

А. Н. ПАРШИН

**НЕКОТОРЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ
К ОБОСНОВАНИЮ НОВОЙ ТЕОРИИ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ
АМИНОКИСЛОТ В ЖИВОТНОЙ И РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ**

(Представлено академиком К. М. Быковым 14 IV 1947)

Занимаясь в течение многих лет изучением путей биологического распада и синтеза карнозина, мы естественно не могли не остановиться на выяснении судьбы обоих его компонентов: *l*-гистидина и β -аланина в животном организме. Наше внимание в первую очередь было обращено на гистидин. Поводом к этому послужило то обстоятельство, что превращение этой аминокислоты в животной и растительной клетке, несмотря на большое количество исследований, остается не выясненным. В самом деле, в то время как, согласно данным Эдельбахера (1), гистидин превращается при анаэробных условиях гистидазой печени в *l*-глутаминовую кислоту, причем происходит потеря двух атомов азота в виде аммиака за счет разрыва имидазольного кольца, Котакэ и его сотрудники (2) держатся иной точки зрения, полагая, что распад молекулы гистидина начинается с процесса дезаминирования α -аминогруппы и образования уроканиновой кислоты, которая в дальнейшем под влиянием особого фермента — уроканиназы переходит в *d*, *l*-изоглутамин. Работы (3-5), появившиеся уже после того, как наши опыты были проведены, не внесли чего-либо нового. Если к этому добавить, что в литературе описаны и другие ферментативные превращения гистидина — окислительное дезаминирование, декарбоксилирование, связанное с образованием гистамина, то дальнейшая разработка затронутого вопроса делается не только желательной, но и необходимой. Исходя из этого, мы продолжили ряд опытов, которые, как и эксперименты Эдельбахера, проводились с экстрактами печени различных животных.

Последние готовились экстрагированием четырехкратным количеством 0,1 *M* фосфатного буфера (рН=8) печеночной гомогенной массы, полученной после растирания в ступке с измельченным стеклом. В качестве субстратов мы пользовались монохлоргидратом гистидина фирмы Мерк, уроканиновую кислоту синтезировали сами по Эдельбахеру. Белки осаждались 20% трихлоруксусной кислотой, в фильтрате определялся аммиак по Фолину, NH_2N — по ван-Слайку, гистидин и уроканиновая кислота диазореакцией в модификации Мешковой. Кроме того, протравливалась всегда бромная проба на свободный гистидин. Пробы инкубировались в термостате при 37° (рН=8) в течение 24 час.; антисептиком служил хлороформ.

Применение не только свежего, но и стоявшего несколько дней печеночного экстракта дало нам возможность установить наличие, по крайней мере, двух ферментов, осуществляющих биологическое

превращение гистидина. Один из этих энзимов, вызывающий дезаминирование α -NH₂-группы гистидина, оказался гораздо более стойким при стоянии, чем другой фермент, при действии которого уроканиновая кислота переходит в неидентифицированный промежуточный продукт. Этим простым и удобным путем посчастливилось освободить дезаминазу гистидина от уроканиназы, что не удалось раньше осуществить лабораториям Эдельбахера, Котакэ и Шмидта, несмотря на использование сложной и кропотливой методики. Печень кролика оказалась наиболее подходящим источником для получения дезаминазы, так как находящаяся там в небольшом сравнительно количестве уроканиназа, благодаря своей лабильности, легко инактивируется при стоянии. Не подлежит сомнению теперь, что причины всех разногласий о механизме распада гистидина были обусловлены тем фактом, что прежние авторы имели в руках смеси этих энзимов. Наши опыты с освобожденным от уроканиназы печеночным экстрактом показывают, что начальная фаза расщепления гистидина заключается в дезаминировании α -NH₂-группы, а не в раскрытии имидазольного кольца (табл. 1), причем гистидин, теряя одну молекулу NH₃, количественно переходит в уроканиновую кислоту, которая может быть выделена при этих условиях и препаративным путем. Никаких других, побочных путей превращения гистидина не обнаруживается.

Таблица 1

Фермент	Гистидин, мг	NH ₂ N, мг	Уроканиновая кислота, мг	Аммиак, мг		Бромная проба
				Na ₂ CO ₃	NaOH	
Кролик						
Свежий экстракт	40	0	0	3,71	7,38	—
После 7-дневного стояния	20	0	20	1,70	2,03	—
Крыса						
Свежий экстракт	20	0	0	1,75	3,62	—
После 6-дневного стояния	20	0	20	1,67	1,79	—
Кошка						
Свежий экстракт	20	0	0	1,76	3,64	—
То же	20	0	0	1,84	3,71	—

При действии свежих печеночных экстрактов, в особенности печени кошек, гистидин дает одну молекулу NH₃, вытесняемую содой, и неизвестное промежуточное соединение, при обработке которого 30% раствором NaOH отщепляется аммиак и образуется новый продукт со свободной NH₂-группой. Уроканиновая кислота под влиянием свежего печеночного экстракта образует те же продукты, как и гистидин, что доказывается исчезновением диазореакции, освобождением NH₃ только при действии NaOH и переходом при этом в аминокоединение (табл. 2).

Часть наших исследований, касающихся выяснения природы осколков молекулы гистидина и уроканиновой кислоты, еще продолжается. Одновременно нами изучается судьба других имидазольных производных в животной и растительной клетке, в частности метилгистидина.

Таким образом, представление Эдельбахера о судьбе гистидина оказалось неправильным и само название фермента „гистидидаза“ вряд ли удержится в литературе, поскольку оно относилось, как теперь выяснилось, к смеси энзимов. Правда, если найденная дезаминаза

окажется специфичной исключительно только для гистидина, то тогда наименование гистидазы можно будет перенести на этот фермент.

Таблица 2

Фермент	Уроканиновая кислота, мг		Аммиак, мг	
	взято	найдено	Na ₂ CO ₃	NaOH
Кролик				
Свежий экстракт	20	0	0	1,84
То же	20	0	0	1,78
После 5-дневного стояния	20	20	0	0
То же	20	20	0	0
Крыса				
Свежий экстракт	20	0	0	1,73
То же	20	0	0	1,86
После 8-дневного стояния	20	20	0	0
То же	20	20	0	0

Образование уроканиновой кислоты при анаэробных условиях из гистидина, вместо α -кето- или α -оксикислоты, представляет исключительный интерес, так как здесь, как нам думается, впервые удалось расшифровать начальные этапы превращения не только гистидина, но и других аминокислот, что подтверждается таким же механизмом дезаминирования и аспарагиновой кислоты (6). На основании этих фактов и изучения литературы по вопросу о судьбе аминокислот в животной и растительной клетках мы пришли к выводу, что процесс дезаминирования протекает при анаэробных условиях и сопровождается образованием соответствующих непредельных кислот, которые, присоединяя воду, переходят в оксикислоты, а последние в аэробных условиях окисляются до кетокислот.



Как видно из приведенного уравнения, нами отрицается стадия перехода аминокислоты в иминокислоту, которая, кстати никогда никем не была доказана, а повышенное поглощение кислорода при так называемом окислительном дезаминировании обуславливается окислением образующихся окси- и кетокислот. Одновременно наша схема показывает, что вообще нельзя говорить об окислительном или гидролитическом дезаминировании аминокислот в зависимости от обнаружения в качестве конечных продуктов α -кето- и α -оксикислот, поскольку все связано с тем, какой имеется ассортимент ферментов, действующих на эти соединения, в исследуемом биологическом объекте. Образование спиртов при сбраживании аминокислот, дезаминирование аминов также хорошо объясняется нашей теорией.

Выдвигаемая концепция находится в полном согласии и с целым рядом иных наблюдений. Так, описано анаэробное дезаминирование других аминокислот, показан переход в тканях и органах непредельных кислот в оксикислоты, установлено ферментативное окисление α -оксикислот в α -кетокислоты и, что особенно интересно, оксидазу α -оксикислот нельзя отделить от оксидазы *l*-аминокислот, что привело

даже к мысли об идентичности обоих этих ферментов (⁷), с чем вряд ли можно согласиться. Насколько правильной окажется наша теория, покажут дальнейшие исследования.

Отдел общей физиологии
Института экспериментальной медицины
Академии Медицинских Наук СССР

Поступило
14 II 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ S. Edelbacher, *Ergebn. Enzymforsch.*, **9**, 131 (1943). ² M. Kotake, *Z. physiol. Chem.*, **270**, 38 (1941). ³ A. Walker and C. Schmidt, *Arch. Biochem.*, **5**, 445 (1945). ⁴ Ch. Morel, *Helv. Chim. Acta*, **29**, 905 (1946). ⁵ K. Schmid, *ibid.*, **29**, 979 (1946). ⁶ A. Virtanen u. I. Tarnanen, *Bioch. Z.*, **250**, 193 (1932). ⁷ M. Blanchard, D. Green, V. Nocito-Carrol and S. Ratner, *J. Biol. Chem.*, **163**, 137 (1946).