollay, 1942, 1944). У животных, очевидно, витамин Р предохраняет также и адреналин от окисления. Этим действием обладали все соединения с активностью витамина Р.

Через 1—8 недель после облучения рентгеновскими лучами прочность капилляров в брюшине крыс заметно снижается. Ежедневное парентеральное введение таким крысам по 7 мг рутина быстро устраняло эти повреждения (Griffith a. oth., 1947). То же действие рутина (по 50 мг перорально три раза в день) было отмечено и на собаках, облученных рентгеновскими лучами (Rekers, Field, 1948). Введение препарата витамина Р из лимона морским свинкам после продолжительного освещения рентгеновскими лучами наполовину снижало смертность и значительно

ослабляло геморрагические симптомы (Clark a. oth., 1948). У нас в Союзе в ряде клиник было испытано действие катехиновых препаратов на повреждения, вызванные рентгеновскими лучами, оно дало благоприятные результаты. Это указывает на большое значение, которое витамин Р сможет найти в медицинской практике.

Токсичность и потребность в витамине Р

Токсичность витамина Р. Помимо небольшого снижения кровяного давления (Scarborough a. oth., 1949), которое для большинства флавоновых соединений сомнительно, никакими токсическими свойствами вещества с активностью витамина Р не обладают (Березовская, 1956). Добавление нарингина или гесперидина в количестве 1% по весу к обычной диете крыс в течение 200 дней не оказывало никаких токсических явлений (Wilson, De Eds, 1940). То же следует отметить и о различных катехинах.

Потребность животных и человека в витамине Р еще точно не установлена. Известно, что ежедневное введение при Р-авитаминозе морским свинкам 4 мг или крысам 3—4 мг неочищенного препарата витамина Р из цитрусовых или однократная доза 20 мг гесперидина уже через 2 недели устраняет указанный авитаминоз (Bacharach a. oth., 1942).

Глава 15

ВИТАМИН D (кальциферол)

Детская болезнь рахит известна издавна. В статистике Лондона рахит встречается с 1634 года, а в 1645 году появилось первое описание этой болезни (Püschel, 1952). Рахит широко распространен среди детей в возрасте от нескольких месяцев до 3—5 лет в промышленных центрах капиталистических стран Америки и Европы. Для лечения рахита с давних времен особой популярностью пользовался рыбий жир.

В 1918—1921 годах антирахитическая активность приписывалась уже известному тогда витамину А. Вскоре при лечении рахита было установлено исцеляющее действие солнечных лучей и показано, что ряд продуктов (молоко, зелень, овощи), содержавших витамин А, этого действия не оказывали. Стинбок (Steenbock, Nelsen, 1923) и Функ (Sheets, Funk, 1922) обнаружили то же действие ультрафиолетовых лучей на больных крысах, которые, исцелившись от рахита, в конце концов погибли от ксерофтальмии (А-авитаминоза). Мясо, зерна злаков, отруби, различные масла и сало при облучении кварцевой лампой приобретали антирахитические свойства, не сопровождавшиеся усилением их антиксерофтальмических свойств (Steenbock, Nelsen, 1924). Таким образом, стало ясным, что витамин А и антирахитический фактор не идентичны. Последний был назван витамином D (McCollum a. oth., 1922, 1925).

Оказалось, что составной частью продуктов, которая активировалась светом, была неомыляемая фракция жира (Steenbock, Black, 1925). Дальнейшие исследования показали, что только небольшая часть этой неомыляемой фракции, относящаяся к холестерину, приобретает при освещении антирахитические свойства. Сам холестерин после

тщательной очистки бромированием лишается способности активироваться при облучении. Очевидно, примесь к естественному холестерину и была тем веществом, которое активировалось при облучении. Оно было более чувствительным к окислению и поэтому должно было содержать большее количество двойных связей, чем холестерин. Основываясь на этом, Виндаус и Гесс (Windaus, Hess, 1927, 1932) испытали активирующее действие света на эргостерин—стерин с тремя двойными связями, отличающийся от холестерина двумя двойными связями. Эргостерин в 1889 году был получен из спорыньи (Tarret, 1889, 1908), позднее из дрожжей (Труфанов, 1932) и еще позднее из плесени *Neurospora crassa* (Ottke, 1949) и *Stachybotrys atra* Corda (Thomas, 1955). Облучение эргостерина дало необычайно активный препарат, в 6000 раз превышавший активность прежних препаратов облученного холестерина. Это дало основание считать эргостерин провитамином D.

Первоначально среди продуктов облучения эргостерина было выделено два вещества, обладавших различными физико-химическими свойствами и разной антирахитической активностью. Одно из них было названо витамином D₁, а другое—витамином D₂. В дальнейшем оказалось, что витамин D₁ был смесью активного вещества с неактивными продуктами облучения (Windaus, Linsert и and., 1932) и после удаления последних стал идентичным витамину D₂. Эргостерин является грибным стеринном и широко распространен среди грибов и лишайников. Он также был найден в качестве основного стерина в морских водорослях *Chlorella pyranoidosa* (Klosty, Bergmann, 1952) и в небольших количествах вместе с 7-дегидрохолостерином в черноморских мидиях *Mytilus gallaprovincialis* (Вендт, Кузнецова, 1950).

У остальных животных, особенно в тканях позвоночных, эргостерин либо совсем не встречается, либо встречается в таких незначительных количествах, которые не могут обусловить антирахитическую активность при освещении животного.

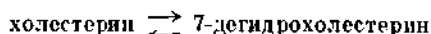
Из всех животных стериннов эргостерин был найден только среди стериннов желтка куриных яиц (Windaus, Stange, 1936).

Как уже было установлено (Windaus, Schenk, Werder, 1936), такой примесью к холестерину, активируемой при освещении, является 7-дегидрохолостерин. При облу-

чении последнего образовывалось очень активное антирахитическое вещество, которое в отличие от витамина D_2 , полученного при облучении эргостерина, было названо витамином D_3 .

7-Дегидрохолестерин в большом количестве содержится в коже животных (Windaus, Boch, 1937) и обуславливает целебное действие солнечных и ультрафиолетовых лучей на рахит у животных. По данным Фестенштейна (Festen-stein, Morton, 1955), кожа свиньи содержит 0,002% 7-дегидрохолестерина. Оказалось, что введенный животным с пищей холестерин дегидрируется в стенке их тонкой кишки с помощью дегидразного энзима (Glover a. oth., 1952) и дальше в виде 7-дегидрохолестерина быстро проникает во все ткани животного, в частности в кожу и в половые органы крыс (Ward, Morton, 1952, 1953). Это подтверждает высокое содержание 7-дегидрохолестерина в слизистой тонкого кишечника и исчезновение его из кишечника в течение 24 часов после приема холестерина.

Холестерин синтезируется в животном организме, поэтому содержание провитамина D_3 в коже и в половых органах крыс не зависит от поступления холестерина с пищей (Ward, Morton, 1953). Синтезированный холестерин может также свободно переходить в организме животного в 7-дегидрохолестерин и, наоборот, при избыточном пероральном введении 7-дегидрохолестерина дегидразный энзим может катализировать обратную реакцию:

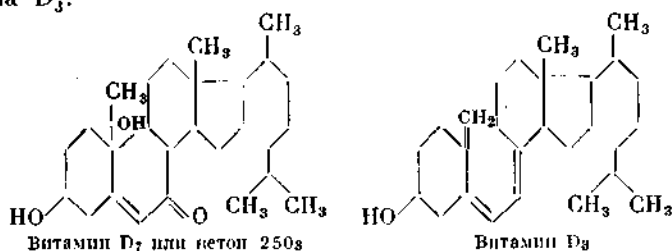


Отношение холестерина к 7-дегидрохолестерину в кишечнике морской свиньи довольно постоянно и равно 9 : 1 (Glover, Green, 1954).

Производные витамина D и их биологическая активность

Кроме витаминов D_1, D_2, D_3 , облучением восстановленного эргостерина—22-дигидроэргостерина был получен витамин D_4 (Windaus, Trautmann, 1937). Из семян репы, соевых бобов и зародышей пшеницы был выделен (Fernholz, McPhillamy, 1941) оптический изомер 22-дигидроэргостерина, который оказался 7-дегидропроизводным кампестерина, при облучении он также давал антирахитически

активное соединение (Ruigh, 1942). Освещением ультрафиолетовыми лучами продуктов окисления некоторых естественных стероидов, например ситостерина, встречающегося в семенах и зародышах злаков в форме 7-дегидроситостерина, и стигмастерина, содержащегося в морских губках в виде 7-дегидростигмастерина, получают соответственно витамины D_3 и D_6 (Windaus, 1938). Из жира печени рыб: трески, тунца и акулы (Raoul и др., 1952, 1956), а затем и из растений (Raoul и др., 1953, 1956) было выделено новое антирахитически активное вещество — витамин D_7 . Это же вещество было получено освещением 2-4, 2'-4'-бихолестадиена (Raoul et. al., 1951, 1952) и выделено из продуктов реакции холестерина с серной кислотой или ацетилхлоридом (подобно реакции Сальковского). Оно также было получено действием кислотной глины на холестерин (Raoul et. al., 1955; Raoul, 1958). Химически витамин D_7 отличался от витамина D_3 тем, что у углеродного атома в положении 7 он имел кетонную группу, а в положении 10 — гидроксильную и метильную. Вследствие сильного поглощения в области 250 м μ этому соединению было присвоено также название «кетон 250 μ ». Приводим структуру витамина D_7 и для сравнения строение витамина D_3 .

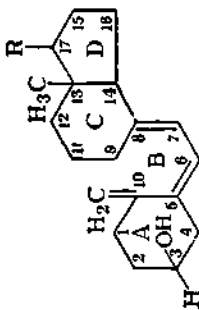


Оказывается в жире печени тунца и некоторых других рыб витамина D_7 даже больше, чем витамина D_3 (Raoul et. al., 1956).

В наземных частях многих растений витамин D_7 находится в двух формах: с боковой цепью холестерина (форма А) и с боковой цепью эргостерина (форма В). Это указывает, что форма А или кетон 250 μ является производным витамина D_3 , а форма В или кетон 250 μ — производным витамина D_2 .

Все витамины D имеют общую пергидрофенантреновую группировку с разорванным кольцом В и отличаются

Строение витаминов D

Периферофанагнрекозая группировка	Строение R	Название витамина	Из каког стерина получе
	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH=CH—CH—CH—CH—CH}_3 \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \text{ CH}_3 \end{array}$	Витамин D ₂	Эргостерина
	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH—CH—CH—CH}_3 \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$	Витамин D ₃	7-Дегидрохоле- стерина
	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH—CH—CH—CH}_3 \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \text{ CH}_3 \end{array}$	Витамин D ₄	22-Дегидроэрго- стерина
	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH—CH—CH—CH}_3 \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \text{ CH}_3 \end{array}$	Витамин D ₄	7-Дегидрокампе- стерина
	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH—CH—CH—CH}_3 \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \text{ CH}_3 \end{array}$	Витамин D ₅	7-Дегидросито- стерина
	$\begin{array}{c} \text{—CH—CH=CH—CH—CH—CH—CH}_3 \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{C}_2\text{H}_5 \text{ CH}_3 \end{array}$	Витамин D ₆	7-Дегидростиг- мастерина

только боковой цепью, соответствующей тому стерину, из которого данный витамин D получен. В таблице 77 мы приводим схему этой группировки с боковой цепью, обозначенной R, где R соответствует боковой цепи любого из витаминов D.

В таблице 78 приводим антирахитические активности каждого из витаминов D на крысах и цыплятах.

Таблица 78

Антирахитическая активность витаминов D (выражена в интернациональных единицах) на 1 г витамина.
1 и. е. = 0,025 мкг витамина D в 1 мг оливкового масла

Название витамина	Биологическая активность при испытании	
	на крысах	на цыплятах
Витамин D ₂	40 000 000 (Villela, 1949)	40 000 000 (Villela, 1949)
Витамин D ₃	40 000 000 (Villela, 1949) 0,025 мкг на крысу (Raoul et. a., 1956) 0,05 мкг на крысу (Raoul et. a., 1958)	1 000 000 000 (Villela, 1949) или 0,05 мкг на цыпленка (Raoul et. a., 1956) 0,1 мкг на цыпленка (Prelot et. a., 1958)
Витамин D ₄ из 22-дегидро-эргостерина	24 000 000 (Villela, 1949)	80 000 000 (Villela, 1949)
Витамин D ₄ из 7-дегидро-кампестерина	4 000 000 (Villela, 1949)	80 000 000 (Villela, 1949)
Витамин D ₅	1 300 000 (Труфанов и Голяркин, 1952)	1 300 000 (Труфанов и Голяркин, 1952)
Витамин D ₆	700 000 (Труфанов и Голяркин, 1952)	700 000 (Труфанов и Голяркин, 1952)
Витамин D ₇ или кетон 250 ₈	4 000 000 или 0,25 мкг на крысу (Raoul, et. a., 1958) 0,5 мкг на крысу (Prelot et. a., 1958)	10 000 000 (Raoul, 1955) 0,5 мкг на цыпленка (Raoul et. a., 1956) 1,0 мкг на цыпленка (Prelot et. a., 1958)
эпол кетона 250 ₈	0,05 мкг на крысу (Prelot et. a., 1958)	0,1 мкг на цыпленка (Prelot et. a., 1958)

Из данных таблицы 78 видно, что антирахитическая активность витамина D₃ гораздо выше на цыплятах, чем на крысах и других млекопитающих. Оказалось, что витамин D, содержащийся в рыбьем жире, не является инди-

видуальным витамином, а представляет собой смесь различных антирахитически активных витаминов D. Суммарная антирахитическая активность рыбьего жира колеблется от 50 до 500 и. е. на 1 г и зависит от роста, сезона и икрометания (Scott, Harris, 1945). При добавлении витамина D₃ к рыбьему жиру антирахитическая активность последнего на крысах повышается и становится выше суммарной. Очевидно, полная активность витамина D₃ на крысах не проявляется, если его не дополнить одним или несколькими витаминами D, находящимися в рыбьем жире.

Следует указать, что провитаминными свойствами обладают лишь те стерины, у которых имеются две конъюгированные двойные связи в кольце В, именно C_{5,6} и C_{7,8} (см. стр. 449).

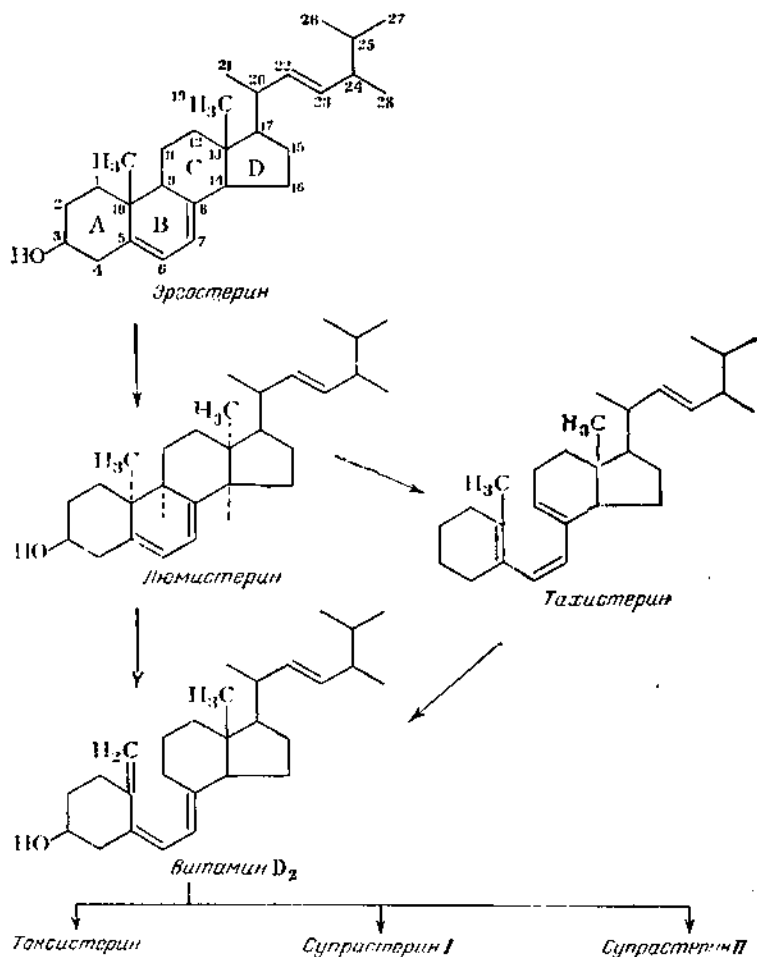
Структура боковой цепи также оказывает влияние на антирахитическую активность. Слабая активность витаминов D₅ и D₆ указывает, что удлинение боковой цепи сверх 9 углеродных атомов сильно понижает антирахитическую активность.

Исследование антирахитической активности кетона 250₃ на цыплятах и крысах показало, что он примерно в 10 раз менее активен, чем витамин D₃. В то же время энولات кетона D₃, стабилизированный кальцием (см. стр. 481), обладал одинаковой активностью с витамином D₃, как в опытах на цыплятах, так и на крысах (Raoul, 1958; Prelot et. a., 1958). Наоборот, токсичность кетона 250₃ была значительно ниже, чем его энолы, который обладал такой же токсичностью, как и витамин D₃. Однако исследования действия кетона 250₃ на удерживание кальция и фосфора крысой показали, что кетон 250₃ больше понижал выделение кальция и фосфора с калом, чем витамин D₃ и его энолы.

Фотохимическая активация стерина

Химизм фотохимического превращения любого стерина, способного перейти при освещении в антирахитически активное вещество, совершенно одинаков с химизмом аналогичных промежуточных и конечных продуктов. Поэтому мы рассмотрим только фотохимическое превращение эргостерина, по схеме которого изменяются при освещении и другие стерины.

Общая схема превращения эргостерина при облучении его ультрафиолетовыми лучами проходит через следующие стадии (Windaus et. al., 1932, 1933; Труфанов, 1933).



Все эти продукты реакции были выделены в чистом состоянии и исследованы. Физико-химические константы и биологические свойства их представлены в таблице 79.

Реакция фотоактивации провитаминов необратима.

Превращение эргостерина в витамин D₂ (а также и других стерина в соответствующие витамины D) происходит

Свойства эргостерина и его фотопроизводных

Название фотопроизвод- ного	Характер кристаллов	Темпера- тура плавления (в градусах)	Число двойных связей и число колец	Удельное вращение	Алкорб- дионные магнет- ные (в мм)	Осажда- емость дигито- нином	Биологическое действие (в мкг)	
							антирах- итическое на крысах	токсиче- ское на мышах
Эргостерин	Бесцветные листочки	163	3 и 4	-132° в хлоро- форме	260, 270 и 282 и 293	Да	Не активен	—
Люмистерин	—	118	3 и 4	+192° в ацетоне	265, 280	Да	То же	—
Тахистерин	—	118	4 и 3	-70° в бен- золе	268, 280 и 294	Да	» »	100—200
Витамин D ₂	Бесцветные призмы	116	4 и 3	+106° в спир- те	265	Нет	0,025	50—70
Токсистерин	—	—	—	+70°	248	Нет	Не активен	250
Супрастерин I	—	104	3 и 4	+76° в хлоро- форме	250	Нет	То же	—
Супрастерин II	—	110	3 и 4	+63° в хлоро- форме	250	Нет	» »	—

под влиянием ультрафиолетовой области спектра с длиной волны 255—313 м μ . Более коротковолновая область спектра ($\lambda < 254\text{ м}\mu$) быстрее ведет к переоблучению витамина D_2 в токсин и супрастерины, в результате чего образуется значительное количество тахистерина и не более 15% витамина D_2 . Освещение длинноволновой частью ультрафиолетового спектра ($\lambda > 290\text{ м}\mu$) также понижает выход витамина D_2 . Еще более длинноволновая часть спектра ($\lambda > 313\text{ м}\mu$) совершенно не дает витамина D_2 . Разработанный Вентом и Дроковой (1950) метод определения витамина D_2 окрашиванием с $SbCl_5$ после удаления фотодериватов осаждением дигитонином дает возможность контролировать процесс облучения.

Превращение эргостерина в люмистерин сводится к стерическому перемещению метильной группы у С-атома в положении 19, лежащей в плоскости кольца в перпендикулярном положении к указанной плоскости, обозначенной на нашей схеме пунктиром, и к такому же перемещению водородных атомов у С-атомов в положениях 9 и 14 (Hodgkin, Sayre, 1952). В результате этого превращения возникает структура люмистерина, причем более неустойчивая, чем таковая эргостерина, и в результате дальнейшего освещения ультрафиолетовыми лучами люмистерин легко превращается с разрывом кольца В в тахистерин. Возникшая в результате этого триеновая система тахистерина перемещается в витамин D_2 (Вендж, 1958).

Превращение люмистерина в витамин D_2 может произойти непосредственно при облучении длинноволновой областью ультрафиолетового спектра ($\lambda > 284\text{ м}\mu$). При освещении же ультрафиолетовыми лучами более коротковолновой области ($\lambda < 284\text{ м}\mu$) образуется небольшое количество люмистерина и большое количество тахистерина. В этом случае люмистерин превращается в витамин D_2 через промежуточный продукт—тахистерин.

Поэтому Вендт (1958) рекомендует облучать эргостерин сначала эритемной лампой с максимумом лучей в области 310—312 м μ для лучшего перехода в люмистерин, затем одновременно включать бактерицидную лампу с максимумом лучей в области 254 м μ для более быстрого перехода люмистерина в тахистерин. Образованный тахистерин подвергается воздействию лучей эритемной лампы и превращается в витамин D_2 . Этот способ повысил выход витамина D_2 на 20%.

Физико-химические свойства витаминов D

Физико-химические константы витамина D_2 нами отмечены в таблице 79. Следует указать, что физико-химические свойства других витаминов D очень близки им. Так, все витамины D (кроме D_7) имеют одинаковый максимум поглощения в одной и той же области $265 \text{ м}\mu$, близкие углы вращения $[\alpha]_D^{20} = +82,6^\circ$ — для D_2 , $+110^\circ$ в этаноле (Pickholtz, 1957) — для D_3 и $+89,3^\circ$ — для D_4 и близкие точки плавления: D_2 плавится при 116° , D_3 — при $87-89^\circ$ (по Pickholtz, 1957), D_4 — при 108° . Форма кристаллов витамина D_3 — бесцветные иглы, а витамина D_4 — бесцветные листочки.

Витамин D_2 в кристаллическом состоянии стабилен в отсутствие света и кислорода при температуре $+2^\circ$. В растворе оливкового масла при комнатной температуре витамин D_2 разрушается на 50% по прошествии 5 лет хранения. Витамин D_2 быстрее разрушается при хранении в виде эмульсии в водной среде (90% потери через 6 месяцев). Длительное нагревание при $77-115^\circ$ не разрушает витамин D_2 . Присутствие небольших количеств токсистерина снижает устойчивость витамина D_2 . Витамин D_2 устойчив к щелочам и не разрушается при омылении жиров. Минеральные кислоты, перекись водорода, сернистый ангидрид, формальдегид разрушают витамин D_2 .

Витамин D_7 отличается от витамина D_3 большим сродством к металлам и удельным вращением (для витамина D_7 $[\alpha]_D^{20} = -45^\circ$ в хлороформе, для D_3 в том же растворителе $[\alpha]_D^{20} = +114^\circ$), температурой плавления [для витамина D_7 она равна $73-75^\circ$ по Раулю (Raoul, 1958), а для витамина $D_3 = 87-89^\circ$ по Пикхольцу (Pickholtz, 1957)] и максимумом поглощения в ультрафиолетовой части спектра. Для витамина D_7 (в спирте) в области $250 \text{ м}\mu$ $E_{1\text{ см}}^{1\%} = 22\,000$ и в области $265 \text{ м}\mu$ $E_{1\text{ см}}^{1\%} = 2400$, тогда как для D_3 (в спирте) в области $265 \text{ м}\mu$ $E_{1\text{ см}}^{1\%} = 19\,000$, а в области $250 \text{ м}\mu$ максимума не имеет (Raoul et. auters, 1956). На рисунке 25 представлены кривые спектра поглощения витаминов D_3 , D_7 (кетона 250_3) и холестерина в инфракрасной области (Raoul et. a., 1954). Видно, что кривая поглощения витамина D_7 (кетона 250_3) занимает примерно среднее положение между кривыми поглощения витамина D_3 и холестерина.

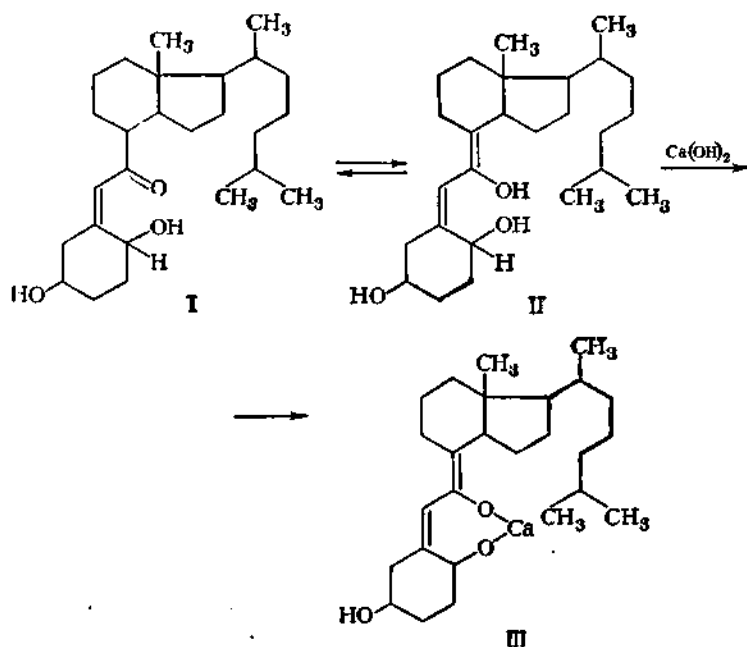
Кетон $250_3(1)$ легко претерпевает в щелочной среде ке-

тоэнольную тавтомерию. Кальций в форме извести сильно стабилизирует энольную форму (III) (Raoul, Boulon, Ва-



Рис. 25. Кривые спектров поглощения витаминов D₂, D₃ и холестерина.

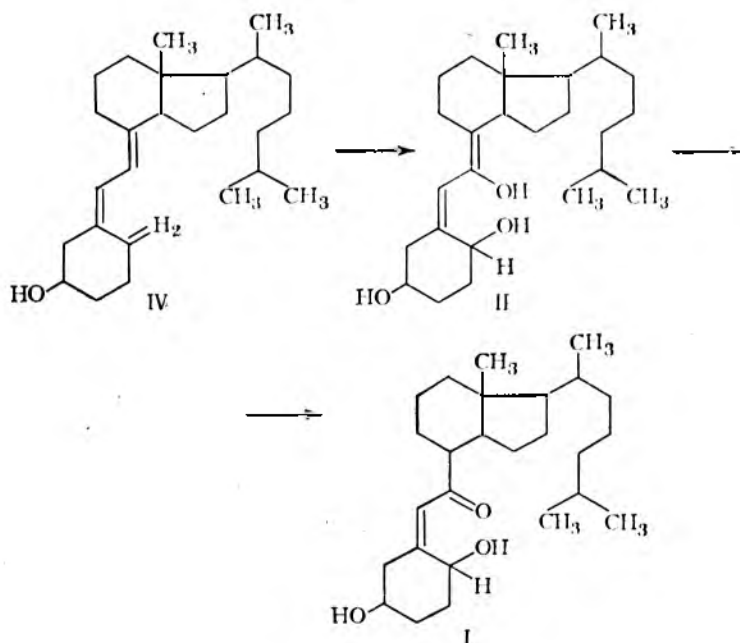
ron, Guerillot, Bazier, 1956). Энолят (II) имеет максимум поглощения в области 265 м μ с $E_1^{1\%} = 19\,000$ в эфире, и $E_1^{1\%} = 21\,300$ в спирте, обладает кислыми свойствами и не растворяется в эфире.



Кетон 250_3 может быть получен из витамина D_3 (IV) действием на его раствор в четыреххлористом углеводе флорином (кислой глиной) при нагревании и последующем взбалтывании на холоду.

Элюированный эфиром из кислой глины продукт имеет максимум поглощения в области $250 \text{ м}\mu$ с $E=96\,000$ и представляет собой энол витамина D_7 (II). Последний легко окисляется в кетон 250_3 простым нагреванием в щелочной среде.

Весь процесс образования кетона 250_3 из витамина D_3 можно изобразить следующей схемой:



Аналогично вышеуказанному методу получения кетона 250_3 из витамина D_2 был приготовлен кетон 250_2 , который отличался от кетона 250_3 только своей эргостериновой боковой цепью.

Кетон 250_3 представляет собой аморфную смолу или микрорекристаллы с температурой плавления $73-75^\circ$ бледно-желтого цвета (Raoul, 1958).

Источники витамина D

Природные источники витамина D. Несмотря на широкое распространение витамина D₂ (кетона 250₂) природные источники витамина D довольно скудны. Витамин D встречается в основном в виде витамина D₃ и D₇ в животных и рыбных продуктах. Особенно богаты им жиры печени морских рыб (трески, тунца и др.). Так, Комаров (1953) нашел, что жир печени балтийской трески содержал до 250 и. е., а балтийской корюшки 200—350 и. е. витамина D в 1 мл, однако Рауль (Raoul, 1958) определил, что печени этих рыб богаче витамином D, очевидно за счет кетона 250₃.

Витамин D в растительных источниках встречается только в виде кетона 250₂ и 250₃. Некоторые из них, например водоросли, сено, могут содержать еще витамин D, образованный активированием солнечным светом содержащегося в них провитамина D. Источниками витамина D, особенно D₃ и D₇, как более активных для птиц, могут служить жиры печени рыб и морских млекопитающих (Мацко, 1929) и двухстворчатые моллюски (Вендт, 1953). Последние, высушенные на солнце, содержат до 400 и. е. в 1 г. Из жиров морских рыб и млекопитающих получают концентраты витамина D₃.

Кетоном 250₃ богаты жиры печени рыб, в жирах кроликов и крыс кетон отсутствует. Молоко коровы содержит только 4 мкг, а коровье масло 65 мкг кетона 250₃ в 100 г. В растительном мире кетон 250₃ широко распространен среди многих видов растений (табл. 80) (Raoul, 1958). В противоположность кетону 250₃, кетон 250₂ распространен только в растительном мире и, кроме того, среди немногих экземпляров. Им богаты только сахарный тростник и соевое масло.

Из таблицы 80 видно, что высушенная луговая трава или увядшие листья каштана содержат гораздо больше кетона 250₃, чем свежие. Кетон 250₃ образуется в процессе сушки.

Большинство трав содержит значительное количество антирахитически активного кетона 250₃, количество которого еще более возрастает при их сушке. Возникает вопрос, почему же в практике сено не считается антирахитически активным кормом? Например, Солун (1953) нашел, что скармливание 10 кг сена ежедневно не удовлет-

Содержание кетонов 250 и витаминов D₂ и D₃ в растениях и жирах печени разных рыб (в мкг на 100 г)

	Кетон 250 ₃	Кетон 250 ₂	Кальци- ферол 2—3
Свежая луговая трава	130—270	0	0
Высушенная луговая трава	650	0	0
Зародыши хлебных злаков	15	0	0
Сахарный тростник	—	300	0
Молодые листья каштана	15	0	0
Увядающие листья каштана	125	0	0
Свежий клевер	195	0	0
Листья капусты	25	0	0
Листья белого цикория	90	0	0
Зеленые листья моркови	30	0	0
Морковь (корень)	0	0	0
Соевое масло	0	1350	0
Шпоры ржи	1000	75	0
Апельсины	25	0	0
Салат	26,5	0	0
Картофель, спаржа, яблоки	0	0	0
Жир печени трески	1620	0	625
» » тунца	6700	0	500
» » акулы	3600	0	—

воряет при зимнем содержании потребность высокопродуктивных коров в витамине D.

Оказывается, в луговых злаковых травах и капусте как свежей, так и высушенной содержится вещество, обладающее активностью антивитамина D (см. стр. 487). Антирахитическая активность сена, по данным Журавлева и Батиной (1956), колеблется от 250 до 417 и.е. в 1 кг. Антирахитическая активность сена зависит от сушки, например клевер с тимофеевкой, высушенный в прокосах, содержит 273—300 п. е., а высушенный на вешалах—250—300 п. е. витамина. Сено из ковра безостого содержит 313—417 п. е. витамина D, а из житняка ширококолосного—250—313 п.е. в 1 кг.

Однако указанных источников недостаточно, чтобы удовлетворить потребность в витамине D. Поэтому его получают в кристаллическом виде из облученного эргостерина (Мани, 1934) или обогащают витамином D пищевые продукты: молоко, дрожжи и т. д., облучая их ультрафиолетовым светом (Вадимов, 1931, 1932, 1933, 1946; Мацко, 1932).

Значение ультрафиолетового облучения сельскохозяйственных животных в практике животноводства. Под влиянием солнечного или ультрафиолетового облучения животных провитамины D в коже млекопитающих переходит в витамин D. Благоприятное влияние общего облучения коров ультрафиолетовым светом ртутно-кварцевой лампы ПРК-2 с декабря 1956 г. по май 1957 г. видно из следующих данных, полученных Григорьевой (1957) в колхозе «Большевик» Золотоношского района Черкасской области (табл. 81).

Таблица 81

Влияние общего облучения ультрафиолетовым светом коров на удой молока (в кг)

Длительность облучения	Возраст коров (в годах)	Опытные				Контрольные		
		удой за предважный период	за период облучения	за 300 дней лактации	увеличение за 1 дойный день	удой за предважный период	за период, соответствующий периоду облучения	за 300 дней лактации
10 минут ежедневно	3—6	58,4	1565	3535	1,3	64,4	1274	2955
20 минут через день	3—6	218	1387	3271	2,0	203	1189	2780
15 минут ежедневно	5—10	144	2449	6246	4,36	135	1691	4275
Необлученные, но находившиеся под влиянием радиации	3—5	—	—	2879	0,75	—	—	2708

В другом опыте, проведенном Полкановым и Гусевым (1958) в совхозе «Крекшино» Московской области, коров облучали ежедневно с 10 февраля по 20 апреля ртутно-кварцевой лампой ПРК-7 в течение 4 минут сзади и снизу (область вымени и живота) на расстоянии 0,8—1,5 м от лампы. В таблице 82 представлены средние данные удоя молока у 8 облучаемых коров по сравнению с необлучаемыми.

Из указанных данных таблиц 81 и 82 видно, что наилучший результат получается от общего ежедневного облучения коров в течение 15 минут. Благодаря превращению провитамина в витамин D₃ происходит лучшее усвоение

Влияние местного облучения коров на удой молока

Период облучения	Превышение среднего удоя облучаемых коров по сравнению с необлучаемыми (кг в сутки на голову)
10/III—20/III	1,18
20/III—31/III	1,48
1/IV—10/IV	2,11
10/IV—20/IV	0,94

животными минеральных веществ кормов и отложение Са и Р в костяке.

Свиньи также страдают от недостаточности витамина при стойловом содержании в зимнее время, когда они не подвергаются солнечной радиации, а снабжение с кормами этим витамином недостаточно. Так, привес поросят украинской степной породы, облучаемых с 7 марта по 9 августа 1957 года, был на 22% выше по сравнению с контролями (Кодинец и Борисенко, 1958). У контрольных свиной проявлялись признаки рахита, у облучаемых таковых не наблюдалось. Наилучшие результаты дало облучение свиной лампой ПРК-2 в течение первых 4 дней по 15 минут, а затем по 20 минут на расстоянии 1,0—1,5 м.

У ягнят, подвергавшихся полному облучению светом ртутно-кварцевой лампы ПРК-2 через день всего 26 раз и получавших немного больше эритемной дозы, в плечевой кости откладывалось в 5,3 раза больше P^{32} , чем у необлученных, тогда как в мозге поглощение P^{32} не происходило. Содержание кальция в крови повышалось примерно на 60—80% и немного повышалось содержание фосфора—на 2—15% (Грошев, Сидоров, 1958). Это указывает на значительную минерализацию костей у овец под влиянием образованного витамина D.

Биосинтез провитаминов и витаминов D

Стерины, в том числе и провитамины D, синтезируются в клетках микроорганизмов, растений и животных. Грибы в основном синтезируют эргостерин. На биосинтез эргостерина дрожжами большое влияние оказывает способ их выращивания. При культивировании дрожжей на зерноном субстрате или на мясе с аэрацией и введением 40%

посевных дрожжей (из расчета на содержание сахара в среде) содержание эргостерина в них можно повысить до 2—2,6% от сухого веса дрожжей (Трайнина, 1937; Лившиц, 1947, 1953). При освещении дрожжевых клеток, содержащих провитамины, в частности эргостерин, последний переходит в витамин D_2 .

В животных тканях образуется преимущественно 7-дегидрохолестерин (Glover a. oth., 1952), в тканях растений—7-дегидроситостерин, 7-дегидрокампестерин и в морских губках—7-дегидростигмастерин.

Особый интерес представляет накопление больших количеств витамина D_3 в жире морских рыб, живущих на больших глубинах. Оказывается, что витамин откладывается у них в результате питания планктоном, морскими моллюсками и иглокожими, богатыми витамином D_3 (Вендт, 1953). Трудно себе представить превращение провитаминов D в витамин D с помощью неизвестного еще фермента, присутствующего в организме рыб, скорее можно предположить, что витамин D_3 способен более интенсивно откладываться в печени этих рыб, чем его провитамины. Провитамин D_4 —22,23-дигидроэргостерин в природе не был найден.

Кожа птиц защищена перьями и недоступна для солнечных лучей, однако оказалось (Rosenberg, 1953), что поверхностный слой ног птиц богат провитамином D_3 , который при освещении солнечными лучами переходит в витамин D_3 . Птицы любят греться на солнце, очевидно, этот инстинкт был приобретен в эволюционном развитии их для более благоприятного перехода провитамина D_3 в витамин, предохраняющий птиц от рахита. В 1932 году Рахманов и Возная нашли, что облучение цыплят ультрафиолетовыми лучами ртутно-кварцевой лампы дает тот же эффект в отношении кальцификации хряща, что и освещение их лучами солнца, после чего стали применять облучение домашней птицы.

Антивитамины D

Из смеси луговых злаков, из капусты и других наземных растений как свежих, так и высушенных в тени были выделены вещества (Raoul, Marnay, Le Bouch, Prelot, Guerillot—Vinet, Bazier, Baron, 1957), обладавшие одинаковыми физико-химическими свойствами и оказавшиеся

идентичными. Эти вещества обладали активностью анти-витамина D. В ежедневной дозе, равной 0,2 мкг на цыпленка, они вызвали примерно 50%-ное торможение действия витамина D₃, что доказывалось величиной кальцификации пяточной или большеберцовой кости и процентом зольности тех же костей.

Антивитамин D плавился при 50° и обладал E_{1cm}^{1%} = 40° (в эфире) при $\lambda_{\text{макс.}} = 275$ мμ в ультрафиолете и $\lambda_{\text{макс.}} = 2800, 2900, 3400, 6250, 6350, 6850, 7250, 7800, 8900$ и 9300 мμ в инфракрасной области.

Антивитамин D давал положительную реакцию Либермана (зеленое окрашивание) и Карр-Прейса (розовато-фиолетовое окрашивание) и в его молекуле отсутствовали атомы азота, серы и хлора.

Открытие подобного антивитамина D в луговых травах и сене является крайне важным фактором, который приходится учитывать при кормлении животных.

Физиологическое действие витамина D

Действие на минеральный обмен (кальций, фосфор, серу и магний). Рядом исследователей (Harrison, Harrison, 1951; Nicolaysen, 1937, 1951) было установлено, что витамин D способствует усвоению и поглощению кальция в кишечнике. Оно наиболее интенсивно протекает в верхней части тонкого кишечника и притом в течение первых 2—4 часов после введения (Migicovsky, 1957), в результате чего повышается содержание кальция в крови. С другой стороны, была доказана (Greenberg, 1945; Underwood a. oth., 1951) стимуляция витамином D отложения кальция в костях. Однако витамин D поддерживает нормальное содержание кальция в крови даже в отсутствие кальция в пище (Carlsson, 1952), способствуя растворению костной ткани.

Из всех солей кальция наилучшую кальцификацию у цыплят оказывали хлористый и лимоннокислый кальций, вероятно вследствие лучшей растворимости. Однако витамин D₃ стимулировал кальцификацию в присутствии любой соли кальция и притом тем сильнее, чем большее количество его вводилось в рацион (Havermann, Hartfield, 1958). Действие витамина D на усвояемость кальция и отложение его в кости, очевидно, сводится, как уже указывалось, к образованию кальция, связанного с витами-

ном D (CaD), в виде которого он легче проходит кишечный барьер и откладывается в кости (Migicovsky, Jamieson, 1955).

Букин с сотрудниками (1957) считают, что при рахите снижается количество связанного с белком фосфора и кальция. Добавление витамина D к рахитической диете повышает связывание фосфора и кальция с белком и тем в большей степени, чем больше было добавлено витамина D. Это отчасти объясняет причины повышения поглощения Ca и P витамином D.

Указывалось также, что витамин D стимулирует поглощение кальция в кишечнике только при низком содержании фосфора (Carlsson, 1953) и кальция, не превышающим 0,5% в диете. Таким образом, витамин D регулирует физиологическую фиксацию кальция и эта функция его не зависит от ростового действия (Causeret, 1953, 1954).

Для выяснения механизма действия витамина D не менее важно поглощение и фосфора. Тогда как поглощение кальция кишечником полностью зависит от витамина D, усвоение неорганического фосфора зависит от него лишь косвенно. У животных с низким содержанием кальция в диете витамин D повышает поглощение фосфата кишечником, а при высоком содержании кальция в диете витамин D такого влияния не оказывает (Carlsson, Lindqvist, Magnusson, 1954). Очевидно, при низком содержании кальция в диете и наличии витамина D кальций в кишечнике не задерживается и поэтому не успевает связывать фосфат в нерастворимый кальциевый фосфат. В отсутствие же витамина D кальций задерживается в кишечнике и связывает фосфат. Тогда как поглощение скелетом кальция, введенного внутримышечно, не зависит от витамина D (Migicovsky, Jamieson, 1950, 1955), поглощение скелетом фракции радиоактивного фосфора (P^{32}), нерастворимой в насыщенном сульфате аммония и введенной тем же путем, было значительно ниже у рахитических крыс по сравнению со здоровыми (Englelat, Zetterström, 1954). При отсутствии фосфатов в диете, так же как в случае кальция, в крови поддерживается нормальное содержание фосфора за счет костных запасов, пока животное получает витамин D. Как только витамин D из пищи устраняет и запасы его в организме иссякнут, сразу же содержание фосфата в крови понизится (Carlsson, Lindqvist, Magnusson, 1954). Под влиянием витамина D содержание фосфата

в хряще повышается. Через 96 часов после введения витамина D рахитическим крысам содержание фосфата в хряще повышается примерно в два раза, а затем снижается (Joshi, Dikshit, 1956). Это представляет особенный интерес, так как известно, что к этому времени кальцификация достигает своего максимума.

Наиболее важная функция витамина D в фосфатном обмене—это действие его на выделение фосфата почками. Выделение фосфата почками является разностью двух величин: фосфата, профильтрованного почечными клубочками, и фосфата, обратно всосанного (резорбированного) из почечных канальцев в кровь (Harrison, Harrison, 1941). Оказывается витамин D сильно повышает резорбцию фосфата. Так, у здоровых детей она составляет 82,5% от фильтрации, в начальной стадии рахита 68,9%, а при тяжелом рахите только 34,8% (Лепский, 1955; Святкина, 1953). В результате падения резорбции содержание фосфата в крови понижается от 5 мг% в норме до 2,6 мг% при рахите. Таким путем витамин D также сберегает запасы фосфора в организме. Однако считают (Лепский, 1955; Klein, Cow, 1953; Crawford a. oth., 1954, 1955), что это действие витамина является косвенным, вследствие подавления секреторной активности паращитовидной железы, гормон которой угнетает резорбцию фосфата. Этот взгляд подтверждается сильным снижением стимуляции резорбции фосфата витамином D у полностью паратиреоидэктомированных животных (Crawford a. oth., 1955).

Таким образом, отношение Ca : P в диете с недостатком витамина D является важным фактором возникновения рахита. У молодых крысят на диете с отношением Ca : P = 1,4 эпифиз берцовой кости нормально кальцифицировался по прошествии 3 недель опыта, хотя содержание золы было немного ниже нормы и равнялось 46%, тогда как при Ca : P=5,7 кальцификация была слабой с едва заметной хрящевой прослойкой. Эта хрящевая прослойка значительно увеличивалась при отношении 10 : 2. Содержание золы в костях при отношении в диете Ca : P = 5,7 было 31,7, а при 10,2—28,8% (Dikshit, Patwaedham, 1947).

Наилучший рост цыплят и наибольшее содержание золы в костях было при отношении в рационе кальция к фосфору 2:1 и при оптимальном содержании их в рационе

2% Са и 1% Р (Mozok, Slinger, 1948). Для рационов телят это отношение, по данным Солуна, должно быть равным примерно 1,5 и не ниже 1 : 1.

На зерновой диете, в которой фосфор содержится всецело в форме фитинового фосфора зерен злаков, это соотношение нарушается и рахит быстро развивается даже при сравнительно невысоком содержании кальция в диете. То же действие оказывает введение в диету самого фитина (Kieger a. oth., 1940, 1941; Mellamby, 1949). У кукурузы, подвергнутой гидролизу, рахитогенные свойства понижались и, наоборот, повышались после проращивания, когда в них образовывался фитин (Templin, Steenbock, 1933, 1936). Витамин D действует сильнее, если диета, содержащая фитин, богата кальцием. Оказывается витамин D действует двояким путем: он способствует повышению секреции в кишечном тракте фермента фитазы, расщепляющей фитин (Steenbock a. oth., 1953), и фосфатазы, а также повышению поглощения кальция, который тормозил активность фитазы и связывал фосфат, понижая его использование (Pileggi a. oth., 1955).

Поскольку кальцификация хрящевых клеток сопровождается эндохондриальной оксификацией, то исследовалось влияние витамина D на поглощение S^{35} -сульфата костью. Оказалось, витамин D стимулировал отложение радиоактивной серы в хондронтин-сульфат кости (Carlsson a. oth., 1954; Dziewiatkowski, 1954). Концентрация неорганического сульфата в сыворотке крови рахитических крыс равнялась 2,6—3,5 мг%, а в сыворотке здоровых крыс того же возраста 2 мг% (Dziewiatkowski, 1954). При нормальном питании усвояемость магния составляет 53—77%, при рахите усвояемость его понижается до 50—71% и не зависит от состава диеты, а только от содержания витамина D (Meintzer, Steenbock, 1955).

Витамины D и лимонная кислота. Антирахитическое свойство, обнаруженное у лимонной кислоты и ее солей, дало основание считать, что последняя имеет большее значение в механизме действия витамина D (Glanzmann u. and., 1946). Активность цитрогеназы и аконитазы в различных областях кости гораздо выше, чем в других органах (печени, почках), и выше, чем активность изолимонной дегидразы (Discon, Perkins, 1952), поэтому кость считают местом усиленного синтеза лимонной кислоты в животном организме, при взаимодействии которой с

фосфатом кальция образуются комплексные формы, откладывающиеся в кости при кальцификации хряща.

Исследования Стэнбока (Steenbock, Bellin, Wiest, 1951, 1952) показали, что введение витамина D рахитическим крысам сильно повышает рН мочи и понижает рН кала и это происходит главным образом за счет повышенного выделения лимонной кислоты. Оказалось, что с введением витамина D повышается количество лимонной кислоты в костях, крови, почках, сердце и тонком кишечнике и последнее вызывает повышенное содержание ее в моче (Steenbock, Bellin, 1953). Введение больших доз соды (NaHCO_3), повышающей рН мочи, вызвало лишь небольшое увеличение выделения лимонной кислоты (на 5%), тогда как витамин D повышал это выделение на 35% (Bellin a. oth., 1954). Все это указывает, что витамин D повышает синтез цитрата в кости и тем самым также способствует ее кальцификации.

Стэнбок с сотрудниками (De Luca, Grain, Steenbock, 1957) показал, что введение витамина D в диету крыс вызывает понижение окисления лимонной кислоты гомогенатами почек и печени. Позднее было установлено (De Luca, Steenbock, 1957), что добавление витамина D *in vitro* к митохондриям почек крыс также тормозит активность цитрогеназы—фермента, окисляющего лимонную кислоту в α -кетоглутаровую. Очевидно, это доказывает причину повышения в организме лимонной кислоты с введением витамина D.

Витамин D и энзимы. Точная биохимическая роль витамина D еще не установлена, хотя известно, что витамин D влияет на углеводный и белковый обмен. При авитаминозе D скорость фосфорилирования углеводов понижена и введение витамина D повышает как отложение гликогена в печени и мышцах, так и отношение углеводов к молочной кислоте (Pincussen, 1941). Витамин D повышает поглощение кислорода суспензией митохондрий почек, содержащей глутатион (Zetterström, 1951). Это согласуется с данными Фестенштейна (Festenstien, 1955), что эргостерин, а также витамин D_2 в концентрации 10^{-3} — 10^{-2} мкг/мл тормозят анаэробный гликолиз срезов печени крыс. Причем в случае крыс-самцов эргостерин действует сильнее, а в случае самок—витамин D_2 .

В кальцифицируемом хряще было установлено наличие тех же гликолитических энзим, что и в мышцах и дрож-

жах (Albaum a. oth., 1952). Оказалось (Tulpule, Patwardham, 1954), что в то время как гликолитическая активность эпифизарного хряща при недостатке витамина D остается неизменной, способность окислять пировиноградную кислоту резко падает, а затем исчезает. Эта потеря пировиноградной активности при недостатке витамина D отмечается только в хрящевой ткани, тогда как в других тканях (печени, почке и т. д.) она не изменяется.

Повышенное выделение аминокислот с мочой при недостатке витамина D (Jouxis a. oth., 1952) является характерным для нарушения почечноканальцевой функции. В моче рахитических детей Харрисоном (Harrison, 1954) были обнаружены в значительном количестве следующие аминокислоты: лейцин, изолейцин, валин и гистидин, которые обычно полностью резорбировались почечными канальцами. Наличие в моче аминокислот может служить характерным признаком нарушения белкового обмена, а следовательно, и соответствующих энзиматических систем при рахите. Тем более, что подобные же явления, вместе с характерными для рахита фосфатурией, калькурией, цитратурией и глюкозурией, были экспериментально вызваны у собак введением ацетоазолеамида или малеиновой кислоты (Harrison, 1954). Последняя имеет особенно большое значение, так как изомер малеиновой кислоты — фумаровая кислота является одним из продуктов цикла Кребса. Наконец, следует отметить, что наиболее точным показателем действия витамина D является повышение активности щелочной фосфатазы в крови (Коханова, 1952; Zetterström, 1955; Dikshit, Patwardham, 1947).

Витамины D и гормоны. Давно известна связь между минеральным обменом кальция и фосфора и функцией паращитовидных желез. Так, объем паращитовидных желез у крыс увеличивается при бедной кальцием диете, вызывающей гипокальцемию, и, наоборот, уменьшается при диете, богатой кальцием и бедной фосфором (Хайн, 1938; Carnes a. oth., 1942). Большие дозы витамина D₂ (170 п. е.) приводили к дальнейшему понижению как объема паращитовидных желез, так и их гиперплазии. Более поздние исследования (Hanssler, 1954), при которых определяли активность паращитовидных желез с помощью измерения размера их ядер, подтвердили прежние данные и показали, что бедная кальцием диета, вызывающая гипокальцемию, активизирует паратироиды и, наоборот, бо-

гатая кальцием диета, вызывающая гипофосфатемию, понижает их активность. Витамин D (в ежедневных дозах 200 и. е. на крысу), вызывая гиперкальцемию, понижает активность паращитовидных желез. Оказывается, витамин D действует на паращитовидную железу исключительно косвенным путем и это действие сводится к его гиперкальцемической функции (Hanssler, 1954). Это подтверждается тем, что: 1) хрящ рахитической кости паратиреоидэктомированной крысы также кальцифицируется *in vitro*, как и здоровой крысы, и не зависит от паратироидина (Heimer a. oth., 1954) и 2) излечение рахита витамином D вызывалось одинаково как у паратиреоидэктомированных, так и неоперированных крыс. Удаление паращитовидных желез также не изменяло и реакцию крыс на токсические дозы витамина D (Dikshit, 1955).

В организме существует взаимосвязь между гормональной системой и витаминами. Это мы видели, рассматривая связь между функциями паращитовидных желез и витамином D. Когда организм достаточно насыщен кальцием, а кальций и витамин D есть в диете, то функция паращитовидной железы ослаблена. Когда же организм страдает от недостатка кальция, то функция паращитовидной железы повышена. Таким образом, функция паращитовидной железы и витамина D как бы дополняют друг друга. Это подтверждается более сильной стимуляцией витамином D роста паратиреоидэктомированных крыс по сравнению со здоровыми (Greer, Fischer, 1950).

Подобная же связь имеется и в отношении других гормональных систем с витамином D. Тироксин содействует минерализации остеодных тканей и поэтому для действия витамина D необходимо наличие достаточного количества гормона щитовидной железы (Brousch, 1954). Очевидно, тироксин, повышая фосфатазную активность, способствует накоплению фосфора, необходимого для минерализации кости. После перевода крыс в темноту у них повышается функция щитовидной железы, причем введение витамина D прекращает эту компенсацию (Bergfeld, 1931). Почернение перьев у цыплят, свойственное нью-гемпширам и другим породам птиц на рационе с недостатком витамина D, связано с активностью гормонов щитовидной железы, ибо скормливание щитовидной железы цыплятам на полноценном рационе вызывает подобное же почернение, как и на рационе, лишенном витамина D,

а одновременный рахит усугубляет почернение (Glazener, Briggs, 1946, 1948). Очевидно, витамин D находится в антагонизме с гормонами щитовидной железы и устранение его вызывает активацию указанных гормонов. Островки Лангерганса поджелудочной железы, вырабатывающие инсулин, очень чувствительны к рахиту и гораздо быстрее и сильнее повреждаются при инъекции аллоксана крысам на диете с недостатком витамина D. После введения витамина D таким крысам содержание сахара в крови у них быстро повышается и состояние их улучшается (Kreuzer, Faller, 1950). Та же связь имеется между половыми гормонами и оссификацией костей, управляемой витамином D. Инъекция эстрогена петухам на рахитогенной диете предохраняла их от рахита и значительно улучшала привес тела (Landauer, 1954). Введение эстрогена птицам на нормальной диете вызывало увеличение размеров паращитовидной железы, очевидно стимулируя ее активность, но оно было несколько меньше, чем наблюдаемое у птиц при недостатке витамина D.

Ежедневное введение 100 мг метиландростенедиола—мужского полового гормона—понижало выделение кальция как с мочой, так и с калом, вызывая положительный баланс. Наоборот, кортизон повышает выделение кальция как с калом, так и с мочой, понижая баланс кальция и действует таким образом антагонистично витамину D (Fischer, Hastrup, 1954; Anderson a. oth., 1954). Это указывает, что кортизон может быть приемлем при лечении случаев повышенного поглощения кальция, т. е. отравления витамином D и идиопатической гиперкальцемии у детей. Введение кортизона рахитическим крысам снижает содержание лимонной кислоты в сыворотке крови и костях, и блокирует способность витамина D повышать содержание лимонной кислоты в организме. Однако кортизон не влиял на другую функцию витамина D—на способность повышать поглощение кальция (Harrison a. oth., 1957, 1958). Таким образом, действие кортизона нельзя рассматривать как антивитаминозное, а функцию витамина D—повышать содержание цитрата следует рассматривать как самостоятельную, независимую от его антирахитической функции. Такое же антагонистическое действие витамина D на кальций и фосфор сыворотки крови оказывают экстракты зубной железы и лимфатических узлов селезенки (Nitschke, 1933, 1952). Введение

витамина D крысам вызывает гипофункцию указанных желез, т. е. понижение секреции и уменьшение размеров клеточных ядер этих желез и притом тем сильнее, чем большее количество витамина D вводилось (Hanssler, 1955).

Витамин D и нервная система. Красногорский (1939) показал, что при рахите нарушен двигательный анализатор. Этим объясняется отставание локомоторных функций у рахитических детей. Тем же автором, позднее (1949), было установлено, что при тяжелом рахите временно прекращается выработка новых условных рефлексов. Оказалось (Лепский, 1955), что действие витамина D связано с стимулирующей парасимпатической нервной системы, так как животные, получавшие парасимпатикотропные вещества (прозерин, ацетилхолин), не заболевали рахитом. Те же животные на рахитогенной диете, которые не получали указанного стимулятора или получали стимулятор симпатического отдела нервной системы (эфедрин), все заболевали рахитом.

Гипервитаминоз D

Избыток как витамина D₂, так и D₃, а также и других витаминов D, вреден для животного организма. Дозы в 2 мг витаминов D₂ или D₃, вводимые крысам два раза в неделю, снижают вес и вызывают отложение кальция в почках (Teulon, Paulais, 1953). Токсические дозы витамина D₂ или D₃ вызывают атрофию щитовидной железы и семенников, кровоизлияния в слизистых оболочках паренхиматозных органов (Burki a. oth., 1953) и, как мы видели, уменьшение зубной железы и селезенки. В некоторых случаях наблюдались также и более глубокие изменения кальцификации кровеносных сосудов, в виде отложения вокруг сосуда известковых футляров. Витамин D₃ для крыс более токсичен, чем витамин D₂ (Burki a. oth., 1953). Значительные и наиболее важные изменения при гипервитаминозе D—это нарушения почечной функции клубочковой фильтрации фосфата и кальция (Herzfeld и andere, 1955; Follis, 1955). Вследствие этого возникает гиперкальцемия и гиперфосфатемия. Одновременно с этим падает активность щелочной фосфатазы и на 4—6-й день опыта pH артериальной крови повышается до 7,8. При инкубации хряща D-гипервитаминозных крыс задержи-

вается кальцификация и появляется широкая остеонидная граница (Follis, 1955). Последнее явление отмечалось как «рахит» гипервитаминоза.

Однократная пероральная доза собаке 1 мг витамина D₂ на 1 кг веса тела еще не вызывала никаких изменений в функции почек, тогда как 5 мг на 1 кг (по Schettler, Jobst, 1955) были смертельными для собаки (животного очень чувствительного к избытку витамина D), причем нарушения почечной функции при этих дозах приводили к шоку (Schettler, Jobst, 1955).

Согласно Цвеймюллеру (Zweymüller, 1957), внутримышечная доза 3 мг витамина D₂ на 1 кг веса тела собаки при однократном введении вызывала понижение почечной фильтрации на 26%, которое нормализовалось по прошествии 6—8 недель, и снижение к 11-му дню почечной резорбции фосфата на 39% с восстановлением на 6-й неделе. При введении той же дозы витамина D₂, но в течение 5 дней по $\frac{1}{5}$ почечная фильтрация понижалась более чем на 47% и не восстанавливалась даже через 13 недель. Почечная резорбция фосфата после такого введения уже на 2—6-й день понижалась более чем на 63% и по прошествии 13 недель составляла еще 45% нормальной. То же самое относится и к пероральным дозам в 3 мг на 1 кг веса тела собаки (Loudon, Zweymüller, 1957). Таким образом, высокая доза витамина D, введенная фракционированно, действует сильнее, чем однократно.

У человека первоначальные симптомы отравления витамином D выражаются в сильной жажде, потере аппетита и рвоте (Jesserer, 1955).

Особенно чувствительны к гипервитаминозу D половые органы. Введение морским свинкам ежедневно по 0,03 мг витамина D₂—доза, которая является настолько низкой, что не может считаться токсической, вызывала изменения в размножении уже у второго помета. Эти изменения заключались в удлинении сроков между рождениями отдельных пометов, увеличении продолжительности беременности, повышении количества сосунков в помете и их смертности (Neuweiler, 1954). Так, если при нормальном питании сроки между отдельными деторождениями у морских свинок составляли примерно 72 дня, плодоношение длилось 14 дней, величина помета составляла 3—4 сосунка и смертность отсутствовала, то при ежедневном введении указанной дозы витамина D

продолжительность между пометами повышалась до 100 дней до первого, 180 дней от первого до второго и 250 от второго до третьего помета, беременность удлинялась до 40—50 дней, количество сосунков уже во втором помете увеличивалось до 4—5, а затем и до 5—6 и смертность их повышалась до 48%.

Каротин и витамин А обладают антитоксическим действием при гипервитаминозе D, препятствуя падению веса и обызвествлению органов, и это действие повышается с увеличением их дозы (Мацко, 1951). Минимальная анти-токсическая доза каротина значительно превышала его «профилактическую» дозу.

Обмен витамина D в животном организме

Витамин D₂, введенный крысе перорально в дозах 8, 4, 2, 1, 0,5 и 0,25 мг, откладывался в печени в первый же день после введения соответственно 639, 540, 236, 140, 44 и 29 мкг. Отложение колебалось от 8 до 14% от введенной дозы.

На второй день отложенные запасы витамина D₂ в печени понижались примерно на 40—50% и составляли соответственно 543, 255, 135, 54, 32 и 14 мкг (Kodicek, 1954). Эти данные оказались значительно выше, чем найденные ранее.

Так, пользуясь методом бумажной хроматографии для определения витамина D в тканях крыс, во всех органах удалось обнаружить около 37% от введенной дозы витамина D. Используя же изотопную методику (Kodicek, 1956), через 24 часа после перорального введения 1 мг витамина D, удалось обнаружить в тканях только 10,6%, а в кале 19,7% от всей дозы. Это указывает, что неидентифицированный продукт распада витамина D определялся в тканях хроматографически вместе с витамином D.

Для сравнения относительного распределения витамина в тканях и выделения его с калом приводим в таблице 83 данные, полученные Крукшенком и Кодисеком (Cruikshank, Kodicek, 1956) о распределении меченого радиоизотопа углерода в введенном витамине D₂.

Из данных таблицы 83 видно, что наибольшее количество витамина D₂ найдено в печени. Однако уже по прошествии 48 часов это количество падает примерно на 40%. Меньшее падение наблюдается при внутримышеч-

Содержание витамина D₂ в органах крыс

Органы	Через 24 часа после введения 1 мг витамина D ₂			Через 48 часов после введения 1 мг D ₂		
	перорально		внутри- мышеч- но	перо- рально	внутри- мышеч- но	
	в мг во всем органе	в % от введен- ной дозы		в мг во всем органе	в мг во всем органе	
		D ₂	продук- ты рас- пада			
Печень	119	5,7	—	98	67	76
Кишечник	4,4	0,6	—	2,4	1,6	2,5
Почки	3,7	0,2	—	3,6	2,7	4,0
Кости	—	1,4	—	—	—	—
Кровь	—	1,2	—	—	—	—
Другие органы .	—	1,5	—	—	—	—
Во всем организ- ме	—	10,6	9,2	—	—	—
Всего выделе- но:						
с калом	155	19,7	59,6	—	—	—
с мочой	—	0	2,1	—	—	—

ном введении. Это указывает, что печень служит основным местом отложения витамина D₂ и что внутримышечное введение более эффективно, так как при той же дозе больше витамина D₂ удерживается в печени. Очевидно, в печени происходит частичное разрушение витамина. Появление витамина в кишечнике после внутримышечной инъекции указывает на локализацию места его действия, т. е. на участие его в минеральном обмене в кишечнике. Почки служат барьером, который задерживает витамин, и поэтому мы там обнаруживаем значительное количество витамина D₂ даже по прошествии 48 часов. С мочой же он не выделяется. Отложение в костях витамина D также понятно, вследствие участия его в кальцификации кости. Из прочих тканей довольно значительное место занимают надпочечники (Cruickshank a. oth., 1954). Отложение витамина D₂ в надпочечниках указывает на отношение его

к стероидному обмену в этом органе. С молоком также выделяется значительное количество витамина D.

Исследование обмена витамина D₃, меченого ³C¹⁴, введенного в грудную мышцу цыпленка, показало (Navinga, Bots, 1954), что радиоактивность долго сохраняется в грудной мышце, и даже по прошествии 7 месяцев после инъекции оставалось еще $\frac{1}{10}$ от всей исходной активности. Таким образом, витамин D₃ может отложиться в том месте, куда он был инъектирован, и сохраниться там в течение длительного времени.

Обмен эргостерина, меченого C¹⁴, у морских свинок показал, что он гораздо хуже усваивается, чем витамин D₂. В первый день после введения от 3 до 200 мг эргостерина с радиоактивностью 0,3—1,4 микрокури было обнаружено в печени только 0,13—0,72%, в кишечнике—0,28—2,6% и в надпочечниках 0,03—0,32% от всей дозы (Glover, Leat, Morton, 1954). Это подтвердили и другие исследователи в опытах на крысах (Hanahau, Al-Wakil, 1953).

Содержание витамина D в молоке. Концентрация витамина D в коровьем молоке не выше 1 мкг, или 40 и. е. в 1 л (Коп, Thompson, 1957). В молоко переходит не более 1—3% витамина от количества его в рационе.

Содержание витамина D в молоке зависит от качества корма и может быть повышено введением в рационы лактирующих коров кормов, богатых витамином D (Журавлев, 1956). Содержание витамина D в молозиве (50—200 и. е. в 1 кг) в несколько раз выше, чем в молоке (3—50 и. е. в 1 кг) (Журавлев, 1956).

Недостаточность витамина D у сельскохозяйственных животных и применение его в животноводстве

Витамин D имеет большое значение в крупном рогатом скотоводстве и в свиноводстве. Телята и поросята часто заболевают рахитом, который проявляется у них потерей аппетита, задержкой роста и снижением привесов, искривлением позвоночника и конечностей, опуханием суставов и слабостью мускулатуры (Журавлев, 1956). Самыми ранними симптомами рахита являются симптомы, связанные с поражением нервной системы: беспокойство, пугливость, потение и анорексия. В тяжелых случаях наблюдаются параличи задних конечностей, атрофия мышц и переломы костей. При рахите наблюдается секреторное

расстройство, повышенная кислотность сменяется снижением ее и даже ахилией, усугубляемой атонией желудка с задержкой эвакуации. Расстройство пищеварения ведет к постоянным поносам типа диарреи. Печень увеличивается, особенно нарушается ее углеводная функция. Уже в латентной стадии рахита ярко выражено заболевание желудочно-кишечного тракта. Болезнь сопровождается снижением в крови содержания кальция и фосфора.

Еще чаще встречается D-гиповитаминозное состояние у телят, которое проявляется в утолщении карпальных суставов, повышенной болезненностью костяка в области поясничных позвонков и крестца, неправильной постановкой передних и задних конечностей, четкообразным утолщением на ребрах и желудочно-кишечных расстройствах.

Стельные коровы при D-гиповитаминозе часто переступают конечностями в стойле, у них плохо действуют задние конечности, скакательные суставы сближаются, зубы начинают шататься, животные лижут кожный покров и легко возбудимы (Петухова, 1956).

Постникова (1956) при D-гиповитаминозе у коров нашла повышение общего белка и глобулинов в сыворотке крови и снижение содержания альбуминов.

Нормальное содержание Са в сыворотке крови коров 10—12 мг% и неорганического Р 5,5—9,3 мг%. При стойловом содержании в зимне-весеннее время оно снижается до 6,4—9,2 мг% Са и 3,2—6,9 мг% Р, от таких коров рождались телята с явными признаками D-гиповитаминоза.

Для получения здоровых телят стельным коровам на стойловом содержании за 2—2½ месяца до отела необходимо вводить в рационы по 270 000 и. е. витамина D через каждые пять дней. Телята от таких коров, родившиеся в январе—марте, получают запасы витамина D на 30—50 дней, а затем им ежедневно необходимо давать 20 и. е. витамина D на 1 кг живого веса. Содержание Са и Р в сыворотке у телят падает, как указано в таблице 84, если они не получали витамина D.

У коров после 4-го отела обычно эффективность поглощения кальция понижается (Hansard a. oth., 1954), показателем чего служит понижение кальция и повышение магния в сыворотке крови (Moodi a. oth., 1955). У таких коров в течение последнего периода стельности содержание

Таблица 84

**Содержание Са и Р (в мг%) в крови телят с возрастом
и в зависимости от введения витамина D с кормом**

Группа телят	Вещество крови	Возраст телят (в днях)			
		3—5	30	50	70
Не получала витамина D	Са	11,3—13,4	8,7—13,2	8,2—10,2	9,1—9,7
	Неорг. Р	5,6—10,1	6,0—8,2	6,0—7,7	5,9—7,9
	Общий Р	10,8—17,7	11,1—19,2	10,6—14,7	10,0—12,6
Получала 20 и. е. витамина D на 1 кг веса	Са	10,6—12,4	10,2—12,7	10,0—12,0	10,0—12,4
	Неорг. Р	5,7—8,2	6,5—7,8	6,0—8,6	6,8—7,7
	Общий Р	10,0—14,9	10,9—15,5	12,5—21,8	12,6—16,2

кальция значительно понижалось. У них после отела начиналась молочная лихорадка, причем баланс кальция становился отрицательным (Ward, Blosser, Adams, 1952).

Витамин D повышает усвоение кальция в основном в кишечнике. Введение больших пероральных доз ежедневно по 30 000 000 и. е. витамина D в течение 3—8 дней перед родами предохраняло коров от молочной лихорадки (Hibbs, Pounden, 1955). Изучение кальциево-фосфорного обмена показало, что высокая пероральная доза витамина D (20—30 миллионов и. е.) резко повышала усвоение кальция и фосфора в кишечнике таких коров, понижала эндогенные потери и повышала удерживание. Это действие витамина D продолжалось в течение 5 дней после прекращения введения его коровам. При этом повышение фосфора в крови предшествовало повышению кальция. Последнее не было значительным, так как кальций быстро исчезал из крови лактирующих коров, частично переходя в молоко (Courad, Hansard, Hibbs, 1956), тогда как у нелактирующих он исчезал гораздо медленнее.

У овец также отмечалось пониженное содержание Са и неорганического Р в крови в весенне-зимнем периоде при стойловом содержании соответственно до 11 и 6,4 мг%.

Однократное внутримышечное введение таким овцам 90 000 и. е. витамина D_2 через 2 дня повышает содержание Са в крови до 13,45 мг% и через 4 дня содержание Р в крови до 7,2 мг%. В период пастбищного содержания в крови овец имеется 12,0 мг% Са и 7,2 мг% Р, и они не терпят недостаточности в витамине D. Введение той же дозы витамина D_2 таким овцам дает слабое повышение Са (до 12,2 мг%) и Р (до 8,2 мг%).

Однократное внутримышечное введение лошадям 10 800 000 и. е. витамина D_2 повышает содержание Са и Р с максимальным подъемом на 3-й день с 10,8—12 до 13,4—14 мг% Са и с 3,8—5,4 до 5,2—8 мг% Р (Staskiewicz, Romanowska, 1957). По прошествии 12 дней содержание Са в крови приходит к норме, а содержание Р остается еще повышенным.

Введение витамина D_3 в рацион кур (650 и. е. на 1 кг) в зимнее время повышает яйценоскость (Mc Donald, Duncan, 1957).

Терапевтическое применение витамина D

В настоящее время широко распространена терапия большими дозами витамина D таких заболеваний, как устойчивого к витамину D рахита (Zetteström, Winberg, 1955), тетании, идиопатического гипопаратиреоидизма (Ström, Winberg, 1954) и других, при которых поглощение и содержание кальция и фосфора в крови низкие. Организм при этих заболеваниях становится более стойким к токсикозу витамином D. Витамин D также применяется в случае отравления свинцом, так как он способствует выведению свинца из организма (Sobel, Burger, 1955).

Из применяемых в настоящее время препаратов витамина D следует указать три—это дигидротрахистерин, витамин D_2 и витамин D_3 . Оказывается, что эффективность лечения зависит как от характера препарата и растворителя, так и способа его введения. Из трех указанных препаратов, лучше всего усваивается витамин D_3 , затем витамин D_2 и дигидротрахистерин (Jesserer, 1955). Усвоение витамина D_3 происходит наиболее быстро при внутривенном введении. Лучше всего усваиваются витамины D в виде воднодиспергированных гидрозолей. Из масляных растворителей наилучшим служит рыбий жир, немного хуже действует оливковое масло, еще хуже арахисовое

масло и совсем не усваивается витамин D, растворенный в парафиновом масле. Различие дигидротрахистерина и витамина D состоит в том, что первый действует на человека аналогично витамину D, но только в высоких дозах и притом амплитуда между терапевтическими и токсическими дозами гораздо меньшая, чем в случае витаминов D₂ и D₃ (Carlsson, Lindqvist, 1955). Поэтому нет оснований предпочитать его витамину D для лечения гипопаратирозидизма.

При внутримышечном введении масляных растворов три указанные вещества показали совершенно различную активность. Тогда как введение витамина D₃ повышало содержание кальция в крови, витамин D₂ был способен лишь поддерживать нормальное содержание его, а дигидротрахистерин оказался неспособным даже поддерживать кальций на нормальном уровне. При пероральном или внутривенном введении все эти вещества повышали кальций в крови, но также эффективнее в форме гидрозолей.

Витамин D₂ в форме гидрозоля повышает кальций в крови даже при внутримышечном введении. Это указывает, что витамин D₂, инъецированный в масляном растворе, очень долго сохранялся в том месте, куда был инъецирован. Поэтому внутримышечное введение витамина D₂ полезно там, где требуется медленное, но длительное его действие, например, при профилактике рахита у детей. Быстрое резорбционное действие препаратов витамина D₃ или витамина D₂, введенного внутривенно в виде гидрозоля, требуется там, где необходимо быстрое действие, например при рахитогенной тетании грудных детей (Jesseger, 1955). При введении различных витаминов D следует также учитывать дозировку. При быстрой резорбции витамина организмом следует применять меньшую дозу и наоборот.

При терапевтическом применении витаминов D во избежание отравления следует всегда определять степень гиперкалькемии, которая предшествует гиперкальциемии (Zetteström, Winberg, 1955). Лучшим показателем служит определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови.

В заключение следует упомянуть о видовом различии действия витаминов D. Мы уже указывали, что витамин D₃ примерно в 25 раз активнее на цыплятах, чем на крысах.

Оказывается, имеется также видовое различие в действии дигидротахистерина и витамина D_2 на человека и на крыс.

Тогда как большие дозы дигидротахистерина и витамина D_2 на человека действуют одинаково, на крыс они действуют различно. В отличие от витамина D_2 дигидротахистерин действовал только при пероральном введении, не повышая при этом фосфора в крови, но повышая выделение с мочой как кальция, так и фосфора. Таким образом, у крыс дигидротахистерин удалял кальций и фосфор из костей (Talmage, Dodds, 1955), тогда как витамины D_2 и D_3 такого действия не оказывали.

Витамины D_2 , а также и D_3 применяются в виде таблеток, в масляном, спиртовом и водном растворах, обычно в дозах 5, 10 и 15 мг (или соответственно 200 000, 400 000 и 60 000 и. е.), причем профилактические дозы 5 и 10 мг, а терапевтические—10 и 15 мг (Swoboda, 1954).

В профилактических целях, детям в возрасте от 2 до 10 лет, в настоящее время рекомендуют таблетки кальципота D_3 , содержащие 600 и. е. витамина D_3 , 28% лимоннокислого кальция и 8% фосфорнокислого кальция (Klimczyk, 1956).

Для профилактики и терапии рахита сельскохозяйственных животных в практике широко применяется облучение ультрафиолетовыми лучами ртутно-кварцевой лампы или другого источника, о чем говорилось раньше.

Потребность в витамине D

Минимальная ежедневная потребность взрослого человека в витамине D равна 1000 и. е. (или 0,025 мг), беременным и кормящим женщинам требуется то же количество. Детям до 10 лет ежедневно требуется минимально от 400 (Muller, 1956) до 600 и. е. (Klimczyk, 1956). Это количество витамина D повышает рост детей.

Стельным коровам перед отелом ежедневно требуется 7500 и. е. витамина D_2 для максимального привеса их телят (Валдман, 1953). Овцы и бараны особенно чувствительны к рахиту и поэтому для максимального роста, привеса и эффективности усвоения корма им требуется до 270 000 и. е. витамина D_2 (Neseni и. andere, 1954), а в зимнее время при стойловом содержании (с конца декабря по март) до 2 000 000 и. е. витамина D_2 (Dunlop, 1954).

Таблица 85

Суточные нормы витаминов D₃ и D₂ (в и. е.) для сельскохозяйственных животных на 100 кг живого веса, птицы—на 1 голову

Животные	Витамин D ₃	Витамин D ₂
<i>Крупный рогатый скот</i>		
Коровы и телята	1000	1 000
Взрослые воли и быки-производители	500	500
<i>Лошади</i>		
Кобылы и жеребята	1000	1 000
Рабочие лошади и жеребцы-производители	500	500
<i>Овцы и козы</i>		
Матки и молодняк	1000	1 000
Бараны и козлы	500	500
<i>Свиньи</i>		
Матки и поросята	1000	1 000
Хряки-производители	500	500
<i>Кролики (на 1 кг живого веса)</i>		
Крольчихи и крольчата	10	10
Самцы	5	5
<i>Птица (на 1 голову)</i>		
Куры	140	4 000
Индийки	250	10 000
Утки	200	6 000
Гуси	250	8 000
Цыплята в возрасте 1—30 дней	10	300
» » » 30—60 »	20	600
» » » 60—150 »	40	1 200
Индюшата в возрасте 1—30 дней	50	5 000
» » » 30—60 »	100	10 000
» » » 60—150 »	200	10 000
Утята в возрасте 1—30 дней	50	1 500
» » » 30—150 »	100	3 000
Гусята в возрасте 1—30 дней	100	3 000
» » » 30—150 »	200	6 000

Свиньям требуется для максимального роста ежедневно 10 000 и. е. витамина D_2 в виде облученных дрожжей или молока (Neseni, Gastmeiers, 1954).

В таблице 85 представлены нормы суточной потребности витамина D_2 и D_3 сельскохозяйственных животных, разработанные институтами Биохимии АН СССР, Животноводства, Птицеводства, Витаминным, Кормов, институтом Кормления сельскохозяйственных животных и утвержденные в 1952 г. межведомственной комиссией Министерства сельского хозяйства СССР (из сборника «Витаминные ресурсы». Изд. АН СССР, Москва, 1954).

Глава 16

ВИТАМИН Е (токоферол)

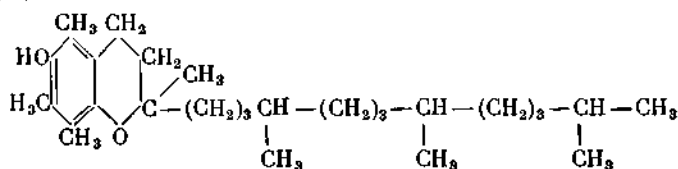
В 1922 году Иванс и Бишоп (Evans, Bishop 1922, 1923) установили бесплодие у крыс, выращенных на искусственной диете, состоящей из 18% казеина, 54% кукурузного крахмала, 15% свиного сала, 9% сливочного масла, 4% солевой смеси и примерно 5% сухих пивных дрожжей. Хотя у самок и сохранялся нормальный половой цикл с регулярно совершающимися овуляциями, нормальным оплодотворением и имплантацией развивающегося яйца, но развивающийся плод резорбировался и погибал. У самцов гораздо раньше наступали дегенеративные изменения сперматозоидов, при этом последние теряли способность к оплодотворению, а затем наступала атрофия зародышевых клеток, прекращение выделения спермы (Evans, Bugg, 1927). Авторы предположили, что эти дефекты были обусловлены отсутствием в пище подопытных животных какого-то вещества. Добавление к такой диете рыбьего жира, как источника витаминов А и D, или сока апельсинов, как источника витамина С, не устраняло вышеуказанных дефектов. В то же время введение в диету большого количества сливочного масла или листьев салата полностью восстанавливало плодовитость животных. Те же явления бесплодия были обнаружены у крыс, питавшихся только одним молоком (Mattill, Conklin, 1920).

В ряде последующих работ Шура (Sure, 1924, 1925, 1926, 1927) было окончательно установлено существование нового пищевого фактора, названного витамином Е.

Дальнейшие исследования (Olcott, 1938. Evans, Emerson, Telford, 1938) физиологического действия витамина Е показали, что оно связано не только с функцией половой системы. У животных, страдающих хроническим авитаминозом Е, были обнаружены дегенеративные изменения

в поперечнополосатой мускулатуре—так называемая мышечная дистрофия. В результате этого сила сокращения мышцы падала приблизительно в 1,5 раза.

Наиболее богатым источником витамина Е оказалось масло зародышей пшеницы. При омылении этого масла, витамин Е переходил в неомыляемую фракцию (Evans, Bugg, 1927). В 1936 году Ивансу с сотрудниками (Evans, Emerson, Emerson, 1936, 1938, 1939) удалось выделить из этой фракции вещество в форме аллофанового эфира, обладавшего высокой активностью витамина Е. После гидролиза и выделения в свободном виде это вещество было названо α -токоферолом (tocos—роды, phero—производить). Его эмпирическая формула оказалась $C_{29}H_{50}O_2$. На основании изучения (Fernholtz, 1938) продуктов распада и выполненного синтеза (Karrer a. oth., 1938) α -токоферола из триметилгидрохинона и фитилбромида, была уточнена структура α -токоферола. Молекула α -токоферола имеет следующую структуру:



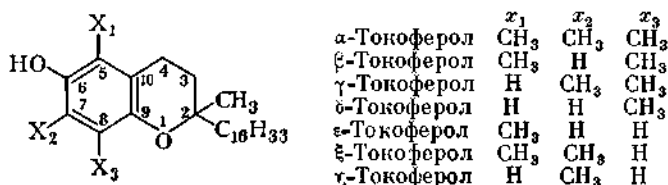
Химическое строение и физико-химические свойства витаминов Е

В процессе изучения витамина Е был синтезирован пентаметил 6-оксихроман (Smith, a. oth., 1938), не обладавший активностью витамина Е, и было доказано, что он входит в состав молекулы токоферола. Тем самым была подтверждена хромановая структура, предложенная Фернхольцем (Fernholtz, 1938) для α -токоферола.

Из естественных источников были выделены в 1937 году (Emerson a. oth., 1938) три токоферола (α -, β - и γ -токоферолы), в 1947 году (Stern a. oth., 1947) четвертый— δ -токоферол, в 1953 году Эггиттом (Eggitt, Ward, 1953) был выделен из пшеницы пятый— ε -токоферол. В 1955 году из злаковых зерен Грином с сотрудниками (Green, Marcinkiewicz, Watt, 1955) был выделен шестой ξ -токоферол, которого в ячмене оказалось 44% от всех токоферолов (Bunyan, Greena. oth., 1957) и, наконец, в 1956 году тому

же автору (Green) удалось изолировать и седьмой— η -токоферол.

Все семь токоферолов отличаются друг от друга только различным расположением метильных групп в хромовом ядре в положении x_1 , x_2 и x_3 , изображенных на нижеприведенной схеме, тогда как боковая цепь у них одинаковая, соответствующая остатку высокомолекулярного спирта фитола ($C_{16}H_{33}$).



Для этих соединений Каррер (Karrer, Fritzsche, 1938) предложил более упрощенное название. Все соединения, лишенные метильных групп в бензольном ядре, он назвал токолом, тогда α -токоферол должен быть обозначен 5,7,8-триметилтоколом, β -токоферол—5,8-диметилтоколом, γ -токоферол—7,8-диметилтоколом, δ -токоферол—8-метилтоколом, ϵ -токоферол—5-метилтоколом (Eggitt, Norris 1955, 1956), ξ -токоферол—5,7-диметилтоколом и η -токоферол—7-метилтоколом.

Природный α -токоферол медленно (в течение 8—10 дней) кристаллизуется из метилового спирта при охлаждении до -35° в виде прозрачных игл с температурой плавления $2,5-3,5^\circ$ (Robeson, 1943). При кристаллизации γ -токоферола в тех же условиях выделялась группа бесцветных игл с температурой плавления $3-2^\circ$ ниже нуля. Остальные токоферолы выкристаллизовать не удалось.

Синтетический α -токоферол кристаллизовался в тех же условиях при заражении его кристаллами естественного α -токоферола и плавился при 0° . Физико-химические свойства синтетических токоферолов одинаковы с таковыми естественных за исключением удельного вращения. В таблице 86 представлены удельное вращение и коэффициенты экстинкции в области максимума поглощения всех токоферолов.

Как видно, все токоферолы обладают примерно одинаковым максимумом поглощения, тогда как удельное вращение их от α - к η -токоферолу закономерно передвигается от положительного к отрицательному.

Таблица 86

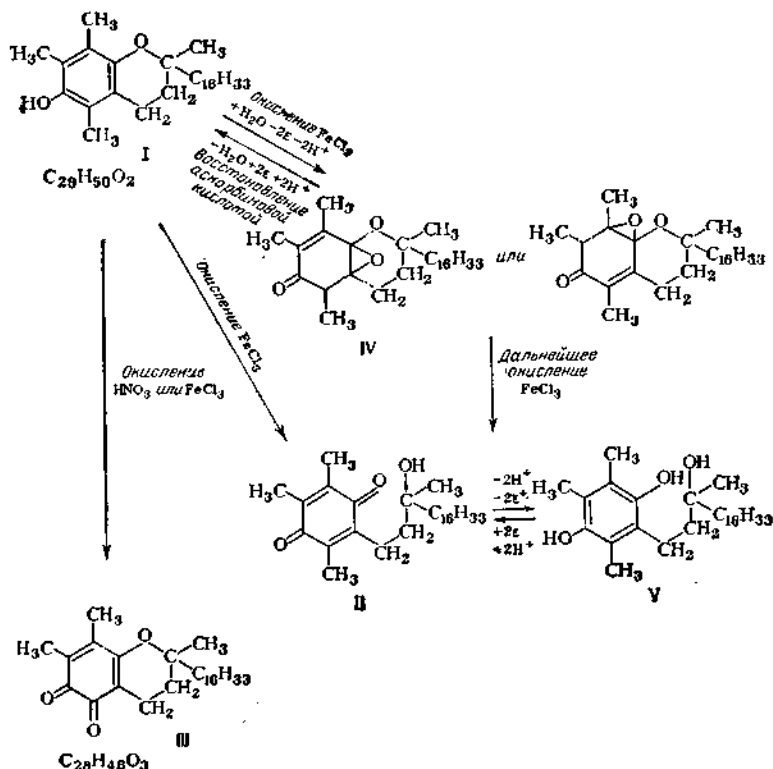
Удельное вращение и коэффициенты поглощения натуральных токоферолов

Токоферолы	Удельное вращение (при длине трубки 1 дм)				Коэффициент экстинкции	
	в спиртовом растворе		в бензиновом растворе		в области максимума (в мμ)	в спирте E 1% 1 см
	$[\alpha]_{D}^{25}$ _{46,1}	концентрация (в г/100 мл)	$[\alpha]_{D}^{25}$ _{46,1}	концентрация (в г/100 мл)		
α-Токоферол. . .	3,4	15,48	1,1	10,86	292	75,8
β-Токоферол. . .	2,9	7,15	0,9	8,00	295	89,4
γ-Токоферол. . .	2,2	9,32	-2,4	8,59	295	87,5
δ-Токоферол. . .	0,32	14,28	-3,0	13,50	298	91,4
ε-Токоферол. . .	—	—	—	—	298	87,3

Из химических свойств токоферолов наиболее важным является их отношение к окислителям: к хлорному железу или золоту и азотной кислоте или азотнокислому серебру. На интенсивности окраски образованных при этом продуктов реакции и основаны химические методы определения токоферолов. При окислении α-токоферола хлорным железом в метилово-спиртовом растворе в присутствии 2,2'-дипиридила при 50° (по Эммери) (Emmerie, Engel, 1938) получается несколько продуктов окисления. Из них было найдено (Frampton a. oth., 1952, 1954) только 10% продукта окисления с разрывом хроманового кольца α-токоферола (I)—α-токоферил-хинона (II), а 42% оказались идентичными α-токоферил-красному (III), полученному ранее (Furter, Meyer, 1939), при окислении α-токоферола азотной кислотой. Среди остальных продуктов окисления оказался продукт промежуточного окисления α-токоферола—α-токофероксид (IV), (Boyer, 1951). α-Токофероксид может быть обратно восстановлен в α-токоферол аскорбиновой кислотой или гидросульфитом натрия или дальше окислен в α-токоферилхинон (II). При подобном же восстановлении α-токоферилхинона образуется не α-токоферол, а α-токоферилгидрохинон (V). Поэтому в то время как окисление α-токоферола в α-токофероксид можно считать обратимым, окисления его в α-токоферил-

хинон или в α -токоферил-красный — необратимыми. В отсутствие 2,2'-дипиридила образуется больше α -токоферилхинона и α -токоферил-красного и незначительное количество α -токофероксида. Очевидно, наличие 2,2'-дипиридила создает реакцию среды, благоприятную для образования α -токофероксида.

Все окислительно-восстановительные превращения α -токоферола можно изобразить следующей схемой:



Аналогично dl, α -токоферолу окисляются и dl, β -, dl, γ -, dl, δ - и dl, ϵ -токоферолы. Обратимые продукты окисления указанных токоферолов аналогичны α -токофероксиду. Однако γ -токоферол дает более интенсивную окраску (примерно на 22%), вероятно вследствие большего процента образования δ -тоферил-красного (Ames, Haggis, 1950). При окислении вышеуказанным путем ϵ -токоферола

получается α -токоферилхинон, идентичный β -токоферилхинону (Eggitt, Norris, 1956).

Приводим максимумы поглощения и величины E вышеуказанных продуктов окисления токоферолов.

Таблица 87

Название продукта	Максимум поглощения (в м μ)	Величина E 1% 1 см
α -Токоферол	292	71,0
α -Токофероксид	241	—
α -Токоферилхинон	260	435
α -Токоферил-красный	460—480	317
δ -Токоферил-красный	435	—

Стабильность токоферолов к окислению понижается от δ -, γ -, β - к α -токоферолу. Так же понижается и их антиокислительная активность, а биологическая активность повышается от δ -токоферола к α -токоферолу.

Обладая свободной гидроксильной группой в 6-м положении, токоферолы способны давать эфиры и соединяться с диазониевыми солями. Однако γ - и δ -токоферолы легко соединяются, β -токоферол трудно, а α -токоферол совсем не реагирует.

Получение витамина Е

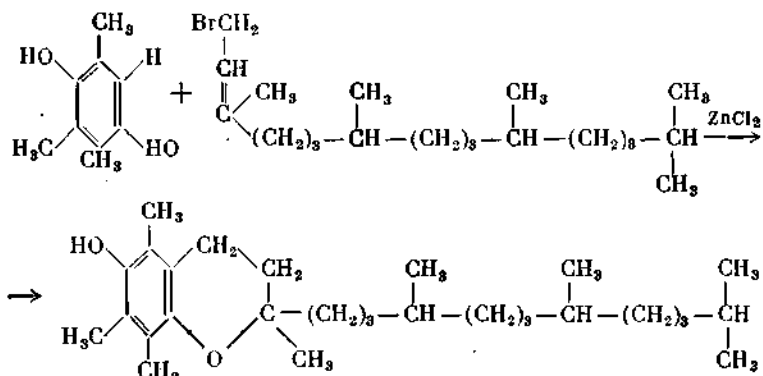
Витамин Е может быть получен как синтетически, так и из естественных источников. Поскольку синтетический метод получения витамина Е связан с очень громоздким и трудоемким получением высокомолекулярного спирта—фитола из хлорофилла листьев крапивы, то получение витамина Е из естественных источников в настоящее время широко практически применяется.

Получение витамина Е из естественных источников. Сырьем при получении витамина служат пшеничные зародыши, содержащие 25—30 мг% витамина Е, из которых 58% приходится на долю α -токоферола и 48%— β -токоферола (Knobloch, Macha, Mnousek, 1952). Масло, полученное из пшеничных зародышей, широко применяется в качестве препарата витамина Е и содержит около 0,3% его. Омылением масла зародышей пшеницы готовят

концентрат витамина Е, содержащий до 15% чистого
витамина Е.

Для получения чистых токоферолов, масло или еще лучше концентрат витамина Е подвергается молекулярной дистилляции.

Синтез α -токоферола, описанный Каррером в 1938 году (Karrer и andere, 1938), является довольно простым и состоит из одной стадии, т. е. конденсации триметилгидрохинона (I) с фитилбромидом (II) в присутствии безводного хлористого цинка в бензиновой среде согласно схеме:



Реакция идет в струе азота при 60—70°. После окончания выделения НВг продукт промывается в воде и очищается хроматографированием в колонке из окиси алюминия.

Аналогичным путем синтезируются β -, γ - и δ -токоферолы, но вместо триметилгидрохинона берутся соответственно параксилогидрохинон, ортоксилогидрохинон или метилгидрохинон.

Фитол получается экстракцией ацетоном из высушенной крапивы, омылением и молекулярной дистилляцией при 10^{-4} мм остаточного давления. Из 1 кг сухой крапивы образуется 3 г фитола.

Бiosинтез витамина Е

Животные неспособны синтезировать токоферолы. Это подтверждают отрицательные результаты опытов по введению животным фитола вместе с триметилгидрохиноном (Emerson, Emerson, Evans, 1939. Golumbic, Mattill,

1940, 1941. Wright, Drummond, 1940). Наоборот, зеленые листья растений синтезируют токоферолы. В биосинтезе витамина Е, по-видимому, принимает участие фитол, используемый в растениях для построения хлорофилла. Это подтверждается тем, что витамин Е в растительных клетках сконцентрирован преимущественно в хлоропластах, где концентрация его достигает 0,08% (на сухое вещество), в то время как протоплазма содержит лишь 0,002% (Schopler, 1943). Особенно интенсивно биосинтез витамина Е идет в молодых ростках злаков.

Биологическая активность токоферолов и их производных

Как указывалось, токоферолы обладают антистерильной и антидистрофической активностью, а также и антиоксидативными свойствами. При этом биологическая активность природных токоферолов понижается с повышением их антиоксидативных свойств. Если принять биологическую активность природного *d*, α -токоферола и антиоксидативную активность в стабилизации витамина А ацетата в оливковом масле при 39° за 100%, то активности остальных природных токоферолов будут находиться в последовательности, указанной в таблице 88 (Boyer, 1951).

Таблица 88

Сравнительные биологические и антиоксидативные активности природных токоферолов (в % от *d*, α -токоферола)

Токоферолы	Биологическая	Антиоксидативная
<i>d</i> , α -Токоферол	100	100
<i>d</i> , β -Токоферол	40	130
<i>d</i> , γ -Токоферол	4 или 8,3	180
<i>d</i> , δ -Токоферол	1	270
<i>d</i> , ϵ -Токоферол	20	—
<i>d</i> , ζ -Токоферол	52	—
<i>d</i> , η -Токоферол	3	—

Антистерильная доза для крысы равна 0,75 мг *d*, α -токоферола ежедневно (Joffe, Harris, 1943).

Естественный *d*, α -токоферол обладает 136%-ной активностью синтетического *dl*, α -токоферола (Harris, Ludwig, 1949). При наличии свободной гидроксильной группы

в 6-м положении, токоферолы дают соответствующие эфиры, которые либо обладают такой же биологической активностью, либо несколько более высокой, чем соответствующий свободный токоферол. Так, α -токоферил-сукцинат обладает 162% активности α -токоферола (Tobin, 1950; Week a. oth., 1952). Это происходит вследствие большей устойчивости эфиров по сравнению со свободным токоферолом.

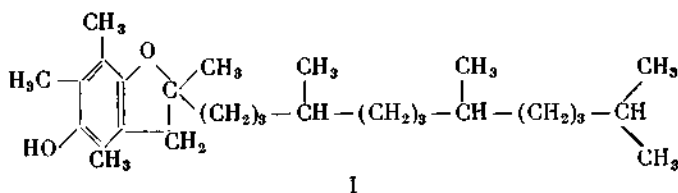
Биологическая активность (антистерильная) довольно специфична, она зависит от наличия одной (как в δ -токофероле) или нескольких (как в α -токофероле) метильных групп в карбоциклическом кольце. Устранение метильных групп α -токоферола или замена их этильными дает продукты с пониженной биологической активностью. Кроме того, активность зависит от свободной или эстерифицированной гидроксильной группы в 6-м положении, а также 4, 8, 12-триметилтридециловой и метильной группы во 2-м положении (Boyer a. oth., 1951). Замена 4, 8, 12-триметилтридециловой боковой цепи на прямую алкильную цепь из 12—17 углеродных атомов не нарушает биологическую активность. Однако удлинение или укорочение указанной боковой цепи на несколько изопреновых единиц заметно понижает биологическую активность, а замена ее на метильную группу совершенно уничтожает активность. Замена метильной группы во 2-м положении этильной или пропильной понижает биологическую активность.

Особенно важны для биологической активности метильные группы при 5, 7 и 8 углеродных атомах токоферола, и устранение их сильно понижает активность любого токоферола.

Наиболее активен α -токоферол, устранение в нем метильной группы в положении 7 или 8 понижает биологическую активность примерно в два раза (Feldheim, 1956; Vinyan, Green, Mamalis, Marcinkiewicz, 1957), а устранение обеих метильных групп еще более снижает активность.

Замена хроманового кольца в α -токофероле кумарановым сильно понижает, но не лишает Е-витаминной активности в опытах на плодовитость крыс (Karrer u. andere, 1948; Smith, Boyack, 1948). Соединение (I) предохраняет крысу от бесплодия в ежедневной дозе 40 мг (по сравнению с 0,75 мг α -токоферола). При перемещении CH_3 -группы от углеродного атома в положении 2 кумара-

нового кольца в боковую цепь или удлинение, или укорочение боковой цепи в соединении (I) получают производные кумарана с еще более низкой активностью, чем соединение (I) (Karrer u. andere, 1948).

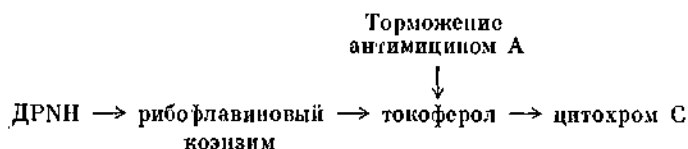


Исследование биологической активности продуктов окисления α -токоферола показало, что в то время как α -токофероксид обладает хотя и более слабой (вследствие его малой устойчивости) антистерильной активностью (Karrer, Düg, 1949) α -токоферилхинон и α -токоферилгидрохинон совершенно лишены последней (Mackenzie, Mackenzie, 1953). В то же время α -токоферилхинон и его гидрохинон обладают сильной антидистрофической активностью эквивалентной таковой α -токоферола (Mackenzie a. oth., 1950, 1951), 5 мг α -токоферилгидрохинона или α -токоферола, введенные внутривенно, понижали экскрецию креатина и устраняли мышечную дистрофию у Е-авитаминозных кроликов. Причем α -токоферилхинон или его гидрохинон, введенные даже в больших дозах, не повышают содержания α -токоферола в крови, следовательно, в организме они не превращаются в токоферол, а действуют как таковые. Поэтому в отличие от α -токоферола (антистерильного витамина), их можно считать антидистрофическими витаминами (Mackenzie, Mackenzie, 1953). Подобной же антидистрофической активностью обладают и дифосфатные и дисукцинатные эфиры, тогда как ацетатные эфиры α -токоферилгидрохинона инактивны.

Биокаталитические свойства витамина Е

Экстрагированной изookтаном из тканей животных ДРН-цитохром С редуктазе необходимо добавить для активации токоферол (Nason, Lehman, 1955). Добавление вещества, извлеченного изookтаном из кипяченого энзима, к вышеуказанному апоферментному препарату восстанавливает его активность. Это вещество не содержит

свободного токоферола, но, вероятно, содержит токоферол, связанный с липовой фракцией. Его назвали липовым кофактором. Небольшие концентрации антимицина тормозят на 40—70% энзиматическую реакцию и добавление α -токоферола снимает это торможение. Поэтому весь процесс переноса водорода на цитохром С схематически можно изобразить следующим образом (Nason, Lehman, 1955, 1956):



Аммониево-сульфатная фракция грудной мышцы человека после обработки изоктаном также заметно повышала активности янтарной дегидразы и ДРН-цитохром С редуктазы с добавлением α -токоферола. Это указывает на функциональную потребность человека в витамине Е.

Очищенная ДРН-цитохром С редуктаза не активируется токоферолом. Очевидно, в процессе очистки удаляется липовая часть, образующая с токоферолом липовый кофактор (Nason, Lehman, 1956).

Подобная связанная форма токоферола имеется и в растительных продуктах. Так, из люцерны, в 100 г которой содержится токоферола 9,3 мг (по Bunnell, 1957) и 7,3—22 мг (по Ames, 1956), цыпленком усваивается только $\frac{1}{3}$ витамина Е, определяемого химически. Связанный токоферол в масле люцерны освобождается в результате гидролиза и молекулярной дистилляции, применяемых при химическом анализе. На подобную же связанную форму токоферола в растительных маслах указал Савинов с сотрудниками (1958), для освобождения токоферола из которых требовался 8-часовой гидролиз при 180° или адсорбция на бентоните с последующим извлечением из него токоферола бензолом.

Физиологическое действие витамина Е

Ни один из витаминов не имеет столько разнообразных биологических процессов, как витамин Е. Ниже мы увидим, что, кроме антистерильных и антидистрофических функций, витамин Е обладает также и другими функциями:

повышает использование белка и витамина А, нормализует свойства крови и гормональной системы, предохраняет от некроза печени, дегенерации почечных канальцев (Moore a. oth., 1958) и устраняет депигментацию резцов и пигментацию тканей. Хотя механизм многих, очевидно вторичных действий токоферола остается неясным, но все же в настоящее время доказано его основное биологическое действие, которое может вызвать и все остальные. Еще в 1933 и 1937 годах Кудряшев указал, что основной функцией витамина Е является его участие в липидном обмене, и показал, что стерильность у животных, возникающая от введения им продуктов распада жиров, очень близка таковой, возникающей от авитаминоза Е. Оказывается, что таким основным и первичным свойством токоферола является предохранение от окисления ненасыщенных жирных кислот. Разберем это свойство витамина Е.

Антиокислительное действие витамина Е. За последнее время было установлено (Moore, Sharman, Ward, 1953, 1954), что некоторые симптомы недостатка витамина Е могут быть устранены включением в Е-авитаминозную диету метиленовой сини. Оказалось, что метиленовая синь не предохраняет Е-авитаминозных крыс-самок от рассасывания плода, она также не устраняет гемолиз эритроцитов диалуровой кислотой (Rose, György, 1949, 1950, 1952. Friedman a. oth., 1958) или дегенерацию печени (см. ниже), но в количестве 0,032% в диете она предупреждала и устраняла коричневую пигментацию матки и почек и повышала вес крыс в начальной стадии мышечной дистрофии. То же действие оказывали и некоторые другие краски, обладавшие окислительно-восстановительными свойствами, например: биндшедлеровская и малахитовая зелени, розанилин, метилфиолет и тиодифениламин. Оказалось, что биксин (Kunkel, Nelson, 1950), как и токоферол, предохраняет от окисления каротин и линоленовую кислоту.

Из всех антиоксидантов наиболее активен NN'-дифенилпарафенилендиамин (ДФФД). В количестве 0,125% в диете, лишенной витамина Е, он предохраняет крыс от коричневой окраски матки, предупреждает дегенерацию семенников и лабильность эритроцитов, т. е. те нарушения, которые не устранялись другими антиоксидантами, кроме витамина Е (Sharman, Moore, 1958). В опытах

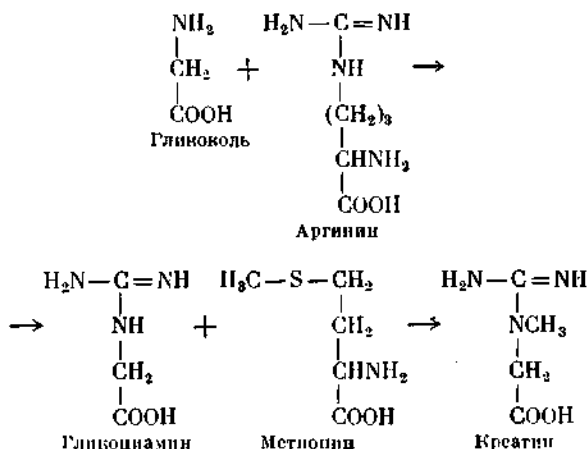
на лактирующих молочных коровах ДФФД в дозе 0,01% на сухой вес корма заменял витамин Е. Так же как витамин С, ДФФД, во-первых, тормозил катализ окисления жиров молока солями меди, которые коровы потребляли с кормами, вследствие чего молоко их приобрело приятный запах, во-вторых, повышал процент жира в молоке, каротин, витамин А и токоферол в молоке и плазме крови (De Luca a. oth., 1957). Отсюда стало ясным, что физиологическое действие токоферола в основном сводится к участию его в окислительно-восстановительных системах.

При длительном содержании мышей, крыс, свиней и других животных на Е-авитаминозной диете у них депигментируются резцы, а в различных тканях появляются желтовато-коричневые пигменты (Mattill, 1952), особенно в жировой ткани (Robinson, Coey, 1951).

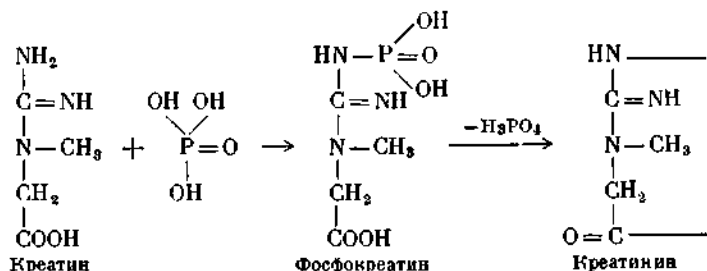
В отсутствие витамина Е, гемоглобин, или входящий в состав его гем, катализирует окисление ненасыщенных жирных кислот до соответствующих пероксидов и альдегидов. Полученный пероксид или альдегид дает кополимер с аминокгруппами протеинов, который и представляет собой вышеуказанный пигмент (Tappel, 1955). При этом протеин, вошедший в состав кополимера, теряет свои физико-химические свойства. Гем цитохрома С или гемоглобина начинает одновременно окисляться с освобождением железа. Присутствующий при этом витамин А или каротин также сопряженно окисляется, следуя цепной реакции окисления свободного радикала (Tappel, 1952, 1953, 1954). Добавление к этой системе *in vitro* метиленовой сини, тионина или токоферола задерживает это окисление. Механизм действия метиленовой сини, тионина, триптофана и некоторых других соединений сводится к непосредственному присоединению их через атом азота к каталитически активному атому железа железо-порфириновой группы, при этом образуются неактивные гемахромы. Однако α -токоферол или другие фенольные антиоксиданты тормозят геминный катализ несколько иным путем, чем метиленовая синь и другие указанные соединения. Именно, α -токоферол может не только предохранить от образования жирных пероксидов, но также и разрушить их и тем самым устранить предшественника пероксидативного гематинового катализа. Очевидно, α -токоферол так же действует и в опытах *in vivo*.

Антидистрофическое и креатиновое действие токоферолов. Впервые Иванс наблюдал параличи у крысят, воспитывавшихся на молоке матерей, питавшихся пищей, бедной витамином Е. Позднее было подтверждено, что диета, лишенная витамина Е, приводит к дегенерации, параличам и слабости скелетной мускулатуры у крыс (Olcott, 1938. Evans a. oth., 1938), кроликов (Mackenzie, Mc Collum, 1940), морских свинок, собак и цыплят. Тогда же было указано (Morgulis a. oth., 1938. Morgulis, Spenser, 1936), что мышечная дистрофия при Е-авитаминозе всегда сопровождается креатинурией.

Креатин в животном организме образуется метилированием гликоцидамина метионином:



Образованный креатин в мышцах подвергается фосфорилированию в фосфокреатин, последний, отщепляя фосфорную кислоту, превращается в креатинин:



Последний выделяется с мочой. Оказывается, при Е-авитаминозе нарушается процесс фосфорилирования креатина (Melville, Hummel, 1951) и тем самым образования креатинина из креатина, а также перенос фосфата от креатин-фосфата на гексозомонофосфат (Carpenter a. oth., 1958). Это было подтверждено также повышением содержания креатина в печени, почках и крови и повышением выделения креатина с одновременным сильным понижением выделения креатина с мочой (Hove, Hardin, 1952) у Е-авитаминозных животных. Григорьева (1951) установила, что это понижение фосфорилирования креатина связано с понижением содержания аденозинтрифосфата (АТФ) и фосфорилирующих и гликолитических ферментов: фосфорилазы, фосфоглюкомутазы и альдолазы. При этом активность ферментов, расщепляющих АТФ, оставалась неизменной (Фердман, Местечкина, 1950, 1951). Вследствие этого в дистрофических мышцах Е-авитаминозных животных резко понижен и гликолиз. Поэтому дистрофической мышцей используется энергия повышенного дыхания. Неспособность к образованию макроэргических соединений (АТФ и креатин-фосфата) и большая интенсивность фосфорного обмена (Фердман, Григорьева, 1952) указывают на нарушение специфических энзиматических систем, фосфорилирующих креатин и аденозин-фосфат. Это подтверждается резким снижением содержания миозина в дистрофических мышцах с заменой его коллагеном (Фердман, 1953). Резкое снижение синтеза миозина, обладающего аденозинтрифосфатазной активностью, вызвано, вероятно, снижением восстановительных реакций, которые поддерживают витамин Е. Поэтому введение АТФ Е-авитаминозным кроликам замедляет развитие у них дистрофического процесса и нормализует процессы обмена, временно понижает креатин в моче, но не устраняет полностью Е-авитаминоз и животные все же умирают от дистрофии.

Инъекция предшественников креатина, меченных радиоизотопом (C^{14} -формата и 1 или 2 C^{14} -глицина), крысам (Dinning, 1955) и кроликам (Dinning, 1956) показала, что тогда, как у крыс, при недостатке витамина Е сильно повышалась экскреция креатина и понижалось выделение креатина, включение меченых предшественников было одинаково повышено в выделяемом креатине и креатинине. Еще большее повышение включения меченых предшественников креатина было найдено у дистрофических кроликов.

Это указывает, что витамин Е участвует в удерживании креатина в мышцах, очевидно в фосфорилированной форме.

Встречающиеся случаи дистрофии у людей, однако, не всегда могут быть устранены введением витамина Е, хотя имеется резкая креатинурия и другие клинические признаки, характерные для мышечной дистрофии при авитаминозе Е. Такая дистрофия может быть также образована холиновой недостаточностью в диете (Hove, Copeland, 1954), в результате чего нарушается процесс образования ацетилхолина и тем самым передача нервных импульсов к мышце. Однако для образования ацетилхолина необходим коэнзим А с восстановленной сульфгидрильной группой, для сохранения которой требуется витамин Е. Действительно, добавление 1% ацетилхолина к диете кроликов понижает потребность их в витамине Е. Поэтому недостаток витамина Е может также служить причиной дистрофии мышц вследствие неспособности ацетилировать холин.

Антистерильное действие токоферола. Половые органы наиболее чувствительны к недостатку витамина Е. В то время как другие ткани еще не обнаруживают никаких изменений от недостатка витамина Е, в половых органах они уже явно проявляются.

Кудряшев (1940) указывал на дегенеративные изменения ядер и цитоплазмы клеток Сертоли в зародышевой части семенников крыс. Описаны (Coujard, Daum, 1954) поражения матки Е-авитаминозных крыс, характеризующиеся склерозом слизистой. В то время как гормональная реакция такой матки еще не уничтожена, фиксация яйца в ней затруднена и плод нормально не развивается. Повреждения, вызванные авитаминозом Е, связаны с дегенеративными изменениями ганглиозных клеток в половых органах, которые их иннервируют. Эти изменения проходят постепенно и состоят в вакуолизации, уплотнении и атрофии ядер.

Антистерильное действие витамина Е у самцов представляется следующим образом (Lindahl, Kihlström, 1954). Поверхность головки сперматозоида способна вызывать агглютинацию, которая необходима при оплодотворении, но является вредной для сперматозоидов, так как агглютинированные сперматозоиды не способны к оплодотворению. Предстательная железа вырабатывает протейд—

антагглютин спермы, препятствующий агглютинации сперматозоидов. Из этого протеида отщепляется активная группа, которая существует как в восстановленной, так и в окисленной форме, из которых биологически активна только восстановленная форма. Оказывается, в состав активной группы, кроме сахара и сульфгидрильного соединения, входит также α -токоферол, который поддерживает ее в восстановленной биологически активной форме.

Действие витамина Е на кровь. Кровь новорожденных детей чувствительна к гемолизу перекисью водорода, которая устраняется с введением витамина Е как *in vivo*, так и *in vitro* (György a. oth., 1952. Gordon a. oth., 1953). Это явление объясняется физиологическим недостатком витамина Е, так как плацентарный барьер у человека в отличие от крыс и других животных непроницаем для витамина Е и поэтому введение α -токоферола женщине в течение последних дней беременности не предупреждает чувствительность эритроцитов новорожденного к гемолизу перекисью водорода. Устранение этого свойства перекиси водорода витамином Е, очевидно, также основано на его восстановительных свойствах. Этот гемолитический тест с перекисью водорода или с диалуровой кислотой—продукт восстановления аллоксана—был предложен Гиорги (György a. oth., 1949; Rose, György, 1949, 1950, 1952) для диагноза Е-авитаминозного состояния. При воздействии кислорода под давлением (5 атм) красные кровяные шарики крыс с недостатком витамина Е гемолизировались. Этот гемолиз предупреждался токоферолом, но не метиленовой синью или другими антиоксидантами (Taylor, 1956).

Фридман с сотрудниками (Friedman a. oth., 1958) уточнил метод определения витамина Е с помощью гемолиза эритроцитов крыс с недостатком витамина Е диалуровой кислотой и нашел его крайне специфичным для токоферолов. При чем дифенилпарафенилендиамин, как и другие антиоксиданты, не обладал активностью витамина Е. Ацетатные эфиры α -токоферолов обладали такой же активностью, как и свободные α -токоферолы. Активность d- α токоферола была на 33% больше, чем активность его рацемической формы, а d, γ -токоферол обладал лишь $\frac{1}{3}$ активности dl, α -токоферола.

Следует также отметить антитромбинные свойства α -токоферола в присутствии кальция, благодаря способ-

ности токоферола связывать протромбин. Поэтому α -токоферол также предохраняет от тромбо-эмболий и может быть рекомендован как профилактическое средство (Wilson, Parry, 1954).

Действие витамина Е на белковый обмен и некроз печени. Между витамином Е и белковым обменом существует тесная связь. Животные лучше себя чувствуют на диете, лишенной белка, если они получают витамин Е. У крыс, на диете, бедной казеином и лишенной витамина Е, быстро образуется сильный некроз печени. Добавление к такой диете казеина до физиологического уровня или серусодержащих аминокислот (метионина или цистина) ослабляет явления некроза (Goettsch, 1951). Такие крысы проявляли стерильность и мышечную дистрофию, типичные для недостатка витамина Е, но не обнаруживали повреждений печени. С другой стороны, добавление витамина Е к такой диете также предохраняло крыс от некроза печени, но, кроме того, вызывало небольшое ожирение печени, которое устранялось метионином. Некроз печени, вызванный недостатком метионина, излечивается токоферолом (Kemeny и. andere, 1949). Это указывает, что витамин Е принимает участие в метилировании.

Оказывается, что при недостатке витамина Е одновременно с креатинурией отмечается и выделение с мочой свободных аминокислот (аминоацидурия) и ксантуреновой кислоты (Dinning, 1953). У пациентов, страдающих мышечной дистрофией на почве Е-авитаминоза, отмечалось (Hurley, Williams, 1955) повышенное выделение следующих аминокислот: лейцина, таурина, треонина, валина, глицина, серина, а также и пониженное выделение креатинина. При тяжелой мышечной дистрофии вследствие недостатка витамина Е в мышце кроликов повышалось содержание большинства свободных аминокислот, за исключением глицина, аргинина и лизина, содержание которых понижалось (Tallan, 1955). Было понижено также содержание дипептидов карнозина и ансерина (Шабанова, 1953. Tallan, 1955). Это повышение аминокислот в дистрофической мышце является следствием ее повышенной протеолитической активности (Weinstock, Gardrich, Milhorat, 1955), а также большим содержанием глутамико-щавелевоуксусной аминиферазы. Активность последней в сыворотке ягнят и телят может служить показателем Е-авитаминозного состояния (Blincoe, Dye, 1958).

Введение α -токоферола в диету повышает использование метионина в метилировании гликоциаммина в креатин (Hove, Hardin, 1952) и понижает содержание свободных аминокислот в мышце. Поэтому при низком содержании белка в диете отсутствие витамина Е усугубляет недостаточность в отдельных аминокислотах, что приводит к некрозу печени.

Как известно, повышенная активность ксантин-оксидазы в печени крыс с фолиевой недостаточностью указывала на процессы распада нуклеиновых кислот (выделение осколка их мочевой кислоты с мочой). Оказывается, у Е-авитаминозных кроликов с мышечной дистрофией также обнаруживается очень высокая активность ксантин-оксидазы в печени (Dinning, 1952, 1953), что указывает на тот же процесс распада. Это повышение ксантин-оксидазы наблюдается только в печени и не связано с наличием молибдена в диете (Richert, Westerfeld, 1953). Кролики с недостатком витамина Е выделяют также повышенное количество окисленного продукта пуриновых оснований аллантиина (Young, Dinning, 1951). В то же время у крыс, лишенных витамина Е, обнаруживают повышенное включение формата в нуклеиновые кислоты (Dinning, 1955). У Е-авитаминозных кроликов также гораздо интенсивнее включаются формат и глицин в нуклеиновые кислоты и сильнее окисляется глицин до CO_2 , чем у контрольных (Dinning, Sime, Day, 1955)*.

У обезьян с недостатком витамина Е содержание нуклеиновых кислот в скелетной мышце и спинном мозге повышалось, а креатина в мышцах понижалось (Dinning, Day, 1957). Это указывает, что при Е-авитаминозе повышен оборот нуклеиновых кислот и что витамин Е регулирует обмен этих кислот, вероятно, воздействием на коэнзим, образующийся из фолиевой кислоты.

При дистрофии изменяются физико-химические свойства миозина мышцы кролика. Так, растворимость миозина в 0,1 М КСl понижается уже в ранних стадиях дистрофии (Azzone, Aloisi, 1955).

У крыс-сосунков от матерей, содержавшихся на Е-авитаминозной диете в течение беременности и лактации, наиболее яркие мышечные парезы отмечаются к 21-днев-

* Возможно поэтому предыдущие авторы отмечали понижение глицина в дистрофических мышцах.

ному возрасту, после чего либо они проходят, либо животные погибают. К этому периоду наблюдается особенно сильное отклонение в соотношении белковых фракций в мышце: наиболее сильно понижается содержание актомиозина и повышается нерастворимая фракция протеина (Rumery, Mauer, Mason, 1955). В течение дальнейшего роста, после 18-го дня, у Е-авитаминозных животных количество общих белков постепенно падает, а у контрольных оно продолжает возрастать.

Тогда как скорость оборота нуклеиновых кислот у кроликов при Е-авитаминозе в мышцах повышена, скорость обновления белка в больших полушариях, мозжечке и спинном мозге понижена в среднем на 50% (по данным Палладина, 1956).

Действие витамина Е на углеводный обмен и окислительные процессы. Давно указывалось, что содержание гликогена в печени, сердце и мышцах Е-авитаминозных животных (Bomskov, Kaulla, 1941) или отравленных дифтерийным токсином (Butturini, 1942) было ниже, чем у здоровых животных, и после введения им токоферола содержание гликогена в органах этих животных становилось нормальным. При длительном введении токоферола здоровым животным содержание гликогена в их печени повышается на 17% (Koch, 1952), а падение гликогена в печени крыс при голодании сильно понижается с одновременным введением токоферола (Horn, Bogseh, Altmann, 1955). Смачивание раствором аллоксана изолированной диафрагмы крыс с недостатком витамина Е сильно тормозило поглощение кислорода и глюкозы и синтез гликогена *in vitro* и это торможение аллоксаном было крайне слабым в диафрагме крыс, получавших полноценную диету (Gray, De Luca, 1955). Мышечная ткань крыс с недостатком витамина Е *in vitro* также менее интенсивно образовывала пировиноградную кислоту из глюкозы (Gray, De Luca, 1954). Это может быть следствием повышенного окисления в органах Е-авитаминозных животных (Rosenkrantz, 1955). Окисление промежуточных продуктов цикла Кребса (α -кетоглутаровой, янтарной, фумаровой, яблочной и щавелевоуксусной кислот) гомогенатами печени Е-авитаминозных кроликов в присутствии АТФ было гораздо выше, чем гомогенатами печени здоровых кроликов (Weinstock a. oth., 1954, 1955). Из этого вытекает, что животные с недостатком витамина Е были более чувствительны к высо-

кому давлению кислорода (5 атмосфер O_2) и введение токоферола предохраняло их от тяжелых повреждений легких и центральной нервной системы (Taylor, 1956).

Действие витамина Е на липоидный и минеральный обмен. Мы уже указывали на отношение витамина Е к жировому обмену. Витамин Е способствует нормальному использованию жира, а поэтому богатая жиром диета повышает потребность в витамине Е (Dam, 1952). На полноценной синтетической диете, за исключением витамина Е, кроме характерных симптомов у кроликов и морских свинок отмечалось также значительное повышение холестерина в плазме крови и мышцах, а также и повышение остальных липоидов в мышцах (Cox, Altin-Slater, Ershoff, 1955). У Е-авитаминозных крыс на диете, содержащей 1% холестерина, в противоположность кроликам и морским свинкам, отмечалось большое повышение отложения эстерифицированного холестерина в печени.

В результате недостатка витамина Е нарушается и минеральный обмен. Эванс с сотрудниками (Lu, Emerson, Evans, 1941) отметил повышение общего кислотнорастворимого фосфора и 50—180%-ное повышение кальция в дистрофической скелетной мышце. Сильное понижение креатин-фосфата было обнаружено (Mulder a. oth., 1954) в миокарде кроликов при недостатке витамина Е. Повышение минерального фосфора и понижение креатин-фосфата происходит, вероятно, вследствие пониженной фосфорилирующей способности тканей Е-авитаминозных животных.

Минеральный состав диеты также влияет на тяжесть симптомов Е-авитаминоза. Например, замена $FePO_4$ в смеси минеральных солей диеты на $FeSO_4$ усиливает и ускоряет появление «параличей» недостаточности витамина Е у мышей, даже если их диета содержит следы витамина Е (King, Lee, Visscher, 1955).

Связь витамина Е с другими витаминами. Стабилизирующее действие токоферолов на витамин А. Ежедневное пероральное введение 0,5 мг α -токоферола крысе повышало запасы витамина А в печени при введении 75 мкг витамина А или 130 мкг каротина в масляном растворе (Herbert, Morgan, 1953). Более высокие дозы α -токоферола (1 мг) оказывали незначительное влияние на повышение отложения витамина А. В то же время в присутствии α -токоферола каротин и витамин А оказывались

одинаково активными (Burns a. oth., 1951) и повышенные дозы α -токоферола не вредили образованию витамина А из каротина в тканях (Bieri, 1955).

Содержание витамина А в печени свиней находится в прямой зависимости от отложения витамина Е в сале и жировой ткани. Чем больше отложено витамина Е в сале, т. е. чем больше свиньи получали его с кормом, тем выше содержание витамина А в их печени (Hill, Funkel, 1957). Так же как α -токоферол действовали γ - и δ -токоферолы (Swick, Baumann, 1952). α -Токоферил-ацетат действовал слабее (Carolanne a. oth., 1949) свободного токоферола, если его давали в малых концентрациях, и сильнее (Swick, Baumann, 1952), если давали в больших. Это происходило вследствие того, что α -токоферол максимально накапливался в кишечнике через 5 часов после перорального введения, а после такого же введения α -токоферолацетата — только через 8 часов. Задерживание происходило вследствие слабого гидролиза последнего в кишечнике.

Указывалось (Mackenzie, 1953), что недостаточности витаминов А, В₆ усиливают симптомы Е-авитаминоза. Крысы с недостатком одновременно витамина Е и В₆ обнаруживают более высокое выделение аллантина и креатина, чем при недостатке только одного витамина Е. Добавление каждого из этих витаминов в диету понижает выделение указанных веществ (Young, Dinning, Duy, 1955). Однако, добавление витамина Е не устраняет нарушенный обмен триптофана, вызванный В₆-авитаминозом. Подобное же усиление симптомов повреждений сердечной мышцы у крыс было обнаружено при одновременной недостаточности витамина Е и К (Dessau a. oth., 1954).

Антагонисты витамина Е

Группу веществ, названных антагонистами витамина Е, нельзя отнести к структурным аналогам токоферола. Это — химически совершенно различные соединения, но они вызывают у животных симптомы, аналогичные таковым при Е-витаминной недостаточности и предупреждаемые и устраняемые витамином Е (Hove, 1953, 1955). К таким соединениям относятся ненасыщенные жиры и жирные кислоты, эфиры ортокрезола, четыреххлористый углерод, пиридин, пентахлорнафталин, сульфамидные препараты

(сульфатиазол и сульфатуанидин) и бисульфит натрия. Таким же действием обладали кормовые дрожжи Торула (*Torulopsis utilis*), приготовленные на сульфитной среде. Минеральная часть — зола дрожжей обладала антивитаминными свойствами (Bieri, Briggs, Pollard, 1958). Механизм действия этих соединений один и тот же и состоит в стимуляции перекисидации жира, поэтому они названы прооксидантами.

Ненасыщенные жиры. Одним из представителей таких жиров является рыбий жир. Указывалось, что добавление большого количества его в корм травоядных вызывает мышечную дистрофию (Blaxter a. oth., 1953), предупреждаемую витамином Е.

У свиней на полноценном рационе с 6% рыбьего жира был обнаружен геморрагический некроз печени (Obel, 1953). Пероральное введение витамина Е предохраняло свиней от некроза. Повышение содержания рыбьего жира в рационе до 12% вызывало необходимость больших доз витамина Е, а отсутствие последнего приводило к внезапной смерти животных от типичных симптомов Е-авитаминоза. Хув (Hove, 1955; Hove, Seibold, 1955) обнаружил тот же некроз печени при наличии 2% рыбьего жира и 6% белка в Е-авитаминозном рационе. В печени выживших свиней были обнаружены постнекротические рубцы (рис. 26).

Кроме некроза печени, у вышеуказанных свиней была обнаружена дистрофия мышц с увеличением содержания общего жира в мышцах и понижением процента ненасыщенных жирных кислот.

Содержание токоферола в сердце, печени и селезенке таких свиней понижено, у здоровых оно равно 1,42, 0,96 и 0,59 мг/100 г, а у больных соответственно 0,59, 0,38 и 0,24 мг/100 г (Wanntorp, Obel, 1957).

Однако такое действие не специфично для рыбьего жира, ибо соевое, кунжутное и подсолнечное масла, лишенные своего токоферола, или свободная линолевая кислота вызывали то же действие.

Эфиры ортокрезоло встречаются в природе во многих древесных породах. После приема спиртового экстракта Ямайского имбирного корня, у людей возникали параличи вследствие отравления триортокрезолфосфатом. Подобные же параличи были вызваны и у экспериментальных животных (кроликов, цыплят и телят) введением 6,1 г

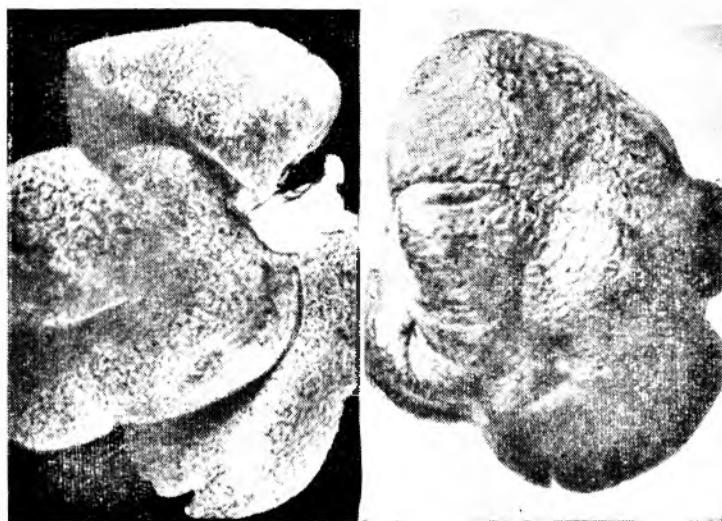


Рис. 26. Некроз печени, вызвавший гибель Е-авитаминозной свиньи (слева); постнекротические рубцы, вызванные хроническим повреждением печени у Е-авитаминозных свиней (справа).

триортокрезолфосфата на 1 кг веса тела. Парапзомер такого действия не оказывал. Оказалось, что триортокрезолфосфат вызывал понижение содержания токоферола в плазме крови кроликов (Meunier et autr., 1947) и токсичность его понижалась с введением токоферола (Bloch, Hottinger, 1943). Подобное же действие оказывали сукцинат и адонат ортокрезола (Meunier, Chenavier, 1949). Введение триортокрезолфосфата в дозах от 0,4 до 1 г на 1 л молока новорожденным ягнятам вызывало у них одеревенение ног—заболевание, характеризовавшееся параличом ног (мышечная дистрофия), креатинурией и низким содержанием токоферола в плазме (Draper a. oth., 1952), т. е. явлениями, идентичными с таковыми у ягнят от Е-авитаминозных овец и описанные в ветеринарии (Klussendorf, 1955). Одновременное пероральное введение ягнятам 100 мг dl, α -токоферолацетата предупреждало появление этих симптомов. Однако после появления пареза ног, введение токоферола уже не спасало ягнят от гибели. Те же явления недостатка витамина Е были вызваны и у крыс введением 2 мг триортокрезолфосфата на 100 г

диеты и также предупреждались одновременным включением в ту же диету 24 мг dl, α -токоферолаацетата. Симптомы недостатка витамина Е были также получены у цыплят (Earl, Thompson, 1953) при скормлинии им 1 г триортокрезолфосфата на 1 кг диеты и также предотвращались токоферолаацетатом. Большая активность α -токоферолаацетата по сравнению с α -токоферолом в детоксикации триортокрезолфосфата у цыплят объясняется, кроме того, антагонизмом между триортокрезолфосфатом и α -токоферолаацетатом за поглощение в кишечнике и подавление поглощения свободного α -токоферола триортокрезолфосфатом (Aucers, Mulder, 1953).

Четыреххлористый углерод и пиридин действуют так же, как и вышеуказанные антагонисты. Витамин Е предохраняет животных от токсичности пиридина, понижая смертность с 64 до 16%, и случаи некроза печени с 74 до 20% (Hove, 1953), а также в обоих случаях понижает креатинурию и мышечную дистрофию.

Сульфатазол и сульфатуанидин вызывают мышечную дистрофию, устранимую витамином Е. Повреждения сердца у мышей, вызванные сульфатуанидином, предупреждаются токоферолом (Dessau a. oth., 1955).

Сульфит натрия (0,1%), добавленный в диету цыплят, ускоряет прогоркание содержащегося в ней ненасыщенного жира и тем самым повышает недостаточность в витамине Е. В результате у цыплят образуется энцефаломалиция (Miller, Small, Norris, 1955).

Заболевания домашней птицы, вызванные антагонистами витамина Е. Впервые энцефаломалиция у цыплят была описана Паппенгеймером (Pappenheimer, Goettsch, 1931). Дальнейшее изучение этого заболевания показало, что оно связано с недостатком витамина Е и сопровождается эксудативным диатезом (Dam, 1944). Наличие большого количества ненасыщенных жиров (рыбьего жира) в рационе вызывает у цыплят более тяжелую энцефаломалицию, а понижение их, с одновременным добавлением кормовых дрожжей, в качестве источника белка, вызывает у цыплят эксудативный диатез. Последний наступал у цыплят даже при полном отсутствии в диете ненасыщенных жиров (Scott a. oth., 1955). Как энцефаломалиция, так и эксудативный диатез полностью предупреждались добавлением токоферола в рационы. Энцефаломалиция наступает у цыплят обычно в возрасте от 3 до 8 недель,

когда в плазме крови и в печени обнаруживается наименьшее содержание токоферола, т. е. ниже 200 мкг% в плазме и 1,4 мг% в печени (Markson и др., 1957).

Содержание токоферола в печени только что выведенного цыпленка в среднем равно 14,75 мг%, к 2-недельному возрасту оно понижается до 1,45 мг%, оставаясь на этом уровне до 8-недельного возраста, а содержание токоферола в плазме падает с 1115 мкг% в день выведения до 269 мкг% к 3-недельному возрасту и дальше продолжает падать до минимума, в среднем равного 34 мкг% к 7-недельному возрасту.

Энцефаломалиция возникает только тогда, когда содержание рыбьего жира в рационе превышает 3% (Scott a. oth., 1957). Добавление 40 мг токоферола на 1 кг рациона предохраняло цыплят от заболевания. Инозит способствовал устранению симптомов.

Эксудативный диатез, вызванный включением в рацион от 7,5 до 30% дрожжей *Torula* полностью предупреждался, если указанный рацион содержал 100 мг dl, α -токоферолацетата в 1 кг (Bieri a. oth., 1958). Заболевание проявлялось у цыплят одышкой и профузной геморрагией. Развитие тяжелых симптомов сопровождалось падением содержания в крови гемоглобина и общих протеинов и особенно альбумина в сыворотке. Анемия при эксудативном диатезе была следствием первоначальных геморрагий. Эксудативный диатез относился к недостатку токоферола как такового, а не к его антиоксидативным функциям (Creach a. oth., 1958).

Обмен и терапевтическое применение витамина Е

Об обмене токоферола в животном организме известно очень мало. Токоферол растительных продуктов усваивается в животном организме примерно в 20%-ном количестве (Engel, Heins, 1943). Не использованный токоферол подвергается в животном организме частичному распаду.

Так, после инъекции меченного C^{14} токоферолсукцината человеку или кролику в их моче был обнаружен глюкоронат лактона 2- (3-окси-3-метил-5-карбоксипентил)-3,5,6-бензохинона (Simon a. oth., 1954, 1955). При обильном скармливании витамина Е в кал крыс переходит до 25% от введенного токоферола (Harris, 1950).

Токоферолы, введенные в животный организм, не способны превращаться друг в друга. Они в разной степени откладываются в органах животных и продуктах, получаемых от животных.

Так, α -токоферол откладывается в яйцах кур. Причем скармливание курам γ -токоферола вызывает меньшее отложение в яйцах последнего и равно $1/4$ α -токоферола, а δ -токоферол откладывается в яйцах в еще меньшем количестве, равном $1/16$ такового, отложенного α -токоферола (Dju, Quaille, Harris, 1950).

Витамин Е встречается почти во всех органах. Введение большой дозы α -токоферола свиньям вызывает отложение его в первую очередь в печени, затем в жировой ткани и в кровяных шариках. Причем токоферол значительно изменяет состав жирных кислот жира тела, повышая процент олеиновой кислоты за счет насыщенных жирных кислот (Bratzler a. oth., 1950).

У растущей птицы, телят или ягнят с частичным истощением запасов витамина А и Е (до содержания витамина А в плазме не более 12 мкг или витамина Е не более 100 мкг в 100 мл) или после длительного введения этих витаминов в определенных субоптимальных дозах для стабилизации содержания их в плазме после скармливания витамина А или Е соответственно от 20 до 1000 мкг витамина А, или 12—540 мкг каротина на 450 г веса тела, или 0,1—25 мг витамина Е на 450 г веса тела в плазме повышалось содержание этих витаминов. Последнее относилось прямо пропорционально к $\log$ содержания их в печени. Таким образом, в известных пределах (отношение концентрации витамина А или Е в мкг в 100 мл плазмы к $\log$ концентрации тех же витаминов в мкг в 100 г печени или обратно было постоянной величиной. Отсюда, зная содержание витамина А или Е в плазме крови телят, можно вычислить содержание их в печени по формуле, предложенной Итоном с сотрудниками (Eaton a. oth., 1958).

Содержание токоферола (в основном за счет α -токоферола) в крови или сыворотке здорового человека колеблется от 1,2 до 2,0 мг%, в среднем 1,5 мг% (Besckmann, 1954). Содержание токоферола в плазме крови новорожденных 0,4 мг% и к 6-му дню кормления грудью повышается до 1—1,5 мг%. У преждевременно рожденных, на искусственном питании, содержание токоферола в крови сильно понижено и даже к 40-му дню достигает только 0,1 мг%

(Harris a. oth., 1952). Таким детям необходимо давать витамин Е.

Содержание токоферола в плазме крови беременных женщин повышается от 0,89 мг% в течение первых дней беременности до 1,4 мг% к концу беременности (Ferguson a. oth., 1955). С возрастом содержание токоферола повышается. Так, у женщин старше 30 лет в начале беременности содержится 1,1 мг% токоферола и к концу 1,55 мг%. Содержание токоферола в крови находится в зависимости от содержания его в диете и немного повышается, когда женщины ежедневно получают более 12 мг токоферола. Это указывает, что витамин Е имеет особенно важное значение при беременности, и поэтому организм использует его в большей степени.

На основании содержания α -токоферола в крови можно судить о насыщенности организма витамином Е. После перорального приема 100 мг α -токоферолацетата отмечается наибольший подъем его в крови через 4 часа после введения (на 30%) и к 24-му часу содержание приходит к норме. После приема больших доз токоферола содержание его в крови по прошествии 24 часов становится тем выше, чем большая доза была принята. У пациентов с более низким исходным содержанием α -токоферола в крови, чем 0,8 мг% (при миопатии, половом бессилии, гипофизарно-диэнцефальной дисрегуляции), введение тех же доз токоферола в виде водной эмульсии повышает содержание его в крови на 32%, а в виде таблетки на 14%. Токоферол, введенный перорально в виде водной эмульсии, лучше усваивается, чем та же доза, принятая в виде таблетки (Beckmann, Fegeler, 1955). Внутримышечное введение токоферола не дает преимуществ перед пероральным приемом.

Токоферол в медицине, вероятно, найдет большое применение. Следует отметить его благоприятное действие на течение экспериментального туберкулеза у морских свинок (Horst-Meyer, Potel, 1955), при нарушениях половых функций, при некоторых дерматозах и при профилактике тромбозов (Wilson, Raggy, 1954).

Содержание витамина Е в молоке. Токоферол в значительном количестве переходит в молоко. По данным Харриса, содержание токоферола в женском молоке колеблется от 0,10 до 0,48 мг/100 мл, в среднем 0,24 мг/100 мл, а в коровьем в среднем 0,12 мг/100 мл (Harris a. oth.,

1950, 1952). По данным Давидова с сотрудниками (1956), содержание витамина Е в коровьем молоке в среднем 0,09 мг/100 мл и колеблется в зависимости от сезона. Летом при пастбищном содержании оно повышается до 0,131 мг/100 мл, а зимой, когда коровы получают меньше витамина Е, оно падает до 0,063 мг/100 мл.

Состояние насыщенности витамином Е сельскохозяйственных животных и применение его в животноводстве

Для изучения зависимости содержания токоферола в плазме крови и печени—органе отложения витамина Е, от наличия его в рационах, проводились исследования на телятах, ягнятах и поросятах. В рационы вводили такое количество токоферола, чтобы на 1 кг живого веса каждое животное ежедневно потребляло бы 2,25, 7 или 20 мг токоферола. Одновременно изучали и влияние токоферола в рационе на отложение витамина А. В таблице 89 представлены данные содержания токоферола и витамина А в плазме и печени указанных животных по прошествии 12-недельного опыта (Rousseau a. oth., 1957).

Таблица 89

Действие различных доз токоферола на содержание
токоферола и витамина А в плазме крови и печени разных
животных по прошествии 12 недель (в мкг%)

Ткань и орган		Добавлено в рацион токоферола эквивалентно потреблению его (в мг на 1 кг живого веса ежедневно)							
		0,0		2,25		7,0		20,0	
		А	Е	А	Е	А	Е	А	Е
Плазма крови	телят . .	21,4	62	23,5	306	22,4	427	25,2	478
	ягнят . .	30,5	64	26,7	148	30,7	194	35,7	245
	поросят .	28,1	111	27,6	316	26,7	373	30,6	490
Печень	телят . .	1389	228	1666	1284	1664	2074	1345	3506
	ягнят . .	1253	394	1276	1917	826	1591	1357	3992
	поросят .	4807	410	5044	1420	4168	2026	3898	4369

Из данных, представленных в таблице 89, видно, что с увеличением потребления токоферола содержание его как в плазме, так и в печени у всех исследованных живот-

ных повышается, тогда как отложение витамина А в печени стимулируют лишь малые дозы токоферола (2,25 мг на 1 кг живого веса).

Изменение содержания токоферола в плазме крови и печени цыплят с возрастом было уже описано. Токоферол имеет большое значение в птицеводстве. Особенно чувствительны к недостатку его в рационе индейки. Инъекция 0,5 мг водорастворимой формы витамина Е под воздушный мешок в оплодотворенное яйцо индейки на рационе с недостатком витамина Е повышает выводимость, тогда как антиоксиданты: аскорбиновая кислота и метиленовая синь, особенно последняя, — тормозят выводимость, как это видно из данных таблицы 90 (Jensen, Mc. Ginnis, 1957).

Таблица 90

Влияние на выводимость инъецированных в яйца индексов воды, витамина Е и антиоксидантов

Инъецируемое вещество	Выводимость (в %)		
	1-й опыт	2-й опыт	3-й опыт
Без инъекции	52,7	12,3	—
Дистиллированная вода	46,7	27,8	46,1
Витамин Е	80,0	43,7	66,7
Аскорбиновая кислота	—	21,1	—
Метиленовая синь	—	—	0,0

Тогда как метиленовая синь предохраняла цыплят от энцефаломалации, она оказалась токсичной для развития эмбриона.

Витамин Е вместе с никотиновой кислотой необходим индейкам для предупреждения заболевания расширенного сухожилия, которое раньше неправильно относили к перозису (Scott, 1953). Наличие в 1 кг рациона 44,5 мг никотиновой кислоты и 11,2 мг α -токоферола полностью предупреждало индекс от указанного заболевания.

В 1946 г. Рябов нашел, что витамин Е, скормливаемый в проросшей пшенице, повышал функцию полового аппарата холостых кобыл и способствовал улучшению качества спермы жеребцов. В 1952 г. Скачков применял витамин Е в виде масла зародышей пшеницы на кобылах, которые давали мертвых жеребят и имели плохую зажеребляемость. Препарат витамина Е в 1 мл содержал 2,65 мг

токоферола. Этот препарат в количестве 8—20 мл вводили 1—2 раза в день внутримышечно в область шеи кобылы. Результаты опыта представлены в таблице 91.

Таблица 91

Действие витамина Е на случку и выжеребку кобыл

Группа	Случено кобыл	Зажеребело		Абортировало и дало нежиз- неспособный приплод от числа жере- бых		Благополучно выжеребились от числа слу- ченных	
		голов	%	голов	%	голов	%
Без витамина Е . . .	18	11	61,1	6	54,5	5	27,7
С витамином Е, за 2 года	16	15	93,8	5	33,3	10	62,5

Подкормка молочных коров пшеничными зародышами повышает качество и содержание витамина Е в масле, полученном из молока этих коров (Шухнова, 1957). Гурто (Gurto, 1957) показал, что ежедневное скармливание дойной корове 2000 и. с. d, α -токоферилсукцината повышало процент жира в молоке. Однако количество жира возрастало значительно быстрее и дольше поддерживалось на высоком уровне, когда одновременно с витамином Е корове ежедневно давали еще 10 мг мезо-инозита. Содержание жира в молоке в этом случае превышало 4%.

Недостаточность витамина Е и потребность в нем

Мы уже описывали клинические симптомы недостаточности витамина Е у разных животных—нарушение размножения, мышечная дистрофия, креатинурия, пигментация тканей, некроз печени, геморрагия легких, парезы конечностей и повреждение сердца у скота, а у птиц и энцефаломалиция. У людей клинические симптомы Е-авитаминоза не были описаны, хотя установлено, что человек нуждается в витамине Е. Здесь мы вкратце остановимся на двух последних симптомах Е-авитаминоза, не описанных нами ранее,

Параличи задних конечностей на почве мышечной дистрофии при Е-авитаминозе описаны у большинства животных. Они были найдены у крыс, мышей (King a. oth., 1955), телят (Scholied, 1953) и ягнят (Klussendorf, 1955). При этом заболевании на мышцах появляются бледные желтовато-белые области.

Повреждения сердечной мышцы, характеризующие гиалиновый некроз миокарда при Е-авитаминозе, были описаны у крыс (Mason, Emmel, 1945), морских свинок (Freire, Maghaes, 1943), кроликов (Gatz, Houchin, 1946, 1947, 1951; Mulder a. oth., 1954) и мышей (Desseau a. oth., 1954). Витамин Е, не обладая фармакодинамическим действием как на коронарные сосуды, так и на сокращение сердца (Lu a. oth., 1955), предупреждает вышеуказанные повреждения сердца.

Потребность в витамине Е является величиной условной, она зависит от многих факторов и в первую очередь от состава диеты. Повышение жира и белка в диете увеличивает потребность в витамине Е, а замена жира углеводами понижает ее.

Существует также половое различие в потребности витамина Е. На основании данных гемолиза эритроцитов диалуровой кислотой было установлено, что тогда как потребность крыс самок вполне удовлетворена ежедневными дозами 2,5 мг α -токоферола на 1 кг веса тела, доза в 3,5 мг α -токоферола еще не вполне удовлетворяет потребность самцов в витамине Е (Ward, 1958).

Минимальная ежедневная потребность яйценоских кур в dl, α -токофероле составляет 1,2 мг (Dju a. oth., 1950). Для индеек требуется 20 мг α -токоферола на 450 г корма (Atkinson a. oth., 1954, 1955). Витамин Е повышает выводимость яиц индеек, добавление указанного количества токоферола повышало выводимость от 51,7 до 88% (Atkinson a. oth., 1955). Витамин Е вместе с фосфатами предупреждает появление perosis'a у цыплят и индюшат. Установлено (Slinger, Pepper, Motzok, 1954), что полное предупреждение perosis'a достигается добавлением 0,7% неорганического фосфора и 5 п. е. витамина Е на 450 г корма индеек.

Заболевание так называемым перозисом у цыплят и индюшат, выражающееся в виде расширенного сухожилия и устраняемое неорганическим фосфатом и витамином Е нельзя относить к истинному перозису. Перозис харак-

теризуется скользящим суставом и является заболеванием недостаточности одного из трех следующих витаминов в рационе цыплят: никотиновой кислоты, биотина и холина.

Минимальная потребность морских свинок в витамине Е удовлетворяется введением по 6 мг dl, α -токоферола через день (Farmer a. oth., 1950).

Ежедневная потребность крыс составляет 2—3 мг (Emerson a. oth., 1937), а потребность кроликов значительно меньше и равна 1 мг на 1 кг веса тела (Mackenzie, McCollum, 1940).

Минимальной ежедневной потребностью беременных женщин в витамине Е раньше (Currie, 1939) считали 6 мг α -токоферола. Однако теперь установлено, что введение 100 мг α -токоферола взрослому человеку приводит по прошествии 24 часов содержание его в крови к норме (Beckmann, Fegeler, 1955). Поэтому ежедневной потребностью в витамине Е взрослого человека следует считать около 100 мг α -токоферола, и примерно такую же величину составляет, вероятно, потребность в витамине Е беременных женщин.

Минимальная потребность в витамине Е свиней и рогатого скота еще не установлена. Известно, что болезнь «одеревенение ног», вызванная у телят и ягнят недостаточностью витамина Е, излечивается после введения им по 500—800 мг в течение 3 дней (Klussendorf, 1955).

ВИТАМИНЫ К

В 1929 году Дам (Dam, 1929, 1930) впервые наблюдал у цыплят на синтетической диете кровоизлияния в пищеварительном канале, мышцах и в подкожной клетчатке. В диете содержалось 66% крахмала, 18% казеина, 4,5% соляной смеси, 10% дрожжевого экстракта, который являлся источником витаминов В, и 2,5% клетчатки. Источником витаминов А и D был рыбий жир. Замена в этой диете 66% крахмала смесью злаков предохраняла цыплят от развития у них геморрагии. Оказалось, что антигеморрагически активное вещество содержалось в злаках.

Позднее (Dam, 1934, 1935) удалось показать, что активное вещество было растворимо в жирах и отличалось от всех известных жирорастворимых витаминов А, D и Е, так как включение в вышеуказанную диету рыбьего жира и небольшого количества масла зародышей пшеницы, но достаточного для снабжения витамином Е, не устраняло геморрагию цыплят. Убедившись в том, что антигеморрагический фактор не идентичен уже известным витаминам, Дам предложил назвать этот фактор витамином К (Koagulations Vitamin).

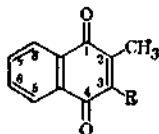
Витамин К необходим также и другим видам птиц, а также млекопитающим животным и человеку.

Витамином К бедны продукты животного происхождения и наиболее богаты зеленые части растений, особенно листья люцерны. Это побудило Каррера (Karrer u. andere, 1939) в 1939 году выделить витамин К из люцерны. В том же году в Америке витамин К был выделен из гниющей рыбной муки (Mc Koe a. oth., 1939). Оказалось, что препараты витамина К, выделенные из люцерны и гниющей рыбной муки, не идентичны. Первый был назван витамином К₁, а второй — витамином К₂. Витамин К₂ в гниющей

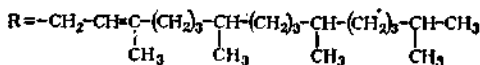
рыбной муке, как оказалось, был следствием биосинтеза его грибоподобными микроорганизмами, ибо свежая рыбная мука не содержала витамина K_2 . Ниже мы увидим, что витамин K_2 образуется также с помощью *Bacterium coli* в кишечнике человека. Таким образом, витамин K_1 образуется в зеленых растениях, а витамин K_2 — бактериального происхождения.

Одновременно с этими исследованиями были испытаны на цыплятах (Ansbacher, Fernholz, 1939) синтезированный 2-метил-1,4-нафтохинон (менадион) и пигмент, выделенный в 1933 году (Anderson, Newman, 1933) из *Mycobacterium tuberculosis*, 2-метил-3-окси-1,4-нафтохинон (фтиокол). Первый оказался примерно таким же активным, как витамин K_1 , и был назван витамином K_3 , а второй, значительно менее активный, был назван витамином K_4 .

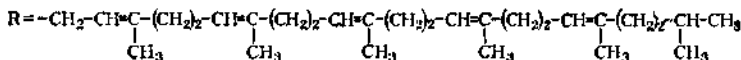
В 1939 году было установлено (Fieser a. oth., 1939), что витамины К являются производными 2-метил-1,4-нафтохинона. При окислении диацетата витамина K_4 озоном был получен C_{18} -кетон (6,10,14-триметил-пентадеканон), что указывало на наличие в боковой цепи молекулы витамина K_1 остатка спирта-фитола. То же исследование, проведенное с витамином K_2 , показало наличие в нем дифарнезиловой боковой цепи (Binkley a. oth., 1939, 1940). Таким образом, витамину K_1 и K_2 были предложены следующие структуры:



Для витамина K_1



Для витамина K_2



Для витамина K_3 $R = H$, а для витамина K_4 $R = OH$.

За последние годы в практике промышленного птицеводства США стали часто встречаться случаи геморрагии. Рационы цыплят в зимний период, состоящие из 60—70% зерна и 30—35% соевых бобов и считавшиеся полноцен-

ными в отношении витамина К, оказались inadequate в этом витамине. Это было определено рядом исследователей, которые наблюдали содержание цыплят на том же рационе в брудерах с проволочными настилами для предупреждения поедания кала. По прошествии 4 недель содержания цыплят в вышеуказанных условиях продолжительность свертывания крови у птиц повышалась до 9,8—11 минут. По прошествии 6 недель 10% цыплят погибали от геморрагии в мышцах груди и ног. Добавление высушенной муки листьев люцерны, кала или витамина К устраняло эти явления (Griminger a. oth., 1953; Anderson a. oth., 1954; Sweet a. oth., 1954).

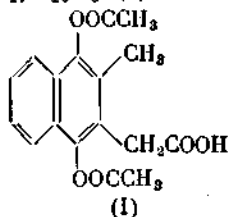
Физико-химические свойства витаминов К

Витамин К₁ представляет собой светло-желтое масло, кристаллизующееся при -20° . Дигидро-витамин К₁—диацетат плавится при $61-62^{\circ}$ (Binkley a. oth., 1939). Спектр поглощения витамина К₁ (в растворе петролейного эфира) в ультрафиолете имеет пять характерных максимумов в области: 243, 249, 261, 270 и 325 мμ с соответствующими $E_{1\text{ см}}^{1\%} = 395, 420, 390, 39$ и 68 и пять минимумов в области 228, 246, 254, 265 и 286 мμ с $E_{1\text{ см}}^{1\%} = 195, 365, 298, 338$ и 20 . Витамин К₁ оптически активен $[\alpha]_D^{25} = -0,71^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ (Karrer u. andere, 1944).

Витамин К₂—светло-желтые кристаллы с температурой плавления $50,5-52^{\circ}$. Витамин К₂ в ультрафиолете имеет четыре характерных максимума поглощения в области: 249, 261, 269 и 320 мμ.

Витамины К₁ и К₂ не растворимы в воде, но растворимы в эфире, абсолютном спирте, бензоле, ацетоне, пентане и в других жирowych растворителях.

При окислительном распаде дигидро-витамин К₁ или К₂—диацетатов их боковая цепь легко отщепляется и получается кислота $C_{17}H_{16}O_6$ (I):



В остальном физико-химические свойства витаминов K_1 и K_2 соответствуют таковым 2-метил-1,4-нафтохинона, входящего в состав их молекул.

Все производные 1,4-нафтохинона, за исключением самого 1,4-нафтохинона, обладают характерной красной флуоресценцией в твердом состоянии при освещении их ультрафиолетовым светом.

После освещения ультрафиолетовым светом в течение 1 минуты красная флуоресценция необратимо переходит в интенсивно зеленую. Последняя стабильна более 4 месяцев.

При увлажнении вещества спиртовым раствором едкого калия зеленая флуоресценция переходит в оранжевую (Green, 1954).

Растворы витаминов поэтому быстро разрушаются при освещении их ультрафиолетовыми лучами, при этом изменяется структура хинонной группы (Eving, Tomkins, Kamn, 1943).

Витамины К выдерживают длительное кипячение в водном растворе и быстро разрушаются при нагревании их в щелочных растворах.

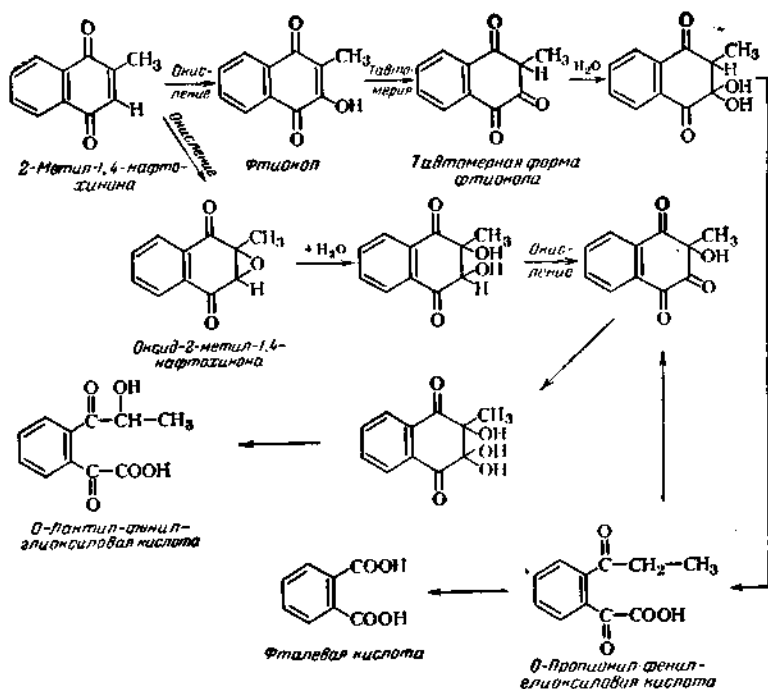
Оказалось, что 2-метил-1,4-нафтохинон и другие нафтохиноны, к которым относятся витамины К, при кипячении в среде, рН которой выше или ниже 7, быстро подвергаются окислительно-гидролитическому расщеплению (Щукина, Кондратьева, Шемякин, 1948, 1949) вплоть до фталевой кислоты. Наиболее благоприятно эта реакция идет при рН 7,1—7,9.

В кислой зоне рН 6,5—5,0 получается лишь ограниченное количество фталевой кислоты. Окислителем при этом может быть сам 2-метил-1,4-нафтохинон: окисляя другую молекулу, он при этом восстанавливается в гидрохинон.

Однако, если в растворе уже имеется окисленное соединение нафтохинона, как фтиокол или еще лучше оксид 2-метил-1,4-нафтохинона, то гидролитическое расщепление может идти и без окисления.

В случае оксида расщепление идет даже при кипячении в нейтральной среде.

Окислительно-гидролитическое расщепление 2-метил-1,4-нафтохинона может быть изображено следующей схемой:



Витамины К обладают окислительно-восстановительными свойствами: восстанавливаются в гидрохиноны и снова окисляются в хиноны.

Синтез витамина К₁

Синтез витамина К₁ состоит в конденсации фитола с 2-метил-1,4-нафтогидрохиноном, катализируемой щавелевой кислотой (Fieser, 1939, 1940). Гораздо лучшие выходы витамина К₁ были получены при катализе вышеуказанной конденсации кислым сульфатом калия (Hirschmann a. oth., 1954) или бортрифлуоридом (Isler, Doebel, 1954).

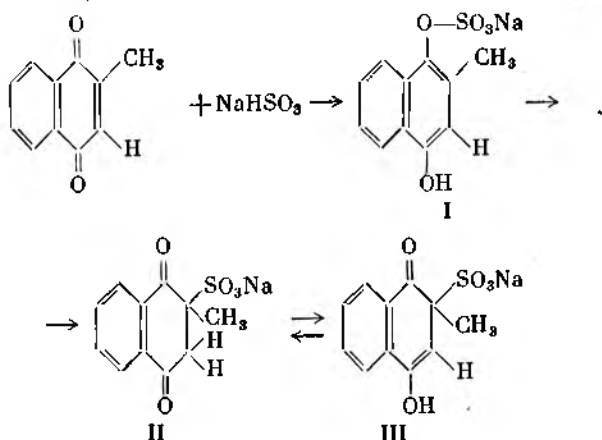
2-Метил-1,4-нафтохинон может быть получен метилированием α -нафтиламина с последующим окислением образованного 2-метил- α -нафтиламина хромовой кислотой или из сахаров по схеме, предложенной Са (Sah, 1950).

Общая схема синтеза витамина К₁ следующая:

В 1943 году Палладиным, Шемякиным с сотрудниками и позднее Уфимцевым был получен бисульфитный комплекс 2-метил-1,4-нафтохинона. Бисульфитный комплекс 2-метил-1,4-нафтохинона имеет большое преимущество перед витаминами К, ибо, обладая одинаковой биологической активностью с витамином К, и 2-метил-1,4-нафтохиноном (Улитина, Кудряшев, 1948) в отличие от последних, прекрасно растворяется в воде (1 часть комплекса в 1 части воды) и обладает в три раза меньшей токсичностью, чем 2-метил-1,4-нафтохинон.

Согласно Шемякину, бисульфитный комплекс может быть довольно просто получен непосредственным взаимодействием 2-метил-1,4-нафтохинона с бисульфитом натрия. При этом получается чистый кристаллический продукт с 51% выходом.

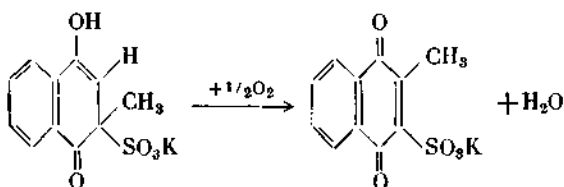
Однако, как доказали Шемякин с сотрудниками (Бочвар и др., 1943, 1945, 1946, 1948, 1950) и более поздние американские работы (Carmack a. oth., 1950; Moore a. oth., 1955), эта реакция парахинона с бисульфитом протекает через несколько промежуточных этапов, которые изображены на следующей схеме:



Наиболее устойчивым является соединение (II), названное аддуктом и образующееся непосредственно из бисульфитного комплекса (I). Обладая CO группой, аддукт (II) реагирует с фенилгидразинами и семикарбазидами. Поэтому получаемое в обычных условиях бисульфитное производное является именно этим аддуктом (II).

Сульфитный аддукт не обладает ни бензольной, ни хинонной структурой. При окислении его хромовой кислотой или хлором он быстро переходит в 2-метил-1,4-нафтохинон-3-сульфонат, обладающий совершенно иными свойствами.

Превращение аддукта в сульфонат идет согласно следующей схеме:



Биосинтез витаминов К

Биосинтез витамина K_1 осуществляется в зеленых частях растений, он связан с образованием хлорофилла, а поэтому витамин K_1 и накапливается в хлоропластах. В хлоропластах листьев капусты было найдено 0,006%, а в цитоплазме только 0,0001% витамина K_1 (Dam a. oth., 1940).

Витамин K_2 и фтиокол образуются микроорганизмами. Кишечные бактерии человека, прежде всего *Bacterium coli*, синтезируют витамин K_2 , и поэтому кал человека, в течение 5 дней находящегося на К-авитаминозной диете, еще содержал около 2000 единиц витамина K_2 в 1 г. Витамин K_2 , синтезирующийся в верхних частях тонкого кишечника, растворяется в желчных кислотах и всасывается. Бактериальный синтез витамина K_2 находят уже у грудных детей, как только в кишечнике их разводится *B. coli*. Как у взрослых из углеводов и белков, так и у грудных детей из казеина и молочного сахара молока в процессе брожения образуется лактат аммония, который, как было установлено (Baumgärtel, Zahn, 1953), используется *B. coli* в качестве источника углерода и азота. Выращивая чистую культуру *B. coli* на агаровой среде, содержащей лактат аммония, удалось наблюдать обильный биосинтез витамина K_2 .

Установив более благоприятные условия, необходимые для биосинтеза витамина K_2 , можно будет применить этот биосинтез для промышленного получения витамина K_2 .

Физиологическое действие витамина К

Обмен витамина К. Как указывалось, при недостатке витамина К в диете, у птиц возникает геморрагический диатез. Для млекопитающих вследствие наличия кишечной флоры, синтезирующей витамин К, требуется более длительное содержание на К-авитаминозной диете, чтобы выявить геморрагию. Однако при введении сульфаниламидных препаратов, блокирующих кишечный синтез витамина К, млекопитающие, так же как и птицы, становятся чувствительными к недостатку витамина К в диете (Kornberg a. oth., 1944). Прекращение поступления желчи в кишечник ведет к неусвоению жиров, а вместе с ними и витамина К. Роль желчи во всасывании жирорастворимых витаминов А, D и К очень велика. Выведение желчного протока в почку у собаки и крысы вызывало падение протромбина в крови. Внутримышечное введение таким животным 0,5 мкг витамина К₁ на 1 кг веса или пероральное введение 1 мг воднорастворимого производного 2-метил-1,4-нафтохинона поддерживало протромбин на нормальном уровне (Quick, Hussey, 1952). Введение же таким животным 5 мг и более витамина К₁, эмульгированного в желчи, вызывало примерно только 50% восстановление протромбина.

Особенно остро реагировали на удаление желчи из кишечника 3-месячные щенки, у которых уже по прошествии 10 дней после операции обнаруживалась тяжелая гипопротромбинемия и геморрагия, тогда как у взрослых собак требовалось для проявления тех же симптомов 2 месяца. Для того чтобы содержание протромбина у взрослой собаки было нормальным, ей требовалось внутримышечно вводить 0,5 мкг витамина К₁ на 1 кг веса тела, а для щенка—10 мкг (Quick a. oth., 1954).

Авитаминоз К может быть также быстро вызван удалением лимфы тонких кишок, например, внешним дренажем (Mann a. oth., 1949, 1950). Внутримышечная инъекция витамина К₁ устраняет эту недостаточность. Это указывает, что витамин К₁ транспортируется из кишечника в циркулирующую кровь лимфатическими путями.

Изучение судьбы 2-метил-1,4-нафтохинона, меченного С¹⁴ по метильной группе и введенного внутримышечно в дозах 0,1—1 мг мышам, показало, что радиоактивность быстро поглощается и переходит в мочу вместе с самим

нафтохионом и только небольшая часть его, очевидно достаточная для антигеморрагической активности, обнаруживается в крови в течение 15 часов после инъекции. Максимальное количество витамина K_3 обнаруживается в печени, через 12 часов оно равно 1,7% от введенной дозы, в легких через 2 часа—1,2%, в мышцах через 6 часов—4,5% и в почках через 2 часа—2,3% (Solvonuk a. oth., 1952). В плаценте и плоде откладываются лишь следы витамина К (Dam a. oth., 1955). Из этого видно, что витамин K_3 в небольшом количестве довольно долго сохраняется в неизменном виде в организме. Наибольшая удерживаемость витамина К печенью цыплят связана с ее ретикуло-эндотелиальной системой и после блокирования ее соответствующими ядами витамин К в большей степени начинает откладываться в селезенке и в меньшей—в печени (Dam a. oth., 1955).

После введения кроликам 2-метил-1,4-нафтохиона в моче был обнаружен продукт (61,72% от введенной дозы), идентифицированный с 4-окси-2-метил-1-нафтилсульфатом (Richart, 1944, 1951). В моче крыс после введения витамина K_3 был найден его β -глюкуронид (Doisy, 1949).

Организм К-авитаминозных животных довольно быстро реагирует на введенный витамин К. Через 7 часов после внутримышечной инъекции содержание протромбина в плазме достигает максимума (Улитина, Кудряшев, 1948) с одновременным максимальным содержанием витамина К в крови (Solvonuk a. oth., 1952).

Действие витамина К на свертываемость крови. Причина кровоизлияния при авитаминозе К заключается в резком падении профермента—протромбина в крови, из которого образуется фермент—тромбин, свертывающий кровь.

Согласно теории, предложенной Шмидтом (1872) и дополненной позднее Кудряшевым (1948), свертывание крови протекает в три фазы:

- 1) тромботропин + протромбокиназа $\rightarrow$ тромбокиназа;
- 2) тромбокиназа + Ca + протромбин $\rightarrow$ тромбин,
- 3) тромбин + фибриноген $\rightarrow$ фибрин.

Тромботропин—белок с ферментными свойствами (Андреев, 1948) в значительном количестве содержится в плазме крови, биосинтез его происходит при участии витамина К. Введение антагониста витамина К—дику-

марина сильно снижает содержание тромботропина в плазме и гораздо слабее—протромбина.

Содержание в кровяных пластинках протромбокиназы—белкового проактиватора—не зависит от наличия витамина К (Кудряшев, Улитина, 1952, 1954).

Кудряшевым с сотрудниками (1951, 1953) была установлена видовая специфичность активации тромботропином протромбокиназы. Так, протромбокиназа крови морской свинки быстро активируется тромботропином того же вида животного и почти не активируется тромботропином от других животных (человека, крысы, собаки, кролика и т. д.). Эту видовую специфичность следует скорее приписать протромбокиназе, чем тромботропину. Две другие фазы свертывания крови не зависят от видовой специфичности.

Согласно данным венгерских исследователей (Forgacs, Kovacs, Pasztor, 1954), протромбин образуется в печени в активной и неактивной—в виде протромбиногена—формах. Для активации протромбиногена требуется «фактор X» или активатор протромбиногена. Для образования этого фактора организму необходим витамин К. Однако вышеуказанные авторы полагают, что функция витамина К не ограничивается в активировании протромбиногена, но также и в образовании самого протромбина. Поэтому полная схема механизма свертывания крови может быть представлена следующим образом:



Возможно, что тромботропин Кудряшева идентичен с «отромбопластическим фактором» Манна (Mann a. oth., 1950) и фактором X Форгача.

При тиреотоксикозе вследствие нарушения функции печени возникает гипопротромбинемия. Это повреждение печени, а вместе с тем и гипопротромбинемия, могут несколько усугубиться при лечении тиреотоксикоза тирео-

статическими препаратами: пропилтиоурацилом, меркузалом (Gordin, Lamberg, 1954). Введение витамина K_1 или K_2 как перорально, так и парентерально вызывает временное повышение протромбина до нормы (Gordin, Lamberg, 1955). Поэтому при тиреотоксикозе рекомендуется также лечение витамином К.

Фармакодинамическое действие витамина К. Витамин К обладает сильным болеутоляющим (аналгетическим) действием как на людей (Kubovic, Prazic, 1954), так и на животных (Atanecskovic, 1954). Особенно ярко выражено термоаналгетическое действие витамина К, которое гораздо сильнее, чем таковое морфина. Это действие обнаруживается также и у животных с удаленными надпочечниками и поэтому не связано с мобилизацией гормонов надпочечников (Kubovic a. oth., 1955). Действие витамина К не связано с моторной областью мозга, ибо он не понижает конвульсии, вызванные пентазолом, или электрошок, но, вероятно, связано с кортикальными или субкортикальными центрами болевых ощущений. Витамин К может быть применен как болеуспокаивающий препарат у пациентов с саркомой при сильных болях.

Антибактериальное действие витамина К. Доказано (Colwell, Mc Call, 1945, 1946; Armstrong, 1943), что витамины группы К обладают бактериостатическим действием, связанным с их хинонной структурой. Келлей и Диттмер (Kelley, Dittmer, 1954) указывали даже, что коровы, получавшие ежедневно 25 мг менадиона, давали молоко, устойчивое к молочнокислым бактериям. Последнее в дальнейшем (Wilkowske a. oth., 1955) не подтвердилось, но было доказано, что менадион, добавленный к сырому молоку в концентрациях 100 мг%, предохранял его от образования молочной кислоты в течение 24 часов при 30°. Однако добавление менадиона в этих концентрациях придавало молоку неприятный запах, поэтому рекомендовалось добавлять его в концентрациях, не превышающих 3 мг%. В таких концентрациях менадион хотя и слабее, но все же предохранял молоко от образования молочной кислоты и в то же время не изменял его органолептических свойств.

Витамин К обладает также и антимикозным действием. Из исследованных грибов организмы рода *Candida* оказались наиболее устойчивыми к витаминам К, грибы рода *Trichophyton* были более чувствительны и наиболее

чувствительным оказался род *Microspora* (Miura, Taguchii, 1955). Из всех витаминов группы К наиболее активным оказался 2-метил-1,4-нафтохинон (менадион), который в концентрации 1 : 500 000 подавлял рост грибов рода *Microspora*, а в концентрации 1 : 70 000—прорастание их спор. Менее активным оказался 2-метил-3-окси-1,4-нафтохинон (фтиокол или K_1) и почти совсем инактивными оказались 2-метил-4-амино-1-нафтогидрохинон (витамин K_2) и бисульфитные производные менадиона, т. е. соединения, лишенные хинонной структуры.

Менадион тормозит дыхание дрожжей—*S. cerevisiae* (Hinz, Harris, 1954). Старков (1955) показал, что это торможение происходит лишь в присутствии кислорода. В опытах с бесклеточными дрожжевыми соками им было доказано, что ферменты брожения также подавлены менадионом в присутствии кислорода. Механизм торможения все же остается неясным, хотя за последнее время было показано (Kitamikado, 1957), что витамин К и родственные соединения тормозят активность лишь тех ферментов, активной группой которых служит группа SH.

Действие витамина К на прочность капилляров. В 1952 году Машковский отметил, что дикумарин—антагонист витамина К—понижает прочность капилляров и вызывает мелкие кровоизлияния. Пасторова и Кудряшев (1956), пользуясь методом определения прочности капилляров по продолжительности точечных кровоизлияний (петехий) при наложении присосок с разряжением 200 мм рт. ст. к коже живота крысы, подтвердили это действие дикумарина. Они доказали, что инъекция 0,5 мг дикумарина крысе весом 200 г на 35% снижала прочность капилляров, а одновременная двукратная инъекция той же крысе 15 и 20 мг витамина К (бисульфитного комплекса) полностью устраняла это вредное действие дикумарина.

Чтобы определить зависимость нарушения прочности капилляров от наличия в диете витамина К или витамина Р, Пасторова (1957) изучала влияние указанных витаминов на прочность капилляров у К-авитаминозных и Р-авитаминозных крыс. Оказалось, что у К-авитаминозных крыс одновременно с падением протромбина падала и прочность капилляров, которая восстанавливалась вместе с повышением протромбина с введением крысам витамина К (бисульфитного комплекса). У Р-авитаминозных крыс также падала прочность капилляров, однако она восста-

навливалась только введением крысам витамина Р (катехина) и не восстанавливалась с введением витамина К (табл. 92).

Таблица 92

Действие витамина К и витамина Р на прочность капилляров у К- и Р-авитаминозных крыс

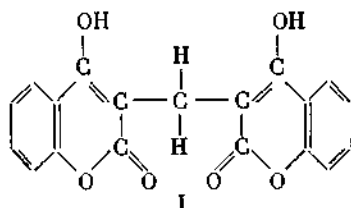
Группа животных	Число животных	Доза (мг) на 200 г веса крысы ежедневно в течение 5 дней	Прочность капилляров (в %)				Концентрация прогормона (в %)
			до опыта	на 10-15-й день	на 24-й день	после инъекции	
Контрольные	20	Нет	100	103,7	—	112,0	98,8
К-Авитаминозные . .	39	Нет	100	61,6	—	45,8	20
К-Авитаминозные + + витамин К	23	5	100	42,5	—	78,2	90
Контрольные	16	Нет	100	108,4	107,4	107,3	—
Р-Авитаминозные . .	13	Нет	100	62,2	47,5	39,1	—
Р-Авитаминозные + + витамин К	13	5	100	56,1	47,7	40,1	—
Р-Авитаминозные + + витамин К	15	6	100	45,1	32,9	70,9	—

Оказывается, витамин К не может устранить пониженную прочность капилляров при Р-авитаминозе. Поэтому нарушение прочности капилляров при К-авитаминозе, очевидно, так же как и при Р-авитаминозе, является самостоятельным нарушением, присущим недостаточности соответствующих витаминов.

Антагонисты витамина К

В ветеринарной практике Америки давно известно заболевание крупного рогатого скота «болезнь сладкого клевера», вызываемое кормлением животных испорченным клеверным сеном или силосом. Это заболевание характеризуется пониженной способностью крови к свертыванию, в результате чего возникают явления спонтанных кровоизлияний. В 1941 году было показано (Overman a. oth., 1941, 1942), что причиной заболевания является действие на животных дикумарина, образованного из кумарина клевера при загнивании сена. Из разложивше-

гося клеверного сена было выделено соединение и идентифицировано с таковым же полученным синтетически, оно оказалось 3,3'-метиленил-4-оксикумарином (I) (дикумарином), следующего строения:

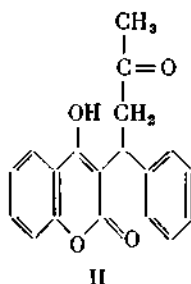


Введение 2,5 мг этого вещества крысе весом 250 г или кролику весом 1,4 кг вызывает гипопротромбинемию (с понижением протромбина до 22% от нормы), у первых по прошествии 24 часов и у вторых через 48 часов. Добавление в диету витамина К, а также и всех его активных аналогов как до, так и через 12 часов после введения антикоагулянта полностью предупреждало гипопротромбинемию.

Оказалось (Андреев, 1948), что дикумарин в дозах 0,5—1 мг, введенных внутривенно, уже через 2 часа после введения снижает концентрацию протромбина в крови до 33%, а тромботропина до 18% от нормы, и это снижение продолжается 20 часов. Если животное к этому времени не погибнет, то содержание указанных веществ немого повышается, а затем вновь падает, после чего к 12-му дню животные гибнут. Совершенно одинаковую гипотромбинемию у собак вызывало как введение дикумарина, так и недостаток витамина К в диете (Quick, Hussey, Collentine, 1952). Дикумарин почти полностью всасывается и детоксицируется, окисляясь в организме в метаоксикумарин (так же как его аналог тромексан, изображенный ниже), который, связываясь с глюкуроновой кислотой, выделяется в виде глюкуронида (Weiner a. oth., 1950). Максимальное накопление дикумарина в крови человека после перорального приема малой дозы (5 мг/кг) происходит через сутки, а большой дозы (50 мг/кг)—через 4—10 суток. Наибольшее количество дикумарина через 3 часа после внутримышечной инъекции 50 мг дикумарина на 1 кг веса собаки было обнаружено в крови (205 мг/кг), затем в легких (113 мг/кг), печени (109 мг/кг), почках (82 мг/кг) и селезенке (71 мг/кг).

Вследствие полезного применения антикоагулянтов против грызунов были синтезированы и исследованы (Seidman a. oth., 1950) и другие структурно родственные дикумарину и витамину К-антикоагулянты, из них отметим: 3-(4-фенил-β-ацетилэтил)-4-оксикумарин (II). Последний примерно в 50 раз более активен и в два раза сокращает продолжительность гибели животных по сравнению с дикумарином.

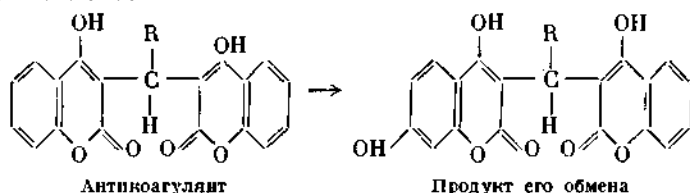
Он имеет следующую структуру:



Структурно более близкий дикумарину тромексан (этиловый эфир 3,3-карбоксиметилбензи-(4-оксикумарина), отличается от дикумарина более быстрым и полным всасыванием из желудочно-кишечного тракта (Brodie a. oth., 1952). Тогда как только 40% перорально введенного дикумарина усваивается и обменивается в сутки, 25% введенного тромексана те же биопреобразования испытывают в течение 1 часа. Тромексан почти так же распределяется в организме, как и дикумарин, за исключением того, что концентрация его в крови меньше, чем в легких и печени. Однократная доза тромексана сохраняется в крови в течение немногих часов и почти исчезает из организма перед тем, как проявляется протромбиновая реакция. Протромбиновая реакция, вызванная большой дозой тромексана, сильнее, чем реакция, вызванная той же дозой дикумарина. Тромексан (III), введенный человеку, так же окисляется (Vigus a. oth., 1953), как и дикумарин. Продукт обмена тромексана (IV), выделенный из мочи, был лишен антикоагулянтной активности (Fucik, a. oth., 1950).

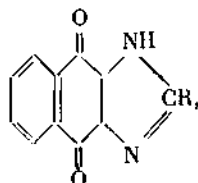
Кроме тромексана, был получен ряд структурно-родственных аналогов, из них мы отметим ди-(4-оксикумаринил-3)-пропанол (V), обладающий такой же сильной антикоагулянтной активностью, как и тромексан. Ниже

приводятся структуры этих антикоагулянтов и их продуктов обмена.



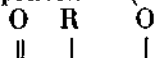
где для дикумарина (I) и продукта его обмена (II) $R = H$, для тромексана (III) и продукта его обмена (IV) $R = COOC_2H_5$, для ди-(4-оксикумаринил-3)-пропанола (V) и продукта его обмена (VI) $R = COCH_3$.

Синтезированы также имидазоловые производные 1,4-нафтохинона-1Н-нафтимидазол-4,9-дионы (Hoover, Day, 1954)



которые обладали сильным тормозящим рост действием на *Escherichia coli* — организм, требующий для своего роста витамин B_{12} и пурины и синтезирующий витамин К. Таким образом, указанные соединения одновременно являются антагонистами витамина B_{12} , пуринов и витамина К.

1,4-Нафтохиноны с галоидами во 2-м положении или во 2-м и 3-м положениях являются сильными фунгисидами. Установлено, что для К-антивитаминной активности в производном фтиокола (3-окси-1,4-нафтохиноне) необходима



структура $C - CH - C$, где заместитель R должен иметь специфическую природу (Smith, 1950). Аналоги с наиболее сильными геморрагическими свойствами получают при R -аллильной группе из 6 и больше углеродных атомов. Эти аналоги одновременно обладают сильной антималярийной и бактериостатической активностью. Применяемый в птицеводческой практике в качестве антикокцидиозного средства, сульфаксиноксалин оказался силь-

ным антагонистом витамина К (Morrison a. oth., 1954). Скармливание его в 0,1% концентрации в диете вызывало сильную геморрагию у цыплят, для предупреждения которой даже содержание 5 мг менадиона на 450 г и 4% люцерны в диете было недостаточно (Jasowitz a. oth., 1955). Антикоагулянт действовал сильнее на цыплят возрастом свыше 3-х недель.

Все эти соединения являются конкуретными антагонистами витамина К.

Долго не была ясна причина большой устойчивости некоторых пациентов к лечению тромбозов антикоагулянтами. Однако за последнее время было установлено, что реакция на перорально введенный антикоагулянт зависит от диеты больного. Богатая жиром диета понижает всасываемость антикоагулянта. Когда же перевариваемость жиров ускорялась пероральным введением желчных солей, то реакция у пациентов, устойчивых к усвоению тромбксана или другого антикоагулянта, повышалась и становилась одинаковой с таковой других пациентов (Wright, Hayden, 1955).

Применение антагонистов витамина К в птицеводстве. Кровь, оставшаяся в сосудах при убое птицы, понижает качество тушек. Дикумарин, как мы видели, удлиняет продолжительность свертывания крови и тем самым повышает кровопотери при кровопускании. Поэтому Хейрмс (Harms, Tarver, 1957) рекомендует за 36 часов до убоя вводить в корм птицам 1,65 г дикумарина на 1 кг корма,

Т а б л и ц а 93

Действие дикумарина на продолжительность свертывания и потери крови при убое птицы при 29°

Добавлено дикумарина (в г на 1 кг корма)	Продолжительность свертывания крови	Потери крови (в % от живого веса)		
		петуш-ки	курок-ки	сред-нее
Контроль	2'34"— 2'12"	3,40	3,54	3,46
1,65	16'40"— 7'20"	—	—	—
3,30	19'55"—12'06"	4,18	4,06	4,13

если рацион не содержит муки из листьев люцерны, и 3,30 г на 1 кг, если он содержит 3% последней.

В таблице 93 показано удлинение продолжительности свертывания крови и потери крови при убое в зависимости от количества дикумарина.

Из данных таблицы видно, что применение дикумарина при забое птицы вполне рационально.

Биокаталитические свойства витамина К

Исследования биологической роли витамина К до сих пор ограничивались в основном функцией его в свертывании крови, однако наличие витамина в больших количествах в некоторых бактериях, а также широкое распространение в зеленых листьях высших растений, где антигеморрагическая активность его не нужна, указывает на другую роль этого витамина.

Как уже отмечалось, *Escherichia coli* является богатым источником витамина К, так как обильно синтезирует его (Baumgärtel, Zahn, 1953). Оказалось, что этот организм нуждается в витамине К для образования в своих клетках весьма важного фермента: пиридин-нуклеотид-менадион редуктазы (Wosilait, Nason, 1954), выполняющего перенос водорода (или электрона) от восстановленного дифосфо-пиридин-нуклеотида (DPNH^+) на менадион (2-метил-1,4-нафтохинон или витамин K_3). Последний передает водород непосредственно молекулярному кислороду воздуха. Об этом свидетельствует самоокисляемая природа восстановленной формы витамина К, в частности 2-метил-1,4-нафтогидрохинона. Фермент был выделен из *E. coli* и очищен (Wosilait, Nason, 1954). Он также реагировал с восстановленным трифосфо-пиридин-нуклеотидом (TPNH^+). Однако скорость переноса электрона от TPNH^+ на менадион была в три раза меньшей, чем от DPNH^+ на тот же продукт. Менадион редуктаза отличалась от выделенной из гороха хинон-редуктазы (Wosilait, Nason, 1954) различным отношением к разным ингибиторам. Причем дикумарин сильнее тормозил менадион редуктазу и притом конкурентно, тогда как хинон-редуктазу слабее и неконкурентно.

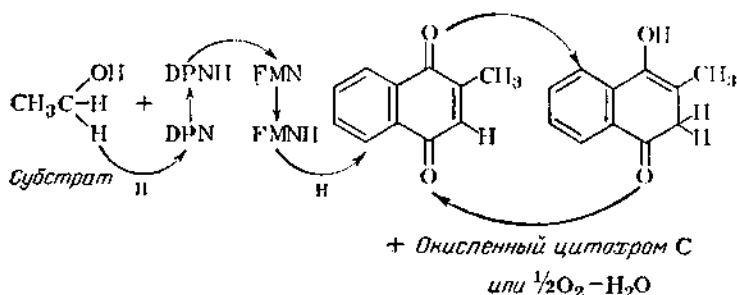
Менадион-редуктаза была выделена также из клеток известного нам *Streptococcus faecalis* (Dalin, 1954) и было показано, что вся система окисления DPNH^+ требует еще

дополнительное звено между DPNH⁺ и менадионем, этим звеном оказался флавин-фермент с флавин-динуклеотидной (FAD) или флавин-монокуклеотидной (FMN) активной группой.

Очищенный энзиматический препарат был получен (Cormier, Totter, 1954) из безклеточного экстракта *Achromobacter fischeri* и было установлено, что в противоположность препарату из *S. faecalis* этот препарат был специфичен к флавин-монокуклеотиду (FMN). Оказалось, что добавление менадиона к системе менадион редуктазы, свободной от цитохром С-редуктазы, быстро восстанавливало цитохром С. Цитохром С может быть также восстановлен неэнзиматически 2-метил-1,4-нафтогидрохиноном. Это указывает, что система менадион редуктазы не требует в своей цепи наличия цитохром С-редуктазы.

Оказалось, что митохондриевая фракция сердца лошади содержит энзим, окисляющий восстановленный менадион (Colpo-Boonstra, Slater, 1957). Окисление происходит кислородом воздуха в отсутствие цитохрома С. Оксидоза дигидро-менадиона крайне чувствительна к аитимцину А и цианиду. В анаэробных условиях та же фракция сердца лошади способна окислять как DPNH, так и сукцинат-менадион, превращая его в восстановленный продукт.

Вся цепь реакции может быть изображена следующей схемой:



Одновременно с этим было установлено (Martius, Nitz—Litzow, 1954), что окислительное фосфорилирование митохондриями печени цыплят с недостатком витамина К снижено при незначительном повышении дыхания. Добавление витамина К₁ in vitro повышает фосфорилирование, не влияя существенно на дыхание, это видно из данных таблицы 94. Добавление 2-метил-1,4-нафтохинона

в тех же молярных концентрациях такого влияния не оказывает. Подобное же понижение окислительного фосфорилирования (до полного торможения) можно вызвать *in vitro* добавлением дикумарина к инкубируемой суспензии митохондрий печени здоровых цыплят.

Отношение $P : O$ в митохондриях печени цыплят с недостатком витамина K было только на 30% ниже того же отношения в митохондриях здоровых цыплят. Однако освещением митохондрий печени крысы ультрафиолетовым светом отношение $P : O$ понижается до $1/3$ исходного без повреждения поглощения кислорода. Добавление витамина K_1 к таким митохондриям полностью восстанавливало отношение $P : O$ (Dallam, Anderson, 1957). Очевидно, освещение ультрафиолетовыми лучами разрушает витамин K_1 в митохондриях и делает их более чувствительными к этому витамину, чем митохондрии печени цыплят с недостатком витамина K . Фосфорилирование, сопряженное с окислением бутирата митохондриями, освещенными ультрафиолетом (УФ), крайне низкое, и добавление витамина K_1 к ним, как это видно из данных таблицы 94, повышает почти до нормы это фосфорилирование.

Таблица 94

Действие витамина K_1 на отношение $P : O$ в митохондриях печени крыс, освещенных ультрафиолетом, и в митохондриях печени K_1 авитаминозных цыплят. Субстратом служит β -оксibuтират. Представлены средние результаты из 5—9 опытов

Исследуемый материал	Обработка	Среднее $P : O$	Колебание
Митохондрии печени крыс	Контрольные	1,53	1,95—1,22
	Освещенные УФ	0,51	0,86—0,17
	Освещенные УФ + витамин K_1 в концентрации $1,8 \times 10^{-6}$ М . .	1,27	1,53—1,13
Митохондрии печени K_1 -авитаминозных цыплят	Контрольные	1,27	1,66—1,03
	Добавлено витамина K_1 в концентрации 5×10^{-6} М	1,41	1,55—1,27
	Добавлено витамина K_1 в концентрации 10^{-8} М	1,87	2,27—1,51

- Это указывает, что витамин K_1 участвует в стихиометрическом фосфорилировании, сопряженным с окислением β -оксибутирата.

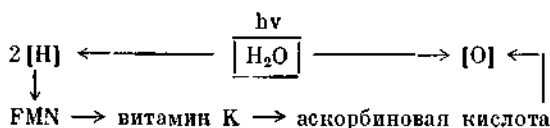
Изучение распределения витамина К в отдельных фракциях печени быка показало (Green a. oth., 1956), что наибольшее количество его (61%) было сконцентрировано в митохондриях. Это подтверждает, что витамин К в митохондриях связан с ферментной системой окислительного фосфорилирования.

Подобная же инактивация окисления, сопряженного с фосфорилированием, доказана при освещении суспензии бактерий (*Mycobacterium phlei*) и восстановления с добавлением витамина K_1 (Brodie, Weber, Gray, 1957). Добавление к освещенным бактериям рибофлавин-фосфата восстанавливало только окисление, но не фосфорилирование (Weber, Brodie, 1957; Brodie, Gray, 1956). Освещенные растворы витамина K_1 в жирах вызывает ту же инактивацию. Из всех производных витамина К только витамин K_1 был способен к активированию окислительного фосфорилирования (Brodie a. oth., 1957).

Фитоловая боковая цепь в 3-м положении витамина К имеет существенное значение для его биологического действия. Возможно, К-витаминное действие 2-метил-1,4-нафтохинона обуславливается превращением его в организме в витамин K_1 , биосинтез которого не происходит в митохондриях печени, а, вероятно, происходит в другой ее фракции. Это подтверждается торможением фосфорилирования антикоагулянтами в печени и устранением этого торможения производными витамина К с различной длиной боковой цепи (Martius, Nitz—Litzow, 1955).

Неизвестным до сих пор звеном в дыхательной цепи реакции, протекающей между цитохромами В и С, вполне вероятно, является витамин К или комплекс фермент с активной группой этого витамина. Связь между торможением активности DPNH-менадион-редуктазы и окислительного фосфорилирования, вызванного дикумарином, или недостатком витамина К с торможением образования тромботропина, вызванными теми же факторами, указывает на ферментативный характер последнего. Поэтому можно считать, что первопричиной К-витаминной недостаточности является нарушение ферментативской системы, связанной с окислительно-восстановительными превращениями витамина К.

Сконцентрирование витамина К в хлоропластах Грастений, а также участие его в переносе водорода в фотосинтезе (Wessels, 1954) привело к открытию стимуляции фотосинтетического фосфорилирования витаминами группы К в изолированных хлоропластах. Витамины К стимулировали фосфорилирование только на свету, в анаэробных условиях и в присутствии флавиин-монокнотида (FMN), аскорбиновой кислотой и Mg^{++} (Arnon a. oth., 1955). Известно, что зеленые листья также являются богатыми источниками рибофлавина и витамина С и это согласуется с участием их в фотосинтетическом фосфорилировании. Оказывается, и витамины К составляют компоненты одной цепи, ибо их влияние на фосфорилирование дополняет друг друга. Световая энергия, идущая на фотоллиз воды, превращается в энергию пироксфатной связи аденозин-трифосфата в процессе переноса (Н) на (О) посредством серии переносчиков электрона согласно следующей схеме:



Фотосинтетическое фосфорилирование не было так специфично к строению витамина К, как окислительное фосфорилирование митохондриями печени, ибо оно стимулируется менадином, фтиоколом и витамином К₅ (2-метил-4-амино-1-нафтогидрохиноном), так же как и витамином К₁. Дикумарин тормозит фотосинтетическое фосфорилирование в присутствии менадиона (Arnon a. oth., 1955).

Применение витамина К при кокцидиозе слепой кишки у цыплят

Геморрагия является первичной, если не основной причиной смертности цыплят при кокцидиозе слепой кишки. Хейрме (Harms, Tugwell, 1956) показал, что введение витамина К в форме 1 г менадиона на 1 т корма цыплят понижало смертность от кокцидиоза. Еще большее понижение смертности при кокцидиозе вызывало введение 20 г бисульфитного комплекса менадиона на 1 т корма или большого процента листьев люцерны в корм цыплят

(Tugwell, Stephen, Harms, 1957). Наоборот, введение дику-марина цыплятам с кокцидиозом повышало смертность до 75%.

Для подтверждения благоприятного действия витамина К при кокцидиозе три группы цыплят до 23-дневного возраста содержались: I—на рационе, бедном витамином К, II—на том же рационе, но с добавлением 3 г менадиона на 1 т корма и III—на том же рационе, но с добавлением 1 г бисульфитного комплекса на 1 т. Затем цыплят заражали ооцистами спорозонной *Eimeria tenella* по 50 000 и 500 000 на птицу. В таблице 95 представлены полученные результаты (Otto a. oth., 1958) по прошествии 2 недель после заражения.

Таблица 95

Смертность цыплят от кокцидиоза слепой кишки на рационе, бедном витамином К, и с добавками к нему витаминов К

Дополнители в г на 1 т корма	Инфицировано ооцистами <i>E. tenella</i>			
	50 000		500 000	
	число цып-лят	% смер-ности	число цып-лят	% смер-ности
Нет	39	13	39	60
Менадион, 3 г	38	5	37	8
Бисульфитный комплекс, 1 г	44	7	44	0

Как мы видим, добавление витамина К резко снижает смертность при кокцидиозе. Поэтому при кокцидиозе цыплятам следует давать больше витамина К, чем здоровым птицам.

Биологическая активность, токсичность и потребность в витаминах К

Биологическая активность витаминов К может быть определена двумя методами: 1) по сокращению продолжительности свертывания цельной крови после введения испытуемого препарата К-авитаминозным цыплятам (Dam, Kruse, Sondergaard, 1951, Armquist, 1952) и 2) по повышению процента протромбина на 6-й день после однократной

внутримышечной инъекции испытуемого препарата К-авитаминозным крысам (Кудряшев и др., 1941).

Авитаминоз К образуется у крыс по прошествии 18—20 дней после перевязки желчного протока, ибо такие крысы не способны усваивать витамин К, поступающий с пищей и образующийся при кишечном синтезе.

За единицу витамина К при испытании на цыплятах принято минимальное количество вещества, которое через 6 часов после введения восстанавливает нормальную продолжительность свертывания крови, и при испытании на крысах—минимальное количество вещества, спустя 6 суток после введения которого (Улитина, Кудряшев, 1948) процент тромботропина и протромбина у крысы в крови повышается от 5—25 до 75—100%.

В таблице 96 представлены биологические активности производных витамина К.

Таблица 96

Биологическая (антигеморрагическая) активность производных витамина К

Соединение	Минимально активная доза (в мкг)	
	испытание на 200-граммовых цыплятах	испытание на 250-граммовых крысах
2-Метил-1,4-нафтохинон	6 (Dam, Sondergaard, 1953)	10 (Улитина, Кудряшев, 1948)
Тетра-натрий-2-метил-1,4-нафтохинон-бифосфат	6	—
Бисульфитный комплекс 2-метил-1,4-нафтохинона	—	10
2-Метил-1,4-нафтохинон-3-сульфокислый калий	—	100
Витамин К ₁	6	—
Витамин К ₂	9,6 (Fieser a. oth., 1941)	—
Фтиокол	500	—

При сравнении активностей витамина К₁ с активностями 2-метил-1,4-нафтохинона и его бифосфата на цыплятах оказалось, что витамин К₁ действует в два раза быстрее. Так, в одинаковых дозах витамин К₁ понижает продолжительность свертывания крови до 40 секунд через 1 час после введения, тогда как два последних вызывают

то же понижение через 2 часа (Dam, Sondergaard, 1953). В то же время нормальная продолжительность свертывания (25 секунд) достигается одинаково через 6 часов.

В настоящее время еще трудно что-либо утверждать в отношении зависимости биологической активности от фитольной боковой цепи, но следует отметить, что на основании 1) более интенсивного снижения продолжительности свертывания крови, 2) отсутствия фосфорилирующей активности у менадиона и 3) понижения активности с укорочением (фтикоил) или удлинением (витамины K_2) боковой цепи можно утверждать, что она имеет определенное значение для биологической активности.

При испытании активности водорастворимого менадион-натрий-бисульфита и витамина K_1 на пациентах, получавших антикоагулянт—дикумарин, оказалось, что витамин K_1 даже в два раза меньших дозах (25 мг) обладал более быстрым и сильным действием, чем менадион-натрий-бисульфит (в дозах 50 мг) (Stürup, 1955). 25 мг витамина K_1 дают повышение протромбина в течение 2—6 часов, тогда как 50 мг менадион натрия бисульфита не раньше чем через 12—24 часа.

Более низкая активность 2-метил-1,4-нафтохинон сульфоната калия, чем бисульфитного комплекса, вытекает из того, что сульфонат получается (Бочвар и др., 1943) окислением бисульфитного комплекса и поэтому по химическому строению и свойствам отличается от последнего.

Все предыдущие исследования активности витаминов относились к индивидуальным дозам, введенным внутримышечно или перорально. Однако, если менадион вводился цыпленку не в виде индивидуальной пероральной дозы, а в виде раствора смешивался с кормом, то большое значение на потери активности его оказывал растворитель. При смешивании с кормом менадиона в растворе этилового спирта потери активности были гораздо большие, чем при смешивании его в растворе рыбьего жира или кунжутном масле. Менадион, смешанный с кормом даже в растворе рыбьего жира, оказался все же менее активным, чем введенный в виде индивидуальной пероральной дозы (Almquist, Klos, 1939).

Когда же с кормами смешивали менадион-бисульфитный комплекс, то по одним данным (Frost, Perdue, Spruth, 1956) он оказался в три раза, а по другим (Shelton a. oth., 1956)—в 18 раз более активным для цыплят, чем менадион,

таким же способом смешанный с кормом. Для проверки этих разногласий витамин K_1 и бисульфитный комплекс, предварительно смешанные с известью, растворяли в кукурузном масле и смешивали с кормом в пропорции 4,5 мл раствора на 11,25 кг корма (Perdue a. oth., 1957). Оказалось, что бисульфитный комплекс был в 1,5 раза активнее витамина K_1 , а, исходя из содержания менадиона в молекулах обоих веществ, бисульфитный комплекс был в 1,7 раза активнее витамина K_1 (Perdue a. oth., 1957).

Токсической дозой 2-метил-1,4-нафтохинона при внутримышечном введении является 20 мг на 200 г веса крысы, 2-метил-1,4-нафтохинон-3-сульфокислый калий в тех же условиях обладает токсичностью в дозе 10 мг, а бисульфитный комплекс (вернее его аддукт)—в навеске 60 мг (Улитина, Кудряшев, 1948).

Потребность в витамине К очень условна, особенно для млекопитающих, у которых она в значительной степени удовлетворяется кишечным биосинтезом. Однако новорожденные или преждевременно рожденные дети, у которых кишечная флора еще отсутствует, нуждаются в витамине К. Рекомендуются беременным женщинам и кормящим матерям вводить по 10 мг менадиона (Sanford a. oth., 1949). При обтурационной желтухе, когда поступление желчи в кишечник нарушено, вместе с ней и усвоение витамина К, необходимо взрослым пациентам внутривенно вводить 10 мг его ежедневно в течение 3 дней, а детям 1—2 мг.

При травматических повреждениях, когда требуется внезапная операция, а также при длительном лечении антикоагулянтами, когда содержание протромбина следует поднять, требуется вводить 10—40 мг витамина K_1 (Stürup, 1955).

Жирорастворимый витамин K_1 , введенный внутривенно, действует быстрее и сильнее, чем водорастворимый аналог его, введенный тем же путем (Gamble a. oth., 1955).

В настоящее время готовится водная эмульсия витамина K_1 , содержащая 20 мг в 1 мл. Внутривенное введение 10—20 мг витамина К в виде этой эмульсии пациентам, получавшим антикоагулянт, наиболее эффективно и в течение 24 часов восстанавливает протромбин до 100%. Доза в 5 мг этой эмульсии повышает за то же время протромбин от 50 до 100% (Dawson, 1955).

Потребность в витамине К, так же как и в других витаминах, зависит от многих факторов (окружающей температуры и т. д.) и может быть указана только для птиц, остро нуждающихся в витамине К. Добавление в рацион с недостатком витамина К 1,76 мг менадиона или равного количества бисульфитного комплекса на 1 кг корма одинаково восстанавливало до нормы длительность содержания протромбина в плазме у индюшат недельного возраста. Так как в водорастворимом натрий-бисульфитном комплексе содержалось 33% менадиона, то, следовательно, он был примерно в три раза активнее менадиона. Однократная пероральная доза менадиона 6—8 мкг/100 г веса тела восстанавливала длительность протромбина плазмы у 4-недельных цыплят и индюшат до нормы (Griminger, 1957).

МАЛОИЗУЧЕННЫЕ ВИТАМИНЫ

В этой главе мы разберем три витамина: 1) пищевой фактор—витамин B_{13} , 2) экзогенное вещество, которое можно рассматривать как составную часть азотистых экстрактивных веществ мышцы—витамин B_T и 3) необходимые ненасыщенные жирные кислоты—витамин F .

В настоящее время еще неясно, можно ли два последних вещества отнести к «собственно витаминам. Однако их все-таки относят к витаминам. В отношении других витаминов укажем следующее. Витамин B_4 уже идентифицирован с аденином. Отсутствие его рассматривается как нарушение тех энзиматических систем, в состав коэнзим (аденозинтрифосфат, дифосфо- и трифосфопиридиннуклеотиды, флавинаденидинуклеотид и т. д.) которых он входит, вследствие чего возникают вторичные агранулоцитарные нарушения (Лесог, 1953). Однако аденин настолько широко распространен в природе, что практически недостаточность его не встречается. Витамины B_3 , B_5 и B_6 в природе не существуют, витамин B_7 оказался кодегидразой 1, или дифосфопиридиннуклеотидом, а B_8 —адениловой кислотой. Об остальных пищевых факторах (B_{14} , L_T и U) почти ничего не известно, а другие (витамины B_{10} , B_{11} , M и W) являются связанными формами уже существующих витаминов. Поэтому эти витамины мы рассматривать здесь не будем.

Витамин B_{13} и оротовая кислота

В 1947 году было установлено (Novak, Hauge, 1947, 1948), что цыплятам и крысам, содержащимся на синтетической казеинодекстриновой диете с добавлением всех известных витаминов, требуется для нормального роста

еще неизвестный пищевой фактор. Это вещество содержалось в дрожжевых остатках винокуренного производства и было названо витамином B_{13} . Концентрат витамина B_{13} (3 мл), добавленный к 40 кг корма, содержащего необходимое количество витамина B_{12} , в два раза повышал рост поросят (Cunha a. oth., 1950). Кроме того, оказалось, что расе *Lactobacillus bulbaricus* 09 для оптимального роста к синтетической среде необходимо добавлять большее количество дрожжевого экстракта, чем его требуется для обеспечения фактором *L. bulbaricus* (пантетином). Дрожжевой экстракт можно было заменить молочной сывороткой.

Одинаковая природа неизвестного фактора и оротовой кислоты (4-карбоксиурацила), а также замена ею потребности вышеуказанного организма большими количествами естественных продуктов доказали их идентичность (Wright a. oth., 1950). Оротовая кислота, выделенная из дрожжевых остатков—естественного источника витамина B_{13} , оказалась идентичной с синтетической. Спектры поглощения оротовой кислоты и витамина B_{13} имели очень близкий максимум и минимум поглощения, отличаясь лишь небольшим сдвигом у витамина B_{13} в более длинноволновую область. Так, оротовая кислота обладает максимумом поглощения в области 278 м μ и минимумом в области 240 м μ , тогда как витамин B_{13} —в области 282 и 255 м μ (Manna, Nauge, 1953).

Биологическое испытание оротовой кислоты, витамина B_{13} и дрожжевых остатков, из которых последний был выделен, на крысах, содержащихся на диете с недостатком B_{13} , показало, что оротовая кислота хотя и с несколько меньшей активностью, но все же могла заменить как витамин B_{13} , так и дрожжевые остатки (Manna, Nauge, 1953). Эти данные указывают, что оротовую кислоту можно рассматривать как продукт разложения витамина B_{13} , подобно тому, как 5,6-диметилбензимидазол служит продуктом кислотного расщепления витамина B_{12} .

Только 30% от всей дозы оротовой кислоты, введенной внутрибрюшинно в организм крысы, выделяется с мочой, а остальная часть идет на образование нуклеиновых кислот. Так, в печени через 2 часа после введения было найдено 35% метки от введенного 4-карбоксиурацила-6- C^{14} в нуклеиновой кислоте, именно в пиридиннуклеотидах (Hurlbert, Potter, 1952). То же было установлено в опытах на срезах печени крыс *in vitro* (Weed, Wilson, 1951)

и на бактериях (Wright a. oth., 1951). Путь использования оротовой кислоты для образования нуклеотидов в дрожжах аналогичен таковому превращения аденина и протекает через две следующие реакции (Lieberman a. oth., 1954):

Оротовая кислота + 5-фосфорибозидпирофосфат $\rightleftharpoons$ оротидин-5-фосфат (O5Ф) + пирофосфат (1)

и оротидин-5-фосфат $\rightarrow$ уреидин-5-фосфат (И5Ф) + CO_2 (2)

Реакция (1) катализируется энзимом оротидин-5-фосфат пирофосфорилазой, а реакция (2)—оротидин-5-фосфат—декарбоксилазой (Lieberman a. oth., 1954). Уреидин-5-фосфат тканевыми энзимами может дальше фосфорилироваться в 5'-уреидин-пирофосфат (Hurlbert, Reichard, 1955). Является ли оротидин-5-фосфат или динуклеотид с более сложной молекулой витамином B_{12} , пока еще не установлено. Известно, что, кроме дрожжей, оротовая кислота вместе с витамином B_{12} содержится в сыворотке молока.

Оротовая кислота в количестве 1 мг на 100 г диеты с протеином растительного происхождения может заменить 2 мкг витамина B_{12} в восстановлении роста и активности трансметилазы у крыс (Viviani a. oth., 1955; Marchetti, Viviani, Rabbi, 1956).

Введение оротовой кислоты в диету, содержащую 18% казеина, не влияет на рост и вес органов молодых крыс, но стимулирует рост и повышение веса зубной железы крыс, содержащихся на растительной диете (Ginoulihas, Ferrari, 1957). В этом отношении оротовая кислота действует аналогично витамину B_{12} .

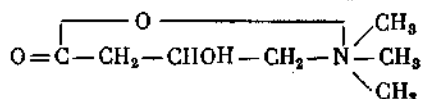
Витамин B_T (карнитин)

Для развития личинок мучного хрущака *Tenebrio molitor* в дополнение к восьми известным витаминам B требуется еще фактор, присутствующий в фильтрате после адсорбции углем дрожжевого или печеночного экстракта. В отсутствие этого фактора, названного витамином B_T (Fraenkel, 1948, 1951, 1952, 1953), личинки не развиваются и погибают в течение 4—5 недель.

Витамин B_T растворим в воде и нерастворим в большинстве жировых растворителей.

Дальнейшие исследования установили идентичность витамина B_T с карнитином, выделенным впервые Гулеви-

чем из мышц и имеющим следующее строение:



Карнитин широко распространен в животном мире как у позвоночных, так и беспозвоночных (насекомых, морских иглокожих, моллюсков и др.), гораздо меньше его в растениях и микроорганизмах. В некоторых микроорганизмах, как *Escherichia coli* и *Tetrahymena*, он не был найден, нет его и в зернах пшеницы и кукурузы. Особенно богата им мышечная ткань позвоночных, где он сосредоточен в мышечных волокнах. В гладких и в поперечнополосатых мышцах карнитина примерно одинаковое количество. Карнитин встречается и в других органах животных, а также найден в моче человека.

Биосинтез карнитина широко распространен в животном и растительном мире. В настоящее время, кроме *Тенсбрио molitor*, известны еще и другие виды насекомых, не способных к биосинтезу карнитина, но требующих его с пищей. Поэтому мы можем карнитин отнести к витаминам.

Физиологическая функция карнитина еще не установлена, но, вероятно, обладая в своей молекуле тремя метильными группами, он может участвовать в процессах метилирования.

Молодых личинок *T. molitor*, погибших от различной степени недостаточности карнитина, можно разбить на три типа. К I типу относятся личинки, погибшие через 4—8 часов после линьки. К моменту гибели личинки имеют скрученную форму со светлой и мягкой кутикулой. Ко II типу относятся личинки, погибшие через несколько дней (не более 10) после линьки. К моменту гибели кутикула их становилась твердой и темной. Кишечник наполнялся воздухом вследствие плохой проницаемости кутикулы. Личинки прекращали питаться, теряли в весе, сморщивались и погибали. К III типу относились личинки, погибшие от промежуточных форм недостаточности карнитина. Личинки всех типов обычно погибали после 7-й линьки в возрасте 4—5 недель, весом 3—4 мг. Большинство личинок (54%) погибало от недостаточности типа I, 24% — от типа II и только 8% — от типа III.

Содержание 0,35 мкг карнитина в 1 г диеты дает возможность личинкам превращаться в куколок и бабочек,

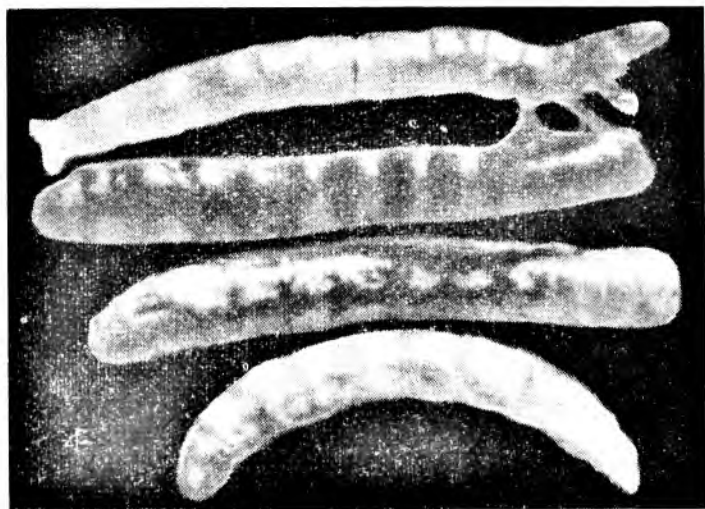


Рис. 27. Вверху нормальная личинка *T. molitor*. Нижние три личинки погибли в различной стадии развития от недостатка карнитина.

однако последние уродливы и не жизнеспособны. Для оптимального роста личинок и образования нормальных взрослых организмов требуется 1,5 мкг карнитина в 1 г диеты.

Причину гибели личинок при недостатке карнитина нельзя приписывать голоданию, ибо патология обменных процессов этих недостаточностей различна. При недостатке карнитина в теле личинок жир исчезает с 42,7 до 24%, а при голодании до 12%. В первом случае содержание воды в теле падает с 58,5 до 42,2%, а во втором повышается до 70,7%. При этом понижение содержания воды и быстрота гибели не зависят от влажности окружающей среды. Следует также отметить, что некоторые молодые личинки (I типа) нормально питаются до самой смерти. Таким образом, гибель *T. molitor* от недостатка карнитина объясняется нарушением свойств кутикулы.

По химическому строению молекула карнитина близка к холину, поэтому карнитин испытывали как заменитель холина на четырех видах насекомых и одном виде плесени, нуждающихся в холине. Оказалось (Fraenkel a. oth., 1955), что *Neurospora crassa*, таракан *Blatella germanica*

и мушная бабочка *Palorus ratzeburgi* не реагировали на карнитин. Последний обладал очень слабым холиновым действием на бабочек *Lasioderma serricornis* и вполне заменял холин примерно в эквивалентных количествах при испытании на мухах *Drosophila melanogaster*, хотя с карнитином рост мух был немного слабее, чем с холином.

Витамин F

Все жизненно необходимые ненасыщенные жирные кислоты были еще в 1929 году Буром (Burr, Burr, 1929) названы витамином F.

При кормлении крыс пищей, лишенной жира или с небольшим количеством затвердевшего кокосового масла, в котором отсутствуют ненасыщенные жирные кислоты, у них возникают кожные повреждения и в первую очередь некроз кончика хвоста. При этом животные перестают расти и примерно через 4 недели погибают. Введение витамина F предупреждает и устраняет эти явления.

Мы уже отмечали, какое отношение ненасыщенные жирные кислоты имеют к биотину (см. гл. 7, стр. 312). Томассон (Thomasson, 1953, 1954) показал, что F-витаминным действием обладают лишь те ненасыщенные жирные кислоты, в молекуле которых присутствуют две двойные связи в положениях 6 : 7 и 9 : 10, считая от конечной CH_3 -группы. К таким кислотам относятся линолевая, линоленовая и арахидоновая. Кроме того, были найдены еще три ненасыщенные жирные кислоты, обладающие активностью витамина F и удовлетворяющие вышеуказанным условиям, это нонадекадиеновая, эйкозодиеновая и октадекатриеновая.

Линолевая кислота в смеси с линоленовой в пероральных дозах соответственно 0,27 и 0,13 г применяется при терапии кожной экземы у детей (Pettit, 1954).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы видели, что витамины необходимы всем живым организмам в малых количествах, далеко не достаточных для пополнения калорийности пищи. Поэтому витамины следует рассматривать как биокатализаторы. В настоящее время известно, что почти все витамины участвуют в качестве активных групп в составе коэнзим. Коэнзим же вместе с соответствующим белком представляет собой энзиматическую систему, участвующую в определенном звене обмена веществ. Недостаток того или иного витамина в организме вызывает прежде всего исключение известного звена в цепи общего обмена и тем самым нарушает обмен, вследствие чего в организме возникают вторичные явления, выражающиеся в клинической картине соответствующего авитаминоза. Так как не только в общем обмене, но даже в окислении одного субстрата участвуют одновременно несколько витаминов, то недостаточность в пище одного какого-либо витамина вызывает недостаточность в некоторых других витаминах, а это проявляется в клинической картине общих симптомов, одновременно характерных для нескольких авитаминозов. Особенно это относится к общности симптомов при никотиновой, пантотеновой и фолиевой недостаточностях.

Кроме того, отсутствие какого-либо витамина нарушает нормальное действие другого. Так, при полноценной диете небольшой избыток витамина D (640 и. е. в 1 кг диеты), который не считается токсическим и не приводит к гипервитаминозу, при одновременном отсутствии витамина B₁₂ вызывает сильную депрессию роста и гиперкальцификацию, устраняемые добавлением к диете витамина B₁₂ (Frölich, 1954). Отсутствие одного витамина также может

нарушить усвояемость другого и тем самым вызвать полиавитаминоз.

Потребность в витаминах у одних организмов полностью удовлетворяется биосинтезом (зеленые растения), другие же организмы способны синтезировать только некоторые витамины, остальные необходимы в пище. Человек и высшие животные, в кишечнике которых синтезируется большинство витаминов, все же нуждаются в них, так кишечный биосинтез обычно не полностью покрывает потребность в этих витаминах. Даже синтез витамина С в тканях большинства животных часто недостаточен для удовлетворения потребности и поэтому большинству сельскохозяйственных животных следует добавлять витамин в рацион. Биосинтез витамина С в тканях зависит от кормления. Корма, богатые белками, способствуют биосинтезу этого витамина.

Потребность в витаминах крайне условна и зависит, как мы видели, от многих факторов: состава пищи, окружающей среды, вида животного и запасов витамина в организме. В свою очередь, от состава пищи зависит и бактериальная флора кишечника, синтезирующая витамины. В факторы окружающей среды входят освещение, климат и температура. Поэтому то количество витаминов, которое необходимо людям, живущим в умеренном климате, будет недостаточно населению жарких стран.

Порода животного, в том числе птицы, также влияет на потребность в витаминах. Как мы видели, это особенно резко выражено у кур.

Потребность в витаминах может сильно повыситься при патологических явлениях из-за нарушения усвояемости витаминов, либо нарушения биосинтеза. Часто применяемая терапия сульфаниламидными препаратами нарушает кишечный синтез большинства витаминов и тем самым повышает потребность в них.

Пероральное введение антибиотиков обычно влияет благоприятно на кишечный синтез витаминов, ибо угнетает микроорганизмы, пожирающие витамины, и стимулирует рост коккообразных бактерий, синтезирующих большинство витаминов.

Лечение некоторыми антималярийными и антиканцерогенными препаратами, которые, как было указано, являются конкурентными антагонистами витаминов, также вызывает повышенную потребность в этих витаминах.

В таком случае следует учитывать те нарушения витаминного баланса, которые могут возникнуть при введении вышеуказанных препаратов.

Как мы видим, большинство витаминов присутствует в продуктах в связанном состоянии в составе коэнзима, связанного с белком, поэтому в сырых продуктах растительного и животного происхождения они плохо усваиваются. Особенно это относится к свежим сырым дрожжам. Однако при нагревании и сушке подобная связь нарушается и витамины дрожжей и других продуктов становятся более усвояемыми.

Каждому врачу, биологу, ветеринару, зоотехнику и агроному необходимо знать значение витаминов, их свойства, потребность в них людей и животных и способы терапевтического и профилактического применения.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

К л а с с е I

- Балаба Т. Я. Физиологический журнал, СССР, 29, 318, 1940.
- Балаховский С. Д. и Дроздова Н. Н. Биохимия, 22, № 1—2, 330, 1957.
- Балаховский С. Д. Доклады АН СССР, 1, № 1, 28, 1934; Клиническая медицина № 3, 392, 1935.
- Балаховский С. Д., Воскресенская Е. В., Федоров В. Н. Доклады АН СССР, 97, № 1, 115, 1954.
- Балаховский С. Д., Дроздова Н. Н. и Федорова В. Н. Доклады АН СССР, 87, № 3, 453, 1952.
- Балаховский С. Д., Рывкина Д. Е. и Дроздова Н. Н. Доклады АН СССР, 88, 397, 1953.
- Балаховский С. Д., Рывкина Д. Е. и Федорова В. Н. Доклады АН СССР, 93, 869, 1953.
- Балаховский С. Д. и Троицкая Н. А. Доклады АН СССР, 82, 119, 285, 1952.
- Балаховский С. Д., Троицкая Н. А. и Колесникова Н. В. Биохимия, 15, № 3, 267, 1950.
- Балаховский С. Д., Шварц С. Е. и Дроздова Н. Н. Доклады АН СССР, 92, 377, 1953.
- Бородин И. Известия императорской АН СПб. II, 485, 1883.
- Будицкая Е. В. Биохимия, 19, 216, 1954.
- Валдман А. Р. Вопросы физиологии сельскохозяйственных животных. Труды I и II совещаний. Изд. АН СССР, 195, 1957.
- Вильямс В. В., Доклады ТСХА, вып. 4, 106, 1945; Известия ТСХА, № 3, 195, 1953; № 1, 177, 1954; № 3, 175, 1954; № 1, 201, 1956.
- Воннова Т. И. Лечение пигментной дегенерации сетчатки никотиновой кислотой и витамином А. Москва, 1950. Диссертация.
- Горднеев Т. и Осипова О. Доклады АН СССР, 57, 161, 1947.
- Давидов Р. Б., Известия ТСХА, № 1, 175, 1958.
- Давидов Р. Б., Гулько Л. Е., Ермакова М. А. Основные витамины в молоке и молочных продуктах. Пищепромиздат, Москва, 1956.
- Давидов Р. и Ермакова М. Молочная промышленность, 15, № 6, 32, 1954.

Дроздова Н. Н. и Балаховский С. Д. Доклады АН СССР, 87, 245, 1952. Биохимия, 20, 381, 1955.

Ездакова О. Д. Доклады Всес. конференции по молочному делу. Москва, Сельхозгиз, 1958, 182—188; Молочное и мясное животноводство, № 5, 43, 1957.

Захарченко И. М. Сб. 2—Витаминные ресурсы. Изд. АН СССР, стр. 7, 1954.

Калмыков С. Т. и Пушкарева В. И. Ветеринария, 28, № 1, 1951.

Капланский С. Я. и Балаба Т. Я. Биохимия, 11, 327, 1946.

Кирсанова В. А. Биохимия, 3, № 2, 191, 1938 и 9, 113, 1944.

Китавин В. Н. Сб. Биохимия и физиология витаминов, № 3, стр. 7, 1951. Изд. иностранной литературы, Москва.

Коган М. и Квятковский А. Сб. Бюллетень технической информации, № 1, 28—37, 1945.

Коган М. Сб. Новое в науке и технике витаминов, № 1, 86—95, 1946; Труды Витаминного института, 1947.

Лапшин С. А. Животноводство, № 7, 56—60, 1957.

Левина Р. Я. Журнал общей химии, 22, 571, 585, 1952.

Ледерер Е. и Розанова В. Биохимия, 2, 203, 1937.

Леутский К. М. и Бруславец А. И. Укр. биохимический журнал, 22, № 4, 442, 1950.

Леутский К. М. и Любвяч Е. Н. Укр. биохимический журнал, 24, № 2, 172, 1952. Доклады АН СССР, 96, № 2, 341, 1954; 104, № 2, 280, 1955.

Любименко В. и Монтеверде Н. Изв. имп. АН, СПб., 1006, 1105, 1913. Любименко В. Записки имп. Акад. Наук, С.-Петербург, 33, № 12, 1916; Любименко В. и Бриллиант В. Окраска растений, Ленинград, 1924; Любименко В. и др. Изв. ботан. сада, 1—2, 46, 1930. Ботанический журнал, 21, 5, 1936.

Мацко С. Н. Журнал экспериментальной биологии и медицины, 25, 163, 1928.

Мацко С. Н., Графская З. С., Завадовская Е. В. Биохимия, 11, № 1, 13, 1946.

Мацко С. Н., Жмейдо А. Т. и Горбунова В. И. Вопросы питания, 11, № 4, 73, 1952.

Мялов В. М. Животноводство, № 8, 81—82, 1957.

Михайловнича А. А. и Савинов Б. Г. Укр. химический журн., 15, 285, 1949; 16, 183, 1950; 17, 496, 1951; 18, 361, 1952.

Назаров И. Н., Ракчеева В. Н. и Щиолина Л. И. Журнал общей химии, 22, 611, 617, 1952.

Ольхин С. Труды Всесоюзного научно-исследовательского витаминного института, 1940.

Петровская О. А. Вопросы питания, 11, № 6, 53, 1952.

Попандопуло П. Х. Витаминный состав кормов. Сельхозгиз, Москва, 1949.

Резевская С. А. Труды Латвийской сельскохозяйственной академии, вып. 3. Изд. АН Латвийской ССР, 1954.

Розанова В. Витамины в теории и практике, 105—113, 130—139, 1941.

- Савинов Б. Г. Каротин. Изд. Укр. АН, Киев, 1948.
- Савинов Б. Г. и Гринберг Ф. Л. Укр. химический журнал, 16, № 3, 358, 1950; Доклады АН СССР, 73, 145, 1950.
- Савинов Б. Г., Михайловина А. А. и Шапиро С. С. Доклады АН СССР, 72, № 6, 1087, 1950 и Укр. химический журнал, 17, 50, 1951.
- Савинов Б. Г. и Свищук А. А. Укр. химический журн., 16, № 1, 57, 1950.
- Самохвалов Г. И. Технология и применение витамина А и каротина. Пищепромиздат, Москва, 1956.
- Солун А. С. Витаминное питание сельскохозяйственных животных. Сельхозгиз, Москва, 1944.
- Тен М. П. Каракулеводство и звероводство, 3, № 4, 61, 1950.
- Тихонов И. Т. Свиноводство, № 3, 37—40, 1957.
- Труфанов А. В. и Голяркин Ф. Е. Витамины в птицеводстве. Москва, Сельхозгиз, 1952.
- Черкес Л. А., Авербах Н. М. и Яковлева С. П. Вестник офтальмологии, 29, № 1, 33, 1950.
- Шапошникова Т. М. Бюллетень сельскохозяйственной информации Львовского областного общества политических и научных знаний УССР, № 2, 28, 1957.
- Arnrich L. J. Nutrition, 56, 35, 1955.
- Arnrich L. a. Morgan A. F. J. Nutrition, 54, 107, 1954.
- Bandemer S. L., Evans R. J., Davidson J. A. Agric. and Food Chem., 6, № 7, 549, 1958.
- Beat V. B. N. Amer. Vet., 38, 380—381, 1957.
- Berzelius J. Liebigs Ann. d. Chemie, 31, 257, 1837.
- Bieri J. G. a. Clifford J. Pollard. Brit. J. Nutr., 8, № 1, 32, 1954.
- Bliss A. F. J. Biol. Chem., 193, 525, 1951.
- Booth V. H. Biochem. J., 47, № 4, XLIII, 1950.
- Сama H. R., Pillai N. C., Sundaresan P. R., Venkateshan C. J. Nutrition, 63, № 4, 571, 1957.
- Сama H. R., Dalvi P. D., Morton R. A. a. Sallah M. K. Biochem. J., 52, № 4, 542, 535, 540, 548, 1952.
- Chanda R. Nature, 178, 541, 1956.
- Chanda R., Claphan E. M. a. Owen E. C. Biochem. J., 51, 404, 1952; 56, 453, 1954.
- Charlet-Léry G., Francois A. C., Leroy A. M. Ann. Zootech., 2, № 2, 163, 1953.
- Christensen N. O., Engelund A., Terp P. Nord. Vet. Med., 10, № 1, 49, 1958; 10, № 6, 393, 1958.
- Church D. C., Pope L. S., Mac Vicar R. J. Animal Sci., 15, № 4, 1078, 1956.
- Chou T. C., Marlatt A. L. J. Nutrition, 51, 305, 1953.
- Clark J. a. Colburn R. W. Feder. Proc., 12, 617, 1953; Endocrinology, 56, 232, 1955.
- Collins F. D. a. Morton R. A. Biochem. J., 47, 3, 10, 18, 1950.
- Collins F. D., Green J. N. a. Morton R. A. Biochem. J., 53, 152, 1953; 56, 493, 1954.

- Deuel J. H., Alfin-Slater R. B., Wells A. F., Kryder G. D. *Aftergood L. J. Nutrition*, 55, 337, 1955.
- Ditlefsen E. M. L., Stoa K. F. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 6, 210, 1954.
- Diven R. H., Erwin E. S. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 97, № 3, 601, 1958.
- Dowling J. E., Wald G. *Proc. Nat. Acad. U.S.A.*, 44, № 7, 648, 1958.
- Drummond J. C., Gilding H. P. a. Mac Walter R. J. *J. Physiol.*, 82, 75, 1934; 83, 236, 1935.
- Dziewiatkowski D. D. *J. Exp. Med.*, 100, 11, 1954.
- Eaton H. D., Matterson L. D., Decker L., Helmbolt C. F. a. Jungherr E. L. *J. Dairy Sci.*, 34, 1073, 1951; 35, 607, 1952.
- Edev E., Moore T. *Biochem. J.*, 47, № 1, VI, 1950.
- Eriksen B., Hoygaard A. *Klin. Wochenschr.*, 20, 200, 1941.
- Ershoff B. H. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 74, 586, 1950.
- Flesch P. J. *Invest. Derm.*, 21, 421, 1953.
- Farrar K. R., Hamlet I. C., Heubest H. B. a. Jones E. R. H. *Chem. a. Ind.*, 49, 1951.
- Fomarelli R. M., Charney J. a. Bernhart F. W. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 63, 108, 1946.
- Ganguly J., Krinsky T. W., Mehl J. W., Denel H. J. *Arch. Biochem.*, 38, 275, 1952.
- Gazo M., Landan L., Veterin. casop., 7, № 3, 253, 1958.
- Giroud A., Martinet M. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 152, № 6, 931, 1958.
- Glover J., Goodwin T. W. a. Morton R. *Biochem. J.*, 43, 512, 1948.
- Glover J. a. Redfearn E. R. *Biochem. J.*, 58, № 2, XV, 1954.
- Glover M., Morton R. A., Rosen D. G. *Biochem. J.*, 50, 425, 1952.
- Goodwin T. W., a. oth. *Biochem. J.*, 46, XXXV, 1950; 47, № 5, LIV, 1950; 50, 550, 1952; 52, 499, 1952; *J. Sci. Food. and Agric.* 4, № 5, 209, 1953.
- Green B., Horner A. A., Lowe J. S., Morton R. A. *Biochemical J.*, 67, № 2, 235, 1957.
- Guerrant N. B., Thompson R. Q. *J. Nutrition*, 46, 377, 1952.
- Guilbert H. R., Howel C. E., Hart G. H. J. *Nutrition*, 10, 409, 1935; 13, 543, 1937; 19, 91, 1940.
- Hart G. H. a. Guilbert H. R. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 91, 198, 1937.
- Heaton F. W., Lowe J. S., Morton R. A. *Biochemical J.*, 60, XVIII, 1955; 67, № 2, 208, 1957.
- Helgebostad Arne Nord. *veterinärmed.*, 7, № 4, 297, 1955.
- Hubbard R. a. Wald G. J. *Gen. Physiol.*, 32, 367, 1949; 36, 269, 1953; *Science*, 115, 60, 1952.

- Hubbard R. J. *Gen. Physiol.*, **37**, 381, 1954.
- Hume E. M., Krebs H. A. *Med. Res. Council. Spec. Rep. Ser.*, № 264, 1949.
- Hunter R. F. a Williams N. E. *J. Chem. Soc.*, 554, 1945.
- Hunter R. F. *Nature*, **158**, 257, 1946.
- Isler, O., Lindlar, H., Montavon M., Rüegg, Zeller P. *Helv. Chim. Acta*, **39**, 249, 1956.
- Isler O., Ronco A., Guex W., Hindley N. G., Huber W., Dialer K. a Kofler M. *Helv. Chim. Acta*, **30**, № 6, 1911, 1947; **32**, № 2, 489, 1949.
- Jacobson N. L., Allen R. S., Blake J. T. a Homeyer P. G. *J. Nutrition*, **54**, 143, 1954.
- James W. H. a Hollinger M. E. *J. Nutrition*, **54**, 65, 1954.
- James W. H. a El Gindi J. M. *J. Nutrition*, **51**, 97, 1953.
- Kahn R. H. *Nature*, **174**, 317, 1954.
- Karrer P. u. andere. *Helv. Chim. Acta*, **12**, 1142, 1929; **13**, 87, 286, 709, 1084, 1930; **14**, 614, 737, 1033, 1931; **15**, 1158, 1932; **16**, 641, 1975, 1933; **17**, 417, 1013, 1169, 1934; **18**, 25, 1935; **20**, 682, 1020, 1937.
- Karrer P., Morf R. a Schopp K. *Helv. Chim. Acta*, **16**, 557, 625, 1933.
- Karrer P. a Schneider P. *Helv. Chim. Acta*, **33**, 38, 1950.
- Kowalewski K., Henrotin E., a Van Geertruyden J. *Acta Gastroenterol. (belg.)*, **14**, 607, 1951.
- Kramer M., Tarjan R. *Z. Vitaminforsch.*, **28**, № 3, 295, 1958.
- Kramke E. H., Lloyd M. D. a Fritz I. C. *Poultry Sci.*, **31**, 49, 1952.
- Kreula M. S. *Biochem. J.*, **41**, 269, 1947; *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A, II, Chem.*, **38**; 7, 1950.
- Kreula M. S., Virtanen A. L. *Uppsala Läkerelören Forh.*, **45**, 335, 1939; *Z. physiol. Chem.*, **270**, 141, 1941.
- Krinsky N. I. *J. Biol. Chem.*, **232**, № 2, 881, 1958.
- Lammig G. E., Woolam D. E. M., Millen J. W. *Brit. J. Nutr.*, **8**, 363, 1954.
- Lease J. G., Lease E. J., Steenbock H. a Baumann C. A. *J. Lab. Clin. Med.*, **27**, 502, 1942.
- Leonhardi G. *Z. Ges. inn. Med.*, **2**, 376, 1947.
- Lowe J. S., Morton R. A., Cunningham N. F., Vernon J., *Biochemical J.*, **67**, № 2, 215, 1957.
- Lowe J. S., Morton R. A., Vernon J. *Biochemical J.*, **67**, № 2, 228, 1957.
- Lowry C. W., a Lowry J. R. *Arch. Biochem.*, **26**, № 2, 287, 1950.
- Lythgoe R. J. *J. Physiol.*, **89**, 331, 1937.
- Ludwig K. S. *Z. Vitaminforsch.*, **25**, 98, 1953.
- MacCollum E. V. a Davis M. J. *Biol. Chem.*, **15**, 167, 1913.
- MacGillivray W. A., Thompson S. Y., Worke N. A. *Brit. J. Nutr.*, **10**, 126, 1956; **11**, 57, 1957.

- MacGillivray W. A., Worker N. A. Brit. J. Nutr., 11, 47, 1957.
- Mallein R. C. R. Acad. Sci., 234, 143, 1952.
- Manly B. M., Petrov V., Stephenson O. a. Underhill S. W. F. Pharmacology, 4, 43, 1952.
- Mayer J., Krehl W. A. J. Nutrition, 35, 523, 1948; Arch. Biochem., 16, 313, 1948.
- Moore T., Sharman J. M. Biochem. J., 47, № 4, XLIII, 1950.
- Morehouse. Arch. Biochem. Biophys., 35, 335, 1952.
- Morton R. A. The application of adsorption Spectra to the Study of Vitamins. London, 1942.
- Morton R. A., Pitt G. A. J. Biochem. J., 59, 128, 1955.
- Ossag J., Sreter F. Acta agron. Act. Sci. hung., 5, № 1—2, 55, 1955.
- Oroshnik W., Karmas G. a. Mebane A. D. J. Amer. Chem. Soc., 74, 295, 3807, 1952.
- Osborne T. B. a. Mendel L. B., J. Biol. Chem., 15, 311; 16, 423, 1913; 17, 401, 1914; 20, 379, 1915.
- Peifer, J. J., Holman R. T. Arch. Biochem. Biophys., 57, 520, 1955.
- Pierce A. W. Austral. J. Agric. Res., 5, 470, 1954.
- Pirie A., Wood C. Biochemical J., 40, 557, 1946.
- Pitt G. A. J., Collins F. D., Morton R. A., Stock P. Biochem. J., 59, 122, 1955.
- Rahalker A. D., Nerurkar M. K., Sahasrabudhe M. B. Ind. J. Med. Sci., 10, № 9, 716, 1956.
- Riechert W. Dtsch. med. Wochenschr., 81, № 1, 38, 1956.
- Rodahl K. Nature, 164, № 4169, 530, 1949; J. Nutrition, 41, № 3, 399, 1950.
- Romvary J., Muranyi F., Kramer M. Acta vet. hung., 6, 1—14, 1956.
- Sen K. J. Ind. Med. Res., 24, № 1, 17, 1954.
- Shantz E. M. Science, 108, 417, 1948.
- Shantz E. M. & Brinkman H. J. Biol. Chem., 183, 467, 1950.
- Sheffy B. E., Drouliscos N., Loosly J. K., Willman J. P. J. Animal Sci., 13, № 4, 999, 1954.
- Steenbock H., Sell M. T. a. Buell M. V. J. Biol. Chem., 47, 89, 1921.
- Steenbock H. a. Boutwell P. W. J. Biol. Chem., 41, 81; 42, 131, 1920; 47, 303, 1921.
- Steenbock H. Science, 50, 352, 1919.
- Stepp W. Biochem. Z., 22, 452, 1909.
- Teichman R., Beall G., Eaton H. D., Rouseau J. E., Dolge K. L., Moore L. A., Frey P. R. J. Dairy Sci., 40, 1284, 1957.
- Truscott B. L. Anat. Rec., 106, 126, 1950; Endocrinology, 49, 961, 1951; Science, 117, 63, 1953.
- Wald G. Nature, 140, 545, 1937; J. Gen. Physiol., 22, 391, 775, 1938; Science, 111, 179, 1950; 113, 287, 1951; Feder. Proc., 12, № 2, 606, 1953.

- Wald G. Nature, 175, 390, 1955.
 Wald G. a. Brown P. K. J. Gen. Physiol., 35, 797, 1952.
 Wackenroder A. Geiger's Mag. f. Pharm., 33, 144, 1831.
 Wendler N. L., Rosenblum C. a. Tischler M. J. Amer. Chem. Soc., 72, 234, 1950.
 Willstätter R. Liebigs Ann. d. Chemie, 355, 1, 1907;
 Z. physiol. Chemie, 64, 52, 1910.
 Winterstein A. Z. physiol. Chemie, 219, 249, 1934.
 Woolam D. E. M., Millen J. W. Nature, 175, 41, 1955.
 Worden A. N., Bunjan J., Davies A. W. Biochem. J., 59, 527, 1955.
 Worker N. A. Brit. J. Nutr., 10, 169, 1956; 11, 44, 1957.
 Zeichmeister L., Le Rosen A. L., Schroeder W. A., Polgar A. a. Pauling L. J. Amer. Chem. Soc., 65, 1940; 1943.
 Zeichmeister L. a. oth. Arch. Biochem., 5, 107, 365, 1944; 6, 157, 1945.
 Zimmerman H. M. a. Cowgill G. R. J. Nutrition 11, 411, 1936.

К л а с с е 2

- Давыдов Р. Б. и Гулько Л. Е. Витамины ресурсы и их использование, 2, 103, 1954; Известия ТСХА, № 2, 179, 1956; Овцеводство, 4, № 4, 23, 1958.
 Ефремов В. В. и Тихомирова А. Н. Вопросы питания, 13, № 1, 71, 1951.
 Зевельд Д. О. Труды физиологической лаборатории им. Павлова, 14, 159, 1948; 16, 247, 253, 259, 1949; Журн. высшей нервной деятельности, 1, № 2, 160, 1951.
 Крицман М. Г. Биохимия, 8, 85, 1943.
 Лавров Б. А. и Мадко С. Н. Biochem. Z., 198, 138, 1928.
 Лавров Б. А. и Ярусова Н. С. Biochem. Z., 244, 390, 1932, и Вопросы питания, 4, № 4, 86, 1935; 5, № 4, 59, 1936; 6, № 5, 27, 1937.
 Мейсель М. Н. Доклады АН СССР, 29, 127, 1940; Микробиология, 7, 381, 1939; 10, 649, 1941; 14, 191, 1945.
 Одинцова Е. Н. Микробиология, 10, № 6, 670, 1941.
 Поппе З. Arch. f. Tierernährung, № 1, 9—21, № 2 и 3, 1958; Доклады ТСХА, вып. 32, 419, 1958.
 Разенков И. П. и Шекун Л. А. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 28, № 9, 220, 1949.
 Розанов А. Я. Биохимия, 23, № 1, 66, 1958.
 Самойлов А. Ф., Балакаев Б. Труды Туркменского сельскохозяйственного института, 8, 45, 1956.
 Солицев А. И., Филатов Г. В., Колдаева К. А. Известия ТСХА, № 1, 193, 1958.
 Слободин И. Зигаль М. С. Журнал общей химии, 11, № 12, 1019, 1944.
 Сопин Е. Ф. Укр. биохимический журн., 22, № 1, 78, 1950.
 Татарская Р. И. Биохимия, 17, 598, 1952.

Татарская Р. И., Файн Ф. С. и Ларионова Л. П. Биохимия, 16, № 4, 305, 1951.

Татарская Р. И., Кудряшов Ю. Б. и Файн Ф. С. Биохимия, 19, № 2, 229, 1954.

Титаев А. А. Биохимия, 13, № 3, 197, 1948; 15, № 3, 236, 1950; Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, № 8, 1953.

Тихомирова А. Н. Тезисы докладов сессии Института питания АМН СССР, 1948.

Труфанов А. В. и Эннатовская В. В. Пищевая промышленность, № 12, 24, 1944 и Сб. Основные источники витаминного сырья Узбекистана, стр. 91, Ташкент, 1946.

Челинцев Г. В. и Беневолентская З. В. Журнал общей химии, 14, № 11—12, 1142, 1944.

Челинцев Г. В., Дубинин Б. М. и Беневолентская З. В. Журнал общей химии, 17, № 2, 269, 273, 1947.

Шмук А. А. и Ильин Г. Л. Биохимия, 10, № 2, 155, 1945.

Шекун Л. А. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 44, № 7, 45, 1957; Вопросы питания, 16, № 6, 29, 1957.

Энгельгардт В. А., Канопкайте С. И. Биохимия, 22, № 1—2, 21, 1957.

Энгельгардт В. А. и Татарская Р. И. Биохимия, 13, 279, 1948.

Alexander B., Landwehr G., Mitchell F. J. Clin. Investig., 25, 294, 1946.

Awe W. Naturwissenschaften, 37, 453, 1950; 41, 528, 1954; Ang. Chemie, 65, 327, 1953.

Balakrishnan S., Rajagopalan R., Indian J. Med. Res., 43, 31, 1955.

Barazzone I., Lambelet F. Presse Med., 62, № 87, 1867, 1954.

Berl S., Bueding E. J. Biol. Chem., 191, 401, 1951.

Berznak A. Biochem. Z., 191, 1, 1923.

Burch H. B., Bessey O. A., Love R. H., Lowry O. H. J. Biol. Chem., 198, 477, 1952.

Burch H. B., Salcedo I., Carrasco E. O., Intengan C. L. J. Nutrition, 46, 239, 1952.

Caster W. O., Mickelsen O. J. Agric. a. Food. Chem., 2, № 21, 1073, 1954.

Castro Vincenzo, Monaco Pietro. Ricerca scient., 26, № 8, 2400, 1956.

Cerecedo L. K., Soodak M., Ensebi A. I. J. Biol. Chem., 189, 293, 1951.

Cerecedo L. K., Ecich S., Bresnick E. Biochim. et Biophys. Acta, 15, 144, 1954.

Coxon R. V., Peters R. A. Biochem. J., 44, 1111, 1949; 320, 1949; 46, 300, 1950; 47, XXXVII, 1950.

Cowgill G. B. Am. Med. Ass., 173, 1939; Vitamins 8, 159, 1939.

Davis V. E., Heidebrecht A. A., Macvicar R., Ross O. B., Whitchair J. Nutrition, 44, 17, 1951.

- De Caro L., Rindi G., Perri V. & Ferrari G. *Experientia*, 12, 300, 1956.
- De Caro L., Rindi G. a. Grana E. *Experientia*, 10, 140, 1954.
- Denko C. W., Grandy W. E., Porter I. W. a. *oth. Arch. Biochem.*, 10, 33, 1948.
- De H. W. *Ind. J. Med. Res.*, 43, № 1, 71, 1955.
- Dela Fuente G., Díaz-Cadavieco R. *Nature*, 174, 1014, 1954.
- De Renzo E. C., Oleson I. I., Hufchings B. Z., Williams Y. H. J. *Nutrition*, 54, 133, 1954.
- Dias M. V. *Science*, 105, 211, 1947.
- Dornow A., Petsch G. *Arzneimittel-Forschung*, 5, № 6, 305, 1955.
- Draper H. H. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 97, № 1, 121, 1958.
- Ehrenberg R. u. Brörken C. *Naturwissenschaften*, 40, № 15, 413, 1953.
- Eich S., Cerecedo L. R. *J. Biol. Chem.*, 207, 295, 1954.
- Eich S., Cerecedo L. R. *Arch. Biochem. Biophys.*, 57, № 2, 285, 1955.
- Emerson G. A., Southwick P. L. *J. Biol. Chem.*, 160, 169, 1945.
- Evans H. M., Bishop K. S. *J. Mental. Res.*, 1, 335, 1922.
- Evans H. M., Lepkowsky S. *J. Biol. Chem.*, 83, 269, 1929.
- Evans W. C., Jones N. R. *J. Biol. Chem.*, 165, 737, 1946. *Biochem. J.*, 45, XXXVIII, 1950; 50, XXVIII, 1952.
- Ekerett G. M. *Amer. J. Physiol.*, 141, 439, 1944.
- Ensebi, Cerecedo Daniel L. I., Norris L. C. *Proc. Soc. Exp. Biol., Med.*, 72, 165, 1949.
- Fekete G. a. Prokai A. *Acta Physiol. Hung.*, 11, 41, 1954.
- Ferrebee I. W., Weissman N., Parker D., Owen P. S. *J. Clin. Invest.*, 21, 401, 1942.
- Foltz E. E., Barborka C. I., Ivy A. C. *Gastroenterology*, 2, 323, 1944.
- Frei I., Wermuth R. M. *Recueil trav. chim.*, 74, № 5, 402, 1955.
- Friedemann a. *oth. Gastroenterology*, 11, 100, 1948.
- Frobman E. C. E., Day M. G. *J. Biol. Chem.*, 180, 93, 1949.
- Fujita A., Numata S. *Seikagaku*, 18, 63, 339, 1944; *J. Biol. Chem.*, 196, 289, 297, 305, 313, 1952.
- Fujita A., Okamoto T. a. Nose J. *J. Vitaminol., Japan*, 1, 24, 1955.
- Fujita A., Nose J. a. Kuratani K. *J. Vitaminol., Japan*, 1, 1, 1954.
- Gershoff S. W., Hegsted D. M. *J. Nutrition*, 54, 609, 1954.
- Gorham A. T., Abels I. C., Robins A. L., Rhoads C. P. *J. Clin. Invest.*, 21, 151, 1942.
- Green R. G., Carlson W. E., Evans C. A. *J. Nutrition*, 21, 243, 1941.

- Gruber M. *Nature* 166, 78, 1950. *Biochem. Biophys. Acta*, 9, 333, 1952; 10, 136, 1953.
- Hager L. P., Fortney I. D., Gunsalus I. C. *Feder. Proc.*, 12, 213, 1953.
- Hulse M. C., Weissman N., Ferrebee I. W. *J. Clin. Invest.*, 23, 297, 1944.
- Ikuta Tasashi *Vitamins (Japan)*, 6, № 3, 358, 1953.
- Juni E. J. *Biol. Chem.*, 195, 715, 727, 1952.
- Jampoler I., Despera k-Secomska B. *Roczniki Panstwo-
wego Zakladu Higieny*, 5, № 3, 247, 1954.
- Karrer P., Graf W. u. Schukri J. *Helv. chim. Acta*, 28, 1523, 1945.
- Karrer P. u. Krishna H. *Helv. chim. Acta*, 35, 459, 1952.
- Kenten R. H. *Biochem. J.*, 67, № 1, 25, 1957.
- Kirk J. E., Chieffl M. J. *Gerontol.*, 326, 1950.
- Kirk J. E., Chieffl M. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 77, № 3, 464, 1951.
- Korkes S., Del Campillo A., Gunsalus I. C., Ochoa S. J. *Biol. Chem.*, 193, 721, 1951.
- Kuhn R., Vetter H. *Ber. Chem. Ges.*, 68, 2375, 1935; *Z. physiol. Chem.*, 234, 196, 1935.
- Li P. K., Kato K. J. *Lab. Clin. Med.*, 21, № 7, 1314, 1941.
- Lippmann. *Nature*, 183, 1097, 1936.
- Lohmann K., Schuster P. *Biochem. Z.*, 294, 188, 1937.
- Lowry O. H. *Physiol. Rev.*, 32, № 4, 441, 1952.
- Lucas I. A. M., Lodge G. A. *Advancement Sci.*, 14, № 57, 425, 1958.
- Maggio G. D. *Biochemical J.*, 47, № 5, 562, 1950.
- Marten Günter. *Naturwissenschaften*, 42, № 15, 443, 1955.
- Matsukawa T., Jurugi Sh., Matsuoka T. *Proc. Jap. Ac.*, 28, 156, 1952; *Science*, 118, 325, 1953.
- McCarthy P. T., Cerecedo L. P., Brown E. V. *J. Biol. Chem.*, 209, 611, 1954.
- McElroy L., Goss H. J. *Nutrition*, 20, № 6, 541, 1940.
- McHarrison *Proc. Roy. Soc. B.*, 91, 103, 1920.
- Mickelsen O., Caster W. O., Keys A. J. *Biol. Chem.*, 168, 415, 1947.
- Mills C. A., Cottingham E., Taylor E. *Amer. J. Physiol.*, 149, 376, 1947.
- Miller E. R., Schmidt D. A., Hoefer I. A., Luecke R. W. *J. Anim. Sci.*, 13, № 4, 994, 1954; *J. Nutrition*, 56, 423, 1955.
- Mitchell H. K., Isbell E. R. *Univ. Texas. Publ.*, 4237, 37, 1942.
- Mizuhara S., Handler P. J. *Amer. Chem. Soc.*, 76, 571, 1954.
- Moufoort Ch. *Biochem. Biophys. Acta*, 14, 291, 1954; 16, 219, 1955.
- Naber E. C., Gravens W. W., Baumann C. A., Bird H. R. *Feder. Proc. B.*, № 1, 469, 1954; *J. Nutrition*, 54, 579, 1954.

- Nelson M. M., Evans H. M. J. Nutrition, 43, 281, 1951; 51, 71, 1953.
- Nelson M. M., Evans H. M. J. Nutrition, 55, 109, 151, 1955.
- Ngu-Jen-Van Thoai Roche J., Sez M. C. R., 234, 891, 1952; 236, 1196, 1953.
- Nitresen J. J., Angelescu C. Z. Vitaminforschung, 12, 82, 1942.
- Ochoa S., Peters R. A. Biochem. J., 32, 1501, 1938.
- Ogston, Peters R. A. Biochem. J., 30, 736, 1936.
- O'Kane D. I., Gunsalus I. C. J. Bacteriology, 54, 20, 1947; 56, 499, 1948. J. Biol. Chem., 194, 849, 859, 1952.
- Oldham H., Sheft B. B., Porter T. J. Nutrition, 41, № 2, 231, 1950.
- Olson R. E., Pearson O. H., Miller O. N., Stare F. I. J. Nutrition, 36, 175, 484, 1948.
- Parsons H. T., Williamson A., Johnson H. I. J. Nutrition, 29, № 1, 373, 121, 1945.
- Peters R. A., Sinclair H. Biochem. J., 27, 1910, 1933.
- Peters R. A., Thompson R. Biochem. J., 28, 916, 1934.
- Peters R. A., Lancet, 230, 1161, 1936.
- Potter, Reznagel Feder. Proc., 9, 215, 1950.
- Korkes S., Stern I. R., Gunsalus I. C., Ochoa S. Nature, 166, 439, 1950.
- Pratt R., Hamil B. M., Moyer u Kancher. J. Nutrition, 44, № 1, 141, 1951.
- Reed L. I., Soper Q. F., Schnakenberg G. H. F., Kern S. F., Boaz H., Gunsalus I. C. J. Amer. Chem. Soc., 74, 3457, 3964, 1952; 75, 1261, 1953; J. Biol. Chem., 199, 873, 881, 1952.
- Reed L. I., De Busk B. G. J. Amer. Chem. Soc., 74, 3457, 3964, 1952; 75, 1261, 1953. J. Biol. Chem., 199, 873, 881, 1952.
- Salcedo J., Najjar V. A., Hoff L. E., Hutzler E. W. J. Nutrition, 36, 307, 1948.
- Sanadi D. R., Littlefield J. W. J. Biol. Chem., 197, 851; 199, 65, 1952; 201, 103, 1953.
- Schultz A. S., Light R. F., Cracas L. I., Atkin I. J. Nutrition, 17, 143, 1939.
- Schweet R. S., Cheslock R. J. Biol. Chem., 199, 749, 1952.
- Seaman G. R., Naschke M. D. J. Biol. Chem., 213, 705, 1955.
- Skelton F. L. Am. J. Physiol., 161, 515, 1950.
- Smith J. A., Foa P. P., Weinstein H. R. Feder. Proc., 6, 204, 1949; 7, 16, 1948. J. Pharm. Exp. Therap., 93, 294, 1948; Science, 108, 412, 1948.
- Stein-Parve E. P. Biochim. et Biophys. Acta, 14, 440, 1954.
- Takagawa Hidero. Vitamins, 7, № 5, 578, 1954.
- Tauber H. J. Biol. Chem., 123, 499, 1938.
- Taylor A., Pollack M. A., Williams R. I. Univ. Texas Publ., 4237, 41, 1942.
- Torda C., Wolff H. G. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 56, 88, 1944.

- Westenbrink H. G. K., Steyn-Parve E. P. *Biochim. et Biophys. Acta*, 1, 87, 1947.
- Westerfeld W. W. J. *Biol. Chem.*, 152, 41, 51, 1944.
- Williams R. R., Watterman, Keresztesy, Buchman J. *Amer. Chem. Soc.*, 57, 229, 536, 1093, 1849, 1935.
- Williams R. R. a. o. th. J. *Amer. Chem. Soc.*, 58, 1063, 1936; 59, 526, 530, 1937.
- Windaus A., Tschesche R., Ruhkopf, Lager. *Z. physiol. Chem.*, 204, 123, 1932.
- Woolley D. W. J. *Biol. Chem.*, 141, 997, 1941; 152, 9, 1944.
- Woolley D. W. J. *Amer. Chem. Soc.*, 72, 57, 63, 1950.
- J. *Biol. Chem.*, 191, 43, 1951.
- Woolley D. W., Merifield R. B. *Fed. Proc.*, 11, 458, 1952.
- Zima O., Göttmann G. *Naturwissensch.*, 41, № 9, 214, 1954.
- Zima O., Williams. *Ber. chem. Ges.*, 73, 941, 1940; *Z. physiol. Chem.*, 267, 210, 1941.

К главе 3

- Березовский В. М., Курдюкова В. А. и Преображенский Н. А. *Прикладная химия*, 22, № 5, 527, 533, 1949.
- Букин В. Н. Доклад на III Международном биохимическом конгрессе. Брюссель, 1—6 августа, 1955. Изд. АН СССР. Москва, 1955.
- Голыпская Б. Г. Сб. *Современные вопросы советской витаминологии*. Медгиз, Москва, 1955, стр. 256.
- Голышева М. Г. Доклады АН СССР, 73, № 3, 585, 1950. Труды ВНИВИ, 6, 1955.
- Данецкая Е. В. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 44, № 8, 63, 1957.
- Диканская Э. М. *Микробиология*, 22, № 3, 256, 1953. Труды ВНИВИ, 5, 140, 1954.
- Дробницова А. В. и Плотницкая А. М. *Вестник венерологии и дерматологии*, № 2, 19, 1948.
- Ефремов В. В. *Вопросы питания*, 6, № 1, 1937; 7, № 3, 43, 1938. *Авитаминозы*. Медгиз, Москва, 1944.
- Ефремов В. В., Каплан С. Е., Тихомирова А. Н. и Масленникова Е. М. Доклады на сессии Института питания, 1948.
- Зайцева З. И., Поволоцкая К. Л. Доклады АН СССР, 118, № 2, 338, 1958.
- Китавин Г. С. *Биохимия*, 4, № 3, 283, 1939; 16, № 2, 125, 1951; Доклады АН СССР, 28, 518, 1940; Ученые записки Кишиневского университета, III, 1951; *Микробиология*, 21, № 4, 438, 1952.
- Короткоручко В. П. *Укр. биохимический журнал*, 26, № 4, 363, 1954.
- Левин Г. Г. *Микробиология*, 20, № 5, 406, 1951.
- Масленникова Е. М. *Журнал общей биологии*, 11, № 5, 1950. *Вопросы питания*, 11, № 1, 37, 1952; 13, № 5, 11, 1954.

Масленичкова Е. М., Аршинова М. Н. и Гвоздева Л. Г. Тезисы докладов IX сессии Института питания АМН СССР, 1955, стр. 118. Вопросы питания, 14, № 6, 1955.

Новикова М. А. и Масленичкова Е. М. Тезисы докладов VII Сессии Института питания АМН СССР, стр. 22, 1953; Вопросы питания, 13, № 4, 21, 1954.

Поволоцкая К. Л. Биохимия, 18, 638, 1953.

Поволоцкая К. Л. и Букин В. Н. Укр. биохимический журнал, 27, № 3, 364, 1955.

Поволоцкая К. Л. и Зайцева З. И. Доклады АН СССР, 77, 317, 1951; Труды ВНИИВ, 5, 145, 1954; Современные вопросы советской витаминологии, стр. 65, 1955. Медгиз, Москва.

Поволоцкая К. Л., Зайцева Н. И. и Скоробогатова Е. П. Витаминные ресурсы и их использование, АН СССР, 3, 108. Москва, 1955.

Поволоцкая К. Л., Скоробогатова Е. П. и Зайцева Н. И. Витаминные ресурсы и их использование АН СССР, 3, 121. Москва, 1955.

Поппэ З. Arch. f. Tierernährung, № 1, 9—21, № 2 и 3, 1958; Доклады ТСХА, вып. 32, 419, 1958.

Труфанов А. В. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 10, 488, 1940; Биохимия, 6, № 3, 301 1941; 7, № 4, 188, 1942; 11, № 1, 33 и № 3, 203, 1946.

Труфанов А. В. и Павлова З. М. Биохимия, 16, № 6, 537, 1951.

Эпштейн Н. Б. Доклады АН УССР, № 2, 175, 1955.

Adams D. H. Biochem. J., 56, XXVI, 1954, 60, N 4, 568, 1955.

Adler E., Euler H. u. Gunter G. Nature, 143, 641, 1939.

Albert A. Biochemical J., 47, № 3, XXVII, 1950; 54, 646, 1953.

Aposhian H. V. Lambooy J. P. a. Aposhian M. M. Federation Proc., 12, № 1, 170, 1953.

Aposhian H. V., Lambooy J. P. J. Amer. Chem. Soc., 76, 1307, 1954.

Ball E. G. Science, 88, 131, 1938; J. Biol. Chem., 128, 51, 1939.

Bessey O. A., Lowry O. H. a. Love R. H. J. Biol. Chem., 180, 755, 1949.

Beinert H. a. Crane F. L. J. Amer. Chem. Soc., 75, 4112, 1953; Federation Proc., 13, 181, 1954.

Birch, György P. a. Harris. Biochem. J., 28, 2830, 1935; Nature, 133, 498, 1934.

Birkinshaw J. H., Raistrick H. J. Biol. Chem., 148, 365, 459, 1943.

Blanchard M., Green D. E., Nocito V. a. Ratner S. J. Biol. Chem., 155, 421, 1944.

Bolton W. J. Agricultur. Sci., 34, № 4, 198, 1944.

Bonner J. a. Wilman S. G. Arch. Biochem., 10, 497, 1946.

Brown W. O. J. Agricultur. sci., 49, № 1, 88, 1957.

Brown E. G., Goodwin T. W., Jones O. T. G. Biochem J., 68, 40, 1958.

- Burch H. B., Bessey O. A., Love R. H. a. Lowry O. H. J. Biol. Chem., 175, 457, 1948.
- Corran H. S. a. Green D. E. Biochem. J., 32, 22, 31, 1938.
- Corran H. S., Green D. E. a. Straub F. B. Biochem. J., 33, 793, 1939.
- Corran H. S., Dewan J. G., Gordon A. H., Green D. E. Biochem. J., 33, 1694, 1939.
- Coulthard C. E., Michaelis R., Short W. F., Sykos G., Skrimshire G. S. H. Standfast A. F. B., Birkinshaw J. N., Raistrick H. Biochem. J., 39, 24, 1945.
- Decker L. E. a. Byerrum R. U. Federation Proc., 13, 455, 1945. J. Nutrition, 53, № 2, 303, 1954.
- De Renzo E. C., Kaleita E., Heytler P. G., Oleson J. J., Hutchings B. L., Williams J. H. Arch. Biochem. Biophys., 45, 247, 1953; J. Amer. Chem. Soc., 75, 753, 1953.
- Edelhoech H., Hayalshi O. a. Teply L. J. J. Biol. Chem., 197, 97, 1952.
- Elvehjem, Woolley a. Waisman J. Biol. Chem., 129, 673, 1939.
- Emerson G. A. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 2398, 5383, 1951.
- Emerson G. A. a. Fishler M. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 55, 184, 1944.
- Emerson G. A., Wurtz E. A., Johnson O. H. J. Biol. Chem., 160, 165, 1945.
- Erchoff Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 73, 459, 1950.
- Fishler M., Pfister K., Barson R. D., Laidenburg B. a. Freuring A. I. J. Amer. Chem. Soc., 69, № 6, 1487, 1947.
- Folkers B. R. a. Morgan A. F. J. Biol. Chem., 209, № 1, 303, 1954.
- Gordon A. H., Green D. E., Subrahmanyam V. Biochem. J., 34, 764, 1940.
- Green D. E. a. Beinert H. Biochim. a. Biophys. Acta, 11, 599, 1953.
- Guggenheim K. a. Shamir-Zernik R. J. Biol. Chem., 202, 331, 1953.
- Haas E., Horecker B. L., Hogness T. R. J. Biol. Chem., 136, 747, 1940.
- Haas E. Biochem. Z., 298, 378, 1938.
- Haley E. E. a. Lambooy J. P. J. Amer. Chem. Soc., 76, 5093, 1954.
- Halwer M. J. Amer. Chem. Soc., 73, № 10, 4870, 1951.
- Heyl D., Chase E. C., Koniuszy F. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 73, 3826, 1951.
- Hill F. W., Norris L. C. a. Scott M. L. Poultry Sci., 33, № 5, 1059, 1954.
- Holly F. W., Peel E. W., Cahill J. J., Koniuszy F. R. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 72, 5416, 1950; 74, 4047, 4251, 1952.
- Horecker B. L. J. Biol. Chem., 183, 593, 1950.

- Horecker B. L. a. Heppel L. A. J. Biol. Chem., 178, 683, 1949.
- Irinoda Kimiho, Sato Seizo, Yamada Coŭchi. Vitamins, 8, № 1, 36, 1955.
- Jagi K. C. R. Soc. Biol., 148, 752, 1954.
- Kalckar H. M. a. Klenow H., J. Biol. Chem., 172, 349, 174, 771, 1948; Biochim. et Biophys. Acta, 5, 575, 1950.
- Karrer P. u. andere Helv. Chim. Acta, 17, 419, 735, 771, 1013, 1934; 18, 69, 426, 480, 522, 529, 908, 911, 1935; 19, 264, 1936.
- Kaunitz M., Wiesinger H., Blodi F. C., Johnson R. E., Slanetz C. A., J. Nutrition, 52, № 3, 467, 1954.
- Kearney E. B. a. Englard S. Arch. Biochem. Biophys., 32, 222, 1951; J. Biol. Chem., 193, 821, 1951; 194, 747, 1952.
- Kearney E. B. a. Singer T. P. Biochim. et Biophys. Acta, 17, № 4, 596, 1955.
- Keilin D. a. Hartree E. F. Biochem. J., 50, 331, 341, 1952.
- Klungssŷyr L. Acta Chem. Scand., 8, № 5, 723, 1954.
- Krebs H. Z. physiol. Chem., 217, 191; 1933; Biochem. J., 29, 1620, 1935.
- Kuhn R., Gyŷrgy R. u. Wagner-Jauregg Ber. Chem. Ges., 66, 317, 546, 1034, 1933; 67, 1770, 1934; 68, 128, 1935.
- Kuhn R. Kaltschmitt, Wagner-Jauregg T. Z. physiol. Chem., 232, 36, 1935.
- Lambooy J. P. J. Biol. Chem., 188, 459, 1951; Amer. J. clin. Nutr. 3, № 4, 282, 1955; Biochim. et Biophys. Acta, 29, № 1, 221, 1958.
- Lambooy J. P. a. Aposhian H. V. Amer. chem. Soc., 72, № 11, 5225, 1950; J. Nutrition, 47, № 4, 539, 1952.
- Lowry O. H. Physiol. ol Rev., 32, № 4, 441, 1952.
- Lowry O. H., Bessey O. A. a. Crawford E. J. J. Biol. Chem., 180, 399, 1949.
- Mills C. A. Arch. Biochem., 2, 159, 1943.
- MacLaven J. A. J. Bacter, 63, 232, 1952.
- Mackler B., Mahler H. R. a. Green D. E. J. Biol. Chem., 210, 149, 1954.
- Mahler H. R. J. Amer. Chem. Soc., 75, 3288, 1953; J. Biol. Chem., 206, 13, 1954.
- Mahler H. R. a. Elowe D. G. J. Amer. Chem. Soc., 75, 5769, 1953; J. Biol. Chem., 210, 165, 1954.
- Mahler H. R., Mackler B., Green D. E. a. Bock R. M. J. Biol. Chem., 210, 465, 1954.
- Mannerling G. J., Orsini D. a. Elvehjem C. A. J. Nutrition, 28, 141, 1944.
- Manson W., Modi V. V. Biochim. et Biophys. Acta, 24, 423, 1957.
- McNutt W. S. J. Biol. Chem., 210, 511, 1954.
- Miller C. O., Ellis N. R., Stevenson J. W. a. Dawey R. J. Nutrition, 51, 163, 1953.
- Miller C. O., Johnson R. L., Hoefer J. A. a. Luecke H. W. J. Nutrition, 52, 405, 1954.
- Morell D. B. Biochem. J., 51, 657, 666, 1952; Biochim. et Biophys. Acta, 16, 258, 1955.

- Nieman C. a. Jansen A. P. Z. Vitaminforschung, 25, № 4, 448, 1955.
- Nicholas O. Y. D. a. Nason A. Nature, 172, 34, 1953; J. Biol. Chem., 211, 183, 1954.
- Norris L. C., Wilgus H. S., Ringrose A. T., Heiman V. a. Heuser G. F. Bull. Cornell Agric. Sta., no. 660, 1936.
- Ochoa S. a. Rossiter R. Nature, 144, 487, 1939; Biochem. J., 33, 2008, 1939.
- Pallares E. S. a. Garza H. M. Arch. Biochem., 22, 63, 1949.
- Patek, Past a. Victor. Amer. J. Physiol., 133, 47, 1941.
- Pearson P. B., Sheybani M. K., Schmidt H. J. Animal Sci., 3, № 1, 166, 1944.
- Philpot G. Y. a. Pirie A. Biochemical J., 37, 250, 1943.
- Plaut W. E. Federation Proc.; 12, № 1, 254, 1953; J. Biol. Chem., 208, 513; 211, 111, 1954.
- Potter, Axelrod a. Elvehjem. Amer. J. Physiol., 133, 555, 1941; J. Nutrition, 24, 449, 1942.
- Ratner S., Nocito V. a. Green D. E. J. Biol. Chem., 152, 119, 1944.
- Richert D. A., Vanderlinde R. a. Westerfeld W. W. J. Biol. Chem., 186, 261, 1950.
- Richert D. A., Westerfeld W. W. J. Biol. Chem., 203, 915, 1953.
- Romanoff A. L., Bauernfeind J. C. Anat. Rec., 82, 11, 1942.
- Sarett H. O., Klein J. R. a. Perlzweig W. A. J. Nutrition, 24, 295, 1942.
- Schaffer A. E., Whitehair C. K. a. Elvehjem C. A. J. Nutrition, 34, 131, 1947.
- Schrecker A. W. a. Kornberg A. J. Biol. Chem., 182, 795, 1950.
- Shaw a. Phillips J. Nutrition, 22, 345, 1941.
- Snell E. E. Physiol. Rev., 33, № 1, 513, 1953.
- Snell E. E., Klatt O. A., Bruins H. W. a. Clavens W. W. Pros. Soc. Exp. Biol. a. Med., 82, 583, 1953.
- Still J. L. a. Sperling E. J. Biol. Chem., 182, 585, 1950.
- Sure B. a. Ford Z. W. J. Biol. Chem., 146, 241, 1942.
- Surrey A. R. a. Nachod F. C. J. Am. Chem. Soc., 73, 2336, 1951.
- Svobodova S., Hais J. M., Kostir J. V. Chem. listy, 47, 205, 1953.
- Terrill S. W., Ammerman C. B., Walner D. E., Edwards R. M., Norton H. W. a. Becker D. E. J. Anim. Sci., 14, № 2, 593, 1955.
- Theorell H. Biochem. Z., 272, 155, 1934; 275, 344, 1935; 278, 261, 267, 1935.
- Totter J. R., Burnett W. T., Monroe R. A., Whitney J. B. a. Comar C. L. Science, 118, 555, 1953.

- Vernon L. P., Mahler H. R. a. Sarkar N. K. J. Biol. Chem., 199, 585, 599, 1952.
 Warburg O., Christian W. Biochem. Z., 254, 438, 1932; 266, 377, 1933; 295, 261; 296, 294; 297, 417; 298, 150, 1938.
 Weber G. Biochem. J., 47, 114, 1940.
 Werkel J. R. a. Nickerson W. Y. Biochem. et Biophys. Acta, 14, 303, 1954.
 Wiese A. C., Johnson B. C., Mitchell H. H. a. Nevens W. B. J. Nutrition, 33, 263, 1947.
 Wiesinger H., Kaunitz, H. a. Slanetz C. A. Ophthalmologica, 129, № 6, 389, 1955.
 Woolley D. W. J. Biol. Chem., 154, 31, 1944.
 Worden A. N. a. Waterhouse C. E. Vet. Rec., 66, 169, 1954; Brit. J., Nutrition, 9, № 1, 5, 1955.

К главе 4

- Браунштейн А. Е. Доклады АН СССР, 65, 715, 1949; Успехи современной биологии, 35, № 1, 27, 1953.
 Браунштейн А. Е. и Горяченкова Е. В. Биохимия, 14, 163, 1949.
 Браунштейн А. Е. и Шемякин М. М. Доклады АН СССР, 85, 1115, 1952; Биохимия, 18, № 4, 393, 1953.
 Васюнина Н. А., Беэр А. А. и Преображенский Н. А. Ж. «Прикладная химия», 16, № 5—6, 206, 1943.
 Головин Б. П. Биохимия, 18, № 4, 430, 1953.
 Горяченкова Е. В. Доклады АН СССР, 80, № 4, 643, 1951; 85, 603, 1952; 87, 457, 1952.
 Давидов Р. В. и Гулько Л. Е. Молочная промышленность № 4, 39, 1951.
 Ефремов В. В. и Каплан С. Е. Вопросы питания, 13, 92, 1951; Труды АМН СССР, 1 вып., 88. Москва, 1951.
 Ефремов В. В., Макарычев А. И. и Тихомирова А. Н. Вопросы питания, 13, № 3, 10, 1954.
 Ефремов В. В., Разумов М. И. и Тихомирова А. Н. Вопросы питания, 12, № 1, 50, 1953.
 Иосикова В. М., Улитина П. Л. и Степаньян Е. П. Ж. «Пищевая промышленность», 5—6, 1, 1943, 5—6, 14, 1944.
 Леутский К. М. Сб. Витамины, 1, 239, 1953; Научный ежегодник Черновицкого университета, 1, № 2, стр. 11, 1956.
 Леутский К. М., Стутьникова Р. И. Доклады АН СССР, 80, № 6, 919, 1951.
 Морсунова В. Р. Научный ежегодник Черновицкого университета, 1, № 2, 27, 33, 1956.
 Мейсель М. И. Доклады АН СССР, 58, № 1, 135, 1947.
 Стутьникова Р. И. Научный ежегодник Черновицкого университета, 1, № 2, стр. 16, 1956.
 Фук К. Витамины и их значение в физиологии и патологии. Госиздат, Москва, 1922.
 Хасс С. И. Вопросы питания, 14, № 2, 13, 1955.
 Черкес Г. А. Биохимия, 17, № 6, 706, 1952; 23, № 3 401, 1958.

Черкас Л. А., Фильчагин Н. Н. и Динерман А. А. Биохимия, 20, № 2, 140, 1955.

Яниченко М. К. Ветеринария, 34, № 5, 55, 1957.

Anderson D. G. Feder. Proc., 12, № 1, 168, 1953.

Anderson I. O., Combs G. F. a. Briggs G. M. J. Nutrition, 42, 463, 1950.

Axelrod B., Bandurski R. S., Greiner C. M. a. Jang R. J. Biol. Chem., 202, 619, 1953.

Axelrod B., Saltman P., Bandurski R. S. a. Baker R. S. J. Biol. Chem., 197, 89, 1952; 204, 939, 1953.

Banerjee E. a. Basak R. J. Nutrition, 55, 179, 1955.

Behr W. T. a. Anthony W. L. J. Biol. Chem., 203, 895, 1953.

Behr W. T., Holliday W. M. a. Gaebler O. H. J. Biol. Chem., 198, 573, 1952.

Behrman E. J., Stanier R. J., J. Biol. Chem., 228, № 2, 923, 1957.

Beinert H., Green D. E., Hele P., Hife H., von Karff R. W. a. Ramakrishnam C. V. J. Biol. Chem., 203, № 1, 35, 1953.

Braude R., Kon S. K., Mitchell K. G., Kodicek E. Lancet, 268, 898, 1955.

Briggs G. M. J. Nutrition, 31, № 1, 79, 1946.

Briggs G. M., Luckey T. D., Teply L. J., Elvehjem C. A., Hart E. B. J. Biol. Chem., 148, № 3, 517, 1943.

Briggs G. M., Mills R. C., Elvehjem C. A., Hart E. B., Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 51, № 1, 59, 1942.

Briggs G. M., Hill E. G., Canfield T. H. Poultry Sci., 32, № 4, 678, 1953.

Burch H. B., Stowick C. A., Bicknell R. L., Kung H. C., Abejo L. G., Everhart W. A., Lowry O. H., King C. G. a. Bessey O. A. J. Biol. Chem., 212, 847, 1955.

Canton G. L. J. Biol. Chem., 189, 203, 1951.

Chaloupka M. M., Williams J. N., Reynolds M. S., Elvehjem C. A. J. Nutrition, 63, № 3, 361, 1957.

Chandhuri D. K., Kodicek E. Biochemical J., 47, XXXIV, 1950, 48, VIII, 1951.

Chattopadhyay D., Chosh N., Chattopadhyay H. a. Bauerjee. J. Biol. Chem., 201, 529, 1953.

Chick H., Macrae T. F., Martin A. S. P., Martin C. I. Biochemical J., 32, № 10, 844, 1938.

Clamician, Silber. Ber. Chem. Ges., 48, 181, 1915.

Colowick S. P., Kaplan N. O., Neufeld E. F. a. Ciotti M. M. J. Biol. Chem., 195, 95, 107, 1952; 205, 1, 17, 31, 1953.

Coates M. E., Ford J. E., Harrison G. F., Kon S. K., Shephard E. E. a. Wilby F. W. Brit. J. Nutrition, 6, 75, 1952.

Dunsau M., Sarett H. P. J. Biol. Chem., 193, 317, 1951.

- Ellinger P. u. Abdel-Kader M. M. *Biochem. J.*, 44, 506, 1949.
- Geigelson Ph., Williams J. N. a. Elvehjem C. A. *J. Biol. Chem.*, 187, 597, 1950; 189, 659; 193, 737, 1951.
- Fischter, Steuzb. *Helv. Chim. Acta*, 19, 1174, 1936.
- Fisher H. F., Conu E. E., Veuresland B. a. Westheimer F. H. *J. Biol. Chem.*, 202, 687, 1953.
- Fisher H., Scott H. M., Johnson B. C. *Poultry Sci.*, 33, № 5, 1054, 1954.
- Frazier E. J., Prather M. E. a. Hoene E. J. *Nutrition*, 56, 501, 1955.
- Gaebler O. H. a. Beher W. T. *J. Biol. Chem.*, 188, 343, 1951.
- Gaut J. *Pharmac. a. exp. Therap.*, 49, 408, 1933.
- Gibson D. M., Davisson E. O., Buchowat B. K., Ray B. R. a. Westling C. S. *J. Biol. Chem.*, 203, 397, 1953.
- Glock G. E. a. McLeau P. *Biochemical J.*, 61, 381, 388, 1955; *Biochem. J.*, 61, 390, 397, 1955; *Biochem. et Biophys. Acta*, 16, 466, 1955; *Biochem. J.*, 56, 171, 1954.
- Goldsmith G. A., Rosenthal H. L. a. Unglaub W. G. *Feder. Proc.*, 12, № 1, 415, 1953.
- Gustafson E. G. *Amer. J. Botan.*, 40, № 4, 256, 1953.
- Harary I. *J. Biol. Chem.*, 227, № 1, 815, 823, 1957.
- Heidelberger C., Abraham E. P. a. Lepkovsky S. *J. Biol. Chem.*, 176, 1461, 1948.
- Henderson L. M. *J. Biol. Chem.*, 178, 100, 1949.
- Henderson L. M., Koeppe O. J. a. Zimmerman H. H. *J. Biol. Chem.*, 201, 697, 1953.
- Henderson L. M., Weinstock I. M. a. Ramasarme G. B. *J. Biol. Chem.*, 189, 19, 1951.
- Hoffer A., Cailbeck M. J. *J. Mental Sci.*, 103, № 433, 810, 1957.
- Holzer H., Schneider S. *Angew. Chemie*, 67, 276, 1955.
- Huber G. *Liebigs Ann.* 141, 271, 1867; *Ber. Chem. Ges.*, 3, 849, 1870.
- Huff J. W., Pearson P. B., Perlzweig W. A. *Arch. Biochem. Biophys.*, 9, № 1, 99, 1946.
- Hunter St. a. Handler Ph. *Arch. Biochem. Biophys.*, 35, 377, 1952.
- Johnson B. C. a. Lin Pei-Hsing. *J. Amer. Chem. Soc.*, 75, 2971, 2974, 1953.
- Johnson B. C., Wiese A. C., Mitchell H. H., Hevens W. B. *J. Biol. Chem.*, 167, № 3, 729, 1947.
- Jones K. M. a. Elliott W. H. *Biochem. et Biophys. Acta*, 14, № 4, 586, 1954.
- Kelly F. L., Nielson E. D., Johnson R. B. a. Vestling C. S. *J. Biol. Chem.* 212, 545, 1955.
- Knox W. E. a. Grossman W. I. *J. Biol. Chem.*, 166, 391, 1946. *J. Amer. Chem. Soc.*, 70, 2172, 1948.
- Kodicek E. *Ann. Ref. Chem. Soc.*, 48, 290, 1951.
- Koeppe O. J. a. Henderson L. M. *J. Nutrition*, 55, № 1, 23, 1955.
- Kornberg A. a. Pricer W. E. *J. Biol. Chem.*, 186, 557, 1950.

- Krehl W. A., Elvehjem C. A. a. Strong F. M. J. Biol. Chem., 156, 13, 1944.
- Laiblin. Ann., Chem. 196, 137, 1879; Ber., Chem. Ges., 10, 2136, 1877; 59, 1482, 1926; 68, 1392, 1935.
- Lehninger A. I. a. Creville G. D. J. Amer. Chem. Soc., 75, 1515, 1953.
- Loewus F. A., Ofuer P., Fisher H. F., Westheimer F. H. a. Venuesland B. J. Biol. Chem., 202, 699, 1953.
- Loewus F. A., Tchen T. T. a. Venuesland B. J. Amer. Chem. Soc., 76, 3358, 1954; J. Biol. Chem., 212, 787, 1955.
- Long C. L., Hill H. N., Weinstock J. M. a. Henderson L. M. J. Biol. Chem., 211, 405, 1954.
- Mason M. u. Berg C. P. J. Biol. Chem., 195, 515, 1952; 201, 513, 1953.
- Merrill J. M., Lemley-Stone J. Circulat. Res., 5, № 6, 617, 1957.
- Miyake A., Bokman A. H., Schweiger B. S. J. Biol. Chem., 211, 3911, 1954.
- McDaniel E. G. Feder. Proc., 12, № 1, 472, 1953.
- McIlwain H. Biochemical J., 44, 470, 1949; 46, 612, 1950.
- Nason A. a. Evans H. J. Arch. Biochem. Biophys., 39, 234, 1952; J. Biol. Chem., 202, 655, 1953.
- Olson J. A. a. Anfinsen Chr. B. Federation Proc., 10, 230, 1951; 11, 266, 1952; J. Biol. Chem., 197, 67, 1952; 202, 841, 1953.
- Partridge C. W. H., Bomier D. M. a. Janofsky Ch. J. Biol. Chem., 194, 269, 1952.
- Patterson E. B., Hunt J. K., Vohra P., Blaylock L. G. a. McGinnis J. Poultry Sci., 33, № 5, 1075, 1954.
- Pearson P. B., Darnell A. L. J. Nutrition, 31, 51, 1946.
- Pearson P. B., Luecke R. W. Arch. Biochem., 6, № 1, 63, 1945.
- Perlzweig W. A., Rosen F. a. Pearson P. B. J. Nutrition, 40, 453, 1950.
- Rall T. W. a. Lehninger A. L. J. Biol. Chem., 194, 119, 1952.
- Raoul P. Z. Vitaminforschung, 21, № 4, 420, 1950.
- Ringrose A. T., Norris L. C., Heuser G. F. Poultry Sci., 10, 166, 1931.
- Salmon W. D. Arch. Biochem. Biophys., 51, № 1, 30, 1954.
- San Pietro A., Kaplan N. O. a. Colowick S. P. J. Biol. Chem., 212, 941, 1955.
- Schayer R. W. u. Henderson L. M. J. Biol. Chem., 195, 657, 1952.
- Scott M. L. Poultry Sci., 32, № 4, 670, 1953.
- Scott M. L., Heuser G. F. Poultry Sci., 31, № 4, 752, 1952.
- Sieburth J. F. a. McLaren B. A. Ann. Entomol. Soc., 46, № 1, 43, 1953.
- Singer T. P. a. Kearney E. B. Biochem. et Biophys. Acta, 8, 700, 1952. Feder. Proc., 12, 269, 1953.
- Snell E. E. Physiol. Rev., 33, № 4, 511, 1953.
- Strittmatter P. a. Ball E. G. J. Biol. Chem., 213, 445, 1955.

- Sunde M. L., Bird H. R. Poultry Sci., 36, № 1, 34, 1957.
 Talalay P., Loewus F. A. a. Veunesland B.
 J. Biol. Chem., 212, 801, 1955.
 Wosilait W. D. a. Nason A. Feder. Proc., 12, 290, 1953.
 Wu Chang M. L., Johnson B. C. J. Biol. Chem., 226,
 № 2, 799, 1957.
 Zatman L. J., Kaplan N. O. a. Colowick S. P.
 J. Biol. Chem., 200, 197, 1953.

К главе 5

- Азарх Р. М. и Гладкова В. Н. Доклады АН СССР,
 85, № 2, 385, 1952.
 Березовский В. М. Успехи химии, 21, № 1, 42, 1952.
 Березов Т. Т. Доклады АН СССР, 86, 605, 1952.
 Браунштейн А. Е. и Азарх Р. М. Биохимия, 9,
 337, 1944; Доклады АН СССР, 71, № 1, 93, 1950; 85, № 2, 385, 1952.
 Браунштейн А. Е. и Букин Ю. В. Доклады АН СССР,
 106, № 1, 95, 1956.
 Браунштейн А. Е. и Бычков С. М. Биохимия, 5,
 261, 1940.
 Браунштейн А. Е. и Виленкина Г. Я. Доклады
 АН СССР, 66, 243, 1949; 80, 639, 1951.
 Браунштейн А. Е. и Горяченкова Е. В. Доклады
 АН СССР, 74, № 3, 529, 1950.
 Браунштейн А. Е. и Крицман М. Г. Биохимия, 2,
 242, 859, 1937; 8, 1, 1943.
 Браунштейн А. Е., Крицман М. Г. и Самарина
 О. П. Биохимия, 11, 423, 1946.
 Виленкина Г. Я. Доклады АН СССР, 69, 385, 1949; 84,
 559, 1952.
 Горяченкова Е. В. Доклады АН СССР, 80, № 4, 643,
 1951; 85, № 3, 603, 1952; 87, № 3, 457, 1952; 93, № 2, 319, 1953.
 Горяченкова Е. В. и Азарх Р. М. Вопросы меди-
 цинской химии, 2, 224, 1950.
 Горяченкова Е. В., Воловник Б. Я. и Зай-
 дельман Ф. Р. Доклады АН СССР, 93, № 1, 114, 1953.
 Ефремов В. В. Медицинская паразитология, 2, 277, 1933;
 Пеллагра, Биомедгиз, Москва, 1934; Вопросы питания, 6, № 1,
 55, 1937; 7, № 3, 43, 1938.
 Ефремов В. В., Масленникова Е. М., Бабеш-
 ин И. А. и Труфанов А. В. Вопросы питания, 6, 55,
 1937.
 Коняцкова А. С. и Добберт Н. Н. Биохимия, 13,
 115, 1948.
 Коняцкова А. С., Добберт Н. Н. и Браунштейн
 А. Е. Биохимия, 12, 536, 1947.
 Косенко С. А. Сб. Современные вопросы советской витами-
 нологии, 161, 1955, Медгиз, Москва; Тезисы докладов сессии Инсти-
 тута питания АМН СССР, 110, 1955.
 Крицман М. Г. Доклады АН СССР, 21, 42, 1938; Биохи-
 мия, 3, 603, 1938; 4, 691, 1939.
 Мардашев С. Р. Микробиология, 16, 459, 1947; Успехи
 советской биологии, 28, 365, 1949.

- Мардашев С. Р., Семьян Л. А., Эттингер Р. Н. и Бальсая А. Н. Биохимия, 13, 402, 1948; 14, 44, 1949.
- Одинцова Е. Н. Вопросы микробиологии в виноделии. Изд. АН СССР, Москва, стр. 125, 1952.
- Оспенко И. Д. Доклады АН СССР, 75, 91, 255, 1950.
- Селезнева А. А. Сб. Современные вопросы советской витаминологии, 204. Медгиз, Москва, 1955.
- Труфанов А. В. Успехи современной биологии, 2, № 3, 847, 1948.
- Труфанов А. В. и Кирсанова В. А. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 22, 40, 1946.
- Труфанов А. В., Кирсанова В. А. и Соловьева З. И. Биохимия, 12, № 6, 482, 1947; Вопросы медицинской химии, 1, 108, 1949; 2, 176, 1950.
- Труфанов А. В. и Соловьева З. И. Биохимия, 14, № 4, 327, 1949.
- Юртаев Г. И. Тезисы докладов X сессии Института питания АМН СССР, 162, 1956.
- Atkins L., Schultz A. S., Williams W. L. a. Frey C. N. Ind. a. Eng. Chem., 15, 141, 1943.
- Ayengar P. a. Roberts E. J. Biol. Chem., 197, 453, 1952.
- Baddiley J. a. Gale E. F. Nature, 155, 727, 1945.
- Batchen J. M., Cheesman E. M., Copping A. M. a. Trusler A. D. Brit. J. Nutr., 9, № 1, 49, 1955.
- Beaton J. R., Beare J. L., White J. M. a. McHenry E. W. J. Biol. Chem., 200, 415, 1953.
- Beaton J. R., Goodwin M. E., Ozawa G. a. McHenry E. W. Arch. Biochem. Biophys., 51, 94, 1954.
- Beaton J. R. a. Goodwin M. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 86, 426, 1954.
- Beaton J. R., Smith F. J. a. McHenry E. W. J. Biol. Chem., 201, 587, 1953.
- Beerstecher E. a. Edmonds E. I. J. Biol. Chem., 192, 497, 1951.
- Beechey R. B. a. Hapgood F. C. Biochemical J., 61, 1, XX, 1955.
- Beeler J. M. a. Martin G. J. J. Biol. Chem., 169, 345, 1947.
- Bessey O. A., Adam D., Bessey D. R. a. Hansen D. R. Feder. Proc., 13, 451, 1954.
- Bethke R. M., Record P. R. Poultry Sci., 21, 147, 1942.
- Binkley F., Christensen G. M. a. Jensen W. J. J. Biol. Chem., 194, 109, 1952.
- Briggs G. M., Mills R. C., Hegsted D. M., Elvehjem C. A., Hart E. B. Poultry Sci., 21, 379, 1942.
- Butenand A., Weidel W. u. Schloßberger Z. Naturforsch., 46, 242, 1949.
- Caldwell E. F. a. McHenry E. W. Arch. Biochem. Biophys., 44, 396, 1953; 48, 50, 1954.
- Caldwell E. F. a. McHenry E. W. Arch. Biochem. Biophys., 45, 2, 466, 1953.
- Chick H., Macrae T. F., Martin A. J. P. a. Martin C. J. Biochem. J., 32, 2207, 1938.

- Cammarata P. S. a. Cohen P. P. J. Biol. Chem., 187, 439, 1950; 193, 53, 1953.
- Chick H., Elsadr M. M. a. Worden A. N. Biochem. J., 34, 595, 1940.
- Coursin D. B. J. Amer. Med. Ass., 154, 5, 406, 1954.
- Cravens W. W., Sebesta E. E., Halpin J. G., Hart E. B. Poultry Sci., 22, 94, 1943; 25, 80, 1946.
- Cravens W. W. a. Snell E. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 71, 73, 1949.
- Culton T. G., Bird H. R. Poultry Sci., 19, 424, 1940.
- Dalgliesh C. E., Knox W. E. a. Neuberger A. Nature, 168, 20, 1951.
- Dietrich L. S. Feder. Proc., 12, 1, 412, 1953.
- Dinning J. S., Day P. L. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 92, 115, 1956.
- Emerson G. A. Feder. Proc., 6, 406, 1947 u. Porter C. C., Clark J., Silder R. H. J. Biol. Chem. 167, 573, 1947.
- Emerson G. A., Baxer G. E. a. Pilfillan E. W. Feder. Proc., 13, 456, 1954.
- Feldman L. I. a. Gunsalus I. C. J. Biol. Chem., 187, 821, 1950.
- Fincham I. R. Nature, 168, 957, 1951.
- Follis R. H., Wintrobe M. M. J. Exp. Med., 81, 539, 1945.
- Greenberg L. D., Marsh M. E. a. Rinchart J. F. Feder. Proc., 14, 221, 1955.
- Harris S. a. Folkers K. Science, 89, 347, 1939; J. Amer. Chem. Soc., 61, 1237, 1242, 1245, 1939.
- Hartweg H., Böwing G. Strahlentherapie, 106, № 2, 289, 1958.
- Hassinen J. B., Durbin G. T. a. Bomhart F. W. J. Nutrition, 53, 2, 249, 1954.
- Hawkins W. W. Science, 121, 880, 1955.
- Heuser G. F., Wilgus H. S., Norris L. C. Poultry Sci., 17, 105, 1938.
- Hird F. R. J. a. Romsell E. V. Nature, 166, 516, 1950; 168, 104, 1951.
- Hogan A. G., Richardson L. R., Patrick H., O'Dell B. L., Kempster H. L. Poultry Sci., 20, 180, 1941.
- Hsu J. M., Chow F. B. Arch. Biochem. Biophys., 72, № 2, 322, 1957.
- Hope D. B. Biochemical J., 59, 30, 497, 1955.
- Hughes E. H., Squibb R. L., J. Animal Sci., 1, 320, 1942.
- Hurt A. D., Stoues J., McCrory W. W. a. Stroud H. Pediatric, 13, 140, 1954.
- Hurwitz J. J. Biol. Chem., 205, 935, 1953.
- Hurwitz J. Feder. Proc., 12, 1, 222, 1953.
- Jones R. G. J. Amer. Chem. Soc., 74, 1489, 1952.
- Jones R. G. a. Kornfeld E. C. J. Amer. Chem. Soc., 73, 107, 1951.
- Karnofsky D. A., Stock C. C., Ridgway L. P. a. Patterson P. A. J. Biol. Chem., 182, 471, 1950.
- Keresztesy J. C. a. Stevens J. P. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 38, 64, 1938; J. Amer. Chem. Soc., 61, 1267, 1938.

- King K. W. a. Wilson D. G. *Feder. Proc.*, 12, 230, 1953.
 Kuhn R. u. Wendt G. *Ber. Chem. Ges.*, 71, 780, 1118, 1534' 1938.
 Lehrer W. P., Wiese A. C., Moore P. R., Ensminger M. E. J. *Animal Sci.*, 10, 65, 1951.
 Lichstein H. G., Gunsalus I. C. a. Umbreit W. W. J. *Biol. Chem.*, 161, 311, 1945.
 Lucas H. L., Heuser G. F., Norris L. C. *Poultry Sci.*, 25, 137, 1946.
 Marsh M. E., Greenberg L. D. a. Rinchart J. F. J. *Nutrition*, 56, 115, 1955.
 Mariella R. P. a. Belcher E. P. J. *Amer. Chem. Soc.*, 73, 2616, 1951; 74, 4050, 1952.
 Mariella R. P. a. Havlic R. J. J. *Amer. Chem. Soc.*, 74, 1915, 1952.
 Mariella R. P. a. Leech J. L. J. *Amer. Chem. Soc.*, 71, 331, 1949.
 Mason M. a. Berg C. P. J. *Biol. Chem.*, 195, 515, 1952.
 McElroy L. W. a. Goss H. J. *Nutrition*, 20, 541, 1940.
 McGanity W. I., McHenry E. W., Van Wyck H. B. a. Watt G. L. J. *Biol. Chem.*, 178, 511, 1949.
 McGanity W. J., Tucker R. G., Turner T. G., Utley M. H. a. Darby W. J. *Feder. Proc.*, 14, 444, 1955.
 Meister A., Sober H. A. a. Tice S. V. J. *Biol. Chem.*, 189, 577, 1951.
 Metzler D. E. a. Snell E. E. J. *Biol. Chem.*, 198, 363, 1952.
 Miller I. L., Tsuchida M. a. Abelberg E. A. J. *Biol. Chem.*, 203, 205, 1953.
 Miller E. R., Schmidt D. A., Hoefer J. A., Luecke R. W. J. *Nutrition*, 62, № 2, 407, 1957.
 Molony C. J. a. Parmelee A. H. J. *Amer. Med. Ass.*, 154, № 5, 405, 1954.
 Nelson M. M., Lyons W. R., Evans H. M. *Endocrinology*, 48, 727, 1951; 52, 585, 1953.
 Olsen N. S. a. Martindale W. E. J. *Nutrition*, 53, 317, 329, 1954.
 Ott W. H. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 61, 125, 1946; 66, 215, 1947.
 Reid J. T., Huffman C. F., Duncan C. W. J. *Dairy Sci.*, 26, 738, 1943; *J. Nutr.*, 30, № 6, 413, 1945.
 Ressing J. L. *Arch. Biochem. Biophys.*, 36, 234, 1952.
 Roberts E., Ayengar P. a. Posner J. J. *Biol. Chem.*, 201, 385, 395, 1953; 203, 195, 1953.
 Schwarz R. a. Kjeldgaard N. O. *Biochemical J.*, 48, 333, 1951.
 Sinclair H. M. *Biochemical J.*, 51, № 1, X, 1952.
 Snell E. E. J. *Biol. Chem.*, 143, 519, 1942; 154, 133, 1944; 157, 491, 1945; 158, 497, 1945; *J. Amer. Chem. Soc.*, 66, 2082, 1944; *Engl. Pat.*, 603289, 603290; C. A., 43, 725, 1949.
 Snyderman S. E., Holt L. E., Carretoro R. a. Jacobs K. J. J. *Clin. Nutr.*, 1, 200, 1953.
 Sprince H. C. a. oth. *Am. J. Obst. a. Gynec.*, 62, 84, 1951.

- Swank R. L., Adams R. D. J. Neuropath. a. Exp. Neurology, 7, 274, 1948.
- Touhaz N. S., White N. G. a. Umbreit W. W. Arch. Biochem., 28, 36, 1950.
- Tower D. B. J. Clin. Nutr., 4, 329, 1956.
- Umbreit W. W. a. Menzies P. J. Biol. Chem., 201, 15, 1953.
- Umbreit W. W. a. Waddell J. G. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70, 293, 1949.
- Umbreit W. W., Wood W. A. a. Gunsalus I. C. J. Biol. Chem., 165, 731, 1946.
- Vilter R. W., Biehl J. P., Mueller J. F. a. Friedman B. J. Feder. Proc., 13, 776, 1954.
- Viscontini M., Ebnither C. u. Karrer P. Helv. Chim. Acta, 34, 1834, 1951.
- Wachstein M. a. Gudaitus A. J. Lab. a. Clin. Med., 40, 550, 1952.
- Weissman N. a. Schoenheimer R. J. Biol. Chem., 140, 799, 1941.
- Wilson A. N. a. Harris S. A. J. Amer. Chem. Soc., 73, 4693, 1951.
- Wiss O. a. Fuchs H. Experientia, 6, № 12, 472, 1950.
- Wood W. A. a. Gunsalus I. C. J. Biol. Chem., 190, 403, 1951.
- Wood W. A., Gunsalus I. C. a. Umbreit W. W. J. Biol. Chem., 170, 313, 1947.
- Wood W. A. a. Narrod S. A. Arch. Biochem., 35, 465, 1952.
- Wooten E., Nelson M. M., Simpson M. E. a. Evans H. M. Endocrinology, 56, 59, 1955; Feder. Proc., 14, № 1, 455, 1955.
- Wintrobe M. M., Follis R. H., Miller M. H., Stein H. J., Alcayaga R., Humphreys S., Suksta A., Cartwright G. C. Bull. Johns Hopkins Hosp., 72, 1, 1943.
- Wintrobe M. M., Miller M. H., Follis R. H., Stein H. J., Mushatt C. a. Humphreys S. J. Nutrition, 24, 345, 1942.
- Wortman B. a. Wagner R. P. Texas J. Sci., 5, № 1, 34, 1953.
- Janofsky C. J. Biol. Chem., 194, 279, 1952; 198, 343, 1952.

К л а с с е 6

- Беер А. А. и Преображенский Н. А. Новое в науке и технике витаминов, вып. 1, стр. 43. Пищепромиздат, Москва, 1946.
- Браунштейн А. Е. и Ефимочкина Е. Ф. Доклады АН СССР, 71, № 2, 347, 1950; 80, № 3, 405, 1951.
- Веселкина В. М. Успехи современной биологии, 24, № 1, 35, 1947.
- Мейсель М. И., Помошников Н. А. и Трофимова Н. П. Биохимия, 14, № 4, 361, 1949.

Родионов В. М. и Ярцева Н. Г. Известия АН СССР, отделение химических наук, № 2, 251, 1948.

Сяницына А. Л. Доклады АН СССР, 73, 1247, 1950.

Труфанов А. В. и Попова Г. М. Биохимия, 21, № 1, 3, 1956.

Труфанов А. В. и Шароухова К. С. Биохимия, 18, № 6, 739, 1953.

Abelin I. Z. Vitaminforsch., 17, 143, 1946.

Axelrod A. E., Carter A. B., McCoy R. H. a. Geisinger R. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 66, 137, 1947; 76, 665, 1951; Metabolism, 2, 1, 1953.

Axelrod A. E. a. Pruzansky J. Feder. Proc., 14, 427, 1955.

Balfour W. E. a. Hebb C. O. Nature, 167, 991, 1951.

Bartlett P. D., Grimmett P., Beers L. a. Shelata S. Feder. Proc., 14, 177, 1955.

Barboriak J. J., Krehl W. A., Cowgill G. R., J. Nutrition, 61, 13, 1957; 64, 251, 1958.

Barboriak J. J., Krehl W. A., Cowgill G. R., Whedon A. D. J. Nutr., 63, № 4, 591, 1957.

Bear J. L., Beaton J. R., Stith F., McHenry E. W. Endocrinology, 52, 396, 1953.

Bear J. L., Beaton J. R. a. Menlenry E. W. Endocrinology, 55, 40, 1954.

Beinert H. J. Biol. Chem., 205, 575, 1953.

Beinert H., Green D. E., Hale P., Hift H., Von Korff R. W. a. Ramakrishnan C. V. J. Biol. Chem., 203, 35, 1953.

Beinert H. a. Stynsly P. G. Feder. Proc., 12, № 1, 176, 1953; J. Biol. Chem., 204, 67, 1953.

Beinert H., Von Korff R. W. a. Green D. E. J. Amer. Chem. Soc., 74, 854, 1952; J. Biol. Chem., 200, 385, 1953.

Boxer G. E., Shonk C. E., Gilfillan E. W., Emerson a. Oginsky E. L. Arch. Biochem. Biophys., 599, 24, 1955.

Boxer G. E., Shink C. E. a. Stoerk H. C. Feder. Proc., 14, 185, 1955.

Boys G. S. Biochemical J., 55, № 5, 892, 1953.

Brady R. O. a. Stadtman E. R. J. Biol. Chem., 211, 621, 1954.

Brown D. H. Biochim. et Biophys. Acta, 16, 429, 1955.

Brown G. M. a. Snell E. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 77, 138, 1951; J. Biol. Chem., 198, 375, 1952.

Butler L. C. a. Morgan A. F. Endocrinology, 56, 322, 1955.

Carroll H. W. a. Morgan A. F. Feder. Proc., 14, 189, 1955.

Chow T. C. a. Lipmann F. J. Biol. Chem., 196, 89, 1952.

Chow T. C. a. Soodak M. J. Biol. Chem., 196, 105, 1952.

Coon M. J., Stern J. R., de Campillo A. a. Ochoa S. Feder. Proc., 12, 191, 1953.

Davidson J. P., Simonson C., Cornatzer W. E. Biochim. Biophys. Acta, 15, 141, 1954.

- Dean H. W. a. McKibbin. *Endocrinology*, 38, 385, 1946.
- Deb C., Banerjee S. a. Mukherjee A. K. *Ind. J. Med. Res.*, 42, 589, 1954.
- Dorfman A., Berkman S. K., Koser S. A. J. *Biol. Chem.*, 144, 393, 1942; *Biochemical J.*, 37, 418, 1943.
- Drell W. a. Dunn M. S. *J. Amer. Chem. Soc.*, 70, 2057, 1948.
- Ershoff B. H., Denel H. J. *Endocrinology*, 36, 280, 1945.
- Everson G., Northrop L., Chung N. Y. a. Getty R. J. *Nutrition*, 54, 305, 1954.
- Everson G., Northrop L., Chung N. Y., Getty R. a. Pudel-Kewicz C. J. *Nutrition*, 53, 341, 1954.
- Fenton P. F., Cowgill G. R., Stom M. A. a. Justice D. H. J. *Nutrition*, 42, 257, 1950.
- Feuer G., Wollemann M. *Acta physiol. Ac. Sci. Hungaricae*, 5, № 3—4, 553, 1954; 7, N 4, 329, 343, 1955.
- Gorgely J., Hele P. a. Ramakrishnan C. V. *J. Biol. Chem.*, 198, 329, 1952.
- Goetinck P. F., Abbott U. K., Kratzer F. H. *Poultry Sci.*, 36, № 2, 455, 1957.
- Goldmann D. S. *Feder. Proce.*, 12, 209, 1953.
- Goldmann D. S., Mu S. E. a. Beinert H. J. *Biol. Chem.*, 202, 137, 1953.
- Gounelle H., Richet F. C. R. *Soc. Biol.*, 151, № 1, 24, 1957.
- Graig J. A. a. Snell E. E. J. *Bacteriology*, 61, 283, 1951.
- Granados Z. *Vitaminforschung*, 24, 403, 1953.
- Green D. E. a. Beinert H. *Phosphorus metabolism*, Baltimore, 1, 330, 370, 1951.
- Gregory I. D., Novelli G. D. a. Lipmann F. *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 854, 4017, 1952.
- Hale M. P. *Feder. Proc.*, 12, 216, 1952.
- Hall C. E. a. Bieri J. G. *Endocrinology*, 53, 661, 1953.
- Hazelwood R. L., Bennett L. L. a. Nelson M. M. *Endocrinology*, 56, 197, 1955.
- Hegsted D. M. a. Riggs T. R. J. *Nutrition*, 37, 361, 1949.
- Hoagland M. B. a. Novelli G. D. *J. Biol. Chem.*, 207, 767, 1954.
- Hurley L. S. a. Mackenzie J. B. J. *Nutrition*, 54, 403, 1954.
- Hurley L. S. a. Morgan A. F. J. *Biol. Chem.*, 195, 583, 1952.
- Jedeikin L. a. Weinhouse S. *Feder. Proc.*, 12, 225, 1953.
- Jones J. D., Baumann C. A. J. *Nutrition*, 57, № 1, 61, 1955.
- Jukes T. H. a. Lepkovsky S. J. *Biol. Chem.*, 111, 119, 1935; 114, 109, 117, 1936.
- Katz J., Lieberman J. a. Barker H. A. J. *Biol. Chem.*, 200, 417, 431, 1953.

- Kaufmann S., Gilvarg C., Cori O. a. Ochoa S. J. Biol. Chem. 203, 869, 1953.
- Klein M. P. a. Lipmann F. J. Biol. Chem., 203, 95, 101, 1953.
- Korkes S., Del Campillo A., Gunsalus I. C. a. Ochoa S. Nature 166, 439, 1950; J. Biol. Chem., 193, 721, 1951.
- Korkes S., Del Campillo A., Korey S. R., Stern J. R., Nachmansohn D. a. Ochoa S. J. Biol. Chem., 195, 25, 1952; 198, 215, 1952.
- Kratzer F. H., Davis P. H., Marshall B. J. a. Williams D. E. Poultry Sci., 34, 68, 1955.
- Kratzer F. H., Williams D. Poultry Sci., 27, № 4, 518, 1948.
- Luecke R. W., Hoefer J. A., Thorp F. J. Animal Sci., 12, № 3, 605, 1953.
- Luecke R. W., Thorp F., McMillen W. N., Dunne H. W. J. Animal Sci., 8, № 3, 464, 1949.
- Lata G. F. a. Anderson E. Arch. Biochem. Biophys., 53, 518, 1954.
- Lefebvres J. C. R. Acad. Sci., 238, 2123, 1955.
- Leloir L. F., Cardini C. E. Biochim. Biophys. Acta, 12, 15, 1953.
- Levintow L. a. Novelli G. D. J. Biol. Chem., 207, 761, 1954.
- Lindsay R. D. a. Cheldelin V. H. J. Amer. Chem. Soc., 72, 828, 1950.
- Lipmann F., Kaplan N. O., Novelli G. D., Tuttle L. C. a. Guirard B. M. Feder. Proc., 4, 97, 1945; J. Biol. Chem., 160, 173, 1945; 162, 743, 1946; 167, 869, 1947.
- Lipmann F., Hilz H. a. Lynen F. J. Amer. Chem. Soc., 75, 32, 85, 1953.
- Long C. L. a. Williams W. L. J. Bacteriology, 61, 195, 1951.
- Lynen F. Feder. Proc., 12, № 3, 683, 1953; Nature, 174, 962, 1954.
- Maas W. K. Feder. Proc., 12, 241, 1953.
- Mahler H. R. Feder. Proc., 12, 285, 694, 1953.
- Mahler H. R., Wakil S. J. a. Bock R. M. Feder. Proc., 12, 285, 1953; J. Biol. Chem., 204, 453, 1953.
- McKigney J. J., Wallage H. D., Cunha T. J. J. Animal Sci., 16, 35, № 1, 1957.
- Mehler A. H., Tabor H. a. Stadtman E. R. Feder. Proc., 11, 204, 127, 1952.
- Millican R. C., Rosenthal S. M. a. Tabor H. J. Pharmac. a. Exp. Therap., 97, 4, 1949.
- Morgan A. F. Vitamins a. Hormons, 9, 161, 1951.
- Morgan A. F. a. Lewis E. M. J. Biol. Chem., 197, 485, 1952; 200, 839, 1953.
- Nelson M. M., Van Nonhuys F. a. Evans H. M. J. Nutrition, 34, 188, 1947.
- Norris L. C. a. Ringrose A. T. Science, 71, 643, 1930.
- Novelli G. D. Physiol. Rev., 33, № 4, 536, 1953; Feder. Proc., 12, № 3, 675, 1953.

- Novelli G. D., Kaplan N. O. a. Lipmann F. J. Biol. Chem., 177, 97, 1949.
- Novelli G. D., Flynn R. M. a. Lipmann F. J. Biol. Chem., 177, 493, 1949.
- Ochoa S., Stern J. R. a. Schneider M. C. J. Biol. Chem., 193, 703, 1952.
- Osborn M. O., Weaver C., Anderson J. J. Nutrition, 64, № 2, 313, 1958.
- Pearson P. B., Schmidt H. J. Animal Sci., 7, № 1, 78, 1948.
- Pilgrim F. I., Axelrod A. E. a. Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 145, 237, 1942.
- Popp E. M., Shukers C. F., Dinning J. S. a. Day P. L. J. Biol. Chem., 199, 547, 1952; Feder. Proc., 13, 473, 1954.
- Reisberg R. B. Biochim. et Biophys. Acta, 14, 443, 1954.
- Riggs T. R. a. Hegsted D. M. J. Biol. Chem., 172, 539, 1948.
- Sanadi D. R. a. Littlefield J. W. J. Biol. Chem., 193, 683, 1951; 201, 103, 1953; Science 116, 327, 1952; Feder. Proc., 12, 262, 1953.
- Schachter D. a. Taggart J. V. J. Biol. Chem., 203, 925, 1953.
- Schmidt V. Z. Vitaminforsch., 22, 21, 1950.
- Seaman G. R. a. Naschke M. D. J. Amer. Chem. Soc., 76, 5573, 1954.
- Schwert R. S. a. Cheslock K. J. Biol. Chem., 199, 749, 1952.
- Simon E. J. a. Shemin D. J. Amer. Chem. Soc., 75, 2520, 1953.
- Snell E. E., Brown G. M., Peters V. J., Gregsig J. A., Wittle E. L., Moore J. A., McElough V. M. a. Bird O. D. J. Amer. Chem. Soc., 72, 5349, 1950; Arch. Biochem., 27, 471, 473, 1950.
- Sondergaard H. Z. Vitaminforschung, 28, № 4, 442, 1958.
- Soodak M. a. Lipmann F. J. Biol. Chem., 175, 999, 1948; 191, 577, 1951.
- Stadtman E. R. J. Biol. Chem., 191, 365, 1951; 196, 527, 1952.
- Stern J. R. a. Ochoa S. J. Biol. Chem., 179, 491, 1949; 182, 243, 1950; 191, 161, 1951; 193, 691, 1951.
- Stern J. R., Ochoa S. a. Lynen F. J. Biol. Chem., 195, 541, 1952.
- Stern J. R., Shapiro B., Stadtman E. R. a. Ochoa S. J. Biol. Chem., 193, 703, 1952.
- Stothers S. C., Schmidt D. A., Johnston R. L. Hoefler J. A. a. Luecke R. W. J. Nutrition, 57, 47, 1955.
- Swell L., Boiter T. A., Field H. a. Treadwell C. R. J. Nutrition, 57, 121, 1955.
- Swell L., Flick D. F., Field H. a. Treadwell C. R. Amer. J. Physiol., 180, 124, 1955.
- Ulzey D. E., Becker D. E., Terrill S. W. a. Notzold R. A. J. Anim. Sci., 13, № 4, 1002, 1954.
- Ulbach K. F. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70, 146, 1949.

Vagu Schmidt M. D. Z. Vitaminforschung, 22, № 3, 257, 1950.

Verzar F. Z. Vitaminforschung, 25, 304, 1954.

Von Korff R. W. J. Biol. Chem., 200, 401, 1953.

Wang T. P., Chuster L. a. Kaplan N. O.—J. Amer. Chem. Soc., 74, 3204, 1952.

Welch B. E. a. Couch J. R. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 87, 121, 1954.

Wieland T. a. Bokelmann E. Naturwissenschaft, 38, N 16, 384, 1951.

Wiese A. C., Lehrer W. P., Moore P. R., Pahnish O. F., Hartwell W. V. J. Ammal Sci., 10, № 1, 80, 1951.

Williams R. J., Jorgensen E. M. a. Snell E. E. J. Biol. Chem., 177, 933, 1949.

Williams R. J., Lyman C. M., Goodyear C. H., Truesdail J. H. a. Holday D. J. Amer. Chem. Soc., 55, 2912, 1933.

Williams R. J. a. Mayor R. T. Science 89, 486, 1939; 91, 246, 1940; J. Amer. Chem. Soc., 62, 1784, 1940.

Williams R. J., Weinstock H. H., Rohrmann E., Truesdail J. H., Mitchell H. K. a. Meyer C. E. J. Amer. Chem. Soc., 61, 454, 1421, 1939.

Winters S. W., Schultz R. B. a. Klehl W. A. Endocrinology, 50, 377, 388; 51, 336, 1952; Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 79, 695, 1952.

Winterbottom R., Clapp J. M., Miller W. H., English J. P. a. Robbin R. O. J. Amer. Chem. Soc., 69, 1393, 1947.

Wittle E. L., Moore J. A., Stipek R. W., Peterson F. E., McGlohon V. M., Bird O. D., Brown G. M. a. Snell E. E. J. Amer. Chem. Soc., 75, 1694, 1953.

Zucker L. M., Seronde J. a. Zucker T. F. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 85, 517, 1954; Arch. Biochem. Biophys., 55, 9, 1955.

Глава 7

Беер А. А. Новое в науке и технике витаминов, № 1, 48, Пищепромиздат, 1946.

Давидов Р. Б., Круглова Л. А. Тезисы докладов 2-й научной сессии Института витаминологии МЗ СССР, стр. 40, 1959.

Мейсель М. Н. Биохимия, 15, 361, 1949.

Познанская А. А. Биохимия, 22, № 4, 668, 1957.

Родионов В. М. и Безингер Н. Н. Изд. АН СССР, Отделение химических наук, № 3, 217, 1943; № 3, 233, 1945, № 5, 962, 1952.

Филиппов В. В. Физиология растений, 2, № 2, 105, 1955.

Филиппов В. В. и Ильина М. Доклады АН СССР, 45, № 6, 1267, 1954.

Филиппов В. В., Миллих Р. Н. и Тарасик Г. С. Бюл. гл. бот. сада, вып. 24, 31, 1956.

- Andrews E. A. a. Williams V. R. J. Biol., Chem. 193, 11, 1951.
- Axelrod A. E. a. Hofmann K. J. Biol. Chem., 187, 23, 1950.
- Axelrod A. E., Purvis S. E. a. Hofmann K. J. Biol. Chem., 176, 695, 1948.
- Bachhawat B. K., Robinson W. G. a. Coon M. J. J. Amer. Chem. Soc., 46, 3098, 1954; J. Biol. Chem., 216, 727, 1955.
- Bateman W. G. J. Biol. Chem., 26, 263, 1916.
- Baxter R. M. a. Quastel J. H. J. Biol. Chem., 201, 751, 1953.
- Berger H. Z. Vitaminforschung, 22, № 2, 190, 1950.
- Broquist H. P. a. Snell E. E. J. Biol. Chem., 188, 431, 1951.
- Cheng A. L. S., Greenberg S. M., Denel H. J. a. Melnick D. J. Biol. Chem., 192, 611, 1951.
- Communal R. C. R. Acad. Sci., 245, № 3, 372, 1957.
- Dans L., Meinke M. a. Calvin M. J. Biol. Chem., 196, 77, 1952.
- Delost P. et Terroine T. C. R. Acad. Sci., 239, 902, 1954.
- Drysdal G. R. a. Lardy H. A. J. Biol. Chem., 202, 118, 1953.
- Du Vigneaud V., Hofmann K. a. Melville D. B. J. Biol. Chem., 140, 643, 763, 1942; J. Am. Chem. Soc., 64, 188, 1942; Science, 95, 455, 1942.
- Du Vigneaud V., Dittmer K., Melville D. B. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 50, 374, 1942.
- Du Vigneaud V., Dittmer K., Hague E. a. Long B. Science, 96, 186, 1942.
- Eakin R. E. a. Eakin E. A. Science, 96, 184, 1942.
- Emerson G. A. J. Biol. Chem., 157, 127, 1945.
- Evans R. J., Davidson J. A., Bauer D., Butts H. A. Poultry Sci. 32, № 4, 680, 1953.
- Feldoff G. a. Lardy H. A. J. Biol. Chem., 192, 447, 1951.
- Fischer J. E. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 88, 227, 1955.
- Frankel-Conrat J. a. Frankel-Conrat H. Biochim. et Biophys. Acta, 8, 66, 1950.
- Gardner J., Parsons H. T. a. Peterson W. H. Arch. Biochem., 8, 339, 1945.
- Gothoskar S. S. a. Sreenivasan A. Ind. J. Med. Res., 41, 51, 59, 69, 1953.
- Gram M. R. a. Okey R. J. Nutrition, 64, № 2, 217, 1958.
- Grüssner A., Bourquin J. P. u. Schnider O. Helv. Chim. Acta, 29, № 4, 770, 1946.
- György P. L. arztl. Vorbild, 28, 377, 417, 1931; J. Biol. Chem., 131, 733, 745, 1939; Science, 91, 243, 1940.
- György P., Rose C. S., Hofmann K., Melville D. B. a. Du Vigneaud V. Science, 92, 609, 1940.
- Harrill J., Johnson D. a. Parsons H. F. Feder. Proc., 13, 460, 1954.

Harris S. A., Wolf D. E., Moringo R., Arth G. E., Anderson R. Ch., Easton N. R. a. Folkers K. J. Am. Chem. Soc., 67, № 2, 2096, 2100, 2102, 1945.

Harris S. A., Wolf D. E., Moringo R. a. Folkers K. Science, 97, 447, 1943; J. Am. Chem. Soc., 66, 1756, 1757, 1944.

Helbert D. Biochem. J., 47, 1, 1950.

Hilsson R., Bjälfve G. u. Burström D. Naturwissensch., 27, 389, 1939.

Hofmann K. J. Amer. Chem. Soc., 67, 694, 1945.

Hofmann K. a. Axelrod A. E. J. Biol. Chem., 187, 29, 1950.

Hofmann K., Chen C., Bridgwater A. a. Axelrod A. E. J. Amer. Chem. Soc., 69, 191, 1550, 1947.

Hofmann K., McCoy R. H., Felton J. R., Axelrod A. E. a. Pilgrim F. J. Arch. Biochem., 7, 393, 1945.

Kögl F. u. Tonnies B. Z. physiol. Chem., 242, 43, 1936.

Kögl F. Ber. Chem. Ges., 68, 16, 1935.

Koser S. A., Wright M. H. a. Dorfman A. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 51, 204, 1942.

Lardinois C. C., Mills R. V., Elvehjem C. A. a. Hart E. B. J. Dairy Sci., 27, 579, 1944.

Lardy H. A. Proc. Nat. Acad. Sci., 38, 1003, 1952.

Lardy H. A. a. Peanasky R. Physiol. Rev., 33, № 4, 560, 1953.

Lardy H. A., Potter R. L. a. Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 169, 451, 1947.

Launer H. F. a. Frankel-Conrat H. J. Biochem., 193, 135, 1951.

Lichstein H. C. J. Biol. Chem., 177, 125, 487, 1949; J. Bacteriology, 60, 4859, 1950; J. Biol. Chem., 212, 217, 1955.

Lichstein H. C. a. Umbreit W. W. J. Biol. Chem., 170, 423, 1947; 170, 329, 1947; 175, 649, 1948.

McLeod P. S. a. Lardy H. A. J. Biol. Chem., 179, 733, 1949; 180, 1003, 1949.

McElroy L. W. a. Jukes T. H. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 45, 296, 1940.

Melville D. B. J. Biol. Chem., 208, № 2, 495, 1954.

Melville D. B., Genghof D. S. a. Lec J. M. J. Biol. Chem., 208, 503, 1954.

Melville D. B., du Vigneaud V., Folkers K., Wolf D. E., Moringo R., Keresztesy S. A. a. Harris J. J. Biol. Chem., 146, 475, 1942; Science, 98, 497, 1943; J. Amer. Chem. Soc., 66, 1422, 1944.

Moat A. G. a. Emmous E. K. J. Bacteriology, 68, 687, 1954.

Moat A. G. a. Lichstein H. C. Arch. Biochem. Biophys., 48, 300, 1954.

Nadkarni G. B. a. Sreenivasan A. Proc. Ind. Acad. Sci., 46, № 4, 229, 1957.

Ochoa S., Mehler A., Blanchard M. L., Jukes Th. H., Hoffmann C. E. a. Regau M. J. Biol. Chem., 170, 413, 1947.

Ott W. H. J. Biol. Chem., 157, 131, 1945.

- Patrick H., Boucher R. V., Dutcher R. A., Knandel H. C. Poultry Sci., 21, 476, 1942.
- Patrick H., Darrow M. I., Morgan C. L. Poultry Sci., 23, 146, 1944.
- Peck R., Wolf D. E. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 74, 1999, 2002, 1952.
- Peterson W. H. a. Peterson M. S. Bact. Rev., 9, 45, 1945.
- Plant E. W. a. Lardy H. A. J. Biol. Chem., 180, 15, 1949; 186, 705, 1950; 192, 435, 1951—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 78, 769, 1952.
- Potter H. A. a. Burris R. H. J. Biol. Chem., 179, 721, 1949.
- Potter R. A. a. Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 183, 587, 1950.
- Rauch H., Nutting W. B. Experientia, 14, № 10, 382, 1958.
- Ravel J. M. a. Shive W. Arch. Biochem. Biophys., 549, 341, 1955.
- Robblee A. R., Clandinin D. R. Poultry Sci., 32, 579, 1953.
- Rosenwasser E. a. Boyd M. J. Feder. Proc., 11, 277, 1952.
- Rubin S. H., Flower D., Rosen F. a. Drekter L. Arch. Biochem., 6, 480; 8, 79, 1945.
- Schnider O., Bourquin J. P. a. Grüssner A. Helv. Chim. Acta, 28, 510, 517, 1945.
- Shanmuga Sundaram E. R. B., Tirunarayanan M. O. a. Sarma P. S. Current. Sci., 22, № 7, 211, 1952; Biochem. L., 58, 469, 1954.
- Shive W. a. Rogers L. L. J. Biol. Chem., 169, 57, 453, 1947.
- Shreeve W. W. J. Biol. Chem., 195, 1, 1952.
- Stokes J. J. a. Gunness M. J. Biol. Chem., 157, 121, 1945.
- Stokes J. L., Gunness M. a. Larsen A. J. Biol. Chem., 167, 613, 1947.
- Tatum E. L. J. Biol. Chem., 160, 455, 1945.
- Trager W. J. Biol. Chem., 176, 133, 1211, 1948.
- West P. M. a. Wilson P. W. Science, 89, 607, 1939.
- Wildiers E. La Cellule, 18, 313, 1901.
- Williams V. R. a. Christman J. T. J. Bacteriology, 65, 238, 1953.
- Williams V. R. a. Fiefer E. A. J. Biol. Chem., 170, 399, 1947.
- Winnick Th., Hofmann R., Pilgrim F. J. a. Axelrod A. E. J. Biol. Chem., 161, 405, 1945.
- Wolf D. E., Valiant J. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 73, 4142, 1951.
- Wright L. D., Cresson E. L. a. Driscoll C. A. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 89, 234, 1955.
- Wright L. D., Cresson E. L., Liebert K. V. a. Skeggs R. R. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 74, 334, 1950.

Wright L. D., Cresson E. L., Skeggs H. R., Peck R. L., Wolf D. E., Wood Th. R., Valiant J. a. Folkers K. Science, 114, 635, 1951; J. Amer. Chem. Soc., 74, 1996, 2004, 1952.

Wright L. D., Skeggs H. R. a. Cresson E. L. J. Amer. Chem. Soc., 73, 4144, 1951.

Wright L. D., Cresson E. L., Valiant J., Wolf D. E. a. Folkers, K J. Amer. Chem. Soc., 76, № 16, 4156, 4160, 4163, 1954.

К главе 8

Апосов Н. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 21, 16, 1946.

Гулевич В. О холине и нейрине (материалы к химическому исследованию мозга). Москва, 1896. Z. Physiol. Chem., 20, 287, 1895; 24, 512, 1898; 30, 565, 1900.

Данилевский В. Я. и А. Я. Pflüg. Arch., 61, 264, 1895. Лецитин. Материалы к физиологии и фармакологии. Харьков, 1938.

Дьяконов К. С. Med. Chem. Untersuchungen Hoppe-Seyler, 2, 22, 1867 и Z. med. Wissensch., 6, 97, 1868.

Кометнанн П. А. Биохимия, 17, 108, 1952; Тезисы докладов на конференции по биохимии нервной системы, 21. Киев, 1953.

Кометнанн П. А. и Клейн Е. Э. Укр. биохимический журн., 22, № 4, 410, 1950.

Корягина М. и Карлика М. Физиологический журнал СССР, 29, 576, 1940.

Коштоянц Х. Известия АН СССР, Сер. биол., № 2, 170, 1945; Объединенная сессия, посвященная Павлову И. П., стр. 131, АН СССР, Москва, 1948.

Лейтес С. Архив патологии, 9, № 3, 80, 1947; Новости медицины, 22, 53, 31, 1951 и Успехи современной биологии, 25, 215, 1948.

Труфанов А. В. Витамины и антивитамины, стр. 32. Пищепромиздат, Москва, 1950.

Утевский А. VII Всесоюзный съезд физиологов, биохимиков и фармакологов. Доклады, стр. 354. Москва, 1941.

Циеленс Э. Биохимия, 18, № 5, 566, 1952; Известия АН Латв. ССР 11 (88), 37, 1954; Сб. Витаминные ресурсы, 2, 136. Изд. АН СССР, 1954.

Черкес Л. А. Холин как пищевой фактор и патология холинового обмена, стр. 21—24. Изд. АМН СССР, Москва, 1953.

Askerman C. I., Burns M. I. a. Salmon W. D. Feder. Proc., 12, 165, 1953.

Ahmad K. a. Karim M. A. Biochemical J., 55, 817, 1953.

Appleton H. D., La Du B. N., Levy B. B., Steele J. M. a. Brodie B. B. J. Biol. Chem., 205, 803, 1953.

Artom C., Growder M. a. Swanson M. A. Feder. Proc., 10, 157, 1951.

Artom C. Nature, 171, 347, 1953; Feder. Proc., 12, 171, 1953; 13, 176, 1954; J. Biol. Chem., 205, 401, 1953; 213, 681, 1955.

- Baxter J. H. a. Goodman H. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 89, 682, 1955.
- Best C. a. Huntsman M. J. Physiol., 75, 405, 1932; 83, 255, 1935.
- Best C. XI Международный физиологический конгресс, Тезисы 36, 1935, Москва.
- Buckley G. T. a. Hartroft W. S. Arch. Path., 59, 185, 1955.
- Burke K. A., Nyström R. F. a. Johnson B. C. J. Biol. Chem., 188, 723, 1951.
- Byerrum R. V. a. Wing R. E. J. Biol. Chem., 205, 637, 1953.
- Casselmann W. G. B. a. Williams G. R. Nature, 173, 210, 1954.
- Christensen J. R. a. Daniel L. J. Feder. Proc., 12, № 1, 189, 1953; J. Biol. Chem., 203, 63, 1953.
- Colborn L. R. Fertiliser a. Feeding Stuffs I., 47, № 13, 610, 1957.
- Dinning J. S., Neatrou R. a. Day P. L. J. Biol. Chem., 209, 717, 1954.
- Dubnoff J. Arch. Biochem., 23, 474, 24, 251, 1949.
- Ebisuraki K. a. Williams J. N. J. Biol. Chem., 192, 81, 1951; 200, 297, 1953.
- Elwyn D., Weissbach A., Henry S. S. a. Sprinson D. B. J. Biol. Chem., 213, 281, 1955.
- Friedländer H. D., Chaikoff J. L. a. Entenman C. J. Biol. Chem., 158, XI, 231, 1945.
- György P. a. Goldblatt H. J. Exp. Med., 70, 185, 1939; 72, 1, 1940; 75, 355, 1942; 89, 73, 90, 245, 1943.
- Handler P. a. Bernheim F. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70, 78, 1949; 72, 569, 1949; Amer. J. Physiol., 162, 189, 375, 368, 1950.
- Holtz P. u. Schumann H. J. Naturwissenschaften, 41, 306, 1954.
- Hove E. L., Cepelaud D. H. a. Salmon W. D. J. Nutrition, 53, № 3, 377, 1954.
- Johnson B. C., Tirth J. a. Mistry S. P. Arch. Biochem. Biophys., 54, 467, 1955.
- Jukes T. H., Oleson J. J. a. Dorubush A. C. J. Biol. Chem., 157, 419, 1945. J. Nutrition, 30, 219, 1945.
- Kennedy E. P. J. Biol. Chem., 209, 525, 1954. Feder. Proc., 13, 241, 1954.
- Kennedy E. P. a. Weiss S. B. J. Amer. Chem. Soc., 77, 250, 1955.
- Keusler C. J., Langemann H. J. Biol. Chem., 192, 551, 1951.
- Kornberg A. a. Pricer W. E. Feder. Proc., 11, 242, 1952; 13, 241, 1954.
- Leimdorfer A. Feder. Proc., 14, 91, 1955.
- McKibbin J., Tayer S. a. Stare F. J. Labor a. clin. Med., 299, 1109, 1944.
- Michel M. M. C. R. Ac. Sci., 242, № 24, 2883, 1956.
- Millis C. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 54, 265, 1943.

- Mondy N. I. a. Daniel L. J. Arch. Biochem. Biophys. 48, 402, 1954.
- Mondy N. I., Strength D. R., Gray L. F., Daniel L. J. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 87, 129, 1954.
- Morgan A. F. a. Lewis E. M. J. Biol. Chem., 200, 839, 1953.
- Mulford D. J. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 88, 177, 1955.
- Muntz J. A. J. Biol. Chem., 182, 489, 1950.
- Okey R. a. Goossen E. Feder. Proc., 12, 425, 1953.
- Reid M. E. Feder. Proc., 12, 472, 1953; 13, 474, 1954; Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 85, 547, 1954; J. Nutrition, 56, 215, 1955.
- Rodbadl M. a. Hanahon D. J. J. Biol. Chem., 214, 607, 1955.
- Soloway, Sindy a. Stetten De Witt Feder. Proc., 12, № 1, 270, 1953; J. Biol. Chem., 204, 207, 1953.
- Stekol J. A., Weiss S. a. Anderson E. I. J. Amer. Chem. Soc., 77, 5192, 1955.
- Stekol J. A., Weiss S., Smith P. a. Weiss R. W. J. Biol. Chem., 201, 299, 1953.
- Stekol J. A., Weiss S. a. Smith P. Arch. Biochem. Biophys., 36, 5, 1952; Feder. Proc., 12, 274, 1953.
- Stetten W. J. Biol. Chem., 138, 487; 140, 143, 1941; 142, 629; 144, 501, 1942.
- Strecker A. Ann. Chem. et Pharmacie, 70, 149, 1849; 123, 353, 1862.
- Wells J. C. Feder. Proc., 13, 319, 1954; 14, 303, 1955; J. Biol. Chem., 222, № 2, 931, 1956.
- Wilgram G. F., Best C. H. a. Blumenstein J. Science, 119, 842, 1954; Feder. Proc., 14, 163, 1955.
- Wilgram G. F., Hartroft W. S. a. Best C. H. Science, 119, 842, 1954; Brit. Med. J., 2, 1, 1954.
- Williams J. N. J. Biol. Chem., 194, 139, 1932.
- Wittenberg J. a. Kornberg A. J. Biol. Chem. 202, 431, 1953.
- Young R. J., Norris L. C. a. Heuser G. F. J. Nutrition, 55, 353, 1955.

К главе 9

Балико-Ивановская. Бюллетень Краковской академии наук, 616, 1906.

Палладин. Z. für Biologie, 31, 199, 1895.

Черкас Г. А. Тезисы докладов на сессии Института питания, АМН СССР, 3—7 февраля, 1949.

Abels J., Kupel C. a. oth. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 54, 157, 1943.

Anderson L., Halliday J. W. a. Coots R. H. Feder. Proc., 14, 173, 1955.

Berthelot M. Compt. Rend., 41, 392, 1855.

Best C. H., Ridout J. H., Patterson J. M. a. Lucas C. C. Biochem. J., 48, 448, 452, 1951.

Daughaday W. H., Larner J. a. Hartnett C. J. Biol. Chem., 212, 869, 1955.

- Eastcott E. V. J. Physic. Chem., 32, 1094, 1928.
- Engel R. J. Biol. Chem., 144, 701, 1942; Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 50, 193, 1942; J. Nutr., 24, 75, 1942; 25, 441, 1943; 36, 739, 1948.
- Fischer H. O. L. Chem. a. biol. relationships between hexoses a. inositols Harvey Lectures. Ser., 40, 156—178, 1944—1945.
- Folch J. J. Biol. Chem., 177, 505, 1949.
- Fuller R. C., Barratt R. W. a. Tatum E. L. J. Biol. Chem., 186, 823, 1950.
- Hartman F. Naturwissenschaften, 41, 231, 1954.
- Hawthorne J. N. Biochim et Biophys. Acta, 18, 389, 1955. Biochemical J., 59, 11, 1955.
- Hawthorne J. N. a. Chargaff E. J. Biol. Chem., 206, 27, 1954.
- Herken H., Maibauer D., Weygand F. Z. Naturforsch., 126, 589, 1957; Arch. Exp. Path. a. Pharm., 233, 301, 1958.
- Kirkwood S. a. Phillips P. H. J. Biol. Chem., 163, 251, 1946.
- Kligler D. a. Krehl W. A. J. Nutrition, 46, 61, 1952.
- Liebig J. Ann. Chim. et Physique, 23, 163, 1948.
- Maddy K. H. a. Swilt R. W. J. Nutrition, 47, 243, 1952.
- Magasanik B. J. Amer. Chem. Soc., 73, 5919, 1951; J. Biol. Chem., 205, 1007, 1019, 1953.
- Magasanik B., Franzl R. E. a. Chargaff E. J. Biol. Chem., 174, 173, 1948; J. Amer. Chem. Soc., 74, 2618, 1952.
- Maibauer D., Herken H. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. a. Pharm., 227, 456, 1956.
- Mann T. Biochem. J., 53, 140, 1953; Proc. Royal. Soc., 142, № 906, B, 21, 1954.
- Maquenne L. Comptes Rendus Ac. Sci., 104, 225, 297, 1719, 1853; 109, 812, 968, 1897; Ann. Chim. (Phys.), 12, 80, 1887.
- McCormick M. H., Harris P. N. a. Anderson C. A. J. Nutrition, 52, 337, 1954.
- McKibbin J. M. Feder. Proc., 13, 262, 1954.
- McKibbin J. M. a. Brewer D. W. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 84, 386, 1953.
- Nixon D. A. J. Physiol., 129, 272, 1955.
- Pasternak T. Helv. Chim. Acta, 15, 948, 1932; 19, 1007, 1936; 24, 1045, 1941; 25, 746, 1942; 29, 1991, 1946; 33, 343, 350, 1594, 1597, 1950.
- Pasternak T., Schopfer W. II. a. Reymond D. Helv. Chim. Acta, 38, 1283, 1955.
- Ramachandran S. a. Sarma A. S. Ind. J. Med. Res., 42, 207, 1954.
- Scherer. Lieb. Ann. der Chemie, 73, 322, 1850.
- Stetten M. R. a. Stetten de Witt. J. Biol. Chem., 164, № 1, 85, 1946.
- Thompson R. C. Univ. Texas Pub. № 4237, 87, 1942.
- Tirnnarayanan M. O. a. Sarma P. S. J. Sci. a. Ind. Res., 12 B, 251, 1953; Curr. Sci., 23, № 2, 55, 1954.
- Vohl Ann. der Chemie, 99, 125, 1856; 101, 50, 1857; 105, 330, 1858.
- Volk W. A. a. Pennington D. J. Bacteriology, 469, 1951.

Wieland H. u. Woshart R. S. Ber. Chem. Ges., 47, 2082, 1914.

Woolley D. W. Science, 92, 384, 1940; J. Biol. Chem., 136, 113, 1940; 139, 29, 1941; 140, 461, 1941; J. Nutrition, 28, 305, 1944; J. Exp. Med., 75, 277, 1942.

К главе 10

Harris R. S., Scott C. C., Tavormina P. A., Wright L. D. a. Wuest H. M. The Vitamins, 3, 1, 1954.

Reid M. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 85, 547, 1954.

Woodruff C. W., Clark S. Z. a. Bridgeforth E. B. J. Nutrition, 51, 23, 1953.

К главе 11

Андреева И. А. Биохимия, 18, № 5, 571, 1953; Биохимия, 18, № 6, 675, 1953.

Браунштейн А. Е. и Виленькина Г. Я. Доклады АН СССР, 70, 639, 1951. —

Виленькина Г. Я. Доклады АН СССР, 84, 559, 1952; Биохимия, 20, 198, 1955.

Ефремов В. В. Труды Всесоюзной конференции по витаминам, изд. АН СССР, 219, 1940.

Кирсанова В. А. и Труфанов А. В. Биохимия, 14, 413, 1949; 15, 243, 1950; 16, 367, 1951; 18, 484, 1953; Вопросы питания, 11, № 4, 59, 1952.

Кирсанова В. А. и Тусталовский А. А. Вопросы медицинской химии, 1, № 5, 370, 1955.

Михлих С. Я., Павлова З. М. Вопросы медицинской химии, 4, № 2, 109, 1958.

Тихомирова А. Н. и Пенар О. И. Вопросы питания, 15, № 1, 37, 1956.

Труфанов А. В. и Павлова З. М. Биохимия, 16, 537, 1951.

Albert A. Biochemical J., 47, № 1, IX, 1950.

Alexander N. a. Greenberg D. M. Feder. Proc., 13, 173, 1954; J. Biol. Chem., 214, 821, 1955.

Angier E. B., Boothe J. H., Hutchings B. L., Mowat J. H., Semb J., Stokstad E. L. R., Subbarow J., Waller C. W. Science, 102, 227, 1945.

Arnstein H. R. V. Biochemical J., 47, XVIII, 1950; 48, 27, 1951; 49, 430, 1951; 60, № 1, VII, 1955.

Arnstein H. R. V. a. Keglevic D. Biochemical J., 62, 199, 1956.

Arnstein H. R. V. a. Stankovic V. Biochemical J., 62, 190, 1956.

Barnett-Zumoff M. D. Amer. J. Med. Sci., 225, 674, 1953.

Blair J. A. Biochemical J., 65, 209, 1957; 68, 385, 1958.

Blakley R. L. Nature, 173, 729, 1954; 174, 652, 1954; Biochemical J., 56, № 2, XVII, 1954; 58, № 3, 448, 1954; Biochem. Biophys. Acta, 23, № 3, 654, 1957.

Boothe J. H., Mowat J. H., Hutchings B. L., Angier R. B., Waller C. W. a. oth. J. Amer. Chem. Soc., 70, 1099, 1948.

Boothe J. H., Mowat J. H., Waller C. W., Angier R. B., Semb J. a. Gazzola A. L. J. Amer. Chem. Soc., 74, 5407, 1952.

Braganca Beatriz M., Aravidakshan I., Ghanekar D. S. Biochim. et Biophys. Acta, 25, № 3, 623, 1957.

Briggs G. M., Hill E. G., Canfield T. H. Poultry Sci., 32, 678, 1953.

Briggs G. M., Luckey T. D., Elvehjem C. A. a. Hart J. Biol. Chem., 158, 303, 1945.

Broquist H. P., Kohler A. R., Hutchison D. J. a. Burchenal J. H. J. Biol. Chem., 202, 59, 1953.

Broquist H. P., Stokstad E. L. R. a. Jukes T. H. J. Biol. Chem., 185, 399, 1950; Feder. Proc., 9, 156, 1950; 10, 167, 1951; J. Nutrition, 47, 93, 1952.

Brown W. O., Jackson N. Nature, 179, 1193, 1957.

Buchanan J. M., a. Schulman M. P. J. Biol. Chem., 196, 513, 1952; 202, 241, 1953.

Change S. C. J. Biol. Chem., 200, 827, 1953.

Clark S. Z., Dodgen C. L. a. Darby N. J. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73, 646, 1950; 84, 479, 1953.

Collins R. A., Harper A. E., Schreiber M., Elvehjem C. A. J. Nutrition, 43, № 2, 313, 1951.

Couch J. R. a. Reid B. L. Feder. Proc., 14, 197, 1955.

Cosulich D. B., Roth B., Smith J. M., Hultquist M. E. a. Parker R. P. J. Amer. Chem. Soc., 73, 5006, 1951; 74, 3252, 3264, 1952.

Cosulich D. B., Seeger D. R., Fahrenbach M. J., Roth B., Mowat J., Smith J. M. a. Hultquist M. E. J. Amer. Chem. Soc., 73, 2554, 1951.

Cosulich D. B. a. Smith J. M. J. Amer. Chem. Soc., 70, 1922, 1948; 71, 619, 3574, 1949.

Day P. L., Langstrom W. E., a. Darby W. J. Nutrition, 9, 637, 1935; Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 38, 860, 1938.

Day P. L., Mims V., Totter J. R., Stokstad E. K. R., Hutchings B. K. a. Sloane J. Biol. Chem., 157, 423, 1945.

Dietrich L. S., Monson W. J. a. Elvehjem C. A. J. Amer. Chem. Soc., 74, 3705, 1952.

Dinning J. S., Neatrour R. a. Day P. L. J. Biol. Chem., 209, 717, 1954.

Doctor V. M. a. Couch J. R. J. Biol. Chem., 200, 223, 1953.

Doctor V. M., Couch J. R., a. Trunnell J. B. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 87, 228, 1954; Feder. Proc. 14, 204, 1955.

Doctor V. M., Elam J. F., Sparks P., Zymau C. M. a. Couch J. R. Arch. Biochem. Biophys., 48, 249, 1954.

Doctor V. M., Trunnell J. B. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 90, 251, 1955.

Ebert J. D. Proc. Ind. Scad. Sci., 62, 72, 1952 (1953).

Fatterpaker P., Marfatia U. a. Sreenivasan A. Nature, 167, 1067, 1951; 169, 1096; 170, 894, 1952; 173, 359, 1954.

Forrest U. S. a. Walker J. J. Chem. Soc., 2002, 1949.

- Friedmann B., Nakada H. I. a. Weinhouse S. J. Biol. Chem., 210, 413, 1954.
- Futterman S. J. Biol. Chem., 228, № 2, 1031, 1957.
- Goldthwait D. A. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 86, 842, 1954.
- Goldthwait D. A., Peabody R. A. a. Greenberg G. R. J. Amer. Chem. Soc., 76, 52, 58, 1954.
- Greenberg G. R. J. Biol. Chem., 190, 611, 1951; Federation Proc., 12, 211, 651, 1953; 13, 745, 1954; J. Amer. Chem. Soc., 76, 1458, 1954.
- Greenberg G. R., Jaenicke L. a. Silverman M. Biochim. et Biophys. Acta, 17, 589, 1955.
- Guggenheim K., Halevy S., Neumann H. a. Usieli V. Biochemical J., 62, 281, 1956.
- Hakala M. T. a. Welch A. D. Feder. Proc. 14, 222, 1955.
- Hayes M., Luckey T. D. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 94, 777 1957.
- Heisler C. R. a. Schweigert B. S. Feder. Proc., 14, 436, 1955.
- Hill C. H., Norris a. Heuser J. Nutrition, 28, 175, 1944.
- Hill C. H. a. Scott M. L. J. Biol. Chem., 196, 189, 1952.
- Hogan R. G. a. Parrott E. M. J. Biol. Chem., 128, VI, 1939; 132, 507, 1940; 149, 323, 1943.
- Hultquist M. E., Kuh E., Cosulich D. B., Fahrenbach M. J., Northey E. H., Seeger D. R., Sickels J. P., Smith J. M., Angier R. B., Boothe J. H., Hutchings B. L., Mowat J. H., Semb J., Stokstad E. L. R., Subbarow Y. a. Waller C. W. J. Amer. Chem. Soc., 70, 19, 1948; 70, 23, 1948; 70, 25, 1948; 70, 27, 1948.
- Hutchings B. L., Stokstad E. L. R., Bohonos N., Sloane N. H. a. Subbarow Y., Science, 99, 371, 1944; J. Amer. Chem. Soc., 70, 1, 5, 10, 1948.
- Hutchings B. L., Mowat J. H., Oleson J. J., Stokstad E. L. R., Boothe J. H., Waller C. W., Angier R. B., Semb J. a. Subbarow Y. J. Biol. Chem., 170, 323, 1947; 180, 857, 1949.
- Hutchings B. L., Oleson J. J. a. Stokstad E. L. R. J. Biol. Chem., 163, 447, 1946.
- Jacobson W. J. Physiol., 123, 603, 1954.
- Jaenicke L. Biochim et Biophys. Acta, 17, 588, 1955.
- Jukes T. H., Franklin A. L. a. Stokstad E. L. R. Am. New-York Acad. Sci., 52, № 8, 1336, 1950.
- Kalckar H. M. a. Klenow H. J. Biol. Chem., 172, 349; 174, 771, 1948.
- Karrer P. a. Schwyzer R. Helv. chim. Acta, 31, 777, 1948.
- Kaufman S. Biochim. et Biophys. Acta, 27, № 2, 428, 1958.
- Keresztesy J. C., Rickes E. L. a. Stokes J. J. Science, 97, 465, 1943; 100, 522, 1944.
- King F. E., Acheson R. M. a. Spensley P. C. Nature, 162, 153, 1948; J. Chem. Soc., 1401, 1949.
- Kisliuk R. L. J. Biol. Chem., 227, 805, 1957.
- Kisliuk R. L. a. Sakami W. J. Amer. Chem. Soc., 76, 1456, 1954; Feder. Proc., 13, 242, 1954.

- Klain G. J., Hill D. C., Branion H. D. Poultry Sci., 36, 405, 1957.
- Korn E. D., Charalampous F. C. a. Buchanan J. M., J. Amer. Chem. Soc., 75, 3610, 1953.
- Koschara. Z. physiol. Chem., 240, 127, 1936.
- Kratzer F. H., Lantz F. H. J. Nutrition, 62, 593, 1957.
- Krehl W. A. a. Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 158, 173, 1945.
- Lascelles J. a. Woods D. D. Biochemical J., 58, 486, 1954.
- Lillie R. J., Briggs G. M. Poultry Sci., 26, 295, 1947.
- Lillie R. J., Combs G. F., Briggs G. M. Poultry Sci., 29, 115, 122, 1950.
- Lowry O. H., Bessey O. A. a. Crawford E. J. J. Biol. Chem., 180, 389, 1949.
- Luckey T. D., Moore P. R., Elvehjem C. A. a. Hart E. B. Science, 103, 682, 1940.
- Machlin L. J., Laukenau A. H., Denton C. A. a. Bird H. R. J. Nutrition, 46, 389, 1952.
- March B. E. a. Biely J. Poultry Sci., 34, 39, 1955.
- McDonald M. W., Austr. J. Agric. Res., 8, 318, 1957.
- Metzler D. E., Ikowa M. a. Snell E. E. J. Amer. Chem. Soc., 76, 648, 1954.
- Mills R. S., Briggs G. M., Elvehjem C. A. a. Hart E. B. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 49, 186, 1942.
- Mitchell H. K., Snell E. E. a. Williams R. J. J. Amer. Chem. Soc., 63, 2284, 1941; 66, 267, 271, 274, 1944.
- Monson W. J., Harper A. E., Elvehjem C. A., Rhodes R. A., Sarles W. B., J. Nutrition, 52, 627, 1954; 53, 289, 1954.
- Nadkarni G. B., Sreenivasan A. Proc. Ind. Acad. Sci., 46, Sec. B. № 4, 236, 1957.
- Nichol C. A. J. Biol. Chem., 204, 469, 1953; 207, 725, 1954.
- J. Pharmacol. a. Exp. Therapie, 110, 40, 1954.
- Nichol C. A. a. Welch A. D. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 74, 52, 1950.
- Oleson J. J., Hutchings B. L. a. Subbarow. Y. J. Biol. Chem., 175, 359, 1948.
- Penhos J. A. Acta, physiol. latinoamer., 5, 22, 1955.
- Penhos J. C., Foglia V. G. Rev. Soc. argentina biol., 30, 188, 1954.
- Peters J. M., Greenberg D. M. Nature, 181, № 4624, 1669, 1958.
- Pfiffner J. J., Binkley S. B., Bloom E. S., Brown R. A.
- Bird O. D., Emmet A. D., Hogan A. G. a. O'Dell B. L. Science, 97, 404, 1943.
- Pfiffner J. J., Calkins D. G., O'Dell B. L., Bloom E. S., Brown R. A., Campbell C. I. a. Bird O. D. Science, 102, 228, 1945.
- Purmann. Ann. Chem., 546, 99, 1940.
- Richardson L. R., Hogan A. G., Kempster H. L. J. Nutrition, 30, 151, 1945.

Roth B., Smith J. M. a. Hultquist M. E. J. Amer. Chem. Soc., 73, 2864, 1951.

Roth B., Hultquist M. E., Fahrenbach M. J., Cosulich D. B., Broquist H. P., Brockman J. A., Smith J. M., Parker R. P., Stokstad E. L. R. a. Jukes T. H. J. Amer. Chem. Soc., 74, 3247, 1952.

Sakami W. a. Welch A. D. J. Biol. Chem., 187, 379, 1950.

Sauberlich H. E. J. Biol. Chem., 195, 337, 1952.

Sauberlich H. E. a. Baumann C. A. J. Biol. Chem., 176, 165, 1948.

Schweigert B. S., German H. L., Pearsons P. B., Schweigert R. M. J. Nutrition, 35, 89, 1948.

Seeger D. K., Smith J. M., a. Hultquist M. E. J. Amer. Chem. Soc., 69, 2567, 1947; 71, 1753, 1949; 72, 1914, 1950.

Shive W. Ann. New-York. Acad. Sc., 52, 1212, 1950; Feder. Proc., 12, 639, 1953.

Shive W., Ackermann W. W., Gordon M., Getzenlander M. E. a. Eakin R. E. J. Amer. Chem. Soc., 69, 725, 1947.

Silverman M. a. Keresztesy J. C. J. Amer. Chem. Soc., 73, 1897, 5510, 1951; Feder. Proc., 12, 368, 1953; J. Biol. Chem., 211, 53, 1954.

Snelle E. a. Peterson W. H. J. Bacter., 39, 273, 1940.

Stekol J. A. a. others Feder. Proc., 10, 252, 1951.

Stetten M. R. a. Fox C. L. J. Biol. Chem., 161, 333, 1945.

Stokstad E. L. R. J. Biol. Chem., 139, 475, 1941; 149, 573, 1943.

Strehler a. Totter J. R. Arch. Biochem. Biophys., 40, 28, 1952.

Strehgnt D. R., Mondy N. L. a. Daniell L. J. Arch. Biochem. Biophys., 48, 141, 1954.

Taylor L. W. Poultry., Sci., 26, 372, 1947.

Taylor A. a. Carmichael N. Cancer. Res., 11, 519, 1951.

Totter J. R. J. Cellular a. Comp. Physiol., 41, 241, 1953.

Verly W. G., Kinney J. M. a. Du Vigneaud V. J. Biol. Chem., 196, 19, 1952.

Viscontinini M. a. Meier J. Helv. Chim. Acta, 32, 877, 1949.

Vohra P., Lantz F. H., Kratzer F. H. J. Biol. Chem., 221, 501, 1956.

Waller C. W., Fahrenbach M. J., Boothe J. H., Angier R. B., Hutchings B. L., Mowat J. H., Polietto J. F. a. Semb J. J. Amer. Chem. Soc., 74, 5405, 1952.

Weinhouse S. a. Friedmann B. J. Biol. Chem., 210, 423, 1954.

Weisblat D. J. a. Hanze A. R. U. S. Patent, 2, 560, 616, 1951.

Weisblat D. J., Magerlein B. J., Hanze A. R., Meijers D. R. a. Rolfsen S. T. J. Amer. Chem. Soc., 75, N 15, 3625, 1953.

Weygard F. u. Schmied-Kowarzik Y. Ber. Chem. Ger., 82, 25, 333, 1949.

Wieland a. Purmann Ann. Chem., 544, 163, 1940.

- Williams J. N., Nichol C. A. a. Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 180, 289, 1949; 185, 895; 187, 47, 1950.
- Williams J. N., Sreenivasan E., Sung Shanching a. Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 202, 233, 1952.
- Wills L. Brit. Med. J., 1, 1059, 1931; Ind. J. Med. Res., 20, 391, 1932.
- Woll E. Trans. N. Y. Acad. Sci., 16, 83, 1948; Cancer. Res., 11, 788, 1951.
- Woolley D. W. a. Pringle A. J. Biol. Chem., 174, 327, 1948.
- Woolley D. W. a. Sprince H. J. Biol. Chem., 153, 687, 1944; 157, 447, 1945.
- Wright a. Welch. Science, 98, 179, 1943.
- Wright B. E. Feder. Proc., 14, 308, 1955; Biochem. Biophys. Acta, 16, 165, 1955; J. Amer. Chem. Soc., 77, 3930, 1955.
- Yamamoto K. Vitamins, 7, № 4, 398, 404, 1954.
- Jano M. Vitamins. Japan, 13, № 3, 344, 1957.
- Zahl P. A. a. Albaum H. G. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 88, 263, 1955.
- Zakrzewski S. F. a. Nichol C. A. Feder. Proc., 14, 311, 1955; J. Biol. Chem., 213, 697, 1955.

К главе 12

- Алейников Г. С. и Попов А. М. Свиноводство, № 7, 26, 1958.
- Бойнер А. О. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека, Советская наука, 1953.
- Букин В. Н., Арешкина Л. Я. и Куцева Л. С. Сборник статей, посвященных Луину П. И., стр. 30, изд. АН СССР, 1955; Успехи современной биологии, 40, 269, 1955.
- Букин В. Н., Куцева Л. С. и Зайцева З. И. Витаминные ресурсы и их использование, Сб. 2, Москва, изд. АН СССР, стр. 286, 1954.
- Гончаров Н. Е., Данилова В. М. и Золотова А. С., Ветеринария, № 3, 34, 1958.
- Давидов Р., Круглова Л. Молочная промышленность, № 7, 42, 1958.
- Дубовый С. З. Ветеринария, № 3, 38, 1958.
- Караваева С. Г. Свиноводство, № 8, 45, 1958.
- Коротун Ю. Д. Свиноводство, № 3, 14, 1958.
- Ковальский В. В. и Раецкая Ю. И. Доклады АН СССР, 100, 1131, 1955.
- Куцева Л. С. Сб. Витаминные ресурсы, 3, стр. 175, АН СССР, 1955.
- Куцева Л. С. и Букин В. Н. Доклады АН СССР, 115, № 4, 765, 1957.
- Лазникова Т. Н. Микробиология, 27, № 1, 19, 1958.
- Лагатовский С. Я. Доклады Всесоюзной конференции по молочному делу. Москва, Сельхозгиз, 1958, 421—425.
- Макаревич В. Г., Верховцева Т. П. и Лазникова Т. Н. Микробиология, 27, № 1, 19, 1958.
- Раецкая Ю. И. и Зубрилина З. И. Бюллетень научно-технической информации ВНИИЖ № 1, 21, 1958.

Сурикова Е. И. и Попова Л. А. Микробиология, 26, № 4, 432, 1957.

Шергин Н. П. Труды Всесоюзного института животноводства, 21, 229, 1957.

Armitage J. B., Cannon J. R., Johnson A. W., Parker L. F. J., Smith E. L., Stafford W. H. a. Todd A. R. J. Chem. Soc., 3849, 1953.

Arnstein H. R. V. Biochemical J., 47, XVIII, 1950; 48, 27, 1951; Biochem. et Biophys. Acta, 29, № 3, 652, 1958.

Arnstein H. R. V. a. Neuberger A. Biochemical J., 50, XXXVIII, 1952; 55, 259, 1953.

Arscott G. H., Shorb M. S. a. Boggs U. Poultry Sci., 34, № 4, 986, 1955.

Bakers S. J. a. Mollin D. L. Rev. hematol., 10, № 2, 180, 1955.

Baliga B. R., Balakrishnan S. a. Rajagopalam. Curr. Sci., 23, 51, 1954; Nature, 174, 35, 1954.

Balloun S. L., Phillips R. E., Poultry Sci., 36, № 5, 929, 1957.

Beaven G. H. a. Johnson E. A. Nature, 176, 1264, 1955.

Bentley O. G., Hershberger T. V. a. Moxon A. L. Feder. Proc., 12, 177, 1953.

Black A. Bratzler J. Nutrition, 47, 159, 1952.

Bonnett R., Cannon J. R., Johnson A. W., Sutherland L. a. Todd A. R. Nature, 176, 328, 1955.

Boos R. N., Carr J. E. a. Conn J. B. Science, 117, 603, 1953.

Boxer G. E., Schonk C. E., Gilfillan E. W. a. Emerson G. A. Feder. Proc., 13, 185, 1954.

Brink C., Hodykin D. C., Lindsey J., Pickworth J., Robertson J. H. a. White J. G. Nature, 174, 1169, 1954.

Brink N. G., Holly F. W., Shunk C. H., Peel E. W., Cahill J. J. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 72, 1866, 1950; 74, 2856, 4521, 1952.

Brink N. G., Wolf D. E., Kaczka E., Rickes E. L., Koniuszy F. R., Wood T. R. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 71, 1854, 1949.

Brink N. G. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 72, 4442, 1950.

Brown F. B., Cain J. J., Gant D. E., Parker L. F. J., Friedrich W., Bernhauer K. a. Smith L. E. Biochemical J., 59, 82, 1955; Angew. Chemie., 66, 776, 1954.

Callender S. T., Trombull A. a. Wakisake G. Brit. Med. J., 1, 10, 1954.

Cannon J. R., Johnson A. W. a. Todd A. R. Nature, 174, 1168, 1954.

Carpenter L. E. Arch. Biochem., 27, 469, 1950.

Cartwright, Tatting, Robinson, Fellows, Gunn, Wintrobe, Blood J. Hematol., 6, 867, 1951.

Charkey L. W., Manning W. K., Kano A. K., Gassner F. X., Hopwood M. L., Madseh J. L. Poultry Sci., 32, № 4, 630, 1953.

- Castle W. B. Amer. J. Med. Sci., 178, 748, 764, 1929; 180, 305, 1930.
- Chang J. A. Johnson B. C. Arch. Biochem. Biophys., 55, 151, 1955.
- Chin D., Anderson J. B., Miller R. F., Norris L. C., Heuser G. F., Poultry Sci., 37, 335, 1958.
- Chow B. F., Davis B. L. a. Davis S. J. Nutrition, 49, 657, 1953.
- Chow B. F., Feder. Proc., 13, 453, 1954.
- Chow D. F. Quattlebaum J. K. a. Rosenblum Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 90, 279, 1955.
- Coates M. E., Holdsworth E. S. Biochemical J., 69, 20P, 1958.
- Cooperman J. M., Tabenkin B. a. Drucker R. J. Nutrition, 46, 467, 1952.
- Couch J. R., Ener H. S. a. Olcese O. Feder. Proc., 13, 194, 1954.
- Cox E. V., Ross G. J. M. a. Undley C. C. Rev. hematol., 10, № 2, 198, 1955.
- Dawborn M. C., Hine D. C., Smith J. Austral. J. Exp. Biol. a. Med. Sci., 35, 97, 273, 1957.
- Dixit C. M., Mody B. M., Jhala H. I., Parekh J. G. Ramasarma G. B. Indian. J. Med. Sci., 10, № 6. 419, 1956.
- Dryden L. P., Havtman A. M. a. Cary C. B. J. Nutrition, 45, 377, 1951; 48, 509, 1952; Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 87, 195, 1954.
- Dubnoff J. W. a. Bartrow E. Feder. Proc., 13, 201, 1954.
- Dumn N. E., Rallie E. P., Gershberg H. a. Laken B. J. Nutrition, 47, 11, 1952.
- Denton C. A., Kellogg W. L., Sizemore J. R. a. Lillie R. J. J. Nutrition, 54, 571, 1954.
- Edwards C. H. a. Carter R. T. Feder. Proc., 12, 413, 1953.
- Emerson G., Brink N. G., Holly F. W., Koniuszy F., Heyl D. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 72, 3084, 1950.
- Emerson G., Holly F. W., Shunk C. H., Brink N. G. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc. 73, 1069, 1951.
- Ericson L. E., Lewis L. Arkiv. Kemi, 6, 427, 1953, Acta Chem. Scand., 7, 703, 1953.
- Ericson L. E., Harper A. E., Williams J. W. a. Elvehjem C. A. Feder. Proc., 14, 208, 1955.
- Evans R. J., Bandemer S. L., Baner D. H. a. Davidson J. A. Poultry Sci., 34, 922, 1955.
- Fatterpaker P., Marfatia U. a. Sreenivasan A. Nature, 176, 165, 1955.
- Ferguson T. M., Trunnell J. R., Deanis B., Wade P., Couch J. R. Endocrinology, 60, № 1, 28, 1957.
- Ferguson T. M. a. Couch J. R. Feder. Proc., 13, 456, 1954; J. Nutrition, 54, 361, 1954.
- Fisher N. A., Benson E. M., Swendseid M. E. Arch. Biochem. Biophys., 74, № 2, 458, 1958.

- Ford J. E. a. Holdsworth E. S. *Biochemical J.*, 56, XXXV, 1954; XXXV, 1954; 59, 86, 1955.
- Ford J. E. a. Porter J. W. G. *Biochemical J.*, 51, № 1 V, VI, 1952; *Nature*, 171, 149, 150, 1953.
- Fox M. R., Briggs G. M., Ortiz L. O. *J. Nutrition*, 62, 539, 1957.
- Friedrich W., Bernhauer K. *Angew. Chemie*, 65, 627, 1953; 67, 619, 1955; *Chem. Ber.*, 90, № 9, 1956, 1957.
- Frölich A. *Nature*, 173, 132, 1954.
- Glass G. B. J., Boyd L. J., Gelling G. A., Stephanson L. *Feder. Proc.*, 13, 54, 1954; *Arch. Biochem. Biophys.*, 51, 251, 1954.
- Glass G. B. J., Boyd L. J., Rubinstein M. A., Svigals C. S. *Science*, 115, 101, 1952.
- Glass G. B. J., Boyd L. J., Stephanson L. a. Jones E. L. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 88, 1, 1955.
- Glass G. B. J. a. Jones E. L. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 88, 69, 1955.
- Gregory M. E. a. Holdsworth E. S. *Biochemical J.*, 55, 830, 1953; *Nature*, 173, 830, 1954.
- Hadnagy C., Horvath E. *Wiener Z. innere Med.*, 58, № 7, 293, 1957.
- Guthbertson W. F. J., Gregory J., Sullivan P. O. a. Pegler H. F. *Biochemical J.*, 62, № 2, 15 P, 1956.
- Halbrook E. R., Cords F., Winter A. R. a. Sutton T. S. *J. Nutrition*, 41, 555, 1950.
- Hammond J. C. a. Titus H. W. *Poultry Sci.*, 23, 49, 1944.
- Harris J. W. *Amer. J. Med.*, 21, № 3, 461, 1956.
- Herbert V. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 97, 668, 1958; *J. Clin. Invest.*, 37, 646, 1958.
- High E. G. a. Sherman S. W. *J. Nutrition*, 50, 203, 1953.
- Hodgkin D. C., Pickworth J., Robertson J. H., Trueblood K., Ne Prosen R. J. *Nature*, 176, 325, 1955.
- Holdsworth E. S. *Nature*, 171, 148, 1953; *Biochemical J.*, 66, 59 P, 1957.
- Hopper J. H., Johnson B. C. *J. Animal Sci.*, 12, 921, 1953.
- Jaffe W. G. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 97, № 3, 665, 1958.
- Jones C. C., Brown S. O., Richardson L. R. a. Sinclair J. G. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 90, 135, 1955.
- Jackson W. G., Whitfield G. B., Devries W. N., Nelson R. A., Evans J. S. *J. Amer. Chem. Soc.*, 73, № 1, 337, 1951.
- Janicki J., Pawekiewicz J. *Acta biochim. polon*, 1, 307, 1954; 2, 307, 329, 1955; *Bull. Acad. Polon Sci., Cl. II*, 3, 5, 1955.
- Johnson E. L. *Poultry Sci.*, 33, 100, 1954.
- Johnson B. C. a. Neumann A. L. *J. Biol. Chem.*, 178, 1001, 1949.
- Johnson B. C., Firth J. a. Mistry S. P. *Feder. Proc.*, 13, 457, 1954; 14, 445, 1955; *Arch. Biochem. Biophys.*, 54, 467, 1955.
- Johnson K. R., Peterson G. E. a. Dick E. C. *J. Nutrition*, 49, 135; 51, 171, 1953.

- Jukes T. H. *Feder. Proc.*, 11, 447, 1952.
- Kaczka E. A., Wolf D. E. a. Folkers K. J. *Amer. Chem. Soc.*, 71, 1514; 1949, 73, 335, 1951.
- Kaczka E. A. a. Folkers K. J. *Amer. Chem. Soc.*, 75, 6317, 1953.
- Kalan E. a. Ceithaml J. *Feder. Proc.*, 12, 228, 1953.
- Kennedy E. P. a. Smith S. W. *J. Biol. Chem.*, 207, 143, 1954.
- Kercher C. J., Smith S. E. *J. Animal Sci.*, 12, № 3, 922, 1953.
- Kline I. T. *Endocrinology*, 57, 120, 1955.
- Kratzer F. H. *J. Nutrition*, 48, 201, 1952; *J. Biol. Chem.*, 203, 367, 1953.
- Krimsky I. a. Racker E. *J. Biol. Chem.*, 198, 721, 731, 1952.
- Kuehl F. A., Shunk C. H. a. Folkers K. J. *Amer. Chem. Soc.*, 77, 251, 1955.
- Latner A. L. *Brit. Med. J.*, № 5091, 278, 1958.
- Latner A. L., Green C., Raine L. *Biochemical J.*, 69, 60P, 1958.
- Latner A. L., Raine L. *Biochemical J.*, 66, 53P, 1957 68, 592, 1958.
- Latner A. L. a. McEvoy-Bowe E. *Biochemical J.*, 53, XXIX, 55, XXIII, 1953; *Brit. Med. J.*, 1, 467, 1953.
- Latner A. L. a. Ungley C. C. *Lancet*, 266, 497, 1954.
- Lewis U. J., Tappan D. V., a. Elvehjem C. A. *J. Biol. Chem.*, 194, 539, 1952.
- Liener J. E. a. Schultzer U. O. *J. Nutrition*, 46, 223, 1952.
- Ling C. T. a. Chow B. T. *Feder. Proc.*, 11, 249, 1952; *J. Biol. Chem.*, 206, 797, 1954; *Feder. proc.*, 13, 253, 1954.
- Lowter C. P., Alexander W. D. a. Hendry E. B. *Lancet*, 266, 495, 1954.
- Luecka R. W. a. oth. *Science*, 110, 139, 1949.
- Machlin L. J., Lankenau A. H., Denton C. A. a. Bird H. R. *J. Nutrition*, 45, 389, 1952.
- Matterson L. D., Ryan F. A., Kozeff A. a. Potter L. M. *Poultry Sci.*, 33, 1069, 1954.
- Meyer M. L., Thompson H. T. a. Elvehjem C. A. *J. Nutrition*, 45, 551, 1951.
- Miller O. N., Raney J. L., Hunter F. M. *Feder. Proc.*, 16, 393, 1957.
- Mistry S. P., Vadopalaite J., Chang J., Firth J. a. Johnson B. C. *J. Animal Sci.*, 12, 915, 1953; *Feder. Proc.*, 13, 265, 1954; *J. Biol. Chem.*, 212, 713, 1955.
- Mollin D. L. a. Rose G. J. M. *J. Clin. Path.*, 5, 129, 1952.
- Moinuddin M., Pope A. L., Phillips P. H., Bohstedt G. J. *Animal Sci.*, 12, № 3, 497, 1953.
- Monson W. J., Dietrich L. S. a. Elvehjem C. A. *J. Nutrition*, 46, 411, 1952; Siedlet A. J. a. Schweigert B. S. *Poultry Sci.*, 32, 449, 1953.
- Neujahr H. I. *Acta Chem. scand.*, 11, № 7, 1191, 1957.
- Neyl D., Chase E. C., Shunk C. H., Moore M. U., Emerson G. a. Folkers K. J. *Amer. Chem. Soc.*, 76, 1355, 1954.

- Nichol C. A., Dietrich L. S., Cravens W. V. a. Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 177, 631, 1949; Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70, 40, 1949.
- Nichol C. A., Robblee A. R., Cravens W. W. a. Elvehjem C. A. J. Biol. Chem., 177, 631, 1949.
- Ostrowski W. Acta biochim. polon., 2, 297, 1955.
- Ott W. H., Ricker E. L. a. Wood T. H. R. J. Biol. Chem., 174, 1047, 1948.
- Patrick S. J. J. Nutrition, 55, 129, 1955.
- Pawelkiewicz J. Acta Biochim. Polon., 1, 313, 1954; 3, 321, 1955. Bull. Acad. Polon. Sci. Cl. II. 3, 3, 1955.
- Pawelkiewicz J., Nowakowska K. Acta. Biochim. polon., 2, 259, 1955.
- Petersen C. F., Wiese A. C., Miln G. E., Lampman C. E. Poultry Sci., 32, 535, 1953.
- Rabek V. T., Kasik D., Sichova O., Stedra H. Biochim. et Biophys. Acta, 19, 191, 1956.
- Raine L. Nature, 175, 777, 1955.
- Rege D. V. a. Sreenivasan A. Nature, 166, 1117, 1950.
- Richardson D., Catron D. V., Inderkoffler L. A., Maddock H. M. a. Friedland W. C. J. Nutrition, 44, 371, 1951.
- Rickes E. L., Brink N. C., Koniuszy F. R., Wood T. R. a. Folkers K. Science, 107, 396, 1948; 108, 134, 634, 1948.
- Robinson F. M., Miller I. M., McPherson J. F. a. Folkers K. J. Amer. Chem. Soc., 77, 5192, 1955.
- Rosenthal H. L. a. Sarett H. P. J. Biol. Chem., 199, 433, 1952.
- Rothery P., Bell J. M. a. Spinks J. W. J. Nutrition, 49, 173, 1953.
- Scheid H. E. a. Schweigert B. S. J. Nutrition, 53, 419, 1954.
- Schmid H., Elnöther A. u. Karrer P. Helv. Chim. Acta, 36, 65, 1953.
- Scott M. L., Norris L. C. a. Heuser G. F. J. Biol. Chem., 167, 261, 1947.
- Seigel G. B. a. Worley L. G. Anat. Rec., 111, 597, 1951.
- Shenoy K. G. a. Ramasarma G. B. Arch. Biochem. Biophys., 55, 293, 1955.
- Sherwood D. H. a. Sloan H. J. Poultry Sci., 33, 1015, 1954.
- Shive W., Ravel J. M. a. Eakin R. E. J. Amer. Chem. Soc., 70, 2614, 1948.
- Skarżyński B., Ostrowski, Niewiakowska A., Zak Z. Acta biochim. polon., 2, 115, 1955.
- Smith E. L. Nature, 161, 638, 1948.
- Smith E. L., Ball S. a. Ireland S. M. Biochem. J., 52, 395, 1952.
- Smith E. L., Fantès K. K., Ball S., Waller J. C., Emery W. B., Anslow S. K. a. Walker A. D. Biochemical J., 52, 395, 1952.
- Smith E. L., Parker L. F. J. a. Gant D. E. Biochemical J., 62, № 2, 14P, 1956.
- Soldo A. T. Arch. Biochem. Biophys., 55, 71, 1955.

- Stockstad E. L. R. a. oth. J. Lab. a. Clin. Med., 33, 860, 1948;
 J. Biol. Chem., 180, 647, 1949.
 Suarez R. M. Z. Vitaminforschung, 23, № 3, 308, 1952.
 Teeri A. E., Enos H. F., Pomerantz E., Colovos N. F. J. Animal Sci., 14, 268, 1955.
 Titus H. W., Brumbach J. H. a. Mehring A. L. Poultry Sci., 34, 167, 1955.
 Vohra P., Lantz F., Kratzer F. H. Arch. Biochem. Biophys., 76, № 1, 180, 1958.
 Wallerstein R. O., Harris J. W., Schilling R. W., Castle W. B. J. Lab. a. Clin. Med., 41, 363, 1953.
 Welch B. E., Perrett R. W., Clements J. H. a. Couch J. R. J. Nutrition, 54, 601, 1954.
 West R. Science, 107, 398, 1948.
 Wijmenga H. G. Chem. Weekblad, 48, 33, 1952.
 Wijmenga H. G., Thompson K. W., Stern K. G. a. O'Connell D. J. Biochem. Biophys. Acta, 13, 144, 1954.
 Wöhlbier W., Schreider W., Kirchgessner M. Arch. Tierernährung, 8, № 1, 1, 1958.
 Wolff R. C. R. Ac. Sci., 246, 3103, 1958.
 Woolley D. M. Feder Proc., 13, 483, 1954; Proc. Natl. Acad. Sci., U. S., 39, 6, 1953; 41, 111, 1955.
 Wright L. D., Sueggs H. R. a. Huff J. W. J. Biol. Chem., 175, 475, 1948.
 Young R. J., Norris L. C. a. Heuser G. F. J. Nutrition, 53, 233, 1954.

К л а с с е 13

- Азарх Р. М. Вопросы медицинской химии, 1, 51, 1949.
 Асланиян Г. Ш. и Вартанян Т. Т. Биохимия, 17, 177, 1952.
 Бессонов Н. А. Витамины, Ленинград, 1931; Успехи биологической химии, № 2, 24, 1929; № 7, 3, 1931; № 12, 174, 1936.
 Бабаев Я. Животноводство, № 12, 80, 1957.
 Богданов М. Н. Труды Бурят-Монгольского зооветеринарного института, вып. 10, 35, 1956.
 Богданова В. А. Современные вопросы советской витаминологии, стр. 102, АМН СССР, Москва, 1955.
 Брюханова Н. А. Современные вопросы советской витаминологии, стр. 15, АМН СССР, Москва, 1955.
 Букни В. Н. Биохимия, 8, 60, 1943; Вопросы питания, 12, № 1, 84, 1953.
 Буренина Е. П. Известия ТСХА, № 3, 175, 1956.
 Вальдман А. Р. Вопросы физиологии сельскохозяйственных животных, Труды I и II совещаний АН СССР, 195, 1957.
 Винокуров С. И. Укр. биохимический журн., 19, № 3, 370, 1947.
 Винокуров С. И. и Казначей Г. Я. Биохимия, 12, 350, 1947.
 Винокуров С. И. и Кузнецова Л. Н. Сб. трудов Киевского медицинского института; Нарушенное питание, стр. 208, 1946; Укр. биохимический журн., 20, № 2, 260, 1948.
 Винокуров С. И. и Фридман Р. С. Укр. биохимический журн., 19, № 1, 20, 1947.

Вятчикова М. А. Тезисы докладов X сессии Института питания АМН СССР, стр. 110, 1956.

Гергележиу А. Проблема витаминов ВАСХНИЛ, № 2, 206, 1937.

Гольдштейн Б. Н. Вопросы питания, 11, 32, 1952; Витамины, 1, 197, АН Укр. ССР, Киев, 1953.

Гольдштейн Б. Н., Волькензон Д. В. и Качерова С. А. Укр. биохимический журн., 17, 201, 219, 1941; Биохимия, 12, 89, 1947; 15, 414, 1950.

Гольдштейн Б. Н., Герасимова В. В. и Кондратьева Л. Г. Биохимия, 19, № 5, 531, 1954.

Гольдштейн Б. Н., Кондратьева Л. Г. и Герасимова В. В. Биохимия, 15, 178, 1950; 17, 354, 1952; Докл. АН СССР, 83, № 3, 453, 1952.

Горб Т. В. и Рось И. Ф. Свиноводство, № 7, 40, 1956.

Гудина В. А. Материалы научных конференций Ижевского сельскохозяйственного института, вып. 2, 219, 1958.

Давидов Р. Б., Гулько Л. Е. Известия ТСХА, № 2, 179, 1953.

Девятин В. А. Биохимия, 15, № 4, 325, 1950; Труды витаминного института, 4, 128, 1953.

Дронов С. Ф. Технология производства концентратов витаминов С, Труды витаминной конференции, 127, 1940.

Заверуха Я. С. Укр. биохимический журн., 23, № 3, 308, 1951.

Ипихов Г. и Бурепина Е. П. Молочное и мясное животноводство, № 5, 57, 1956.

Кадыков Б. И., Качапова Е. Е. и Погорелко М. А. Доклады АН СССР, 104, № 5, 792, 1955.

Каплацкий С. Я. и Машбиц Л. М. Биохимия, 12, № 4, 291, 1947.

Карманова З. Труды Витаминного института, 1, 118, 1936.

Кирсанова В. А., Крайко Е. А., Пелар О. И., Труфанов А. В. и Яновская Б. И. Биохимия, 18, № 3, 351, 1953.

Климов А. Н. Тезисы докладов X сессии Института питания АМН СССР, 123, 1956.

Короткоручко В. П. Укр. биохимической журн., 21, 205, 1949; 22, 28, 36, 1950.

Крайко Е. А. Вопросы питания, 10, 61, 1951.

Кручакова Ф. А. Витамины, 1, 208, АН Укр. ССР, Киев, 1953; Укр. биохимический журн., 26, № 1, 66, 1954.

Курц Ф. А. Биохимия, 18, № 3, 284, 1953.

Лавров Б. А. Вопросы питания, 7, № 1, 30, 1938; 8, № 4, 3, 1939.

Лев А. Е. Труды Саратовского зооветеринарного института, 6, 137, 1956; 8, 228, 1958.

Липовецкая Э. Н. Тезисы докладов IX сессии Института питания АМН СССР, 135, 1955.

Лобанов Н. Н. Труды Саратовского зооветеринарного института, 6, 128, 1956.

Львов С. Д., Гуцевич Г. и Пантелеева А. Записки Львовского государственного университета, 15, 151, 1945.

Максимов В., Никонова В. В., Лазарев А. Ф. и Зверева Л. А. Журнал общей химии, 9, 936, 1939.

Маллер Г. Л. и Иновская Б. И. Вопросы питания, 10, 56, 1951.

Мартинсон Э. Э. и Тяхепильд Л. Я. Вопросы медицинской химии, 1, № 4, 263, 1955; 1, № 5, 380, 1955.

Мартынюк Д. Ф. Ветеринария, № 2, 1952.

Мацко С. Н., Горбунова В. П. и Жмейдо А. Т. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 21, № 1, 22, 1956.

Матузис и др. Труды Архангельского медицинского института, 7, 141, 1943; Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 20, № 3, 66, 1945.

Машбиц Л. М. Вопросы медицинской химии, 1, № 1, 144, 1949; Вопросы питания, 11, № 3, 51, 1952.

Мельников Ф. К. Вопросы питания, 2, № 3, 66, 1934; Клиническая медицина, 15, № 2, 224, 1937; 16, № 1, 53, 1938.

Мяник В. А. Сб. научных трудов Эстонской сельскохозяйственной академии, 3, 285, 1957.

Никонова В. А. Укр. биохимический журн., 19, № 2, 234, 1947; Вопросы питания, 12, № 3, 46, 1953.

Нодия П. И. Тезисы докладов X сессии Института питания АМН СССР, 141, 1956.

Орехович К. Д. и Орехович В. Н. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 23, № 12, 447, 1951.

Панич Божидар: 36. радио Пола опровергающего факт. Ун-т, Београду, 4, № 2, 148, 1956.

Поволоцкая К. Л. Проблемы витаминов, 2, 20, 1937.

Погорелко М. А. Тезисы докладов IX сессии Института питания АМН СССР, 140, 1955.

Поповская Е. М. Биохимия, 15, 249, 1950; 17, 145, 1952.

Рохлина М. Л. и Ягудина Р. Н. Вестник офтальмологии, № 6, 15, 1947.

Розанов А. Я. Вопросы медицинской химии, 1, № 4, 285, 1955.

Рубин Б. А. Сб. Синтез органических веществ, изд. АН СССР, 1940.

Рубин Б. А. и Арциховская Е. В. Биохимия, 2, 952, 1937.

Рубин Б. А., Арциховская Е. В. и Спиридонова П. Биохимия, 4, 268, 1939.

Рысс С. М. Витамины, стр. 254, Медгиз. Москва, 1955.

Самойлов А. Ф. и Балакаев Б. Труды Туркменского сельскохозяйственного института, 8, 39, 1956.

Смирнова М. Г. Тезисы докладов X сессии Института питания АМН СССР, 151, 1956.

Сумцов Б. М. Биохимия, 12, 539, 1947; 13, 492, 1948; 15, 112, 1950; Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 27, № 1, 78, 1949; Успехи современной биологии, 27, 273, 1949.

Таращанская Ф. З. Витамины, 1, 212, АНУ ССР, Киев, 1953.

Терентьева Е. Л. Биохимия, 17, 641, 1952; 18, 296, 1953; Современные вопросы советской витаминологии, стр. 81, АМН СССР. Москва, 1955.

- Удалов Ю. Ф. Вопросы питания, 15, № 2, 23, 1956.
- Удалов Ю. Ф. и Быкова С. В. Тезисы докладов X сессии Института питания АМН СССР, стр. 154, 1956.
- Утевский А. М. Успехи биологической химии, 1, 423, 1950.
- Шамрай Е. Ф. Биохимия, 15, 75, 1950; 16, № 6, 604, 1951;
- Сб. Витамины, стр. 58, АИУ ССР, 1953.
- Шамрай Е. Ф. и Гудз З. М. Укр. биохимический журн., 23, № 3, 303, 1951.
- Шамрай Е. Ф., Платаш И. Т. и Горчакова Г. А. Вопросы питания, 12, № 4, 41, 1953.
- Шпайдман Л. О. Производство витаминов из растительного сырья, 1944; Производство синтетической аскорбиновой кислоты, стр. 19, 1948. Пищепромиздат, Москва; Производство витаминов, 1950; Труды Витаминного института, 4, 47, 1953.
- Шульцев Г. П. и Бондарь Э. А. Советская медицина, 4, 27, 1941.
- Эйдельман М. М. Тезисы докладов IX сессии Института питания АМН СССР, 145, 1955; те же тезисы X сессии, 161, 1956.
- Эйдельман М. М. и Гордон Ф. Я. Биохимия, 14, 58, 1949.
- Энгельгардт В. А. и Букин В. Н. Биохимия, 2, 587, 1937; Проблема витаминов, 255, 1937; Биохимия, 2, 274, 1937.
- Яновская Б. И. и Крайко Е. А. Биохимия, 17, № 2, 161, 1952.
- Яновская Б. И. и Маллер Г. Л. Журнал фармакологии и токсикологии, 12, № 6, 13, 15, 1949.
- Ярсова Н. С. Вопросы питания, 11, № 5, 42, 1952.
- Ярсова Н. С. и Яновская Б. И. Z. Unters. Lebensm., 63, 500, 1932.
- Allison J. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 90, 277, 1955.
- Bacchus H. a. Heiffer M. H. Amer. J. Physiol., 174, 243, 1953.
- Baker L. C., Lampitt L. H. a. Wittenberg E. J. Sci. Food a. Agric., 6, № 11, 682, 1955.
- Banerjee S. a. Deb C. J. Biol. Chem., 194, 575, 1952; Feder. Proc., 11, 207, 1952.
- Banerjee S. a. Ghosh P. K. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 88, 415, 1955.
- Banerjee S. a. Guha B. C. Ann. Bioch. Exper. Med., 1, 27, 239, 1941; 2, 120, 125, 1942.
- Becker R. R., Burch H. B., Venkitasubramanian T. A. a. King C. G. Feder. Proc., 12, 470, 1953; J. Amer. Chem. Soc., 75, 2020, 1953.
- Belavady B. a. Banerjee S. J. Biol. Chem., 209, 641, 1954.
- Berends W. a. Konings J. Recueil trav. chim., 74, № 10, 1365, 1955.
- Bezsonoff N. Bull. Soc. Sci. Hyg. aliment., 11, 14, 1923; C. R. Acad. Sci., 173, 466, 1921; 180, 970, 1925; 182, 1223, 183, 1309, 1926.
- Birch T., Harris a. Ray. Biochem. J., 27, 590, 1933.
- Booker W. M., DaCosta F. M., Twieman J. R., Froix C. a. Jones W., Endocrinology, 56, 413, 1955.

Booker W. M., Frances M., Da Costa F. M., Jones W. a. Froix C. Amer. J. Physiol., 167, 4, 1951; J. Pharm. a. Exp. Ther., 106, 4, 1952; Feder. Proc., 12, 333, 1953.

Booker W. M., Tureman J. R., Da Costa F. M., Poulson J. a. Mitchell S. Q., Amer. J. Physiol., 181, 371, 1955.

Boyd T. A. S. Brit. J. Ophthal., 39, 204, 1955.

Breidenbach A. W. a. Ray F. E. Feder. Proc., 12, 182, 1953; Gastroenterology, 24, 79, 1953; Amer. J. Physiol., 180, 637, 1955.

Broquista a. oth. J. Biol. Chem., 202, 59, 1953.

Burns J. J., Mosbach E. H. J. Biol. Chem., 221, № 1, 107, 1956.

Burns J. J., Mosbach E. H., Schulenberg S. a. Reichenenthal J. J. Biol. Chem., 214, 507, 1955.

Burns J. J., Peyser P., Moltz A., Science, 124, № 3232, 1148, 1956.

Burstein S., Dorfman R. a. Nadel E. M. J. Biol. Chem., 213, 597, 1955.

Chan P. C., Becker R. R. King C. G. J. Biol. Chem., 231, № 1, 231, 1958; Feder. Proc., 16, 163, 1957.

Crandall D. I. a. Halikis D. N. Feder. Proc., 12, 192, 1953; 13, 195, 1954; J. Biol. Chem., 208, 629, 1954.

Crandall J. H., Mikal S. a. Landau B. S. Surg. Gynec. u. Obstet., 95, 274, 1952.

Damron C. M., Mills M. M. a. Roe J. M. J. Biol. Chem., 195, 599, 1952.

Даманск А. Ф., Милосавлевич-Иванович М. Гласник хем. друштва, 20, № 2, 111, 1955.

Dayton P. G., Burns J. J. J. Biol. Chem., 231, № 1, 85, 1958.

Deshmukh G. S. a. Barat M. G. Chem. Ber., 88, № 7, 1121, 1955.

Dugal L. P., Des Marais A. a. Gagnon P. M. Canad. J. Bioch. Physiol., 33, 677, 1955.

Dugal L. P. a. Therieu M. Endocrinology, 44, 420, 1949; Ann. Endocrin., 13, 578, 1952.

Euler H. u. Martins C. Lieb. Ann., 52, 221, 1933.

Fisher K. H. a. Dodds M. L. J. Nutritiva, 54, 389, 1954.

Fukudo T., Mashiko H. Japan. J. Physiol., 5, № 3, 204, 1955.

Galloway N. M., Garry R. C. a. Hitchin A. D. Brit. J. Nutrit., 2, 228, 1948.

Gero E. Bull. Soc. Chim. biol., 36, 1335, 1954; C. R. Acad. Sci., 240, 2176, 1955.

Giangrasso G. Fisiol. a. Med., 9, 255, 1938; Arch. ed. arti. Soc. ital. Chir., 45, 822, 1939; Boll. Soc. ital. Biol. sper., 14, 522, 1939.

Girond A., Lebong C. P., Ratismamanga R., Gero E. Bull. Soc. Chim. biol., 20, 1078, 1948.

Guba B. C. a. Pal. J. C. Nature, 137, 946, 1936.

Günther E. Biochem. Ztschr., 314, 277, 1943; Vitam. u. Horm., 5, 55, 1944

- Hawoeth W. H., Hirst E. L. a. Reynolds R. J. W. Nature, 129, 576; 130, 888, 1932.
- Hellman L. a. Burns J. J. Feder. Proc. 14, 225, 1955; J. Biol. Chem., 230, № 2, 923, 1958.
- Herbert R. N., Hirst E. L., Percival E. G., Reynolds R. J. a. Smith J. Chem. Soc., 1270, 1933.
- Hirst E. L. J. Chem. Soc., 1270, 1933; J. Soc. Chem. Ind., 52, 221, 1933; Nature, 131, 617, 1933.
- Holst A. a. Frölich T. J. Hyg., 7, 634, 1907; Z. Hyg. Infektionskrankh., 72, 1, 1912; 75, 334, 1913.
- Holtz P. Z. Physiol. Chem., 263, 187, 1940; Klin. Wschr. I, 136, 461; II, 813, 1940; I, 169, 1942.
- Holzbauer M. a. Rigler R. Nature, 174, 877, 1954.
- Hopkins F. G. a. Morgan E. J. Biochemical J. 30, 1446, 1936.
- Horowitz H. H. a. King C. G. J. Biol. Chem., 199, 193, 1952; 200, 125, 1953.
- Isherwood F. A., Chen Y. T. a. Mapson L. W. Nature, 171, 348, 1953; Biochemical J., 56, 1, 15, 21, 1954; 59, Proc. IX, 1955.
- Jackel S. S., Mosbach E. H., Burns J. J. a. King C. G. J. Biol. Chem., 186, 569, 1950; 207, 679, 1954.
- Jandl J. H. a. Gabuzda G. J. J. Clin. Invest., 31, 756, 1952; Proc., Soc. Exp. Biol. a. Med., 84, 452, 1953.
- Jeney A. a. Törö E. Virchows Arch. path. Anat., 298, 87, 1936.
- Kern M. a. Racker E. Arch. Biochem. a. Biophys., 48, № 1, 235, 1954.
- Kersten W., Schmidt H. a. Stausinger H. Biochem. Z., 325, 288, 1954; 326, 469, 1955.
- Khalil H. H. Lancet, 1, 912, 1954.
- Knobele A. Fregly M. J. Endocrinology, 56, 614, 1955.
- Kohman E. F. Food. Technol., 9, № 6, 301, 1955.
- Kuether C. A., Telford J. R. a. Roe J. R. J. Nutrition, 28, 347, 1944.
- Kulkarki R. H. a. Sreenivasan A. J. Scient. a. Ind. Res., 13, 10B, 704, 1954.
- Kurtin C. O. a. King C. G. J. Biol. Chem., 216, 539, 1955.
- LaDu B. N. a. Greenberg D. M. Feder. Proc., 11, 244, 1952; Science, 117, 111, 1953.
- Lauersen u. Orth. Z. Untes. Lebensmittel, 83, 193, 1942.
- Lehninger A. L., Nassan M. a. Sudduth H. C. J. Biol. Chem., 210, 911, 1954.
- Levine S. Z., Marples E. a. Gordon H. H. Science, 90, 620, 1939; J. Clin. Invest., 20, 199, 209, 1941; 22, 551, 1943.
- Lowry O. H. Physiol. Rev., 32, № 4, 441, 1952.
- Mapson L. W. a. Goddard D. R. Biochemical J., 49, 592, 1951.
- Mapson L. W. a. Moustafa E. M. Biochemical J., 62, 248, 1956.
- May C. D. a. oth. J. Nutrition, 49, 121, 1953.
- McDaniel E. G., a. Daft F. S. Feder. Proc., 13, 468, 1954.

- McHenry E. W. a. Graham M. *Nature*, 1, 871, 1935;
Biochem. J., 29, 2013, 1935; 32, 85, 1938.
- Michel F. u. Graft K. Z. *physiol. Chem.*, 216, 233; 218, 280; 219, 253; 222, 235, 1933; 255, 13, 1934.
- Morgan A. F., Gillum H. L. a. Williams R. I. *J. Nutrition*, 55, 431, 1955.
- Nadel E. M., Mulay A. S. a. Gaslaw L. D. *J. Clin. Endocrin. a. Med.*, 14, 7, 1954; *Endocrinology*, 56, 584, 1955.
- Nason A., Wosilait W. D. a. Terrell A. J. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, 48, № 1, 233, 1954.
- Nichol C. H. *J. Biol. Chem.*, 204, 469, 1953.
- Oertel G. u. Hein H. Z. *physiol. Chem.*, 297, 249, 1954; 301, 191, 1955.
- Painter H. A. a. Zilva S. S. *Biochemical J.*, 46, 542, 1950.
- Person B. H. *Acta Soc. Med. Upsalieu Suppl.*, 2, 1953.
- Potgieter M., Morse E. H. a. Walker G. R., *J. Nutrition*, 55, 217, 1955.
- Procházka Z. *Sborn. pathofys. trav.*, 8, 13, 1954.
- Querido A. a. Gaillard P. J. *Acta brev. neerl. Physiol.*, 9, 70, 1939.
- Ray S. N. *Biochemical J.*, 28, 996, 1934.
- Reddi R. M. a. Norstrom A. *Nature*, 173, 1232, 1954.
- Reichstein T., Grussner A. u. Oppenauer R. *Helv. Chim. Acta*, 16, 561, 1019, 1933; 17, 311, 1934; *Nature*, 132, 280, 1933.
- Rinfret A. P. a. Hane S. *Endocrinology*, 56, 341, 1955.
- Rowlands R., Kamasastri P. V., Joseph M. a. *Row M. Ind. J. Med. Res.*, 43, 627, 1955.
- Salegui M., Schwartz M. A. a. Williams J. N. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 87, 530, 1954.
- Saitta S. *Scr. biol. Castaldi*, 4, 301, 1929.
- Sealock R. R. a. Goodland R. L. *Science*, 114, 645, 1951.
- Sealock R. R. a. Lan T. H. *J. Biol. Chem.*, 155, 483, 1944; 167, 689, 1947.
- Sealock R. R. a. Silberstein H. E. *Science*, 90, 517, 1939; *J. Biol. Chem.*, 135, 251, 1940; 166, 7, 1946.
- Spragg S. P. a. Yemm E. W. *Biochemical J.*, 58, № 1, XI, 1954.
- Svilbely I. L. a. Szent-Gyorgyi A. *Science*, 72, № 1854, 1932; *Biochemical J.*, 26, 865, 1932.
- Szent-Gyorgyi A. *Biochemical J.*, 21, 689, 1927; 22, 1387, 1928; *Science* 72, 125, 1930; *J. Biol. Chem.*, 90, 385, 1931; *Nature*, 129, № 3269, 1932.
- Takeda Y. a. Hara M. *Med. J. Osaka Univ.*, 3, 313, 1952; *J. Biol. Chem.*, 214, 657, 1955.
- Tillmans J. Z. *Unters. Lebensm.*, 63, 1, 16, 267, 1932; 64, 11, 1932.
- Van Robertson W. a. Schwartz B. *J. Biol. Chem.*, 196, 403; 197, 495, 1952; 201, 689, 1953.
- Welch A. D., Nichol C. A., Anker R. M. a. Boehne J. W. *J. Pharm. a. Exp. Therap.*, 103, 403, 1951.

- Williams J. N. a. Sreenivasan A. J. Biol. Chem., 203, 109, 605, 613, 1953.
 Yamada H. Vitamins, 7, № 5, 550, 1954.
 Yamazaki M. J. Agric. Chem. Soc. Japan, 28, № 9, 748, 1954; 28, № 11, 890, 1954.

Главе 14

- Березовская Н. Н. Тезисы докладов Института питания АН СССР, IX сессии, 126, 1955; X сессии 107, 1956; Биохимия, 21, 148, 1956.
 Бокучава М. А., Попов В. Р. и Шуберт Т. А. Доклады АН СССР, 76, № 3, 439, 1951.
 Букин В. Н., Дорофеева Н. Н. Доклады АН СССР, 98, № 6, 1011, 1954.
 Дурмашидзе С. В. и Букин В. Н. Доклады АН СССР, 76, 703, 1951.
 Запрометов М. Н. Биохимия, 17, 97, 1952; 19, № 5, 599, 1954.
 Курсанов А. Л., Букин В. Н., Поволоцкая К. Л. и Запрометов М. Н. Биохимия, 15, 337, 1950.
 Курсанов А. Л., Запрометов М. Н. и Ерофеева Н. Н. Биохимия, 17, 729, 1952.
 Курсанов А. Л., Воробьева М. В., Выхребенцева З. И. Доклады АН СССР, 68, 737, 893, 1949.
 Леонтьев И. Ф. Успехи современной биологии, 1, 134, 1945.
 Опарин А. И. Biochem. Z., 127, 90, 1921; 182, 155, 1927; Изв. Рос. АН, сер. 6, 16, 535, 1922; Биохимия чайного производства, Сб. I—VI, Изд. АН СССР, 1935—1950.
 Палладин В. И. Записки Им. АН, сер. 8, физико-математическое отделение, 20, № 5, 1907.
 Шамрай Е. Ф. и Гудэ З. Ж. Укр. биохимический журн., 24, 102, 1952.
 Шамрай Е. Ф., Платаш И. Т. и Горчакова Г. А. Вопросы питания, 12, № 4, 41, 1953; Врачебное дело, № 9, 1, 1953.
 Ярусова Н. С., Селиванова В. М. и Лапина С. А. Вопросы питания, 16, № 5, 66, 1957.
 Amorose A. M. a. Deeds F. J. Pharm. a. Exp. Therap., 97, 115, 1949.
 Bacharach A. L., Coates M. E. a. Middleton T. R. Biochem. J., 36, 407, 1942.
 Bemtsath A., Rusznyak S. a. Szent Györgyi A. Nature, 138, 3497, 1936.
 Birch A. J., Donovan F. W., Moewas F. Nature, 172, 902, 1953.
 Clark W. G., Upcapher R. P. a. Jordan M. L. Feder. Proc., 7, 21, 1948; Science, 108, 629, 1948.
 Eddy W. H., Sokoloff B., Cone G., Beaumont J. a. Powell R. Feder. Proc., 11, 206, 1952.
 Fox D. W., Savage W. L. a. Wender S. H. J. Amer. Chem. Soc., 75, 2504, 1953.

Gabe M. a. Parrot J. L. C. R. Soc. biol., 140, 754, 1946; J. de Physiol., 40, 63, 1948.

Griffith J. G., Anthony E., Pendergrass E. P. a. Perryman R. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 64, 331, 1947.

Hattori S., Shimokoriyana M. a. Kanao M. Acta Phytochimia, 15, 199, 1949; J. Amer. Chem. Soc., 74, 3614, 1952.

Hygby K. Int. Amer. Pharm. Ass., 30, 629, 1941; 32, 74, 1943.

Lavollay J. Compt. rend., 214, 287, 1942; 218, 211, 1944.

Lavollay J., Parrot J. L. a. Sekestre J. Compt. rend. Soc. biol., 137, 1, 1943.

Mouriquand G. et Edel V. Z. Vitaminforschung, 22, 129, 133, 1950.

Parrot, Lavollay J., Sevastre J. et Galmich P. Compt. rend. Soc. Biol., 138, 179, 1944.

Rekers P. E. a. Field J. Science, 107, 16, 1948.

Rusznayak S. Szent-Gyorgyi A. Nature, 138, 27, 1057, 1936; 139, 320, 1937; Z. physiol. Chem., 255, 126, 1938.

Scarborough H. Biochemical J., 39, 271, 1945.

Scarborough H. a. Bucharach A. L. Vitamin P. Vitamins a. Hormones, VII, I, 1949. Биохимия и физиология витаминов, 2, 7, 1950.

Wawra C. a. Webb J. Science, 96, 302, 1942.

Williams B. L., Jee C. H. a. Wender S. H. J. Amer. Chem. Soc., 74, 4566, 1952.

Wilson R. H. a. De Eds F. Food. Res., 5, 89, 1940.

Zilva S. Biochemical J., 45, 79, 1949.

К главе 15

Арешкина Л. Я., Букин В. Н., Ерофеева Н. Н., Скоробогатова Е. П., Биохимия, 22, № 1—2, 384, 1957.

Вадимов В. М. Электрификация сельского хозяйства, № 5, 6, 9 и 11, 1931; № 8, 1932; № 4, 1933; Пищевая промышленность СССР, 4, 50, 1946.

Валдман А. Р. Труды Института зоотехники и зоогигиены АН Латв. ССР, 4, 73, 1953.

Вендт В. П. Сб. Витамины, изд. АН УССР, 122, Киев, 1953; Сб. Витамины, изд. АН УССР, 44, 1958.

Вендт В. П. и Дрокова Н. Г. Укр. биохимический журн., 22, № 2, 160, 1950.

Вендт В. П. и Кузнецова Л. П. Укр. биохимический журн., 22, № 2, 144, 1950.

Григорьева А. Я. Животноводство, № 12, 79, 1957.

Грошев М. К. и Сидоров П. И. Труды Саратовского зооветеринарного института, 7, 265, 1958.

Журавлев Е. М. Сб. трудов Пензенского сельскохозяйственного института, 1, 248, 261, 1956.

Журавлев Е. М. и Батина М. А. Сб. трудов Пензенского сельскохозяйственного института, 1, 276, 1956.

Кодинцев Г. А. и Борисенко М. В. Свиноводство, № 2, 37, 1958.

Комаров С. Н. Труды Витаминного института, IV, 209, 1953.

Коханова М. В. Вопросы педиатрии и охраны материнства и детства, 20, № 1, 1952.

Красногорский Н. И. Развитие учения о физиологической деятельности мозга у детей. Ленинград, 1939; Сб. Проблемы кортико-висцеральной патологии, изд. АМН СССР, Москва, 1949.

Лепский Е. М. Рахит и питание рахитиков. Татгосиздат, 1941.

Лепский Е. М. Современные вопросы советской витаминологии, 262. Медгиз, Москва, 1955.

Лившиц М. И. Труды ВНИВИ, 1947 и Труды ВНИВИ, IV, 62, 1953.

Мацко С. Н. Журнал экспериментальной биологии и медицины, 31, 99, 32, 169, 1929; Бродильная промышленность № 10, 1932; Физиологический журнал СССР, 37, № 2, 233, 1951; Методическое руководство по определению витаминов. Приложение, стр. 73. Медгиз, Москва, 1950.

Петухова Е. А. Труды Московской ветеринарной академии, 11, 24, 35, 1956.

Постникова А. Н. Труды Московской ветеринарной академии, 11, 52, 1956.

Полканов М. И. и Гусев И. С. Животноводство, № 1, 48, 1958.

Рахманов А. и Возная А. Ц. Электрификация сельского хозяйства, № 7, 1932 и № 2, 1933.

Святкина К. А. Новости медицины, 33, 1953.

Солун А. С. Проблемы животноводства, 4, 79, 1937; Сб. 2. Витаминные ресурсы и их использование АН СССР, Москва, 76, 1954; Витаминизм, Сб. 2, АН УССР, 197, 1956.

Трайнина Ф. Витаминизм в теории и практике, 17, № 1, 53, 1937.

Труфанов А. В. Химико-фармацевтическая промышленность, № 4, 196 и № 5, 253, 1933; № 4, 132, 1932.

Труфанов А. В. и Голяркин Ф. Е. Витаминизм в птицеводстве, Сельхозгиз, 1952.

Хайн Г. А. Педпатрия, 7—8, 1938.

Albaum H. G., Hirshfeld A. a. Sobel A. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 79, 238, 682, 1952.

Anderson J., Harper C., Deut C. E. a. Philpot G. R. Lancet, 267, 720, 1954.

Bellin S. A., Herting D. C., Cramer J. W., Pileggi V. J. a. Steenbock B. Arch. Biochem. Biophys, 50, № 1, 18, 1954.

Bronsch K. Z. ges. exp. Med., 124, 118, 1954.

Burke W., Formanek K. u. Lindner A. Scientia Pharmaceutica, 21, 296, 1953.

Carlsson A. Acta. physiol. Scand. 26, 212, 1952; Acta pharmacol. a. Toxicol. 9, 32, 1953.

Carlsson A. a. Lindqvist B. Acta. Paediatrica, 44, 548, 1955.

Carlsson A., Hollunger G., Lindqvist M. a. Magnusson T. Acta physiol. Scand., 31, 317, 1954.

Carlsson A., Lindqvist M. a. Magnusson T. Acta physiol. Scand., 31, 301, 1954; 31, 308, 1954; 31, 312, 1954.

Carnes W. H., Pappenheimer A. M. a. Stoerk H. C. Proc. Soc., Exp. Biol. a. Med., 51, 314, 1942.

- Causeret J. *Comptes Rendus Acad. Sci.*, 237, 104, 1953; 238, 160, 1954.
- Conrad H. R., Hansard S. L., Hibbs I. W. J. *Dairy Sci.*, 39, 1697, 1956.
- Crawford J. D., Gribetz D. a. Hurst P. *Am. J. Dis. Child*, 88, 667, 1954; *Am. J. Physiol.*, 180, 156, 1955.
- Cruickshank E. M. a. Kodicek E. *Biochem. J.*, 64, № 1, 24 p., 1956.
- Cruickshank E. M., Kodicek E. a. Armitage P. *Biochem. J.*, 51, № 5, XLII, 1952; 54, 337, 1953; 58, 172, 1954.
- DeLuca H., Gran F., Steenbock H. *J. Biol. Chem.*, 224, 201, 1957.
- DeLuca H., Steenbock H. *Science*, 126, № 3267, 258, 1957.
- Dikshit P. K. *Ind. J. Med. Res.*, 43, 679, 1955.
- Dikshit P. K. a. Patwaedham V. N. *Ind. J. Med. Res.* 35, № 2, 91, 1947.
- Discont E. a. Perkins H. R. *Biochemical J.*, 52, № 2, 260, 1952.
- Dunlop G. Z. *Nature*, 173, 453, 1954.
- Dziwiatkowski D. D. *J. Exper. Med.*, 100, 25, 1954.
- Engel G. *Nederl. melk. en zuiveltydschr.* 9, № 2/3, 139, 1955.
- Eugfeldt B. a. Zetterström R. *Acta physiol. Scand.*, 32, 320, 1954.
- Fernholz E. a. McPhillamy H. B. *J. Amer. Chem. Soc.*, 63, 1155, 1941.
- Festenstien G. N. *Biochemical J.*, 59, 605, 1955.
- Festenstien G. N. a. Morton R. A. *Biochemical J.*, 60, 22, 1955.
- Fischer F. a. Hastrup B. *Acta Endocrinol.*, 16, № 2, 141, 1954.
- Follis R. H. *Amer. J. Pathology*, 31, 568, 1955.
- Glanzmann E., Meier K., Walthord B. *Z. Vitaminforschung*, 17, 159, 1946.
- Glazener E. W., Briggs G. M. *Poultry Sci.*, 25, 85, 1946; 27, 462, 1948.
- Glover J., Leat W. M. F. a. Morton R. A. *Biochemical J.*, 58, № 2, XVII, 1954.
- Glover J. a. Green C. *Biochemical J.*, 58, № 2, XVIII, 1954.
- Glover M., Glover J. a. Morton R. A. *Biochemical J.*, 51, 1, 1952.
- Greenberg D. M. *J. Biol. Chem.*, 157, 99, 1945.
- Greep R. O. a. Fischer C. J. *Feder. Proc.*, 9, 51, 1950.
- Hanahau D. J. a. Al-Wakil S. J. *Arch. Biochem. Biophys.*, 44, 150, 1953.
- Hansard S. L., Comar C. L., Davis G. K., *Amer. J. Physiol.*, 177, 383, 1954; *J. Animal Sci.*, 13, 25, 1954.
- Hanssler H. *Z. ges. exp. Med.*, 123, 91, 1954; 126, № 2, 105, 1955.
- Harrison H. E. *Pediatrics*, 14, № 4, 285, 1954.
- Harrison H. E., Harrison H. C., Park E. A. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 96, 768, 1957; *Amer. J. Physiol.*, 192, 432, 1958.

- Harrison H. E. a. Harrison H. C. J. *Chim. Invest.*, 20, 47, 1941.
- Havermann H., Hartfiel W. *Arch. Geflügelkunde*, 22, № 1, 1, 1958.
- Havinga E. a. Bots J. P. L. *Rec. Trav. Chim. Pays. Bas.*, 73, № 6, 393, 1954.
- Heimer C. B., Maslaw H., Sobel A. E. a. Grayzel D. M. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 87, 13, 1954.
- Herzfeld E., Klupp H., London M. a. Zweymüller E. *Z. ges. exp. Med.*, 126, 33, 1955.
- Hess A. F. «Rickets, including Osteomalacia and Tetany» Philadelphia Lea. a. Felaiger, 1929.
- Hess A. F. a. Unger L. J. *J. Amer. Med. Ass.*, 74, 217, 1920; *Z. orthop. chir.*, 39, 426, 1920; *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 18, 298, 1921.
- Hess A. F., Weinstock M. a. Helman D. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 22, 76, 227, 1925; *J. Biol. Chem.*, 63, 305, 1925.
- Hibbs I. W., Pouden W. D., I. *Dairy Sci.*, 38, 65, 1955.
- Hodgkin D. C. a. Sayre D. J. *Chem. Soc.*, 4561, 1952.
- Jesserer H. *Wiener. klin. Wochenschr.*, 67, 49, 1955; 67, 326, 1955.
- Jonxis J. H. P., Smith P. H., Huisman T. H. J. *Lancet*, 2, 1015, 1952.
- Joshi J. G. a. Dikshit, P. K. *Nature*, 177, 625, 1956.
- Kieger C. H., Bunkfeldt R. a. Steenbock H. *J. Nutrition*, 20, 125, 1940; 21, 213, 1941.
- Klein R. a. Cow R. C. *J. Clin. Endocrin. a. Med.*, 13, 271, 1953.
- Klimczyk L. *Arztl. Wochenschr.*, 11, № 13, 285, 1956.
- Klosty M. a. Bergmann W. J. *Amer. Chem. Soc.*, 74, 1601, 1952.
- Kodicek E. *Biochemical J.*, 57, XIII, 1954; 58, № 4, XXXVI, 1954; 64, № 1, 25P, 1956.
- Kon, Thompson, *Milchwissenschaft*, 12, 166, 324, 1957.
- Kreuzer F. u. Faller A. *Z. Vitaminforsch.*, 22, № 2, 170, 1950.
- Laudaner W. *Endocrinology*, 55, 686, 1954.
- Loudon M., Zweymüller E., *Z. ges. exptl. Med.*, 129, № 4, 325, 1957.
- McCollum E. V., Simmonds N., Becker J. E. a. Shipley P. G. *J. Biol. Chem.*, 53, 293, 1922; 65, 97, 1925.
- McDonald M. W., Duncan D. C. *Austr. Veter. J.*, 33, № 8, 207, 1957.
- Meintzer R. B. a. Steenbock H. *J. Nutrition*, 56, 285, 1955.
- Mellanby E. J. *Physiol.*, 109, 483, 1949.
- Migicovsky B. B. a. Jamieson J. W. S. *Arch. Biochem.* 28, 324, 1950; *Canadian. J. Bioch. a. Physiol.*, 33, № 2, 202, 1955, 35, № 12, 1267, 1957.
- Moodie E. W., Marra, Robertson A. J. *Comp. Path.*, 65, 20, 1955.
- Motzok J., Slinger S. J. *Poultry Sci.*, 27, № 4, 486, 1948.
- Müller E. *Arch. Kinderheilkunde*, 152, № 2, 135, 1956.

- Neseni R. a. Gastmeier W. Arch. Tierernahrung, 4, № 5, 234, 1954.
- Neseni R., Altenkirch W. a. Otto E. Arch. Tierernahrung, 4, № 4, 258, 1954.
- Neuweiller W. Z. Vitaminforsch., 25, № 2, 203, 1954.
- Nicolaysen R. Biochemical J., 31, 107, 122, 1937; Acta Physiol. Scand., 6, 201, 1943; 22, 260, 1951.
- Nitschke A. Z. Kinderheilk, 54, 223, 1933; Mschr. Kinderheilk, 56, 211, 1933; Die Ernährung, Heidelberg Springer, 1952.
- Ottke R. C. Arch. Biochem., 23, № 1, 49, 1939.
- Pickholz S. Chemist. a. Druggist, 167, № 4036, 738, 741, 1957.
- Pileggi V. J., De Luca H. F. a. Steerbock H. Arch. Biochem. Biophys., 58, 194, 1955.
- Pincussen L. J. Biol. Chem., 140, ci, 1941.
- Prélot M., Guerillot-Vinet A., Bazier R. Arch. Sci. physiol., 12, № 1, 45, 1958.
- Püschel E. Kinderärztl. Prax, 20, 406, 1952.
- Raoul J. Voeding, 16, N 6, 547, 1955; Int. Z. Vitaminforschung, 28, N 3, 306, 1958.
- Raoul J., Le Boulch N., Chopin J., Meunier P. et Guerillot-Vinet A. Comptes Rendus, 232, 1258, 1951; 234, 2493, 1952; 235, 1439, 1704, 1952; 237, 439, 1953; 238, 846, 1954.
- Raoul J., Le Boulch N., Guerillot-Vinet A., Dulou R. et Baron C. Comptes Rendus, 241, 1882, 1955.
- Raoul J., Le Boulch N., Baron C., Bazier R. et Guerillot-Vinet A. Bull. Soc. Chim. biol., 38, N 23, 495, 1956; 38, N 56, 885, 1956.
- Raoul J., Marnay C., Le Boulch N., Prélot M., Guerillot-Vinet A., Bazier R., Baron C. Comptes Rendus Ac. Sci., 244, N 7, 954, 1957.
- Rosenberg H. R. Arch. Biochem. Biophys., 42, N1, 7, 1953.
- Ruigh W. L. J. Amer. Chem. Soc., 64, 1900, 1942.
- Schetter G., Jobst H. Z. ges. exper. Med., 126, 338, 1955.
- Scott W. a. Harris C. C. J. Biol. Chem., 155, 267, 456, 1945.
- Sheets O. a. Funk C. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 20, 80, 1922.
- Sobel A. E. a. Burger M. J. Biol. Chem., 212, 105, 1955.
- Staskewicz G., Romanowska M. Med. weteryn., 12, N 4, 217, 1956; 13, N 7, 409, 1957.
- Steenbock H., Bellin S. A. a. Wiest W. G. J. Biol. Chem., 193, 843, 1951; 194, 311, 1952.
- Steenbock H. a. Bellin S. A. J. Biol. Chem., 205, 985, 1953.
- Steenbock H., Krieger C. H., Wiest W. G. a. Pileggi V. J. J. Biol. Chem., 205, 993, 1953.
- Steenbock H. a. Black A. J. Biol. Chem., 64, 263, 1925.
- Steenbock H. a. Nelson E. M. J. Biol. Chem., 56, 355, 1923; 61, 405, 62, 209, 301, 575, 1924.
- Ström L. a. Winberg J. Acta paediatrica, 43, 574, 1954.
- Swoboda W. Wiener Klin. Wochenschr., 66, 879, 1954.
- Talmage R. V. a. Dodds B. F. Endocrinology, 57, 236, 1955.

- Tanret C. Comptes Rendus Ac. Sc., 108, 98, 1889; 147, 75, 1908.
 Templina. Steenbock H. Biochem. J., 27, 2055, 1933;
 30, 1126, 1936.
 Teulon E. et Paulais R. C. R. Soc. biol., 147, 1775, 1953.
 Thomas R. Austral. J. Chem., 8, N 1, 142, 1955.
 Underwood E., Fisch S. a. Hodge H. C. Am. J. Physiol., 166, 387, 1951.
 Villela G. G., Archiv. Biochem., 23, N 1, 175, 1949.
 Ward R. J. a. Moore T. Biochemical J., 52, N 1, V, 1952;
 55, 295, 1953.
 Ward G. M., Blosser T. H., Adams M. F. J. Dairy Sci., 35, 587, 1952.
 Windaus A. Chimie et Industrie, 40, 835, 1938.
 Windaus A., Linser O., Lutringshaus A. u. Weidlich O. Liebigs Ann. Chem., 492, 226, 1932; Windaus A., Dithmar K. u. Fernholz E. Там же, 493, 259; 499, 188, 1932; Nachr. Ges. Wiss. Göt. Math. Phys. Kl., 2, 150, 1932; Setz P. Z. physiol. Chem., 215, 183, 1933.
 Windaus A. a. Bock F. Z. physiol. Chem., 245, 168, 1937.
 Windaus A. u. Hess A. Chem. Ztg., 51, 113, 1927; Nachr. Ges. Wiss. Göttingen Math. Phys. Kl., 2, 175, 1927; 4, 1932, Ber. Chem. Ges., 65, 1006, 1932.
 Windaus A., Schenk F. u. Werder F. Z. physiol. Chem., 241, 100, 1936.
 Windaus A. u. Stange O. Z. physiol. Chem., 244, 218, 1936.
 Windaus A. a. Trantman G. Z. physiol. Chem., 247, 185, 1937.
 Joder L. a. Thomas B. H. Arch. Biochem. Biophys., 50, N 1, 113, 1954.
 Zetterström R. a. Winberg J. Acta. paediatrica, 44, 45, 1955.
 Zweymüller E. Neue österr. Z. Kinderheilkunde, 2, N 2, 116, 1957.

К главе 16

- Григорьева В. А. Укр. биохимический журнал, 23, 198, 386, 1951.
 Кудряшев Б. А. Arch. Exp. Path. Pharm., 169, 275 (1933) и 175, 489 (1934); Гинекология и акушерство, № 3, 1934. Успехи современной биологии, 6, 318, 1937; Бюллетень экспериментальной биологии и медицины СССР, 3, 13, 1937.
 Кудряшев Б. А. Витамины Е и механизм его действия. Ученые записки Московского государственного университета, 32, 1, 1940.
 Палладин А. В. Журнал высшей нервной деятельности, 6, № 1, 11, 1956.
 Рябов М. Х. Копеводство, № 3, 16, 1946.
 Савинов Б. Г., Луцевская Г. И. и Свищук А. А. Сб. Витамины, 3, Киев, АН УССР, 85, 1958.
 Скачков М. Е. Известия Московского зоотехнического института копеводства, № 5, 15, 1952.
 Фердман Д. Л. Сб. Витамины, стр. 225. Изд. Укр. АН ССР, Киев, 1953.

Фердман Д. Л. и Григорьева В. А. Доклады АН СССР, 85, № 4, 863, 1952.

Фердман Д. Л. и Местечкина А. Я. Укр. биохимический журн., 22, 166, 1950; 23, 103, 1951.

Шабина И. А. Биохимия, 18, 385, 1953.

Шухлова Р. Ф. Труды Сельскохозяйственного института заочного образования, № 1, 206, 1957.

Ames S. R. Poultry Sci., 35, 145, 1956.

Ames S. R. u. Harris P. L. Z. Vitaminforschung, 22, № 1, 26, 1950.

Atkinson R. L. a. Couch J. R. Poultry Sci., 33, 1039, 1954.

Atkinson R. L., Ferguson T. M., Quisenberry J. H. a. Couch J. R. J. Nutrition, 55, 387, 1955.

Azzone G. F. et Aloisi M. Biochim. et Biophys. Acta, 18, 451, 1955.

Beckmann R. Klin. Wochenschr., 29, 493, 1951; 90, 465, 1952; Dtsch. Wochenschr., 1157, 1954.

Beckmann R. u. Fegeler F. Klin. Wochenschr., 33, 76, 1955.

Biery J. G. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 88, 482, 1955.

Biery J. G., Briggs G. M., Pollard C. J. Nutrition, 64, N 1, 113, 1958.

Blaxter K. L., Brown F., Wood W. A. a. MacDonald A. M. Brit. J. Nutr., 7, 337, 1953.

Blincoe C., Dye W. B. J. Animal Sci., 17, N 1, 224, 1958.

Bloch H. u. Hottinger A. Z. Vitaminforsch., 13, 9, 1943.

Bomskov u. Kaulla. Klin. Wschr., 20, 334, 1941.

Boyer P. D. J. Amer. Chem. Soc., 73, 733, 1951.

Boyer P. D., Rabinovitz M. a. Lieber E. J. Biol. Chem., 192, 95, 1951.

Bratzler J. W., Loosli J. R., Krukovsky V. N. a. Maynard L. A. J. Nutrition, 42, 59, 1950.

Bunnell R. H. Poultry Sci., 36, N 2, 413, 1957.

Bunyan J. Nature 182, 1237, 1958.

Bunyan J., Green J., Mamalis P., Marlinskienicz S. Nature, 179, 418, 1957.

Burns, Hange a. Quackenbush. Arch. Biochem. Biophys., 30, 341, 1951.

Butturini. Klin. Wschr., 21, 609, 1942.

Carolanne S. M., Miles, Ericsson E. M. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70, 162, 1949.

Carpenter M. McCay P., Caputto R. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 97, N 1, 205, 1958.

Coujard R. et Daum H. Comptes Rendus Ac. Sci., 238, 840, 1954.

Cox R., Alfin-Slater B. B. a. Ershoff B. H. Biochemical J., 61, N 3, XIV, 1955.

Creech B. G., Rahman M. M., Reid B. L. a. Couch J. R. J. Nutrition, 64, N 1, 55, 1958.

Dam H. J. Nutrition, 27, 193, 1944; Fette u. Seifen, 54, 633, 1952.

DeLuca A. P., Teichman R., Rousseau J. E.,

- Morgan M. E., Eaton H. D., MacLeod P., Dicks M. W., Johnson R. E. J. Dairy Sci., 40, N 8, 877, 1957.
- Dessau F. J., Lipchuck L. a. Klein S. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 87, 522, 1954.
- Dinning J. S. a. Day P. L. J. Nutrition, 63, N 3, 393, 1957.
- Dinning J. S., Sime J. T. a. Day P. L. J. Biol. Chem., 217, 205, 1955.
- Dinning J. S. Feder. Proc., 11, 440, 1952; 12, 412, 1953; J. Biol. Chem., 202, 213, 1953; 212, 735, 1955; J. Nutrition, 55, 209, 1955; Arch. Biochem. Biophys., 60, 501, 1956.
- Dju M. J., Quaiife M. L. a. Harris P. L. Am. J. Physiol., 160, 259 (1950).
- Draper H. H., James M. F. a. Johnson B. C. J. Nutrition, 47, 583 (1952).
- Eaton H. D., Rousseau J. E., Dicks M. W., Teichman R., Grifo A. P. J. Dairy Sci., 41, N 10, 1456, 1958.
- Eggitt P. W. R. a. Norris F. W. J. Sci. Food a. Agric., 6, N 11, 689, 1955; 7, N 7, 493, 1956.
- Eggitt P. W. R. a. Ward L. D. J. Sci. Food a. Agric., 4, 176, 569, 1953; 6, 329, 1955.
- Earl S. J. a. Thompson R. H. S. Brit. J. Pharmacol., 8, 118, 212 (1953).
- Emerson O. H., Emerson G. A., Mohammad A. u. Evans H. M. J. Biol. Chem., 122, 99 (1937).
- Emerson O. H., Emerson G. A. a. Evans H. M. J. Biol. Chem., 131, 403, 1939.
- Emmerie A. a. Engel C. Nature, 142, 3692 (1938); Rec. trav. chim., 57, 1351 (1938).
- Engel C., Heins Y. T. Acta Parevia Neerl. Physiol., Phyrn., Microb., 13, 37, 1943.
- Evans H. M., Bishop K. S. Anat. Rec., 23, 17 (1922); J. Amer. Med. Ass. 81, 889 (1923).
- Evans H. M. a. Burr G. O. J. Biol. Chem., 76, 273, 1928; Memoirs Univ. of California, 8, 1 (1927).
- Evans H. M., Emerson O. H. a. Emerson G. A. J. Biol. Chem., 113, 319 (1936); Science, 88, 38 (1938); Anat. Rev., 74, 257 (1939).
- Evans H. M., Emerson O. H. a. Telford J. R. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 38, 625, 1938.
- Farmer F. A., Mutch B. C., Bell J. M., Woolsey L. D. a. Crampton E. W. J. Nutrition, 42, 309, 1950.
- Feldheim W. Vitamine u. Hormone, 7, N 4, 323, 1956.
- Ferguson M. E., Bridgforth E., Quaiife M. L., Martin M. P., Cannon R. O., McGanity W. J., Newbill J. a. Darby W. J. J. Nutrition, 55, 305, 1955.
- Fernholtz E. J. Amer. Chem. Soc., 60, 700, 1938.
- Frampton V. L., Skinner W. A. a. Bailey P. G. Science, 116, 34, 1952; J. Amer. Chem. Soc., 76, 282, 1954.
- Freire S. A. a. Maghaes B. F. Rev. Brasil de Biol., 3, 91, 1943.
- Friedman L., Weiss W., Wherry F., Klin O. L. J. Nutrition, 65, N 1, 143, 1958.
- Furter M. u. Meyer R. E. Helv. Chim. Acta, 22, 240, 1939.

- Gatz A. J. a. Houchin O. B. *Anat. Rec.*, 94, 462, 1946;
97, 337, 1947; 110, 249, 1951.
- Goettsch M. J. *Nutrition*, 44, 443, 1951.
- Golumbic C. a. Mattill H. A. *J. Biol. Chem.*, 134, 535, 1940; *J. Amer. Chem. Soc.*, 63, 1279, 1941.
- Gordon H. H., Davis R. H. a. Morganstein K. *Feder. Proc.*, 12, 415, 1953.
- Gray D. E. a. De Luca H. A. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 32, 491, 1954; *Arch. Biochem. Biophys.*, 54, 534, 1955.
- Green J., Marcinkiewicz S., Watt P. R. *J. Sci. Food Agric.*, 6, 274, 1955.
- Gurto G. M. *Zootec. Vet.*, 12, 410, 1957.
- György P., Cogan G. a. Rose C. S. *Ann. N. J. Acad. Sci.*, 52, 231, 1949; *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 81, 536, 1952.
- Harris P. L. *Nature*, 165, 572, 1950.
- Harris P. L. a. Ludwig M. E. *J. Biol. Chem.*, 179, 1111, 1949; 180, 611, 1949.
- Harris P. L., Quaife M. L. a. O'grady P. J. *Nutrition*, 46, 459, 1952.
- Harris P. L., Quaife M. L. a. Swanson W. J. *J. Nutrition*, 40, 367, 1950.
- Herbert J. W. a. Morgan A. F. *J. Nutrition*, 50, 175, 1953.
- Hill H. u. Funken K. *Dtsch. tierärztl. Wochenschr.*, 64, N 15, 353, 1957.
- Horn Z., Bogsch S. a. Altmann O. *Z. Innere Med.*; 10, 140, 1955.
- Horst-Meyer H., Zur u. Potel J. *Arch. exp. Pathol. u. Pharmac.*, 227, 62, 1955.
- Hove E. L. *J. Nutrition*, 50, 361, 1953; 51, 609, 1953; *Amer. J. Clin. Nutr.*, 3, N 4, 328, 1955.
- Hove E. L. a. Copeland D. H. *J. Nutrition*, 53, 391, 1954.
- Hove E. L. a. Hardin J. O. *J. Nutrition*, 48, 193, 1952; *J. Pharm. a. Exp. Therap.*, 106, 88, 1952.
- Hove E. L. a. Seibold H. R. *J. Nutrition*, 56, 173, 1955.
- Hurley K. E. e. Williams R. *J. Arch. Biochem. Biophys.*, 54, 384, 1955.
- Jensen L. S. a. McGinnis J. *Poultry Sci.*, 36, N 1, 212, 1957.
- Joffe M. a. Harris P. L. *J. Amer. Chem. Soc.*, 65, 925, 1943.
- Karrer P. u. Dürr K. *Helv. Chim. Acta*, 32, 1361, 1949.
- Karrer P. u. Fritzsche H. *Helv. Chim. Acta*, 21, 1234, 1938.
- Karrer P., Favarger M., Merz A. u. Milkand G. *Helv. Chim. Acta*, 31, 1505, 1948.
- Karrer P., Fritzsche H., Ringer B. H. u. Salomon H. *Helv. Chim. Acta*, 21, 520, 1938.
- Kemeny, Veghelyi u. Sós. *Kiserl. orvostudom, Budapest*, 1, 111, 1949.
- King J. T., Lee C. P. J. a. Visscher M. B. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 88, 406, 1955.
- Klussendorf R. C. N. *Am. Veterinarian*, 36, N 11, 909, 1955.

- Knobloch E., Macha F. u. Mnoucek K. *Chemické listy*, 46, 718, 1952.
- Koch Z. *Vitaminforsch.*, 24, 68, 1952.
- Kunkel H. O. a. Nelson W. L. *J. Biol. Chem.*, 183 149, 1950.
- Lindahl P. E. a. Kihlström J. E. *Nature*, 174, 600 1954.
- Lu F. C., Allmark M. G. a. Graham W. G. *Canad J. Biochem. a. Physiol.*, 33, 21, 1955.
- Lu G. D., Emerson G. A. a. Evans H. M. *Am. J. Physiol.*, 133, 367, 1941.
- Mackenzie C. G. a. McCollum E. V. *J. Nutrition* 19, 345, 1940.
- Mackenzie J. B. a. Mackenzie C. G. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 84, N 2, 388, 1953.
- Mackenzie J. B., Rosenkrantz H., Ulick S. a. Milhorat A. T. *J. Biol. Chem.*, 183, 655, 1950; 190, 445, 1951
- Markson L. M., Carnaghan R. B. A., Parr W. H. *Brit. Veterinary J.*, 113, N 8, 303, 1957.
- Mason K. E. a. Emmel A. F. *Anat. Rec.*, 92, 33, 1945
- Mattill H. A. *Nutrition Rev.*, 10, 225, 1952.
- Mattill H. A. a. Conklin A. D. *J. Biol. Chem.*, 44 137, 1920.
- Melville R. S. a. Hummel J. P. *J. Biol. Chem.*, 172 421, 1948; 191, 383, 1951.
- Meunier P. et Chénavier P. *Comp. rend. Soc. Biol.* 143, 1046, 1949.
- Meunier P., Vinet A. et Jouanneteau J. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 29, 507, 1947.
- Meyers D. K. a. Mulder H. E. W. *Nature*, 172, 773, 1953
- Miller R. F., Small G. a. Norris L. C. *J. Nutrition*, 55, 81, 1955.
- Moore T., Sharman J. M. a. Symonds K. R. *J. Nutrition*, 65, N 2, 183, 1958.
- Moore T., Sharman J. M. a. Ward R. J. *Biochem. J.* 53, XXXI; 54, XVI, 1953; 58, N 1, VII, 1954.
- Morgulis S. a. oth. *J. Biol. Chem.*, 124, 755, 1938.
- Morgulis S. a. Spenser H. J. *Nutrition*, 12, 173, 1936.
- Mulder A. G., Gatz A. J. a. Tigerman B. *Am. J. Physiol.*, 179, 246, 1954.
- Nason A. a. Lehmann J. R. *Feder. Proc.*, 14, 259, 1955
- Science*, 122, 19, 1955; *J. Biol. Chem.*, 222, N 1, 511, 1956.
- Obel A. L. *Acta path et microb. Scand.*, Suppl. 94, 1, 1953
- Olcott H. S. *J. Nutrition*, 15, 221, 1938.
- Pappenheimer A. M. a. Goettsch M. J. *Exp. Med.* 53, 11, 1931.
- Quaife M. L., Mei Ju Dju. *J. Biol. Chem.*, 138 328, 1943.
- Richert D. A. a. Westerfeld W. W. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 84, 468, 1953.
- Robeson C. D. *J. Amer. Chem. Soc.*, 65, 1660, 1943.
- Robinson K. L. a. Coey W. E. *Nature*, 168, 997, 1951.
- Rose C. S. a. György P. *Feder. Proc.*, 8, 1, 1949; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 74, 411, 1950; *Am. J. Physiol.*, 168, 414, 1952.

- Rosenkrantz H. J. Biol. Chem., 214, 789, 1955.
- Rousseau J. E., Dicks M. W., Teichman R.,
 Helmboldt C. F., Bacon E. L., Prouty R. M., Dolge
 K. L., Eaton H. D., Jungherr E. L., Beall G. J. Anim.
 Sci., 16, 612, 1957.
- Rumery R. E., Mauer S. I. a. Mason K. E. J.
 Exptl. Zool., 129, 495, 1955.
- Scott M. L. Poultry Sci., 32, N 4, 670, 1953.
- Scott H. M., Hill F. W., Norris L. C., Dobson
 D. C., Nelson T. S. J. Nutrition, 56, 387, 1955.
- Scott H. M., Notzold R. A., Moeller M. W.,
 Fisher H. Poultry Sci., 36, N 5, 949, 1957.
- Schofield F. W. Canad. J. Comp. Med., 17, 422, 1953.
- Schopfer W. H. Plants a. Vitamins, 1943.
- Sharman J. M. a. Moore T. Biochemical J., 69, N 4, 61p,
 1958.
- Simon E. J., Eisengart A. a. Milhorat A. T.,
 Feder. Proc., 13, 406, 1954; 14, 281, 1955.
- Slinger S. J., Pepper W. F. a. Motzok Y. J. Nut-
 rition, 52, 395, 1954.
- Smith L. Y. a. Boyack G. A. J. Amer. Chem. Soc., 70,
 2690, 1948.
- Smith L. Y., Unguade H. E. a. Prichard W. W.
 Science, 88, 37, 1938.
- Stern M. H., Robeson C. D., Weisler L. a. Bax-
 ter J. G. J. Amer. Chem. Soc., 69, 869, 1947.
- Sure B. Science, 59, 19, 1924; J. Biol. Chem., 58, 661, 663, 681,
 693, 1924; 62, 371, 1924; 63, 211, 1925; 69, 29, 41, 53, 1926; 74, 37, 45,
 55, 71, 1927.
- Swick R. W. a. Baumann C. A. Arch. Biochem. Bio-
 phys., 36, 120, 1952.
- Tallan H. H. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 89, 553, 1955.
- Tappel A. L. Food. Res., 17, N 6, 550, 1952; 18, N 6, 560,
 1953. Arch. Biochem. Biophys., 47, 223, 1953; 50, 473, 1954; 54, 266,
 1955.
- Taylor D. W. J. Physiol., 131, 200, 1956.
- Tobin C. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 73, 475, 1950.
- Scott M. L., Poultry Sci., 32, N 4, 670, 1953.
- Wanntorp H. a. Obel A. Acta Chem. Scandin., 11, N 8,
 1418, 1957.
- Ward R. J. Biochemical J., 69, N 4, 61P, 1958.
- Week E. T., Bevigue F. J. a. Ellis M. E. J. Nut-
 rition, 46, 353, 1952.
- Weinstock J. M., Goldrich A. D. a. Milhorat
 A. T. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 88, 257, 1955.
- Weinstock J. M., Shoichet I., Goldrich A. D.
 a. Milhorat A. T. Feder. Proc., 13, 482, 1954; Arch. Biochem.
 Biophys., 57, 496, 1955.
- Wilson W. G. a. Parry E. W. Lancet, 266, 486,
 1954.
- Wright M. D. a. Drummond J. C. Biochemical J., 34,
 32, 1940.
- Young J. M. a. Dinning J. S. J. Biol. Chem., 193, 743,
 1951.

Young J. M., Dinning J. S. a. Day P. L. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 89, 216, 1955.

К л а с с е 17

Андреев Г. В. Доклады АН СССР, 61, 1117, 1948.
Бочвар Д. А., Виноградова Е. И., Швецов Ю. Б. и Шемякин М. М. Журнал общей химии, 15, 844, 1945; 16, 2033, 1946; 18, 87, 1948; 20, 2118, 1950.
Бочвар Д. А., Щукина Л. А., Чернышев А. С., Семенова Н. Г. и Шемякин М. М. Журнал общей химии, 13, 322, 327, 467, 1943.

Кудряшев Б. А. Доклады АН СССР, 60, 1469, 1948.
Кудряшев Б. А., Муравьева Л. И. и Улитина П. Д. Доклады АН СССР, 78, 673, 1951; 88, 711, 1953.

Кудряшев Б. А., Улитина П. Д. и Пугачева А. А. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 11, № 2, 99, 1941.

Машковский М. Д. Медицинская промышленность СССР, № 1, 43, 1952.

Пасторова В. Е. Доклады АН СССР, 113, № 6, 1379, 1957.

Пасторова В. Е. и Кудряшев Б. А. Доклады АН СССР, 107, № 2, 340, 1956.

Пакендорф К. Г., Кудряшев Б. А. и Лазарева Е. П. Доклады АН СССР, 31, 484, 1941.

Палладин А. В. Доклады АН СССР, 41, 258, 1943.

Старков Ю. М. Доклады АН СССР, 104, 287, 1955.

Улитина П. Д. и Кудряшев Б. А. Доклады АН СССР, 63, 465, 1948.

Уфимцев В. Н. Доклады АН СССР, 44, 353, 1944.

Шемякин М. М., Щукина Л. А. и Швецов Ю. Б. Журнал общей химии, 13, 398, 1943; Доклады АН СССР, 40, 83, 1943; 45, 167, 1944.

Шмидт А. Pflug. Arch., 6, 445, 1872.

Щукина Л. А., Кондратьева А. П. и Шемякин М. М. Журнал общей химии, 18, 1925, 1945, 2121, 1948; 19, 183, 193, 1949.

Щукина Л. А., Швецов Ю. Б. и Шемякин М. М. Журнал общей химии, 13, 327, 1943.

Almquist H. J. Arch. Biochem. Biophys., 35, 463, 1952.

Almquist H. J. a. Klose A. A. J. Biol. Chem., 130, 787, 1939.

Anderson R. J. a. Newmann M. S. J. Biol. Chem., 101, 773; 103, 197, 405, 1933.

Anderson G. C. a. oth. Poultry Sci., 33, 120, 1954.

Ansbacher S. a. Fernholz E. Science, 90, 212, 1939; J. Amer. Chem. Soc., 61, 1924, 1939; J. Biol. Chem., 131, 399, 1939.

Arnon D. I., Whatley F. B. a. Allen M. B. Biochim. Biophys. Acta, 16, 604, 1955.

Armstrong W. D., Spink W. W. a. Kahnke J. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 52, 307, 1943.

- Atanackovic D. Makedonski medicinski pregled, Skopje, Yugoslavia, 1954.
- Baumgärtel T. u. Zahn D. Klin. Wochenschr., 31, 92, 1953.
- Binkley S. B., Cheney L. C., Holcomb W. F., McKee R. W., Trayer S. A., McCorquidale D. W. a. Doisy E. A. J. Amer. Chem. Soc., 61, 1928, 2558, 1939; J. Biol. Chem., 130, 433, 131, 357, 1939.
- Binkley S. B., McKee R. W., Thayer S. A. a. Doisy E. A. J. Biol. Chem., 133, 721, 1940.
- Brodie A. F., Weber M. M., Gray C. T. Biochim. Biophys. Acta, 25, N 2, 448, 1957.
- Brodie A. F., Gray C. T. J. Biol. Chem., 219, 853, 1956; Science, 125, 534, 1957.
- Brodie B. B., Weiner M., Burns J. J., Simson G. a. Yale E. R. J. Pharm. a. Exp. Therap., 106, 453, 1952.
- Burns J. J., Wexler S. a. Brodie B. B. J. Amer. Chem. Soc., 75, 2345, 1953.
- Carmack M., Moore M. B., Balis M. E. J. Amer. Chem. Soc., 72, 844, 1950.
- Colpa-Boonstra J. D., Slater E. C. Biochim. Biophys. Acta, 23, N 1, 222, 1957.
- Colwell C. A. a. McCall M. Science, 101, 592, 1945; J. Bacteriology, 51, 659, 1, 46.
- Cormier M. J. a. Totter J. R. J. Amer. Chem. Soc., 76, 4744, 1954.
- Dallam R. D. a. Anderson W. W. Biochim Biophys. Acta, 25, N 2, 439, 1957.
- Dam H. Biochem. Z., 215, 475, 1929; 220, 158, 1930; Nature, 133, 909, 1934; 135, 652, 1935; Biochem. J., 28, 1355, 1934; 29, 1273, 1935.
- Dam H., Glavind J. u. Nielsen N. Z. physiol. Chem., 265, 80, 1940.
- Dam H., Kruse J. a. Sondergaard E. Acta Physiol. Scand., 22, 238, 1951.
- Dam H., Prange I. a. Sondergaard E. Acta pharmac. et toxicol., 10, 58, 1954; 11, 90, 1955.
- Dam H., Schönheyder F. a. Lewis L. Biochem. J. 31, 22, 1937.
- Dam H. a. Sondergaard E. Acta pharmacol. et toxicol., 9, 131, 1953.
- Doisy E. A. Abs. Dw. of Biol. Chem.; J. Amer. Chem. Soc., 116th Meet., Sept. 65 c, 1949.
- Dolin M. J. Biochem. Biophys. Acta, 15, 153, 1954.
- Eving D. T., Tomkins F. S. a. Kamm O. J. Biol. Chem., 147, 233, 1943.
- Fieser L. F. J. Amer. Chem. Soc., 61, 2559, 3467, 1939; 62, 2861, 1940.
- Fieser L. F., Bowen D. M., Campbell W. P., Fry E. M. a. Gatlis M. D. J. Amer. Chem. Soc., 61, 1925, 1926, 1939.
- Fieser L. F., Fishler M. a. Sampson W. L. J. Biol. Chem., 137, 659, 1941.

- Forgacs J., Kovacs E. u. Pasztor J. Z. ges. innere Med., 9, 505, 1954.
- Frost D. V., Perdue H. S., Spruth H. C. J. Nutrition, 59, 181, 1956.
- Fucik K., Prochazka Z., Labler L. a. Strof J. Nature, 166, 830, 1950.
- Gamble J. R., Dennis E. W., Coon W. W., Hodgson P., Willis P. W., McCris A. J. a. Duff I. E. Acta Intern. Med., 95, 52, 1955.
- Gordin R. a. Lamberg B. A. Acta endocrinol, 15, 82, 1954; 19, 77, 1955.
- Green J. P. Nature, 174, 369, 1954.
- Green J. P., Sondergaard E., Dam H. Biochem. Biophys. Acta, 19, 182, 1956.
- Griminger P. Poultry Sci., 36, N 6, 1227, 1957.
- Griminger P., Fisher H., Morrison W. D., Snyder J. M. a. Scott H. M. Science, 118, 370, 1953.
- Harms R. H. a. Tugwell R. L. Poultry Sci., 35, N 4, 937, 1956.
- Hinz C. F. a. Harris J. O. Arch. Biochem. Biophys., 48, 261, 1954.
- Harms R. H. a. Tarver F. R. Poultry Sci., 36, N 1, 76, 1957.
- Hirschmann R., Miller R. a. Wendler N. L. J. Amer. Chem. Soc., 76, 4592, 1954.
- Hoffmann-Ostenhof O., Biach E. Experientia, 2, 405, 1946; Monatsh. f. Chem., 76, 319, 1947; 77, 180, 1947.
- Hover J. R. E. a. Day A. R. J. Amer. Chem. Soc., 76, 4148, 1954.
- Isler O. u. Doebel K. Helv. Chim. Acta, 37, 225, 1954.
- Karrer P., Geiger A., Ruegger A. u. Salomon H. Helv. Chim. Acta, 22, 945, 1464, 1513, 1939.
- Karrer P., Simon H. a. Binkley S. B. Helv. Chim. Acta, 27, 317, 1944.
- Kelley G. G. a. Dittmer K. J. Agr. Food. Chem., 2, 741, 1954.
- Kitamikado M. Bull. Japan Soc. scient. Fish., 23, N 2, 120, 1957.
- Kornberg A., Daft F. S. a. Sebrell W. H. J. Biol. Chem., 155, 193, 1944.
- Kubovic M., Prazic M. Lijecnicki Vjesnik Zagreb, Jugoslavia, 76, 1, 1954.
- Kubovic M., Prazic M., Atanackovic D. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 90, 660, 1955.
- Mann F. D., Mann J. D. a. Bollman J. L. Am. J. Physiol., 158, 311, 1949; J. Lab. a. Clin. Med., 36, 234, 1950.
- Martins C. a. Nitz-Litzow D. Biochim. Biophys. Acta, 12, 134, 1953; 13, 152, 288, 1954; Biochim. Z., 327, 1, 1955.
- McKee R. W., Binkley S. B., Thayer S. A., McCorkindale D. W. a. Doisy E. A. J. Amer. Chem. Soc., 61, 1295, 1939; J. Biol. Chem., 130, 219; 131, 327, 1939.
- Miura Y., Taguchi K. Japan J. Dermatol. a. Venerol., 65, N 6, 334, 1955.

- Moore M. B., Washburn W. H. J. Amer. Chem. Soc., 77, 6384, 1955.
- Morrison W. D., Snyder J. M., Grimenger P., Fisher H. a. Scott H. M. Poultry Sci., 33, 1073, 1954.
- Otto G. F., Jeske H. A., Frost D. V. a. Perdue H. S. Poultry Sci., 37, N 1, 201, 1958.
- Overman R. S., Stahmann M. A., Sullivan W. R., Huebner C. F., Campbell H. A. a. Link K. J. Biol. Chem., 138, 1, 21, 513, 1941; 142, 941, 1942; J. Nutrition, 23, 589, 1942.
- Perdue H. S., Sprith H. C., Frost D. V. Poultry Sci., 36, N 3, 633, 1957.
- Quick A. J. a. Hussey C. V. Feder. Proc., 11, 272, 1952.
- Quick A. J., Hussey C. V. a. Collentine G. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 79, 131, 1952; J. Lab. a. Clin. Med., 44, 909, 1954.
- Richert D. A. J. Biol. Chem., 154, 1, 1944; 189, 763, 1951.
- Sah P. P. T. Z. Vitamin-Hormon- u. Fermentforsch., 3, 40, 1949—1950.
- Sawford H. N., Kostalik M. a. Blackmore B. Amer. J. Disease Children, 48, 686, 1949.
- Seidman M., Robertson D. N. a. Link K. P. J. Amer. Chem. Soc., 72, 5193, 1950.
- Shelton D. C., Anderson G. C., Clark T. B., Weakley C. E. Poultry Sci., 35, 1171, 1956.
- Smith C. C. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 73, 562, 1950.
- Solvonuk P. F., Jacques L. B., Leddy J. E., Trevooy L. W. a. Spinks J. W. T. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 79, 597, 1952.
- Stürup H. Acta Medica Scandinavica, 150, N 6, 437, 1955.
- Sweet G. B., Romoser G. L. a. Combs G. F. Poultry Sci., 33, 430, 1954.
- Tugwell R. L., Stephens J. F., Harms R. H. Poultry Sci., 36, 1245, 1957.
- Weber M. M., Brodie A. F. Biochim. Biophys. Acta, 25, 447, 1957.
- Weiner M., Shapiro S., Axelrod J., Cooper J. R. a. Brodie B. B. J. Pharm. a. Exp. Therap., 99, 409, 1950.
- Wessels J. S. C. Rec. trav. Chim. Pays.— Bas., 73, 529, 1954.
- Wilkowske H. H., Krienke W. A., Arrington L. R. a. Fouts E. L. J. Dairy Sci., 38, 1077, 1955.
- Wosilait W. D. a. Nason A. J. Biol. Chem., 208, 785, 1954; 206, 255, 271, 1954.
- Wright H. P. a. Hayden M. J. Clin. Pathol., 8, 65, 1955.
- Jacowitz H., Ross E., Sanger V. L., Moore E. N. a. Carter R. D. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 89, 1, 1955.

К главе 18 и заключению

- Burr G. O. a. Burr M. M. J. Biol. Chem., 82, 345, 1929.
- Cunha T. J., Edwards U. M., Meadows G. B., Benson R. H., Sewell R. F., Pearson A. M. a. Glasscock R. T. Arch. Biochem., 28, 1409, 1950.

- Fewson D., Fischer A. Kraftfutter, 41, N 2, 29, 1958.
- Fraenkel G. Nature, 161, 981, 1948; Feder. Proc., 10, 183, 1951; 11, 443, 1952; Biol. Bull., 104, 359, 1953; Arch. Biochem. Biophys., 34, 457, 468, 1951; 38, 495, 1952; 50, 486, 1954.
- Fraenkel G., Friedman S., Hinton T., Laszlo S., Noland J., L. Arch. Biochem. Biophys., 54, 432, 1955.
- Fraenkel G. B. a. Peh - J. Chang. Physiol. Zool., 27, N 1, 40, 1954.
- Frolich A. Nature, 174, 462, 1954.
- Ginoulhiac E., Ferrari V. Acta vitaminol, 11, N 6, 261, 1957.
- Hurlbert R. B. a. Potter V. R. J. Biol. Chem., 195, 257, 1952.
- Huelbert R. B. a. Reichard P. Acta Chem. scand., 9, 251, 1955.
- Lecoq R. Thérapie, 8, 698, 1953.
- Lieberman J., Kornberg A. a. Simas E. S. Feder. Proc., 13, 252, 1954.
- Manna L. a. Hauge S. M. J. Biol. Chem., 202, 91, 1953.
- Marchetti M., Viviani R., Rabbi A. Nature, 178, 805, 1956.
- Novak A. F. a. Hauge S. M. Poultry Sci., 26, 604, 1947; J. Biol. Chem., 174, 235, 1948.
- Pettit J. H. S. Brit. Med. J., 1954.
- Thomasson H. J. Z. Vitaminforschung, 25, 62, 1953; Nature, 173, 452, 1954.
- Viviani R., Marchetti M., Rabbi A. a. Moruzzi G. Nature, 176, 464, 1955.
- Weed L. L. a. Wilson D. W. J. Biol. Chem., 189, 435, 1951.
- Wright L. D., Huff J. W., Skeggs H. R., Valentic K. A. a. Bosshardt D. K. J. Amer. Chem. Soc., 72, 2312, 1950.
- Wright L. D., Miller C. S., Skeggs H. R., Huff J. W., Weed L. L. a. Wilson D. W. J. Amer. Chem. Soc., 73, 1898, 1951.

О Г Л А В Л Е Н И Е

Введение	3
<i>Глава 1. Витамин А</i>	<i>7</i>
Физико-химические свойства каротинов	10
Биологическая активность каротинов и других природных каротиноидов	14
Биосинтез каротинов	17
Получение каротина	20
Физико-химические свойства витаминов A_1 и A_2	21
Биологическая активность витамина A_1 и его производных	23
Гипервитаминоз А	25
Содержание витамина А в жирах рыб и морских животных и получение концентратов витамина А из них	26
Синтез витамина А	29
Превращение каротина в витамин А	32
Клинические проявления недостаточности витамина А.	36
Биологическое значение витамина А	42
Обмен каротина и витамина А и их усвояемость	55
Опыты по применению каротина и витамина А в животноводстве	63
Потребность в витамине А	65
<i>Глава 2. Витамин В₁ (тиамин)</i>	<i>71</i>
Физико-химические свойства тиамина	73
Синтез тиамина	75
Биосинтез тиамина	76
Биокаталитическая функция тиамина	82
Механизм окислительно-восстановительного действия тиамин	91
Энзиматическое расщепление тиамина	94
Биологические антагонисты тиамин	97
Физиологическое действие тиамин	102
Клинические явления при недостатке тиамин у животных	106
Обмен тиамин и его усвояемость	110
Содержание тиамин в молоке	114
Усвояемость тиамин дрожжей	116
Потребность в тиамин	116

Глава 3. Витамин В₂ (рибофлавин)	119
Физико-химические свойства рибофлавина	120
Синтез рибофлавина	123
Биосинтез рибофлавина и получение его из естественных источников	123
Биокаталитические свойства рибофлавина	131
Состояние рибофлавина в тканях	144
Биологически активные производные рибофлавина	146
Проявление недостатка рибофлавина	156
Физиологическое действие и обмен рибофлавина	160
Потребность в рибофлавине	169
Глава 4. Никотиновая кислота (витамин РР)	171
Физико-химические свойства и синтез никотиновой кислоты	172
Биосинтез никотиновой кислоты	173
Биокаталитические свойства никотиновой кислоты	179
Обмен никотиновой кислоты в организме	187
Биологически активные аналоги никотиновой кислоты	194
Недостаточность никотиновой кислоты	196
Физиологическое значение никотиновой кислоты	200
Потребность в никотиновой кислоте	208
Глава 5. Витамины группы В₆	210
Физико-химические свойства витаминов группы В ₆ и их химические превращения	212
Синтез пиридоксина	215
Биосинтез витаминов В ₆	216
Превращение витамина В ₆ в организме	218
Биокаталитические свойства витамина В ₆	221
Биологически активные аналоги пиридоксина	229
Недостаточность витамина В ₆	239
Физиологическое значение витамина В ₆	247
Потребность в витамине В ₆	251
Глава 6. Пантотеновая кислота (витамин G, или цыплячий антидерматитный фактор)	253
Физико-химические свойства и синтез пантотеновой кислоты	255
Биосинтез пантотеновой кислоты	257
Биокаталитические свойства пантотеновой кислоты	259
Биологически активные производные пантотеновой кислоты	276
Пантотеновая недостаточность	280
Физиологическое значение пантотеновой кислоты	287
Потребность в пантотеновой кислоте	293
Глава 7. Биотин (витамин Н)	296
Физико-химические свойства и химические превращения	298
Синтез биотина	302
Биосинтез биотина	304
	651

Биокаталитические свойства	307
Биологически активные аналоги	314
Превращения биотина в организме, явления недостаточности биотина и потребность в нем	321
Глава 8. Холин	325
Физико-химические свойства и синтез холина	326
Превращения холина в организме и его биологическое значение	327
Биосинтез холина	334
Нарушения при недостатке холина	336
Антагонисты холина	338
Потребность в холине	339
Глава 9. Инозит	342
Стереои́зомерия, физико-химические свойства и синтез инозита	343
Биосинтез инозита	345
Биологическое значение и превращение инозита в организме	346
Биологически активные изомеры и производные мезоинозита	349
Липотрофное действие инозита	350
Недостаточность инозита и потребность в нем	351
Глава 10. Парааминобензойная кислота	353
Глава 11. Фолиевая кислота (витамин В_с)	355
Физико-химические свойства и синтез фолиевой кислоты	357
Природные биологически активные формы фолиевой кислоты	360
Биосинтез фолиевой кислоты и дальнейшие превращения ее в организме	365
Биокаталитические функции фолиевой кислоты	366
Антагонисты фолиевой кислоты	376
Физиологическое значение фолиевой кислоты	381
Недостаточность фолиевой кислоты	386
Потребность в фолиевой кислоте	390
Глава 12. Витамин В₁₂ (кобаламин)	392
Химическое строение и физико-химические свойства витамина В ₁₂	395
Биологически активные производные витамина В ₁₂	397
Антагонисты витамина В ₁₂	404
Биосинтез витамина В ₁₂	404
Биокаталитические функции витамина В ₁₂	410
Физиологическое действие и пищевое значение витамина В ₁₂	414
Потребность в витамине В ₁₂	423
Глава 13. Витамин С (аскорбиновая кислота)	425
Физико-химические свойства аскорбиновой кислоты	426
Стабилизаторы витамина С и состояние его при кулинарной обработке	429

Синтез аскорбиновой кислоты	431
Биосинтез аскорбиновой кислоты	434
Природные формы аскорбиновой кислоты	438
Биокаталитические свойства аскорбиновой кислоты	439
Физиологическое значение аскорбиновой кислоты	446
Превращения аскорбиновой кислоты в животном организме	451
Состояние насыщенности аскорбиновой кислоты у человека	453
Состояние насыщенности аскорбиновой кислоты у сельскохозяйственных животных	455
Недостаточность витамина С и потребность в нем	461
Глава 14. Витамин Р	462
Химическая природа витамина Р	462
Биологическая активность препаратов витамина Р и образование их	465
Физиологическое действие витамина Р	467
Токсичность и потребность в витамине Р	469
Глава 15. Витамин D (кальциферол)	470
Производные витамина D и их биологическая активность	472
Фотохимическая активация стероидов	476
Физико-химические свойства витаминов D	480
Источники витамина D	483
Биосинтез провитаминов и витаминов D	486
Антивитамины D	487
Физиологическое действие витамина D	488
Гипервитаминоз D	496
Обмен витамина D в животном организме	498
Недостаточность витамина D у сельскохозяйственных животных и применение его в животноводстве	500
Терапевтическое применение витамина D	503
Потребность в витамине D	505
Глава 16. Витамин E (токоферол).	508
Химическое строение и физико-химические свойства витаминов E	509
Получение витамина E	513
Биосинтез витамина E	514
Биологическая активность токоферолов и их производных	515
Биокаталитические свойства витамина E	517
Физиологическое действие витамина E	518
Антагонисты витамина E	529
Обмен и терапевтическое применение витамина E	533
Состояние насыщенности витамином E сельскохозяйственных животных и применение его в животноводстве	536
Недостаточность витамина E и потребность в нем	538
Глава 17. Витамины K	541
Физико-химические свойства витаминов K	543
Синтез витамина K ₁	545
Биосинтез витаминов K	548
Физиологическое действие витамина K	549
Антагонисты витамина K	554
Биокаталитические свойства витамина K	559

Применение витамина К при кокцидиозе слепой кишки у цыплят	563
Биологическая активность, токсичность и потребность в витаминах К	564
<i>Глава 18. Малоизученные витамины</i>	569
Витамин В ₁₃ и оротовая кислота	569
Витамин В _т (карнитин)	571
Витамин F	574
<i>Заключение.</i>	575
<i>Использованная литература</i>	578

Труфанов Андрей Викторович.
**БИОХИМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ ВИТАМИНОВ
И АНТИВИТАМИНОВ**

Редактор *Е. В. Сычик.*
Художник *П. Ф. Некруда.*
Художественный редактор *Н. М. Хохрица.*
Технический редактор *З. Д. Горькова.*
Корректор *О. Н. Грубинская.*

Сдано в набор 6/VI 1959 г. Подписано к печати 16/X 1959 г. Т. 10863. Формат 84×108^{1/32} Печ. л. 41(33,62). Уч.-изд. л. 37,35. Изд. № 553. Тираж 4000 экз.
Заказ № 1038. Цена 10 р. 85 к.

Сельхозгиз, Москва, Б-66, 1-й Басманный пер. 3

Московская типография № 5
Мосгоссовнархоза.
Москва, Трехпрудный пер., 9

СЕЛЬХОЗГИЗ

*готовит к печати
в 1960 году:*

Денисов Н. И. Научные основы кормления коров. Сельхозгиз, 25 л. 5 тыс. экз. Цена 7 р. 75 к. Выход в свет—IУ квартал.

Книга является монографией по вопросам кормления сельскохозяйственных животных. В ней приведен большой фактический материал, полученный при проведении респирационных и физиологических опытов, в основном на молочном скоте. На основе анализа этих опытов и данных других исследователей автор дает рекомендации по кормлению сельскохозяйственных животных. Большое место в книге отведено вопросам нормирования кормления. На основе опытных данных автором разработаны нормы кормления коров. В книге дана подробная методика проведения зоотехнических опытов по кормлению с.-х. животных. Большой фактический материал даст возможность проверить все сделанные автором выводы.

Книга рассчитана на научных работников и зоотехников, занимающихся вопросами кормления сельскохозяйственных животных.

Попов И. С. Вопросы белкового питания сельскохозяйственных животных. Сельхозгиз, 8 л., 25 тыс. экз. Цена 2 руб. Выход в свет—IУ квартал.

Современная кормовая база в подавляющем большинстве совхозов и колхозов дефицитна по белку. Неприятное положение с обеспечением животноводства кормовым белком обязывает сделать все возможное для увеличения производства белка в хозяйствах и наилучшего использования имеющихся белковых ресурсов.

В книге освещены следующие стороны «белковой проблемы»: имеющиеся в стране ресурсы кормового белка и возможные пути их увеличения; потребность животноводства в белке; пути рационального использования белка; вопросы белковой питательности кормов и белкового обмена у сельскохозяйственных животных как основы для оценки достоинства белковых кормов и нормирования белкового питания животных; заменители белка в рационах жвачных животных.

Книга рассчитана на научных работников, зоотехников, агрономов, студентов сельскохозяйственных вузов.

ОПЕЧАТКИ И ИСПРАВЛЕНИЯ

Страница	Страна	Напечатано	Следует читать
47	8 сверху	родопсина в желтый индикатор	желтого индикатора в родопсин
97	16 снизу	ежедневно 4 мкг	ежедневно 4 мкг
101	9 снизу	еже, годно 4 мг	ежедневно 4 мкг
149	4 снизу	это соединение	соединение (X)
170	3 снизу	44 мг	44 мкг
286	3 сверху	1 кг веса	1 кг корма
295	2 снизу	38 мг на 1 кг веса тела	38 мг на одну лошадь среднего веса
304	2 снизу	колеблется от 0,1 до 1,64 мкг сухого вещества	колеблется от 0,1 до 1,64 мкг на 1 г сухого вещества
444	5 снизу	тирозина в глутатион	тирозина и глутатион