

Г. Х. Бунятян

## К вопросу об участии оксипуринов в обмене аскорбиновой кислоты (витамина С)

### Сообщение III. Действие оксипуринов на окисление аскорбиновой кислоты при наличии железа

В первом сообщении (1) нами было показано, что оксипурины— гипоксантин, ксантин и мочева кислота в присутствии меди сильно тормозят окисление аскорбиновой кислоты. Опыты, поставленные нами с тканевыми срезами (печень и почки) на рингере, фосфатном буфере (РН 7, 4), показали, что и при наличии тканевых срезов вышеупомянутые оксипурины проявляют сильное антиоксидантное действие при окислении аскорбиновой кислоты в присутствии меди, которая, как известно, сильно ускоряет окисление аскорбиновой кислоты (2). Антиоксидантное действие оксипуринов и при наличии тканевых срезов выступало намного сильнее, чем у цистина, считающегося одним из хороших стабилизаторов аскорбиновой кислоты. В окислении аскорбиновой кислоты большое значение имеет и железо, о действии которого в литературе имеются разноречивые данные. Так, по данным Mawson (3), Kellie и Zilva (4), железо наряду с медью является катализатором при окислении аскорбиновой кислоты, но Ваггон с сотр. (5) находят, что одно железо не катализирует окислительный процесс; к этому выводу пришли и Маск, и Kertesz (6). Работая с железом, мы также установили, что одно только железо редко проявляет сильное каталитическое воздействие на окисление аскорбиновой кислоты. Однако, следует отметить, что, сочетаясь с различными веществами, железо в наших опытах зачастую проявляло заметное окислительное воздействие. Оно и у других исследователей повышало каталитическое действие меди на окисление аскорбиновой кислоты (3, 6). Следует также отметить, что железо в наших опытах, при наличии тканей, лучше окисляло аскорбиновую кислоту, чем медь.

Установив, что оксипурины являются хорошими стабилизаторами аскорбиновой кислоты в присутствии меди, мы задались целью установить—как действуют оксипурины на окисление аскорбиновой кислоты при наличии железа. Это представляло интерес, потому что железо, сочетаясь с оксипуринами, могло оказать иное действие на

окислительный процесс, в особенности в присутствии тканей, где, как мы уже сказали, железо обладает каталитическим воздействием на окисление аскорбиновой кислоты.

Методика та же самая, что и в предыдущих опытах (1, 2). Железо бралось в виде  $\text{FeSO}_4$  по 0, 1 мг на 10 мл раствора. Оксипурины применялись в количестве 10 мг на 10 мл раствора.

Первые опыты были поставлены на воде. Результаты опытов изображены в таблице № 1. Как видно из таблицы, мочева кислота сама по себе заметно задерживает окисление аскорбиновой кислоты. Одно железо незначительно ускоряет окислительный процесс. Мочевая кислота в присутствии железа слабо тормозит окисление аскорбиновой кислоты.

Таблица № 1

## Опыты на воде

	Аскорбиновая кислота, мг %			
	Первоначальное количество			
	30,0		20,0	
	Ч е р е з			
	1 час	24 часа	1 час	24 часа
Без добавлений . . . . .	16,0	7,0	8,8	2,3
Ж е л е з о . . . . .	10,0	1,2	3,0	
Мочевая кислота . . . . .	29,0	10,2	17,4	9,1
Мочев. кислота + железо	16,0	2,8	5,2	

Взято: мочева кислота по 10 мг, железо по 0,1 мг на 10 мл раствора.

Следующие опыты были поставлены на фосфатном буфере при РН 7,0 и 5,9. Результаты опытов приведены в таблице № 2. Из многих поставленных нами опытов приводятся результаты только четырех.

Таблица показывает, что и в данном случае одно только железо незначительно ускоряет процесс окисления, а мочева кислота как сама по себе, так и в присутствии железа заметно задерживает окислительный процесс как при РН 5,9, так и при РН 7,0. Из таблицы видно, что при одном железе в различных опытах аскорбиновая кислота разлагается до 4,1; 11,4; 10,1 и 4,8 мг %; при одной мочева кислоте ее количество доходит до 15,3; 33,1; 30,0 и 22,4 мг %, а при сочетании железа с мочева кислотой—9,2; 22,8; 18,0 и 15,8 мг %. Ксантин сам по себе при наличии железа тоже оказывает задерживающее действие, хотя несколько слабее, чем мочева кислота.

В опытах на фосфатном буфере мы неоднократно замечали, что при одинаковых количествах аскорбиновой кислоты окисление ее при РН 5,9 шло быстрее, чем при РН 7,0. Это наблюдалось в опытах без добавлений и с одним железом.

Таблица № 2

## Опыты на фосфатном буфере

Взятые вещества	Аскорбиновая кислота, мг %			
	Первоначальное количество			
	22,0	40,0	35,0	24,0
	ч	е	р	е
	РН=7,0	РН=5,9	РН=5,9	РН=7,0
	1 час	1 час	1 час	1 час
Без добавлений	7,3	13,1	11,7	5,8
Железо . . . . .	4,1	11,4	10,1	4,8
Мочевая кислота	15,3	33,1	30,0	22,4
„ + железо . . . .	9,2	22,8	18,0	15,8
Ксантин . . . . .				17,9
„ + железо . . . .				12,3

Взято: мочевая кислота и ксантин по 10 мг, железо по 0,1 мг на 10 мг раствора.

Дальнейшие опыты велись на рингере. В эти опыты был включен и ксантин. Полученные данные приведены в таблице № 3, из которой видно, что одни оксипурины и здесь задерживают окисление аскорбиновой кислоты, но, сочетаясь с железом, они не только не тормозят окислительный процесс, но, наоборот, еще больше ускоряют его. Так, в отдельных случаях мы имеем при одном железе 6,0; 6,6 и 17,0 мг %; при одной мочевиной кислоте 13,0; 12,1 и 37,8 мг %; при сочетании мочевиной кислоты и железа 4,2; 4,0 и 9,0 мг %.

## Опыты на рингере без тканей

Таблица № 3

Взятые вещества	Аскорбиновая кислота, мг %		
	Первоначальное количество		
	22,0	19,0	40,8
	ч	е	р
	1 час	1 час	1 час
Без добавлений . . .	10,6	10,0	25,0
Железо . . . . .	6,0	6,6	17,0
Мочевая кислота	13,0	12,1	37,0
„ + железо	4,2	4,0	9,0
Ксантин . . . . .		11,1	
„ + железо		5,4	
„ + мочевиной к-та		16,0	
„ + „ + „ +		2,8	

Взято: оксипуринов по 10 мг, железо по 0,1 мг на 10 мл раствора.

В этом отношении ксантин действует несколько слабее, чем мочевая кислота. Ксантин совместно с мочевиной кислотой лучше сохра-

няет аскорбиновую кислоту, но при добавлении железа эта комбинация еще больше ускоряет ее окисление, чем отдельные оксипурины с железом.

Опыты, поставленные на рингере с печеночной тканью (кошка), показывают (таблица № 4), что и в этом случае мочева кислота сама по себе тормозит распад аскорбиновой кислоты. Одно железо, как обычно, понижает количество аскорбиновой кислоты. Интересно отметить, что мочева кислота и ксантин на одном рингере, сами по себе способствуя сохранению аскорбиновой кислоты, сочетаясь с железом, еще больше ускоряли ее окисление, чем одно железо. Как

#### Опыты с печеночной тканью, на рингере

Таблица № 4

Взятые вещества	Аскорбиновая кислота, мг %		
	Первоначальное количество		
	18,0	20,0	8,0
	ч	е	р
	1 час	1 час	1 час
Без добавлений . . . . .	12,0	13,1	11,2
Железо . . . . .	8,9	8,5	8,7
Мочева кислота	15,5	18,1	14,1
"    "    + железо . . . . .	12,8	12,1	10,5

Взято: ткань в первом и во втором опытах по 200, в третьем опыте по 100 мг, железо по 0,1 мг на 10 мл раствора.

видно из таблицы № 4 на рингере в присутствии печеночной ткани, мочева кислота и в присутствии железа тормозит окисление аскорбиновой кислоты. Так, при одном железе в различных опытах количество аскорбиновой кислоты через час доходит до 8,9; 8,5 и 8,7 мг %, а при сочетании мочева кислоты с железом 12,8; 12,1 и 10,5 мг %. В первых двух опытах было взято 200 мг печеночной ткани на 10 мл раствора, в третьем опыте—100 мг. Полученные данные показывают, что между полученными от первого и третьего опытов данными, где было взято одинаковое количество аскорбиновой кислоты, большой разницы нет. Только в третьем опыте, где ткани взято 100 мг, количество аскорбиновой кислоты несколько ниже.

Таким образом мы видим, что оксипурины (гл. образом мочева кислота) сами по себе и на воде, фосфатном буфере при различных РН, на рингере и при наличии тканевых срезов печени на рингере тормозят окисление аскорбиновой кислоты. При наличии железа на воде мочева кислота оказывает слабое антиоксидантное действие, на фосфатном буфере при РН 7,0 и 5,9 мочева кислота сильно тормозит окислительный процесс. На рингере наблюдается обратная картина: мочева кислота и ксантин при наличии железа еще больше ускоряют окисление аскорбиновой кислоты, чем одно железо. Этого

явления мы не наблюдали на рингере при меди. Это указывает на то, что железо и медь при окислении аскорбиновой кислоты не всегда оказывают одинаковое действие. На рингере при меди аскорбиновая кислота полностью разлагалась (2), при сочетании меди и оксипуринов она сохранялась в значительных количествах. При наличии одного железа на рингере аскорбиновая кислота после аэрации остается в большем количестве, чем при железе и оксипуринах одновременно. Наблюдаемое явление указывает также на то, что одни и те же стабилизаторы аскорбиновой кислоты, порой довольно мощные, в зависимости от условий могут превращаться в про-оксиданты, способствуя ее окислению. Поэтому к применению стабилизаторов следует подойти с осторожностью.

Интересно отметить, что оксипурины—мочевая кислота—при наличии печеночной ткани на рингере в присутствии железа не ускоряют окисление аскорбиновой кислоты, а, наоборот, тормозят его. Работая со многими стабилизаторами аскорбиновой кислоты, как и следовало ожидать, мы неоднократно замечали их противоположный эффект при наличии тканевых срезов. Это указывает на то, что полученные данные *in vitro* насчет стабилизаторов нельзя перенести *in vivo*. В литературе часто встречаются такие попытки; так, например, насчет различных аминокислот—глицин, цистин и проч. указывается о их стабилизирующей роли аскорбиновой кислоты в животных тканях. Поставленные нами опыты показали, что эти аминокислоты при наличии тканевых срезов, наоборот, ускоряют окисление аскорбиновой кислоты.

То обстоятельство, что оксипурины при наличии тканевых срезов и в присутствии железа (помимо меди) тормозят окисление аскорбиновой кислоты, мы считаем очень важным, т. к. в условиях организма железо и его соединения, как показали наши многочисленные опыты, являются более мощным катализатором окисления аскорбиновой кислоты, чем медь.

Каков механизм стабилизирующего действия оксипуринов при окислении аскорбиновой кислоты в присутствии железа и меди? Поставленные в этом направлении опыты в процессе разработки. О них будет сообщено особо.

### В ы в о д ы

1. Оксипурины на воде, фосфатном буфере при различных РН, на рингере сами по себе оказывают антиоксидантное действие при окислении аскорбиновой кислоты.
2. При наличии железа на воде и на фосфатном буфере при РН 5,9 и 7,0 оксипурины также задерживают окисление аскорбиновой кислоты. Но на рингере в присутствии железа оксипурины, наоборот, еще больше ускоряют окислительный процесс, чем одно железо.
3. В присутствии тканевых срезов оксипурины как сами по се-

бе, так и при наличии железа оказывают антиоксидантное действие при окислении аскорбиновой кислоты и тем самым играют роль в тканевой стабилизации витамина С.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Գ. Խ. Բунятыան և Բ. Գ. Մխիտարյան, Известия АрмФАН, № 4—5, 251 (1940)
2. Գ. Խ. Բунятыան, Биохимия 6, 155 (1941).
3. С. А. Mawson, Biochem J., 29, 569 (1935).
4. А. Е. Kellie և S. S. Zilva, Biochem J., 29, 1028 (1935).
5. E. S. G. Barron, R. H. Demeio և F. Klemperer, J. biol. chem., 112, 625 (1936).
6. Mack և Kertesz, Food Research 1. № 4 (1936).

Армянский филиал Академии наук СССР. Химический институт

#### Հ. Խ. Բունիատյան

### ԱՍԿՈՐԲԻՆԱԹՔՎԻ (C-ՎԻՏԱՄԻՆԻ) ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՄԵՋ ՕՔՍԻՊՈՒՐԻՆՆԵՐԻ ՄԱՍՆԱԿՑՈՒԹՅԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՁԸ

#### Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Մեր կատարած մի շարք փորձերը ցույց են տալիս, որ օքսիպուրիններն առանձին վերցրած, ջրային միջավայրում, ֆոսֆատային բուֆերում (PH-ի տարրեր սահմաններում) և ընդհանրապես հանդես են գալիս որպես հակաօքսիդանտներ՝ ասկորբինաթթվի օքսիդացման պրոցեսում: Այդ նույն հեռանկարն ստացվում է նաև երկաթի ներկայությամբ՝ վերոնիշյալ պայմաններում, բացի ընդհանրից, որտեղ երկաթի առկայությամբ օքսիպուրիններն ավելի են աբաղաղանում ասկորբինաթթվի օքսիդացումը, քան երկաթն առանձին: Հյուսվածքային կտրվածքների ներկայությամբ օքսիպուրինները, թե առանձին վերցրած և թե երկաթի ներկայությամբ, ձնշում են ասկորբինաթթվի օքսիդացման պրոցեսը և նշանակալիցաբար են ստանում հյուսվածքում ասկորբինաթթվի պահպանման մեջ:

H. Buniatian

#### *On the participation of oxypurines in the metabolism of ascorbic acid (vitamin C)*

#### Summary

1. In water, in phosphate buffer with different PH, in the Ringer's solution oxypurines by themselves exert an antioxidant effect during the oxidation of ascorbic acid.

2. In the presence of iron in water and phosphate buffer with PH 5,9 և 7,0 the oxypurines also inhibit the oxidation of ascorbic acid. While in the Ringer's solution in the presence of iron they accelerate the oxidating process more then iron alone.

3. In the presence of tissue slices oxypurines both alone and in the presence of iron exert an antioxidant effect during the oxidation of ascorbic acid, and thereby take part in tissue stabilization of vitamin C.