условиях холестериновой нагрузки и при лучевом поражении установлена другими исследователями [1, 4]. Как показали результаты наших исследований, элеутерококк у интактных животных также оказывает гипохолестеринемический эффект (табл.). В тех же условиях эксперимента наблюдается фазовое изменение уровня холестерина в эритроцитарных мембранах: через 2,5 ч после инъекции находится на уровне контроля, через 24 ч—повышается на 30%, а через 48 ч—понижается на 8% (табл.).

Полученные результаты позволяют заключить, что адаптогенное действие элеутерококка при стрессе частично определяется его способностью стабилизировать мембраны путем коррекции объема холестерина.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Голиков А. П., Решетнев В. Г., Голиков П. П.* Элеутерококк и другие адаптогены из дальневосточных растений. Вып. 7, 67, Владивосток, 1966.
2. *Лопухин Ю. М., Арчаков А. И., Владимиров Ю. А., Коган Э. М.* Холестериноз. 16. М., 1983.
3. *Микаелян Э. М., Мхитарян В. Г.* Биолог. ж. Армении, *38*, 5, 393, 1985.
4. *Мохир Ю. М., Семавин А. П.* Структура, биосинтез и превращение липидов в орг. животных и человека. III Всесоюзн. симпозиум, 60, Л., 1978.
5. *Сентебова Н. А.* Лаб. дело, 6, 375, 1977.
6. *Торховская Т. И., Халимов Э. М.* и др. Вопросы мед. химии, *31*, 4, 83, 1985.
7. *Limber G. K.* Roy Dawis. Seymour Bakerman Blood, 36, 111, '36, 1970.
8. *Lowry O. H., Rosebrough N. S., Faur A. L. et al.* J. Biol Chem., *193*, 265, 1951.

Поступило 13.11 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 579—583, 1987 УДК 577.15.576.8.095

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ D- И L-СТЕРЕОИЗОМЕРОВ ВАЛИНА И ЛЕЙЦИНА ПРИ ИХ УСВОЕНИИ ДРОЖЖАМИ *CANDIDA GUILLIERMONDII* ВКМ У—42

Е. Г. БАГДАСАРЯН, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Аннотация — Исследованы взаимоотношения D- и L-стереоизомеров валина и лейцина при их усвоении неголодающими и голодающими по азоту культурами *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. Установлено, что D-стереоизомеры этих аминокислот подавляют усвоение L-изомеров. L-, DL- и D-стереоизомеры проникают и накапливаются в дрожжевой клетке почти с одинаковой скоростью. Делается вывод, что процесс проникновения изомеров аминокислот не является лимитирующим фактором их усвоения исследуемыми дрожжевыми организмами.

Անոտացիա — *Ուսումնասիրվել է վալինի և լեյցինի D- և L- ստերեոիզոմերների փոխհարաբերությունը ազոտային քաղցի ենթարկված և ոչ քաղցած (Candida guilliermondii* ВКМ У-42) *բջիջների կողմից յուրացման ժամանակ։ Պարզվել է, որ այդ ամինաթթուների D-ստերեոիզոմերները ընկճող ազդեցություն են*

Քողնում L-իզոմերների յուրացման վրա L-, DL- և D-ստերեոիզոմերները խմորասնկային բջիջների մեջ ներթափանցում և կուտակվում են գրեթե միևնույն արագությամբ։ Հետևարար, ամինաթթուների իզոմերների ներթափանցման պրոցեսը նրանց յուրացման համար սահմանափակող գործոն չի հանդիսանում։

Abstract — The interrelation between D— and L—stereoisomers of valine and leucine at their assimilation by nitrogen starvation and non—starvation yeasts *Candida guilliermondii* BKM Y—42 has been studied. D—stereoisomers of these amino acids suppress the assimilation of L.—isomers L—, DL.—and D—stereoisomers of amino acids penetrate and accumulate in yeast cells at almost equal rate. Consequently the process of penetration of isomers of amino acids is not a limiting factor for its assimilation by investigated yeast organisms.

Ключевые слова: дрожжи Candida guilliermondii, L-, DL- и D-стереоизомеры аминокислот.

Вопрос о взаимоотношениях изомеров аминокислот при их усвоении микроорганизмами освещен в литературе недостаточно. Показано, что при усвоении оптических антиподов аминокислот в некоторых случаях проявляются конкурентные взаимоотношения. Так, согласно Фоксу и сотр. [5], у *Lactobacillus arabinosus* D-лейцин конкурентно подавляет усвоение L-лейцина. Авторы, к сожалению, не затрагивают вопроса о механизме этого явления. Имеются данные о том, что оксидазы D-аминокислот окисляют DL-изомер фенилаланина медленнее, чем D-форму. Однако влияние L-фенилаланина объясняют действием бензоата [7].

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения L- и D-стереоизомеров валина и лейцина дрожжами *Candida guilliermondii* ВКМ У-42 и выяснения взаимоотношений этих изомеров в процессе усвоения.

Материал и методика. Объектом исследования служили культуры *Candida guilliermondii* ВКМ У-42, полученные из отдела типовых культур Института микробиологии АН СССР. Двухсуточную культуру с сусло-агара переносили в жидкую синтетическую среду (глюкоза—10 г, $(NH_4)_2$—3,1 г, KH_2PO_4—1,23 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$—0,625 г, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$—0,125 г, NaCl—0,125 г и биотин—80 мкг на литр водопроводной воды). В качестве источника азота взамен сульфата аммония использовали L-, DL- и D-изомеры аминокислот (по азоту сульфата аммония). Дрожжи выращивали в литровой колбе Эрленмеера (по 100 мл питательной среды в каждой), в условиях аэрирования в течение 18—24 ч на круговой качалке при 30±1°. Для получения голодающей по азоту культуры дрожжи подвергают 48-часовому аэрированию в 2%-ном растворе глюкозы и последующему 16-часовому аэрированию в воде. Этим способом, согласно данным нашей лаборатории, достигается резкое истощение фонда свободных аминокислот и других азотсодержащих спирторастворимых соединений, а также падение (около 20%) содержания азота клетки [3]. В качестве субстратов применяли L-, DL- и D-изомеры валина и лейцина. Глюкозу определяли микрометодом феррицианида по Хагедорну-Иенсену [1], количество биомассы—взвешиванием ее до получения постоянного сухого веса или нефелометрированием дрожжевой суспензии на ФЭК М-57.

В опытах по изучению проникновения и накопления изомеров аминокислот использовали голодающую по азоту биомассу в фосфатном буфере М/15 (pH 5,3—5,5). В 1 мл такой суспензии содержание изомера аминокислот составляло 0,44 мМ, а сухой биомассы—9,6—17 мг. Инкубировали в конических колбах в термостате при 30° в условиях интенсивного аэрирования на круговой качалке (200 об/мин). Пробы для определения степени проникновения и накопления брали с интервалом 5, 30 и 60 мин.

центрифугировали и тут же промывали холодным М/15 раствором хлористого натрия. Полученную биомассу экстрагировали в 80%-ном кипящем этаноле с гидромодулем $\frac{V}{P} = \frac{\text{объем этанола}}{\text{вес сухих дрожжей}} = 30$. Аминокислоты определяли методом хроматографии на бумаге [1]. Хроматограммы проявляли в 0,2%-ном растворе нингидрина в ацетоне. Количественное определение изомеров аминокислот проводили по Лисицкому и Лорану [6].

Результаты и обсуждение. Результаты изучения процесса усвоения изомеров валина показывают, что последний усваивается почти наравне с сульфатом аммония (рис. 1 а). Подобная закономерность наблюдается и в отношении усвоения сахара в среде с валином (рис. 1 б).

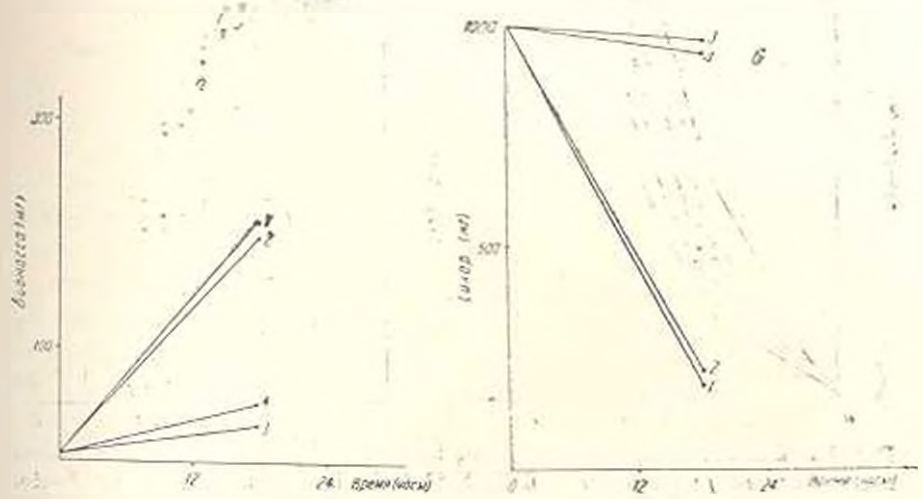

Рис. 1 а. Влияние изомеров (L-, DL- и D-) валина на образование биомассы дрожжами *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. 1. $(NH_4)_2SO_4$; 2. L-Вал; 3. D-Вал; 4. DL-Вал. б. Влияние изомеров (L-, DL- и D-) валина на расщепление сахара дрожжами *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. 1. $(NH_4)_2SO_4$; 2. L-Вал; 3. D-Вал; 4. DL-Вал.

Так, к 20-ти часам инкубации расход сахара в среде с сульфатом аммония составлял 80%, с L-валином—78% от внесенного сахара, в то время как в вариантах с DL- и D-антиподами валина расходовалось 120 и 90 мг сахара соответственно или же он практически не расщеплялся. Такие же результаты получены в опытах со стереоизомерами лейцина. Таким образом, можно заключить, что природный изомер (L-формы) дрожжами усваивается достаточно хорошо, тогда как DL- и D-формы практически не усваиваются, хотя следовало бы ожидать интенсивное усвоение 50% рацемата аминокислот [2].

В специальной серии экспериментов исследовалось влияние валина и лейцина на усвоение L-стереоизомера. В этих опытах мы варьировали содержание D-изомера на фоне постоянной концентрации L-валина (рис. 2 а). Полученные данные показывают, что постепенное увеличение количества D-изомера в синтетической среде, содержащей L-валин в качестве единственного источника азота, приводит к подавлению биосинтеза биомассы. Если в варианте с L-изомером валина (550 мг) к 14-ти часам инкубации накапливается 118,8 мг биомассы, то при добавлении к этой же среде всего 55 мг D-изомера валина накапливается

92,4 мг биомассы, т. е. биосинтез биомассы подавляется на 22,3%, а при добавлении 550 мг D-изомера валина он подавляется в два раза. При этом резко снижается расход сахара в среде (рис. 2б). Такая же картина была выявлена к 24-му часу инкубации: в варианте с L-валином полностью расходуется сахар среды, а с L-валином и 550 мг D-валина прирост биомассы и расход сахара подавляется более чем на 50%.

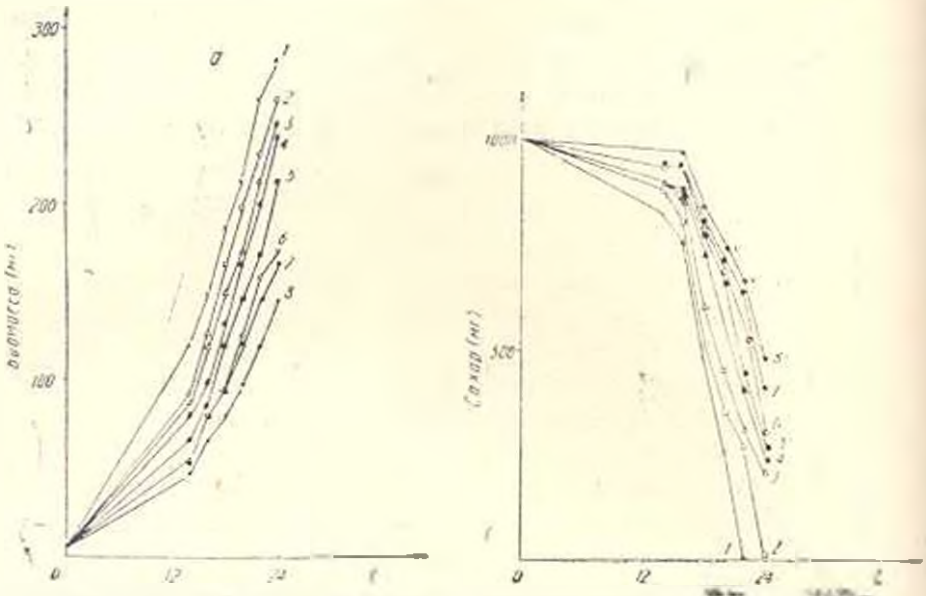

Рис. 2 а. Влияние D-валина на усвоение L-валина и накопление биомассы у дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. 1. L—Вал; 2. L—Вал+55 мг D—Вал; 3. L—Вал+110 мг D—Вал; 4. L—Вал+220 мг D—Вал; 5. L—Вал+330 мг D—Вал; 6. L—Вал+440 мг D—Вал; 7. L—Вал+495 мг D—Вал; 8. L—Вал+550 мг D—Вал.
б. Влияние D-валина на усвоение L-валина и расщепление сахара у дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. 1. L—Вал; 2. L—Вал+55 мг D—Вал; 3. L—Вал+110 мг D—Вал; 4. L—Вал+220 мг D—Вал; 5. L—Вал+330 мг D—Вал; 6. L—Вал+440 мг D—Вал; 7. L—Вал+495 мг D—Вал; 8. L—Вал+550 мг D—Вал.

В серии опытов с голодающей по азоту культурой этих же дрожжей наблюдалась такая же закономерность, с той лишь разницей, что скорость накопления биомассы и расход сахара среды несколько замедлены, вероятно, вследствие продления лаг-фазы роста.

Эксперименты позволяют заключить, что D-изомер подавляет усвоение L-изомера валина. Что же касается механизма этого явления, то можно предполагать, что происходит конкуренция между стереоизомерами за общий переносчик или за метаболические ферменты. Это предположение подтвердилось результатами экспериментов, посвященных изучению проникновения стереоизомеров валина (табл.) и лейцина в аминокислотный пул голодающих по азоту дрожжей.

Полученные данные показывают, что при инкубации хорошо проникают и накапливаются в дрожжевой клетке как рацемат, так и отдельные стереоизомеры валина и лейцина. Можно лишь отметить, что в начальные сроки инкубации (5 мин) интенсивность процессов проникновения и накопления D-валина несколько уступает таковой L-валина. Однако эти различия в дальнейшем сглаживаются.

Проникновение и накопление изомеров валина в дрожжевую клетку *Candida guilliermondii* ВКМ У-42, γ 1 мл спиртового экстракта

Варианты опыта	Продолжительность инкубации, мин		
	5	30	60
L-Валин	35.1±1.65	85.7±5.25	90.1±10.39
DL-Валин	53.5±5.01	105.7±4.87	111.2±8.16
D-Валин	24.9±1.29	68.2±9.46	94.9±5.55

Совершенно неожиданным оказалось, что DL-валин проникает и значительно лучше накапливается, чем L- и DL-стереоизомеры этой аминокислоты.

Таким образом, антиподы валина в процессе проникновения в клетку, вопреки ожидаемому антагонизму, проявляют синергические взаимоотношения.

Не вдаваясь в подробности этого интересного явления и основываясь на полученных нами данных, можно заключить, что причины плохого усвоения D-валина и D-лейцина, а также отрицательного влияния последнего на усвоение L-изомеров валина и лейцина у изучаемых дрожжей следует искать не на уровне проникновения, а, очевидно, во внутриклеточных этапах их обмена.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Белозерский А. Н., Проскуряков Н. И.* Практическое руководство по биохимии растений. М., 1951.
2. *Инджикян С. М.* Автореф. канд. дисс., Ереван, 1969.
3. *Тер-Карапетян М. А., Макарова Е. Н., Цатурян С. С.* Биолог. ж. Армении, 26, 12, 44, 1968.
4. *Хайс Ж. Н., Мацек К.* Хроматография на бумаге. М., 1962.
5. *Fox S. W., Fling M., Bullenback G. M.* J. Biol. chem., 155, 465, 1944.
6. *Lissitzky S., Laurent G.* Bull. Soc. biol., 37, 1177, 1955.
7. *Meister A.* Biochemistry of the Amino Acids. 1. New York, London, 1965.

Поступило 26.III 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 583—587, 1987 УДК 577.12

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ СДВИГИ В БИОГЕННЫХ АМИНАХ, ИНДУЦИРУЕМЫЕ ВВЕДЕНИЕМ ЭТАНОЛА, ЭТАНОЛАМИНА И ЕГО АЦЕТАМИДА

Т. А. ГЮЛЬБАЯЗИН, Э. А. АВАГИМЯН, В. С. АСЛАМАЗЯН, Р. Г. КАМАЛЯН

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт, проблемная лаборатория обмена вещества

Аннотация — Исследовано влияние острого алкогольного отравления и введения этаноламина и N-ацетилэтаноламина на содержание катехоламинов и серотонина в тканях и крови белых крыс. Обнаружена начальная активация нейромедиаторных моноаминовых систем при введении этанолами-