

## К ВОПРОСУ ОБ УЧАСТИИ ОКСИПУРИНОВ В ОБМЕНЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ (витамина С)

Первое сообщение

Аскорбиновая кислота и ее окисленная форма—дегидроаскорбиновая кислота играют большую роль в обмене веществ; тем самым, механизмы, как стабилизирующие редуцированную форму аскорбиновой кислоты, так и способствующие ее окислению, приобретают большой практический интерес. Окисление аскорбиновой кислоты, в основном, ускоряется определенными ферментативными системами, солями и органическими соединениями меди и железа.

Из ферментов, окисляющих аскорбиновую кислоту, мы должны упомянуть аскорбиназу, или аскорбин-оксидазу, найденную впервые Szent-Györgyi (1,2). Этот специфический фермент аскорбиновой кислоты в дальнейшем был найден и изучен многими исследователями в различных растениях (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 и др.).

Другая ферментативная система, окисляющая аскорбиновую кислоту, есть пероксидаза + пероксигены + аутооксидабельные системы, образующие либо перекись водорода, либо органические перекиси, разлагающиеся под влиянием пероксидазы)—Szent-Györgyi (11,12), Энгельгардт и Букин (13). St. Huszak (14) и др.

Аскорбиновая кислота может окисляться и при помощи полифенолаз, если присутствуют полифенолы; последние под влиянием полифенолазы переходят в свою хинонную форму, которая затем восстанавливается за счет водородов аскорбиновой кислоты, переводя ее в дегидроаскорбиновую кислоту (12, 13, 14, 15, 16, 17).

Помимо этих трех ферментативных систем, как мы уже сказали, окисление аскорбиновой кислоты катализируется еще солями и различными органическими соединениями железа и в особенности меди. Многие авторы изучали действие меди на окисление аскорбиновой кислоты. Оказалось, что самые ничтожные количества меди вполне достаточны для быстрого окисления аскорбиновой кислоты; тем самым, возник вопрос: какими системами стабилизируется аскорбиновая кислота в условиях организма, где имеется достаточное количество меди для ее полного окисления.

Этим вопросом занялись многие исследователи. Еще Green

(18) сохранение редуцированной формы аскорбиновой кислоты в тканях объяснял наличием в них антиоксидантного механизма. Многие исследования подтвердили это предположение. Тканевые срезы, жидкости, экстракты сильно тормозят окисление аскорбиновой кислоты при меди (19, 20, 21, 22, 23 и др.). Было изучено действие многих веществ, встречающихся в организме, на окисление аскорбиновой кислоты при меди. Из них лишь некоторые подавляют окислительный процесс. К ним относятся: глутатион, цистин, цистеин (19, 20, 22, 24, 6, 25, 26), глицин (19, 6), альбумин (6).

В литературе часто встречаются высказывания, что аминокислоты и белки являются стабилизаторами при окислении аскорбиновой кислоты медью. Однако, наши исследования, проведенные с различными белками и аминокислотами в различных условиях ( $-PH$ ), показали (27,28), что далеко не все аминокислоты и белки обладают этим свойством. Есть аминокислоты и белки, которые даже способствуют окислению аскорбиновой кислоты, как, например, лейцин и желатина. Наши исследования показали, что действие аминокислот и белков сильно меняется в зависимости от  $PH$  среды. Далее, белки неодинаково действуют на окисление аскорбиновой кислоты при меди и железе (28). По нашим данным, из белков и продуктов их распада хорошими стабилизаторами аскорбиновой кислоты в присутствии меди могут считаться: аспарагиновая кислота и аспарагин, креатинин, пептон и казеин<sup>1</sup>. Альбумин оказывал антиоксидантное действие при  $PH$  7,0, но при  $PH$  5,0 он тормозил окислительный процесс в присутствии железа, но не меди. По некоторым данным, адреналин и аскорбиновая кислота способствуют обоюдному сохранению (29, 30, 31).

По нашим данным, адреналин не может считаться стабилизатором аскорбиновой кислоты вообще. В некоторых случаях, когда в соответствующих условиях адреналин переходит в свою хинонную форму, последняя может ускорить окисление аскорбиновой кислоты, как это делают хинонные формы полифенолов.

Аскорбиновая кислота сохраняется в организме не только системами, тормозящими ее окисление в присутствии меди и железа, но и другими механизмами, которые восстанавливают дегидроаскорбиновую кислоту. Последняя, как мы знаем, очень неустойчива и сама по себе быстро разлагается даже в отсутствие кислорода (7, 26, 32), образуя продукты, не переходящие снова в аскорбиновую кислоту. Таким образом, переход дегидроаскорбиновой кислоты в более устойчивую и важную аскорбиновую кислоту имеет большое значение. Этот переход совершается в организме. При даче дегидроаскорбиновой кислоты в организме увеличивается количе-

<sup>1</sup> Кроме глутатиона, цистина и цистеина, стабилизирующее действие которых найдено другими авторами.

ство аскорбиновой кислоты, которая выделяется мочой (33, 34, 25, 26). Переход дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую доказан и в тканях (26 и др.).

Таким образом, сохранение аскорбиновой кислоты в организме осуществляется двумя системами. Первая из них подавляет каталитическое действие меди и железа, повидимому, через связывание ионов меди и железа с образованием таких соединений, у которых окислительный потенциал ниже, чем у меди и железа.

К веществам, связывающим медь и железо, можно отнести: глутатион, цистин, цистеин, аминокислоты, белки.

Вторая система восстанавливает дегидроаскорбиновую кислоту в аскорбиновую. Из веществ, встречающихся в организме, восстанавливают аскорбиновую кислоту глутатион (24, 35) и отчасти цистеин; другие, исследованные в этом отношении вещества оказались непригодными (26).

Исходя из вышеизложенного, мы нашли интересным испытать действие различных оксипуринов на окисление аскорбиновой кислоты.

Известно, что оксипурины в ряде случаев могут быть акцепторами и переносчиками водорода. Так, мочевого кислоте приписывается роль акцептора водорода при окислении гипоксантина в ксантин (36); мочева кислота, как акцептор водорода, переходит в гипоксантин при окислении альдегидов ферментом Шардингера (37). С другой стороны, оксипурины и вещества, переходящие в оксипурины—гипоксантин, обесцвечивают метиленовую синьку (38, 39), являясь донаторами водорода, и вообще известно, что они, образуя гидраты, могут окисляться через отщепление водородов. Известно также, что оксипурины образуют соли. Интересно отметить, что ксантин и мочева кислота в опытах Andersson'a (40) снижали отравляющее действие меди на гликолиз; аденин этого не делал, ибо он не дает соединения с медью, как ксантин и мочева кислота. Отравленный медью фермент Шардингера также реактивируется ксантином благодаря образованию медь-ксантина (40).

В опытах Adler'a и Euler'a (41) медь отравляла дрожжевую алкогольдегидразу, которая также вновь реактивировалась ксантином.

Исходя из вышеизложенного, можно было предположить, что оксипурины могут задерживать окисление аскорбиновой кислоты, с одной стороны, связывая медь в неактивное соединение, а с другой — способствуя восстановлению дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую путем отдачи водородов из соответствующих гидратов.

Для выяснения вопроса действия оксипуринов на окисление аскорбиновой кислоты в присутствии меди были поставлены опыты

и с гипоксантином, ксантином, мочевой кислотой, теобромином, теофиллином и кофеином.

### Экспериментальная часть

Опыты ставились с чистой аскорбиновой кислотой на воде и на фосфатном буфере при различных РН. Медь прибавлялась по 0,003 мг в виде  $\text{CuSO}_4$ . Оксипурины брались обычно по 10 мг на 10 мл раствора. Количество аскорбиновой кислоты определялось индофенольным титрованием. Опыты ставились на водяной бане при  $40^\circ$  с пропусканием кислорода в течение 30 минут (120 пуз. в минуту). По истечении этого времени определялось количество аскорбиновой кислоты, затем пробы, где еще аскорбиновая кислота полностью не расложилась, оставлялись на ночь при комнатной температуре, и через 24 часа, а иногда и через 48 часов вновь определялось количество аскорбиновой кислоты. Один и тот же опыт повторялся несколько раз; в таблицах из них приводятся 2—3 опыта.

Первые опыты были поставлены с гипоксантином, ксантином и мочевой кислотой на воде. Как показывают опыты, приведенные в таблице № 1, гипоксантин, ксантин и мочевая кислота как сами по

Т а б л и ц а № 1

№ №	Взятые вещества	Количество аскорбиновой кислоты в мг % <sup>0</sup> / <sub>0</sub>						
		Опыт № 1		Опыт № 2		Опыт № 3		
	Первоначальное количество	18,3		18,0		20,75		
		через		через		через		
		30 м.	24 ч.	30 м.	24 ч.	30 м.	24 ч.	48 ч.
1	Аскорбиновая кислота	13,7	6,1	16,3	10,2	17,4	10,0	3,0
2	„ „ + $\text{Cu}^1$	0,64	0	1,5	0	2,3	0	
3	„ „ + гипоксант	15,7	15,7	18,0	18,0	20,7	20,0	16,3
4	„ „ + ксантин	15,7	15,7	18,0	18,0	20,7	20,0	16,7
5	„ „ + мочев. к-та	18,0	17,3	18,0	18,0			
6	„ + гипоксантин+ксантин	18,0	18,0	18,0	18,0	20,7	20,0	19,3
7	„ + цистин	18,0	17,2	18,0	15,2	20,7	20,0	15,0
8	„ + гипоксантин+ $\text{Cu}$	11,0	1,3	10,6	2,4	18,4	8,2	3,0
9	„ + ксантин+ $\text{Cu}$	10,0	1,5	13,1	4,0	18,4	8,2	Сл.
10	„ + мочевая к-та+ $\text{Cu}$	4,7	0	5,8	1,0			
11	„ + гипоксан.+ксантин+ $\text{Cu}$	18,0	16,5	18,0	13,0	20,0	15,6	7,8
12	„ + цистин+ $\text{Cu}$			17,2	14,0	18,4	13,2	7,8

себе, так и в присутствии меди сильно тормозят окисление аскорбиновой кислоты. При гипоксантине и ксантине количество аскр-

<sup>1</sup> Взятые: оксипурины и цистин по 10 мг, медь по 0,003 мг на 10 мл раствора аскорбиновой кислоты.

биновой кислоты, по сравнению с первоначальным количеством, в большинстве случаев почти что не меняется не только через 30 минут, но и через 48 часов, тогда как в контроле ее количество с 20,75 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> доходит до 3 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. При одной меди имеется как вообще сильный распад аскорбиновой кислоты, так и с первоначальных количеств 18,3, 18,0 и 20,75 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, ее количество через 30 минут доходит до 0,64, 1,5 и 2,3 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, а через 24 часа мы уже имеем его полный распад. Если же медь сочетается с гипоксантином и ксантином, то при ксантине через 30 минут мы имеем 10,0, 19,6 и 18,4 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, а через 24 часа — 1,5, 4,0 и 8,2 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Примерно такие же результаты получаются с гипоксантином. Когда одновременно присутствуют ксантин и гипоксантин, то, как видно из таблицы, получается более мощная антиоксидантная система, чем каждая в отдельности; в этих случаях окисление аскорбиновой кислоты и при меди незначительное. Мочевая кислота сама по себе тормозит распад аскорбиновой кислоты; при меди она подавляет также окислительный процесс, но хуже, чем ксантин и гипоксантин. Повидимому, причиной этого является более трудная растворимость мочевой кислоты, ибо на фосфатном буфере мочевая кислота, как антиоксидант, действует лучше ксантина и гипоксантина.

Для сравнения антиоксидантного действия оксипуринов с одним из наилучших стабилизаторов аскорбиновой кислоты цистином были поставлены опыты с последним. Результаты, изображенные в таблице № 1, ясно показывают, что оксипурины, в особенности когда они выступают вместе, своим антиоксидантным действием почти не уступают цистину.

Были поставлены также опыты с теобромином, теофиллином и кофеином. Опыты приведены в таблице № 2.

Т а б л и ц а № 2

№ №	Взятые вещества	Количество аскорбиновой кислоты в мг <sup>0</sup> / <sub>0</sub>			
		Опыт № 1		Опыт № 2	
		Первоначальное количество		Первоначальное количество	
		21,0		19,0	
		через		через	
		30 мин.	24 час.	30 мин.	24 час.
1	Аскорбиновая кислота	14,6	6,3	9,5	5,3
2	" " + Cu <sup>1</sup>	1,9	2,0		
3	" " + теобромин	21,1	13,5	14,6	8,36
4	" " + теофиллин	10,0	2,0	7,3	0
5	" " + кофеин	12,6	10,3	7,2	3,9
6	" " + теобромин + Cu	0		0	
7	" " + теофиллин + Cu	9,3	2,2	11,7	2,5
8	" " + кофеин + Cu	0,34	0	0,5	0

<sup>1</sup> Взятые: теобромин, теофиллин и кофеин по 10 мг, Cu по 0,003 мг на 10 мл раствора аскорбиновой кислоты.

Как показывает таблица № 2, теобромин сам по себе тормозит окисление аскорбиновой кислоты, но в присутствии меди он не оказывает этого действия, наоборот, даже ускоряет процесс окисления. Теофиллин действует наоборот: сам по себе способствует распаду, но при меди оказывает антиоксидантное действие. Что же касается кофеина, то он как сам по себе, так и при меди не задерживает окисления аскорбиновой кислоты, наоборот, он даже несколько ускоряет процесс окисления.

Дальнейшие опыты велись на фосфатном буфере при различных рН. Первые опыты были поставлены при рН 7,0. Кроме гипоксантина, ксантина и мочевиной кислоты, в опыты был включен и цистин для сравнения его стабилизирующего действия с таковым оксипуринов. Результаты опытов изображены в таблице № 3.

Т а б л и ц а № 3

№ №	Взятые вещества	Количество аскорбиновой кислоты в мг %						
		Опыт № 1		Опыт № 2		Опыт № 3		
		Первоначальное количество						
		через		через		через		
		30 мин	24 час.	30 мин	24 час.	30 мин	24 час.	48 ч.
1	Аскорбиновая кислота	8,73	0	16,0	4,7	15,3	9,2	5,2
2	" " + Cu <sup>1</sup>	0		0		0		
3	" " + гипоксантин	15,1	9,2	20,75	10,2	18,0	11,6	8,3
4	" " + ксантин	16,6	9,2	20,7	10,0	18,0	11,8	7,2
5	" + гипоксантин + ксантин	16,6	8,9			18,0	12,3	7,8
6	" + мочевиной кислота	16,6	13,2	22,1	18,9	18,0	17,2	13,8
7	" + цистин	11,8	8,3	20,7	12,2	14,4	7,9	5,2
8	" + гипоксантин + Cu	9,7	2,1	12,3	2,8	10,6	4,4	0,9
9	" + ксантин + Cu	12,3	6,2	15,6	6,2	12,8	6,0	1,5
10	" + гипоксан. + ксант. + Cu	13,0	7,4			18,0	10,2	5,4
11	" + мочевиной к-та + Cu	15,3	13,0	22,0	17,3	18,0	16,8	12,3
12	" + цистин и Cu	10,5	8,7	4,7	2,4	13,3	7,6	4,2

Из таблицы видно, что при одной меди аскорбиновая кислота через 30 минут полностью разлагается; в присутствии одних оксипуринов и цистина она, наоборот, сохраняется и даже через 48 часов ее количество доходит до 7,2—13,8 мг %. Оксипурины значительно подавляют каталитическое действие меди, и в этом случае аскорбиновая кислота сохраняется в значительных количествах через 48 часов.

Из оксипуринов лучше всех тормозит окисление аскорбиновой кислоты мочевиной кислота. По сравнению с цистином, как показывает

<sup>1</sup> Взятые: оксипурины и цистин по 10 мг, Cu по 0,003 мг на 10 мл раствора аскорбиновой кислоты.

таблица. антиоксидантное свойство у оксипуринов при РН 7,0 больше.

Опыты, поставленные при 7,3 с метилопроизводными оксипуринов, показали, что теофиллин, и Na-теофиллин как сами по себе, так и в присутствии меди заметно тормозят окислительный процесс. Через 30 минут количество аскорбиновой кислоты в присутствии теофиллина не меняется, по сравнению с первоначальным количеством, остается 25 мг %, как и было; при комбинации медь-теофиллин оно равняется 23,6 мг %, между тем как в контроле количество аскорбиновой кислоты снижается наполовину, а в присутствии меди она исчезает вовсе. Значительные количества аскорбиновой кислоты сохранялись и через 24 часа в присутствии теофиллина и Na-теофиллина—до 13,4 мг %. Совершенно другие результаты были получены с теофиллином при РН 6,2; в этих условиях как теофиллин, так и Na-теофиллин не только не тормозят процесс окисления, но даже способствуют его ускорению как в отдельности, так и в присутствии меди.

Теобромин при РН 7,3 сам по себе несколько тормозит окисление аскорбиновой кислоты, но в присутствии меди он этого не делает. При РН 6,2 теобромин как сам по себе, так и при меди почти никакого влияния на окислительный процесс не оказывает.

Кофеин при РН 7,3 и в особенности при РН 6,2 сам по себе заметно ускоряет распад аскорбиновой кислоты, каталитическое действие меди он в обоих случаях не подавляет.

Следующие опыты были поставлены при РН 8,0. Приведенные в таблице № 4 результаты ясно показывают, что гипоксантин, ксантин и мочева кислота и при РН 8,0 сами по себе задерживают окисление аскорбиновой кислоты, а в присутствии меди сильно подавляют ее каталитическое действие. При этом нужно отметить, что они лучше задерживают окисление аскорбиновой кислоты, чем цистин. У примененных оксипуринов антиоксидантное действие растет от гипоксантина к мочева кислоте, то же самое наблюдалось и при РН 7,0. В этой серии были поставлены опыты, где цистин комбинируется с оксипуринами и медью. Когда мы сочетали оксипурины друг с другом, то антиоксидантное действие этой комбинации получалось больше, чем у каждого из них в отдельности, как это показывают таблицы №№ 1 и 2. Иное получается, когда мы цистин комбинируем с оксипуринами; комбинации цистин—гипоксантин—ксантин, в особенности в присутствии меди, задерживают окислительный процесс гораздо слабее, чем каждая из них в отдельности (табл. № 4). Так, при одном гипоксантине через 30 минут имеется 15 мг % аскорбиновой кислоты, через 24 часа—12 мг %; при цистине через 30 мин.—14,2 мг %, через 24 часа—10,6 мг %. При комбинации цистин—гипоксантин количество аскорбиновой кислоты через 30 минут равно 12 мг %, через 24 часа—7,8 мг %, а при

Т а б л и ц а № 4

№ №	Взятые вещества	Количество аскорбиновой кислоты в мг ‰ ‰					
		Опыт № 1		Опыт № 2		Опыт № 3	
Первоначальное количество		15,0		20,4		12,0	
		через		через		через	
		30 мин	24 час.	30 мин	24 час.	30 мин	28 ч.
1	Аскорбиновая кислота	10,0	3,0	11,0	0	3,0	0
2	„ „ +Cu <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	
3	„ „ +гипоксантин	15,0	12,0	18,2	10,2		
4	„ „ +ксантин	15,0	10,6	17,8	12,4		
5	„ „ +мочевая к-та	15,0	12,6	18,4	19,3	10,0	4,2
6	„ „ +цистин	14,2	10,6	15,3	11,8		
7	„ „ +гипоксан.+Cu	12,9	7,2	15,1	8,4		
8	„ „ +ксант.+Cu	13,0	10,0	16,5	12,1		
9	„ „ +моч. к-та+Cu	15,0	12,0	18,0	13,4	10,0	2,74
10	„ „ +цистин+Cu	10,0	5,2	12,6	5,9		
11	„ „ +цистин+гипоксантин	12,0	7,8				
12	„ „ +цистин+ксантин	13,8	10,0				
13	„ „ +цистин+гипоксантин+Cu	5,4	0	6,1	0,25		
14	„ „ +цистин и ксантин+Cu	6,9	3,0	7,2	1,8		

сочетаниях: гипоксантин — медь мы имеем через 30 минут — 12,9, а через 24 часа — 7, 2 мг ‰; цистин — медь после 30 минут — 10,0, после 24 часов — 5, 2 мг ‰, а цистин — гипоксантин — медь после 30 минут — 5, 4 мг ‰, а после 24 часов аскорбиновая кислота исчезает вовсе.

Были поставлены также опыты без аэрации при комнатной температуре при РН 0,3. Из каждого опыта почти ежедневно брались пробы на анализ. Полученные результаты приведены в таблице № 5, из которой видно, что в контрольной пробе аскорбиновая кислота исчезает на 6-й день, при меди на 2-й день, при гипоксантине, ксантине и мочевой кислоте на 12-й день, сохраняясь до этого дня в значительных количествах. В присутствии меди и вышеупомянутых оксипуринов аскорбиновая кислота сохраняется до 8-го—9-го дня.

Что же касается теофиллина, он сам по себе способствует окислению аскорбиновой кислоты, но слегка подавляет каталитическое действие меди; теобромин тоже в отдельности ускоряет процесс окисления, но каталитическое действие меди он не тормозит.

Опыты, поставленные с теми же оксипуринами без аэрации при комнатной температуре при РН 7, 3, дали такие же результаты.

Следующие опыты были поставлены с различными количества-

<sup>1</sup> Взятые: оксипурины и цистин по 10 мг, Cu по 0,003 мг на 10 мл раствора аскорбиновой кислоты.

Т а б л и ц а № 5

№ №	Взятые вещества	Количество аскорбиновой кислоты в мг %/о									
		Первоначальное количество									
		23,0									
		ч е р е з									
		1 день	2 дн.	4 дн.	5 дн.	6 дн.	7 дн.	8 дн.	9 дн.	11 дн.	12 дн.
1	Аскорбиновая к-та	14,7	12,0	4,10	1,0	0					
2	" +Cu <sup>1</sup>	0,36	0	0							
3	" +гипоксантин	12,2	16,2	13,7	9,2		5,2	4,0	1,5	0,8	0
4	" +ксантин	21,0	19,2	18,0	15,2		10,0	7,8	4,5	2,1	0,5
5	" +мочев. к-та	21,0	19,3	18,0	17,0		12,1	8,3	2,6	0,6	0
6	" +теофиллин	0,48	0,3	0,3	0,26	0					
7	" теобромин	5,8	1,6	0,68	0						
8	" гипоксан.+Cu	14,2	7,7	3,7	1,7	1,0	0,79	0,43	0		
9	" ксантин+Cu	15,9	9,0	4,2	2,8	1,7	0,7	0,37	0		
10	" мочев. к-та+ +Cu	13,3	7,2	4,4	3,5	2,6	1,2	1,2	0		
11	" + теофиллин + Cu	1,2	0,4	0,2	0						
12	" +теобромин+ +Cu	0,2	0,1	0							

ми мочевой кислоты и меди при РН 7, 2 и 7,3. В первой серии этих опытов количество мочевой кислоты варьировалось от 0, 5 мг до 5 мг, медь прибавлялась по 0,003 мг. Результаты опытов изображены в таблице № 6.

Из таблицы ясно видно, что в общем с увеличением количества мочевой кислоты антиоксидантное действие растет, но не пропорционально, и маленькие количества сравнительно эффективнее больших. Следует отметить, что 0,5 мг мочевой кислоты достаточно для ясно заметного антиоксидантного действия. Как показывает таблица, это количество мочевой кислоты уже настолько подавляет каталитическое действие меди, что количество аскорбиновой кислоты в различных опытах через 30 минут доходит от 8,43—14, 2 мг %/о, а через 24 часа 2,0—7,4 мг %/о, между тем как при одной меди через 30 минут аскорбиновая кислота, как вообще, разлагается полностью.

Во второй серии опытов мы не меняли количества мочевой кислоты (10 мг), а брали различные количества меди от 0, 1—3 мг на 10 мл раствора. Результаты опытов приведены в таблице № 7, из которой видно, что 10 мг мочевой кислоты не задерживают каталитического действия меди, когда последняя берется от 1—3 мг;

<sup>1</sup> Взяты: производные пурина по 10 мг, Cu по 0,003 мг на 10 мл раствора аскорбиновой кислоты.

Т а б л и ц а № 6

№ №	Взятые вещества	Количество аскорбиновой кислоты в мг ‰ ‰					
		Опыт № 1		Опыт № 2		Опыт № 3	
Первоначальное количество		23,0		18,4		20,4	
		через		через		через	
		30 мин	24 час.	30 мин	24 час.	30 мин	24 ч.
1	Аскорбиновая кислота	13,1	3,0	11,5	0	12,2	1,0
2	" " + Cu <sup>1</sup>	0		0		0	
3	" " + 5 мг мочевины	18,4	16,7	16,8	13,5		
4	" " + 2,5 " " "	18,4	13,5	13,7	11,2	18,4	15,4
5	" " + 1 " " "	15,4	10,3	11,6	7,5	18,4	14,2
6	" " + 0,5 " " "	14,3	8,9	11,6	3,4	16,7	11,7
7	" " " + Cu	16,0	11,5	13,8	10,7	15,4	11,0
8	" " + 2,5 " " + Cu	16,0	9,7	13,1	5,8	18,4	13,3
9	" " + 1 " " + Cu	14,2	6,8	10,2	2,2	16,7	10,0
10	" " + 0,5 " " + Cu	10,43	2,0	8,43	14,2	14,2	7,4

торможение начинается при наличии 0,75 мг меди и растет с уменьшением ее количества. Уже при наличии 0,1—0,25 мг меди мы через 30 минут имеем 13,3 и 14,3 мг ‰ аскорбиновой кислоты, а после 48 часов—8,3 и 8,7 мг ‰. Такие же самые результаты получались с ксантином и теофиллином; они тоже при наличии 0,1—0,55 мг меди резко тормозят окисление аскорбиновой кислоты.

Из этого следует, что, как стабилизаторы аскорбиновой кислоты, оксипурины являются одними из наилучших; цистин, который в опытах Mc Farlane задерживал окисление аскорбиновой кислоты, лучше, чем глутатион, в наших опытах действовал слабее, чем оксипурины.

Таким образом, гипоксантин, ксантин и мочевиная кислота как сами по себе, так и при наличии меди сильно тормозят окисление аскорбиновой кислоты. Это их действие наблюдается и на воде и на фосфатном буфере при различных РН—6,2, 7,0 и 8,0<sup>1</sup>. Их антиоксидантное действие растет с увеличением количества гидроксильных групп; так, мочевиная кислота (триоксипурин) сильнее задерживает окисление аскорбиновой кислоты, чем гипоксантин и ксантин. Метилпроизводные оксипуринов действуют различно, в зави-

<sup>1</sup> Взятые: Си по 0,003 мг, различные количества мочевины на 10 мл раствора аскорбиновой кислоты.

<sup>1</sup> Действие оксипуринов при других, менее встречающихся в условиях организма РН мы пока не исследовали.

Т а б л и ц а № 7

РН = 7,3

№ №	Взятые вещества	Количество аскорбиновой кислоты в мг 0/0 0/0	
		20,0	
Первоначальное количество		ч е р е з	
		30 мин.	48 час.
1	Аскорбиновая кислота	8,3	0
2	" " + мочевиная кислота	15,4	8,3
3	" " +3 мг Си+ "	0	
4	" " +1 " " + "	0	
5	" " +0,75 " " + "	2,5	2,0
6	" " +0,5 " " + "	9,1	5,0
7	" " +0,25 " " + "	13,3	8,3
8	" " +0,1 " " + "	14,3	8,7

симости от их строения и от среды. На воде теобромин сам по себе тормозит окисление аскорбиновой кислоты; при наличии меди он этого не делает, также он действует при РН 7,3, но при РН 6, 2 он как в отдельности, так и при меди не задерживает окислительного процесса. Теофиллин на воде сам по себе способствует распаду аскорбиновой кислоты, при наличии меди оказывает антиоксидантное действие, при 7, 3 на фосфатном буфере как в отдельности, так и при меди тормозит процесс окисления, но при РН 6, 2 действует обратно. Кофеин во всех случаях ускоряет распад аскорбиновой кислоты, при меди он задерживающего влияния на этот процесс не оказывает.

Антиоксидантное действие оксипуринов при наличии меди можно объяснить тем, что они с медью образуют соли, окислительный потенциал у которых ниже, чем у одной меди. Повидимому, этим объясняется то, что мочевиная кислота, как антиоксидант, действует сильнее, чем ксантин и гипоксантин, так как мочевиная кислота может связывать больше меди. Оксипурины могут образовывать соли не только своими энольными, но и кетонными формами (42).

Вероятно, метилопроизводные оксипуринов не во всех условиях образуют соли с медью. Так, известно, что соли кофеина легко разлагаются водой, поэтому кофеин вряд ли может в наших условиях связывать медь. Что кофеин сам по себе ускоряет распад аскорбиновой кислоты, можно объяснить его слабо-щелочными свойствами. Теобромин и теофиллин легче соединяются со щелочами и их соли более устойчивы, но, как видно, они опять не во всех случаях мо-

<sup>1</sup> Взятые: мочевиная кислота по 10 мг и различные количества меди на 10 мл раствора.

гут связывать медь. Теобромин, сам по себе задерживая распад аскорбиновой кислоты на воде и при РН 7, 3, повидимому, может связать следы меди, но когда меди берется больше, он этого не делает. При РН 6, 2 он не задерживает окислительного процесса, не связывая меди. Теофиллин также при РН 6, 2 не тормозит процесса окисления, повидимому, не связывая меди; это он делает на воде и на фосфатном буфере при РН 7, 3. Возможно, конечно, и другое действие метилопроизводных оксипуринов.

Интересно отметить, что оксипурины в наших опытах не проявили антиоксидантного действия в лимонном соке; повидимому, при такой кислой реакции не могут образоваться их медные соли, т. е. медь остается несвязанной и проявляет свое действие.

С другой стороны, не исключена возможность, что оксипурины стабилизируют аскорбиновую кислоту, способствуя переходу дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую. Аскорбиновая кислота, окисляясь, в особенности при меди, переходит в дегидроформу, которая может восстанавливаться за счет окисления гидратов оксипуринов. Может быть, этим и объясняется, что при сочетании оксипуринов с цистином, получалась более слабое антиоксидантное действие, чем у одних оксипуринов, так как цистин тоже может взять водороды от гидратов оксипуринов и не дать возможности перейти им в дегидроаскорбиновую кислоту. Механизм действия оксипуринов будет нам ясен, если мы проследим за их изменением при стабилизации аскорбиновой кислоты. Опыты в этом направлении в процессе разработки.

Антиоксидантному свойству оксипуринов мы придаем большое значение. Многие исследователи указывали, что антиоксидантный механизм в тканях в отношении окисления аскорбиновой кислоты далеко не исчерпывается глутатионом, цистином и цистеином (19,20). Весьма вероятно, что в тканевой стабилизации аскорбиновой кислоты оксипурины играют немаленькую роль. Мы стабилизирующему действию оксипуринов в тканях придаем большое значение, так как их антиоксидантное действие, как мы видим, больше выступает в нейтральной и слабой щелочной среде, между тем как глутатион (43), цистин и цистеин лучше действуют в кислой среде, примерно при РН 5,0, чего мы в норме не имеем в тканях.

Опыты, поставленные с тканевыми срезами на рингере и на буфере с поглощением кислорода, показали, что и в этом случае оксипурины проявляют антиоксидантное действие при окислении аскорбиновой кислоты. Об этих опытах будет сообщено особо. Может быть, отчасти этим и объясняется большое содержание аскорбиновой кислоты в тканях, где больше клеточного субстрата, больше производных пурина. У некоторых растений с большим содержа-

нием производных пурина также наблюдается высокое содержание аскорбиновой кислоты, например, чай.

Аскорбиновая кислота имеет большое значение в активировании ферментов, и часто его окисление медью угнетает действие фермента. Так, Giri показал, что окисление аскорбиновой кислоты медью угнетает действие фосфатаз (43,44); в процессе своего окисления медью аскорбиновая кислота способна инактивировать находящуюся в соприкосновении с нею инвертазу (45). Далее, аскорбиновая кислота ускоряет окисление ненасыщенных жирных кислот и сахаров, но теряет это свойство при наличии меди (46). Катепсин также активируется аскорбиновой кислотой, а медь тормозит это действие (47), и вообще известно, что медь является ядом для многих ферментов и отравляет ферментативные процессы.

Из вышесказанного ясно, какое большое значение имеют вещества, связывающие медь и сохраняющие аскорбиновую кислоту в восстановительной форме. Этим свойством, как мы видим, обладают в значительной мере и оксипурины.

#### В Ы В О Д Ы

1. Оксипурины: гипоксантин, ксантин и мочевая кислота при окислении аскорбиновой кислоты как сами по себе, так и при наличии меди сильно тормозят окислительный процесс на воде и на фосфатном буфере при РН 6,2, 7,0, 7,3 и 8,0.

2. Их антиоксидантное действие лучше выражено в щелочной среде.

3. Антиоксидантное действие оксипуринов растет от гипоксантина к мочевой кислоте, усиливаясь с увеличением количества гидроксильных групп.

4. Антиоксидантное действие оксипуринов при окислении аскорбиновой кислоты медью сильнее, чем таковое у цистина, и растет с увеличением количества оксипуринов. 0,5 мг мочевой кислоты вполне достаточно для ясно заметного антиоксидантного действия при наличии 0,003 мг меди в 10 мл раствора. 10 мг мочевой кислоты задерживают каталитическое действие меди, когда последняя берется 0,75 мг на 10 мл раствора.

5. Из метилопроизводных оксипуринов кофеин и теобромин не оказались антиоксидантными при окислении аскорбиновой кислоты, теofilлин хорошо задерживает процесс окисления при РН 7,3.

6. Антиоксидантное действие оксипуринов при наличии меди можно объяснить образованием их соответствующих медных солей с низким окислительным потенциалом, чем у одной меди. Не исключена также возможность, что оксипурины, переходя в свою гидратную форму, могут восстановить дегидроаскорбиновую кислоту в аскорбиновую.

7. Повидимому, в обмене аскорбиновой кислоты (витамина С) оксипурины играют большую роль. Являясь хорошими стабилизаторами, они могут способствовать сохранению редуцированной формы витамина С и, тем самым, могут дать ему возможность выполнить свои жизненно необходимые функции.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. C. A. Szent-Györgyi, *Science* **62**, 125 (1930).
2. \* " *I. biol. chem.*, **90**, 385 (1931).
3. H. Tauber, Y. Kleiner a. D. Mishkind, *I biol. chem.*, **110**, 211 (1936).
4. F. G. Hopkins a. E. I. Morgan, *Biochem. I.*, **30**, 1446 (1936).
5. M. Srinivasan, *Biochem. I.*, **30**, 2077 (1936).
6. E. S. G. Barron, A. G. Barron a. F. Klemperer, *I. biol. chem.* **116**, 563 (1936).
7. Z. I. Kertesz, R. B. Dearborn a. C. L. Mock, *I. biol. chem.*, **116**, 717 (1936).
8. S. W. Johnson a. S. S. Zilva, *Biochem. I.*, **31**, 438 (1937).
9. W. Stone, *Biochem. I.*, **31**, 508 (1937).
10. В. А. Энгельгардт и В. Н. Букин, *Биохимия*, **2**, 274 (1937).
11. C. A. Szent-Györgyi, *Biochem. I.*, **22**, 1987 (1928).
12. C. A. Szent-Györgyi, *Биохимия*, **2**, 151 (1937).
13. В. А. Энгельгардт и В. Н. Букин, *Биохимия*, **2**, 274 (1937).
14. St. Huszak, *Z. Physiol. Chem.*, **247**, 239 (1937).
15. S. W. Johnson a. S. S. Zilva, *Biochem. I.*, **31**, 438 (1937).
16. Keilin'a. Mann, *Proc. Roy. Soc. B.*, **125**, 187 (1938).
17. Б. И. Гольдштейн и Д. В. Волькензон, *Биохимия* **4**, 457 (1939).
18. Green, *Biochem. I.*, **27**, 303 (1933).
19. L. De sago и M. Gianì, *Z. physiol. chem.*, **228**, 13 (1934).
20. C. A. Mawson, *Biochem. I.*, **29**, 569 (1935).
21. A. E. Kallie a. S. S. Zilva, *Biochem. I.*, **29**, 1028 (1935).
22. W. D. McFarlane, *Biocem. I.*, **30**, 1473 (1936).
23. F. Steigerwaldt, *Bioch. Z.*, **298**, 197 (1938).
24. F. G. Hopkins a. E. I. Morgan, *Biochem. I.*, **30**, 1446 (1936).
25. M. Büllow, *Z. phys. chem.*, **242**, 40 (1936).
26. H. Borsook, H. W. Davenport, C. E. P. Jeffreys a. R. C. Warner, *I. biol. chem.*, **117**, 237 (1937).
27. Г. Х. Бунятян и В. Г. Мхитарян, *Сборник научн. труд. Ереван. Мед. Института* **1**, 18.
28. Г. Х. Бунятян, *Известия Арм. Филиала АН СССР* 1940.
29. M. Iamamoto, *Z. phys. chem.*, **243**, 266 (1936).
30. E. Abderhalden, *Chem. Zent.*, 1936 II 2691.
31. " " *Chem. Zent.* 1936 I 4459.
32. В. А. Энгельгардт и В. Н. Букин, *Биохимия*, **2**, 587 (1937).
33. S. W. Johnson a. S. S. Zilva, *Bioch. I.*, **28**, 1393 (1934).
34. A. E. Kellie a. S. S. Zilva, *Biochem. I.*, **30**, 361 (1936).
35. E. M. Crook a. F. G. Hopkins, *Biochem. I.*, **32**, 1956 (1938).
36. W. Reindel и W. Schuler, *Z. phys. Chem.*, **247**, 172 (1937).
37. V. H. Booth, *Biochem. I.*, **29**, 1732 (1935).
38. E. Boyland a. M. E. Boyland, *Biochem. I.*, **29**, 1097 (1935).
39. H. V. Euler и B. Skarzynski, *Z. Phys. Chem.*, **263**, 259 (1940).
40. B. Andersson, *Z. phys. Chem.*, **242**, 205 (1936).

41. Adler и Н. V. Euler, Z. phys. Chem., **232**, 10 (1935).
42. Н. Fromherz и А. Hartmann, Chem. Z., 1936 II 3899.
43. К. V. Giri, Biochem. I., **33**, 309 (1939).
44. К. V. Giri, Z. phys. Chem., **254**, 126 (1936).
45. К. И. Старчицкий, Биохимия, **5**, 181 (1940).
46. Р. Holtz, Chem. Z. 1936 II 2560.
47. Н. V. Euler, Р. Karrer и F. Zschender, Helv. Chim. Acta **17**, 157 (1934).