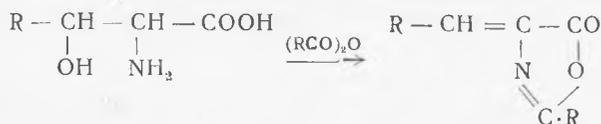


М. М. БОТВИНИК, Г. Я. ГАУХМАН и И. С. СЕВЕРИН

**КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА  $\beta$ -ОКСИ- $\alpha$ -АМИНОКИСЛОТЫ И  
КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА СЕРИН**

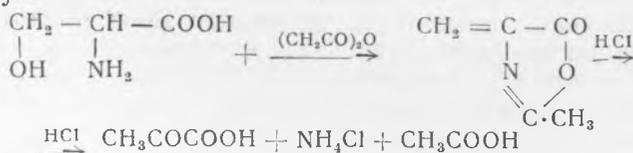
(Представлено академиком А. Н. Несмеяновым 7 VII 1948)

Многочисленные исследования показали, что  $\beta$ -окси- $\alpha$ -аминокислоты широко распространены в белках (1). В некоторых случаях, как, например, в серине шелка, они занимают доминирующее положение. Однако методы выделения их из белковых гидролизатов и методы специфического определения сложны и трудоемки. В связи с этим представляло интерес разработать качественную реакцию на  $\beta$ -оксиаминокислоты и на индивидуальные оксиаминокислоты. Основой для этой реакции явилась способность оксиаминокислот при нагревании с уксусным (2) или бензойным (3) ангидридами переходить в ненасыщенные азлактоны.



Появляющаяся в результате реакции двойную связь легко обнаружить перманганатом по Байеру.

Образующиеся ненасыщенные азлактоны мало устойчивы и при нагревании легко разлагаются до соответствующих кетокислот. В случае серина образуется пировиноградная кислота, которая с салициловым альдегидом в щелочной среде дает оранжево-коричневую окраску.



Из всех аминокислот, встречающихся в белках, обе реакции дают только цистин, который, подобно оксиаминокислотам, превращается в ненасыщенный азлактон.

**Проведение реакции**

1. Качественная реакция на  $\beta$ -окси- $\alpha$ -аминокислоты. Небольшое количество сухой испытуемой смеси нагревают в пробирке с бензойным ангидридом в течение 5 мин. при 125—130°. Полученный плав после охлаждения растворяют в 60% спирте и проводят пробу на двойную связь по Байеру, прибавляя осторожно по каплям 0,5% раствор перманганата. Обесцвечивание

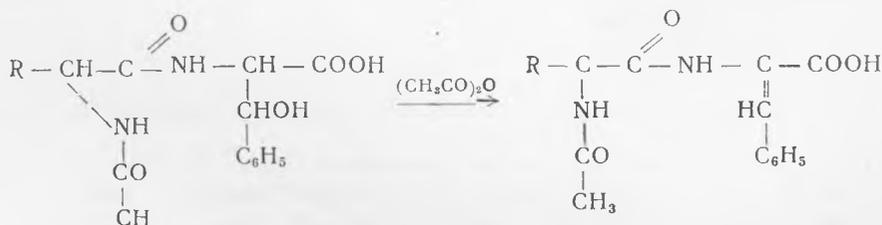
раствора должно происходить мгновенно; если окраска сохраняется хотя бы 1 мин., двойной связи в испытуемой смеси нет.

2. Качественное определение серина. Небольшое количество сухой пробы, содержащей не менее 8 мг серина, нагревают на голем огне 1 мин. с 0,5 мл уксусного ангидрида и уксуснокислым натрием, взятым на кончик ножа. К полученному раствору добавляют 1 мл 1 N HCl и омыляют образовавшийся азлактон 5 мин. на кипящей водяной бане. Затем охлаждают 1 мин. холодной водой, добавляют 1 мл концентрированного раствора KOH (100 г KOH в 60 мл H<sub>2</sub>O), вновь охлаждают 3 мин. и вносят 0,5 мл 2% спиртового раствора салицилового альдегида. Появляется сначала лимонно-зеленая окраска, довольно быстро переходящая в оранжево-коричневую. Развитие окраски можно ускорить нагреванием на водяной бане при 37—40°. Рекомендуются проводить контрольный опыт с реактивами. При чистых реактивах и правильном проведении реакции контрольный раствор окрашивается в устойчивый лимонно-зеленый цвет, не переходящий в оранжево-коричневый.

Гликоколь, аланин, лейцин, фенилаланин, тирозин, фенилсерин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аргинин, лизин, гистидин, триптофан, треонин, оксинорвалин, пролин не реагируют.

Проведение реакции в гидролизате белка. 1—2 мл слабо кислого, по возможности, хорошо обесцвеченного гидролизата упаривают досуха на водяной бане. Для полного удаления воды добавляют 0,5 мл уксусного ангидрида и еще раз упаривают на водяной бане. С остатком проводят качественную реакцию на серин, как описано выше.

В 1943 г. Доэрти, Тицман и Бергман<sup>(5)</sup> показали, что дегидратация оксиаминокислот под действием уксусного ангидрида происходит не только со свободными оксиаминокислотами, но и с пептидами, в которых свободный карбоксил принадлежит оксиаминокислоте.



Подобный ненасыщенный пептид при омылении образует кетокислоту. В случае серина образуется пировиноградная кислота, которую можно обнаружить с салициловым альдегидом.

Таким путем можно, повидимому, определять положение серина в пептиде.

Лаборатория химии белка акад. Н. Д. Зелинского  
Московского государственного университета  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
28 VI 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Е. Д. Стахеева-Каверзнева, ЖОХ, 13, 408 (1943); A. J. P. Martin and R. L. M. Synge, Biochem. J., 35, 294 (1941); В. Н. Nicolet and L. J. Sidel, J. Biol. Chem., 139, 477 (1941); М. М. Ботвиник и Е. Н. Нерсесова, ДАН, 52, 429 (1946). <sup>2</sup> E. Erlenmeyer u. E. Früstuck, Lieb. Ann., 284, 36 (1895). <sup>3</sup> E. Erlenmeyer u. Früstuck, ibid., 284, 39 (1895); М. М. Ботвиник, М. А. Прокофьев и Н. Д. Зелинский, ДАН, 30, 129 (1941). <sup>4</sup> F. V. Straub, Z. physiol. Chem., 244, 117 (1936). <sup>5</sup> D. G. Doherty, J. E. Tietzman and M. Bergmann, J. Biol. Chem., 147, 617 (1943).