

ԲԻՈԴԻՄԻԱ

Հ. Խ. ԲՈՒՆԻԱՅԱՆ, ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՌ ԳԱ ԻՍԿԱԿԱՆ ԱՆԴԱՍ, ԵՎ Մ. Գ. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ

ԱՆԵՎՐԻՆԻ (ՎԻՏԱՄԻՆ B₁) ևՎ առկորբինաթթվի (ՎԻՏԱՄԻՆ C) փոխազդեցությունը
միմյանց բայֆայման վրա

(Ներկայացված է 5 X 1947)

Ինչպես ցույց տվին Edlbacher-ը և Segesser-ը ⁽¹⁾, Abderhalden-ը ⁽²⁾, Holtz-ը և նրա աշխատակիցները ^(3,4,5), ասկորբինաթթուն թթվածնի ներկայությամբ նպաստում է հիստիդինի քայքայմանը: Հիստիդինը, ենթարկվելով դեամինացիայի, ասկորբինաթթվի ներկայությամբ անջատում է ամիակ, հիմնականում իմիդազոլի կորիզից: Greenblatt-ի և Pecker-ի հետազոտությունները պարզեցին, որ ասկորբինաթթուն նպաստում է նաև թիոնինի իմիդազոլային կորիզի քայքայմանը ⁽⁶⁾: Հիմնվելով վերահիշյալ աշխատանքների վրա, մենք մեր առաջ խնդիր դրեցինք պարզելու, թե ինչպես է ազդում հիստիդինի քայքայումը ասկորբինաթթվի քայքայման վրա: Այդ ուղղությամբ դրված փորձերը ցույց տվին, որ հիստիդինը ուժեղ չափով նպաստում է ասկորբինաթթվի քայքայմանը ⁽⁷⁾, նրա այդ ազդեցությունը մեր փորձերում ավելի ուժեղ էր արտահայտված, քան պղինձ իոնի ազդեցությունը ասկորբինաթթվի օքսիդացման վրա:

Ստացված արդյունքները միտք հղացրին մեր մեջ՝ պարզելու անեվրինի և ասկորբինաթթվի փոխազդեցությունը միմյանց քայքայման վրա:

Այդ հետաքրքրական էր մի շարք պատճառներով: Ինչպես գիտենք, անեվրինը ունի պիրիմիդինի և թիազոլի կորիզներ, միացած մեթիլենային խմբով, իսկ թիազոլին հիշեցնում է իմիդազոլը, միայն թիազոլի մեջ ազոտի փոխարեն գտնվում է ծծումբը: Ինչպես նշեցինք, իմիդազոլի կորիզը քայքայվում էր թթվածնային պայմաններում ասկորբինաթթվի ազդեցության տակ և նրա քայքայումը ընթանում էր ասկորբինաթթվի զգալի քանակների օքսիդացմամբ: Այստեղից հաջ էր ծագում, թե չի կարող արդյոք թիազոլի կորիզը նույնպես քայքայվել ասկորբինաթթվի ազդեցությամբ և ինչպես կանդրադառնա այդ իրեն՝ ասկորբինաթթվի օքսիդացման վրա: Անեվրինի ազդեցության ուսումնասիրությունը ասկորբինաթթվի օքսիդացման վրա հետաքրքրական էր և մեկ ուրիշ տեսակետից:

Ինչպես ցույց տվին մեր բազմաթիվ հետազոտությունները, պուրինային մի շարք միացություններ, հատկապես օքսիպուրինները, մեծ չափով արգելակում էին ասկորբինաթթվի օքսիդացումը ^(8,9,10,11):

Պուրինային միացությունների մեջ մենք ունենք պիրիմիդինային և իմիդազոլային կորիզներ, իսկ անեվրինը, ինչպես նշեցինք, ունի նույն-

պես պիրիմիդինային և իմիդազոլին մոտ թիազոլային կորիզներ։ Այդ տեսակետից էլ հետաքրքրական էր պարզել, թե ինչպես կազդի անեվրինը ասկորբինաթթվի օքսիդացման վրա։

Վերոհիշյալ հարցերի պարզաբանման համար փորձեր ղրվեցին անեվրինի և ասկորբինաթթվի, ինչպես և պղինձ ու երկաթ իոնների հետ։ Վերջիններս Edlbacher-ի և Holtz-ի փորձերում նպաստում էին ասկորբինաթթվի հետ միասին հիստիդինի քայքայմանը, մյուս կողմից՝ հայտնի է, որ նրանք արագացնում են նաև ասկորբինաթթվի օքսիդացումը։

Էֆուլերիմենտով մաս.—67,4 մգ անեվրին հիդրոքլորիդը լուծվում էր 2 մլ կրկնակի թորած ջրում* և նրան 3 ժամը մեկ անգամ ավելացվում էր 0,5 մլ ասկորբինաթթվի չեզոքացված լուծույթ (7,55 մգ ասկորբինաթթու)։ Փորձը տևում էր 24 ժամ, այնպես որ ընդամենը ավելացվում էր 60,4 մգ ասկորբինաթթու։ Պղինձ իոնը ավելացվում էր որպես CuSO_4 -ի լուծույթ—0,5 մլ և երկաթ իոնը՝ որպես FeSO_4 -ի լուծույթ—0,5 մլ։ Հուծույթների չեզոքացումը կատարվում էր 5% NaHCO_3 -ի լուծույթով, ապա ավելացվում էր 13,5 մլ ֆոսֆատային բուֆեր $\text{pH}=7.4$ ։ Բոլոր փորձերը պահվում էին տեմպերատուրայով 40° և յուրաքանչյուր 2 ժամը մեկ անգամ նրանց մեջ անց էր կացվում թթվածին, 5—8 ըրպե։ 24 ժամից հետո յուրաքանչյուր փորձում որոշվում էր ասկորբինաթթվի քանակը ինդեֆենոլային տիտրացիայով, և ապա դեամինացիան պարզելու համար որոշվում էր անջատված ամիակի քանակությունը։ Ամիակը դուրս էր մղվում օդի ուժեղ հոսանքով 37°-ում 10 մլ 5% Na_2CO_3 -ի լուծույթ ավելացնելուց հետո, և հավաքվում էր ընդունարանում 25 մլ $\frac{n}{50} \text{HCl}$ -ի լուծույթի մեջ։ Որոշելով չչեզոքացված աղաթթվի քանակությունը (ինդիկատոր—մետիլրուտ) $\frac{n}{50} \text{NaOH}$ -ով,

իմացվում էր անջատված ամիակի քանակությունը։ Ամիակի մյուս մասը հեռացնելու համար մնացած լուծույթին ավելացվում էր 5 մլ 5% NaOH և 10 ըրպե եռացնելուց հետո նորից որոշվում էր ամիակի քանակությունը ընդունարանում։ Նույն փորձը կրկնվում էր 6—7 անգամ։

Փորձերը ցույց տվին, որ ասկորբինաթթուն բոլորովին չի նպաստում անեվրինի դեամինացմանը, երկաթ և պղինձ իոնները, որոնք արագացնում էին հիստիդինի դեամինացիան, նույնպես անազդեցիկ էին մեր փորձերում անեվրինի դեամինացիայի հանդեպ։ 7 փորձից 3-ի դեպքում ասկորբինաթթուն զուգակցվելով պղինձ և հատկապես երկաթ իոնի հետ, փոքր չափով նպաստում էր անեվրինի դեամինացիային, բայց հետագա 4 փորձերում այդ դեամինացիան բոլորովին չնկատվեց։

Այսպիսով, կարելի է գալ այն եզրակացության, որ ասկորբինաթթուն չի նպաստում անեվրինի դեամինացիային։

Ինչպես նշեցինք, 24 ժամից հետո որոշվում էր ասկորբինաթթվի չափը, որի ընդհանուր քանակությունը յուրաքանչյուր փորձում կազմում էր 60,4 մլ։ Ստացված 7 փորձի արդյունքներից երկուսը բերված են առաջին աղյուսակում։

* Այդ կազմում է $\frac{n}{10}$ լուծույթ։

Վերցված նյութեր

Ասկորբինաթթվի քանակությունը մգ-ով

Ասկորբինաթթու		58,1	62,5
»	+ Cu	9,2	5,11
»	+ Fe	21,8	24,8
»	+ աճեվրին	50,6	51,4
»	+ աճեվ- րին + Cu	42,0	35,72
»	+ աճեվ- րին + Fe	37,8	34,1

Ինչպես ցույց են տալիս առաջին աղյուսակում բերված տվյալները, աճեվրինը, առանձին վերցրած, 24 ժամից հետո փոքր չափով նպաստում է ասկորբինաթթվի օքսիդացմանը, բայց պղնձի և երկաթի ներկայությամբ նա զգալիորեն արգելակում է ասկորբինաթթվի օքսիդացման պրոցեսը:

24 ժամից հետո ասկորբինաթթուն պղնձի առկայությամբ զգալիորեն քայքայվում է. նրա քանակությունը կազմում է 9,2 և 5,11 մգ, իսկ աճեվրինի և պղնձի միաժամանակյա ներկայության դեպքում՝ 42,0 և 35,72 մգ:

Հետագա փորձերը դրվեցին Վարբուերգի ապարատում (40°), որը հնարավորություն էր տալիս ասկորբինաթթվի օքսիդացման վերաբերյալ գազափար կազմել նաև թթվածնի կլանմամբ: Թթվածնի կլանումը հաշվի էր առնվում 15, 30, 45 և 60 րոպեից հետո: Փորձերը դրվում էին ֆուսֆատային բուֆերում $pH=7,39$ և $5,79$ -ում: Աճեվրինը վերցվում էր 10 մգ, պղնձ իոնը՝ 0,003 մգ 10 մլ լուծույթում: 60 րոպեից հետո որոշվում էր ասկորբինաթթվի քանակությունը յուրաքանչյուր փորձում, որը կրկնվում էր 7 անգամ:

Փորձերից ստացված արդյունքների միջին տվյալները բերված են երկրորդ և երրորդ աղյուսակներում: Երկրորդ աղյուսակում բերված են $pH=7,39$ -ում դրված փորձերի տվյալները:

Երրորդ աղյուսակում բերված են $pH=5,78$ դրված փորձերի տվյալները:

Աղյուսակ 2

Վերցված նյութեր		Թթվածնի կլանումը μ l-ով				Ասկորբինաթթվի քանակությունը մգ %-ով
		15 ր.	30 ր.	45 ր.	60 ր.	
Ասկորբինաթթու:		9,23	23,72	33,25	45,46	48,24
»	+ Cu	78,0	82,74	87,98	87,98	0,24
»	+ աճեվրին	4,34	16,64	19,22	30,09	50,4
»	+ աճեվ- րին + Cu	8,94	18,08	23,8	43,52	49,3

* Ասկորբինաթթվի սկզբնական ազոտը կազմում էր 83,17:

Վերցված նյութեր	Թթվածնի կլանումը լմ-ով				Ասկորբինաթթվի քանակությունը մգ %-ով
	15 ր.	30 ր.	45 ր.	60 ր.	
Ասկորբինաթթու	16,54	33,4	43,33	52,65	6,0
„ + Cu	86,35	86,81	88,81	90,2	0,22
„ + անեվրին	1,92	1,92	4,31	9,2	36,7
„ + անեվրին + Cu	20,31	21,10	21,10	21,0	25,2

Ասկորբինաթթվի սկզբնական քանակությունը կազմում էր 37,50%, ինչպես ցույց են տալիս երկրորդ և երրորդ աղյուսակներում բերված տվյալները, ասկորբինաթթուն $pH=7,39$ -ում ավելի քիչ է օքսիդանում, քան $pH=5,76$ -ում, մի երևույթ, որ գրեթե միշտ նկատվել է նաև մեր ուրիշ փորձերում՝ ֆոսֆատային բուֆերում: Պղինձ իոնը 2 դեպքում էլ խիստ նպաստում է ասկորբինաթթվի օքսիդացմանը, անեվրինը հատկապես $pH=5,76$ -ում շատ լավ արգելակում է ասկորբինաթթվի օքսիդացումը: Այդ անում է անեվրինի և պղինձ իոնի ներկայությամբ $pH=7,39$ և $pH=5,76$ -ում:

Պղինձ իոնի և անեվրինի ներկայությամբ, չնայած ասկորբինաթթվի զգալի քանակների պահպանմանը, այնուամենայնիվ որոշ քանակությամբ թթվածին կլանվում է. այդ խոսքով է այն մասին, որ անեվրինի որոշ քանակություն օքսիդացման է ենթարկվում, հավանորեն, առանց ամիակի անջատման:

Անեվրինով ասկորբինաթթվի օքսիդացման արգելակումը հավանորեն բացատրվում է նրանով, որ անեվրինը կապում է պղինձ իոնը, վերացնելով նրա կատալիտիկ ազդեցությունը ասկորբինաթթվի օքսիդացման վրա:

Ինչպես տեսանք մեր փորձերից, ասկորբինաթթուն չի նպաստում անեվրինի դեամինացիային և նրա ներկայությամբ ինքը լավ պահպանվում է: Այդ պատճառով է, քանի որ, ինչպես ցույց են տվել մի շարք փորձեր հիստիդինի և այլ ամինոթթուների վրա, ասկորբինաթթուն նպաստելով դեամինացիային, ինքը զգալի արագությամբ ենթարկվում է օքսիդացման: Մյուս կողմից՝ նա լավ պահպանվում է օքսիպուրինների ներկայությամբ, իսկ վերջիններս չեն դեամինացվում ասկորբինաթթվով:

Ամփոփում.— Ինչպես ցույց են տվել մեր փորձերը (⁷), ասկորբինաթթուն նպաստելով հիստիդինի քայքայմանը, ինքն էլ ենթարկվում է օքսիդացման: Մյուս կողմից՝ մեր աշխատանքներից հայտնի է (^{9,10,11}), որ օքսիպուրինները շատ լավ պահպանում են ասկորբինաթթուն, արգելակելով նրա օքսիդացումը պղնձի ներկայությամբ:

Անեվրինը նման է հիստիդինին իր թիազոլային խմբով, իսկ պուրինային միացություններին՝ իր պիրիմիդինային և թիազոլային խմբերով, որոնք, ի տարբերություն պուրինային միացությունների, անեվրինի մեջ միմյանց հետ միացած են մեթիլենային խմբով:

Այստեղից՝ մեզ համար հետաքրքրական էր պարզել անեվրինի և ասկորբինաթթվի փոխազդեցությունը միմյանց քայքայման վրա: Այդ ուղ-

դուրյամբ դրված փորձերը ցույց տվին, որ ասկորբինաթթուն չի նպաստում անեվրինի դեամինացիային թե՛ առանձին զերցված և թե՛ պղինձ իոնի հետ միասին: Մյուս կողմից՝ անեվրինը առանձին և պղնձի իոնի ներկայությամբ շատ լավ արգելակում է ասկորբինաթթվի օքսիդացումը ինչպես $pH=5,76$ -ում, նույնպես և $pH=7,39$ -ում:

Հայկական ՍՍՌ Գիտությունների Ակադեմիայի
Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտ և
Երևանի Բժշկական ինստիտուտի
Բիոքիմիայի մեթոն:
Երևան, 1947, սեպտեմբեր:

Г. Х. Бунятян и М. Г. Гаспарян

Взаимодействие аневрина и аскорбиновой кислоты при их распаде

Как показали наши исследования (¹), аскорбиновая кислота способствует деаминированию гистидина и сама при этом окисляется в значительных количествах. С другой стороны известно из наших исследований (^{2,9,10,11}), что оксипурины сильно тормозят окисление аскорбиновой кислоты, как сами по себе, так и при наличии меди. Аневрин имеет некоторое сходство с гистидином своей группой тиазола, и с пуриновыми соединениями, имея группу пиримидина и тиазола, которые, однако, в аневрине в отличие от пуриновых соединений связаны между собой метиленовой группой.

Имея в виду вышесказанное, мы заинтересовались вопросом: как подействует аскорбиновая кислота на деаминирование аневрина, и как отразится процесс деаминирования на окисление самой аскорбиновой кислоты?

Поставленные в этом направлении опыты показали, что аскорбиновая кислота не способствует деаминированию аневрина, как сама по себе, так и при наличии меди. С другой стороны аневрин как взятый отдельно, так и в присутствии меди значительно тормозит окисление аскорбиновой кислоты при $pH=5,76$ и $7,39$.

ԴՐՈՎԱԼՈՒԹՅՈՒՆ

1. S. Edlbacher u. A. Segesser. Biochem. Z., 290, 370, 1937. 2. E. Abderhalden. Fermentforsch., 15, 285, 1937. 3. P. Holtz u. R. Heise. Arch. exp. Pathol. Pharmacol., 188, 269, 1937. 4. P. Holtz u. G. Triem. Z. physiol. Chem., 248, 5, 1937. 5. P. Holtz. Z. physiol. Chem., 250, 87, 1937. 6. J. Greenblatt u. A. Pecker. J. Biol. Chem., 134, 341, 1940. 7. Г. Х. Бунятян и Г. В. Матиян. Тр. Ин-та физиологии АН Арм. ССР, 1, 1947. 8. Г. Х. Бунятян. Тр. Всесоюз. конференц. по витаминам, Москва—Ленинград, 1940. 9. Г. Х. Бунятян и В. Г. Мхитарян. Изв. Арм. ФАН № 4—5, 251, 1940. 10. Г. Х. Бунятян. Биохимия, 6, 155, 1941. 11. Г. Х. Бунятян. Изв. Арм. ФАН, № 1—2, 77, 1942.