

Действительный член Академии медицинских наук СССР  
А. Е. БРАУНШТЕЙН

### ПУТИ ПРЕВРАЩЕНИЯ L-ТРИПТОФАНА В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ И ФУНКЦИИ ВИТАМИНА В<sub>6</sub> В ЭТИХ ПРЕВРАЩЕНИЯХ

Недавно автором и Е. Горяченковой (1) установлено, что L-кинуренин расщепляется кинурениназой печени на антраниловую кислоту и аланин и что активным протестическим компонентом кинурениназы служит фосфопиридоксаль, вследствие чего активность этого фермента резко понижена при авитаминозе В<sub>6</sub>. Есть все основания считать кинурениназное расщепление кинуренина одним из наиболее важных этапов распада триптофана в животном организме. Наши данные о природе кинурениназы и о продуктах ее действия проливают свет на неизвестную прежде судьбу боковой цепи и α-аминогруппы триптофана в процессах тканевого обмена и позволяют дать определенный ответ на вопрос о механизме участия витамина В<sub>6</sub> и триптофана в биосинтезе никотиновой кислоты. Предшественником последней, согласно новым данным (2), служит 3-оксиантраниловая кислота. Установлено, что последняя может образоваться в организме животных из некоторых производных антраниловой кислоты (3). В сопоставлении с этими исследованиями наши результаты вносят ясность в противоречивые данные литературы о значении недостаточности пиридоксина и триптофана в патогенезе пеллагры.

Стало очевидным, что пеллагра возникает тогда, когда кроме никотиновой кислоты в питании одновременно недостает триптофана и витамина В<sub>6</sub> или, по крайней мере, одного из этих двух незаменимых пищевых факторов. Введение больших доз триптофана и витамина В<sub>6</sub>, наряду с никотиновой кислотой, представляет поэтому наиболее рациональный принцип лечения пеллагры.

В биологических превращениях триптофана многое остается, однако, еще неясным. Каковы взаимоотношения между отдельными продуктами его обмена? Исчерпывается ли роль витамина В<sub>6</sub> в превращениях триптофана в теле животного его участием в ферментатическом расщеплении кинуренина? Каков интимный механизм установленного нами своеобразного гидролитического разрыва углеродной цепи кинуренина под влиянием кинурениназы? Изложенные ниже соображения намечают пути к решению этих вопросов.

Взаимоотношения между продуктами распада триптофана. Выделение кинуреновой кислоты наблюдается у многих видов животных при введении чрезмерных количеств триптофана. Согласно данным Когаке, синтез кинуреновой кислоты происходит в печени; ему должно предшествовать окислительное дезаминирование кинуренина, которое, по нашим данным, не имеет места в переживающих тканях и, повидимому, и в живом организме представляет медленный процесс (1,2,4). Судя по всему, заметное образование кин-

уреновой кислоты возможно только в условиях „застоя“ кинуренина в организме и, в частности, в печени, т. е. тогда, когда кинурениназа не успевает расщеплять кинуренин, образуемый в больших количествах из триптофана энзимом триптофанпирролазой (4). По нашим наблюдениям, последний процесс (по крайней мере, в срезах печени крысы и кошки) протекает в норме быстрее кинурениназной реакции (1). В нормальных условиях основная масса кинуренина, повидимому, расщепляется в организме животных кинурениназой. При авитаминозе В<sub>6</sub>, когда это расщепление задержано, животные после нагрузки триптофаном или кинуренином выделяют ксантуруеновую кислоту, наряду с нерасщепленным кинуренином. Поскольку кинуреновая кислота в тех же условиях не окисляется в организме в ксантуруеновую кислоту, образованию последней из кинуренина, очевидно, должно

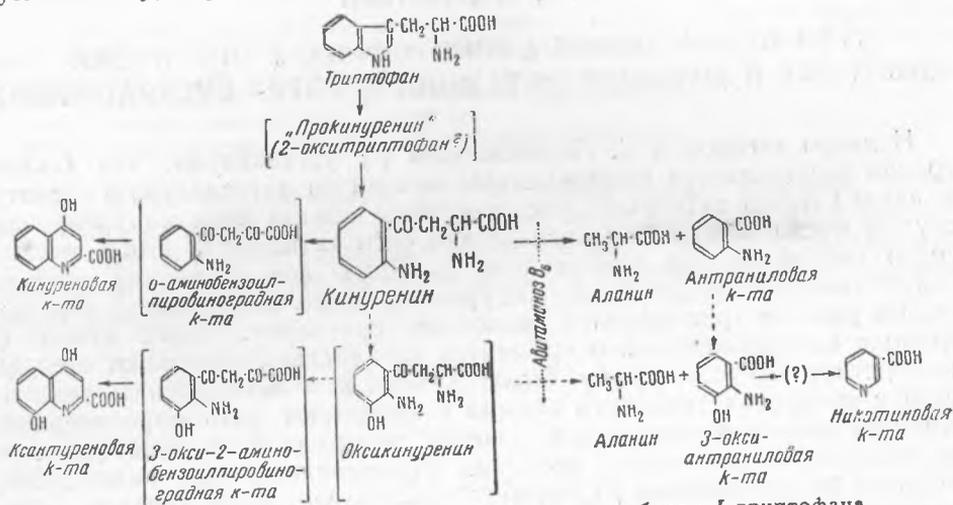


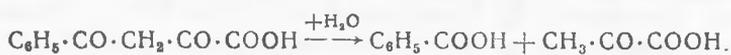
Схема 1. Соотношения основных продуктов обмена L-триптофана

предшествовать окислению кинуренина в 3-окси-2-аминобензоилаланин, или окскинуренин. Этот гипотетический, пока не обнаруженный продукт распада триптофана представляет значительный интерес в связи с проблемой биогенеза никотиновой кислоты. Если окскинуренин образуется и в нормальных условиях, то вполне вероятно, что он, аналогично кинуренину, гидролизуется кинурениназой на аланин и 3-оксиантрациловую кислоту. О роли последней как предшественника никотиновой кислоты упомянуто выше. Такой путь образования 3-оксиантрациловой кислоты, пожалуй, более вероятен, чем отщепление антрациловой кислоты от кинуренина и последующее ее окисление (см. также (9)). По крайней мере, в организме кролика оксиантрациловая кислота не образуется (точнее, не выделяется) при введении антрациловой кислоты и выделяется лишь после введения ее производных, например антрациламида (3). Кроме того, путь через окскинуренин лучше согласуется с теми изменениями обмена триптофана, которые наступают у животных при недостаточности витамина В<sub>6</sub>. Снижение активности кинурениназы при В<sub>6</sub>-авитаминозе, вызывая застой на стадии кинуренина, способствует его окислению в окскинуренин, который по той же причине, в свою очередь, не может превращаться в 3-оксиантрациловую кислоту и далее в никотиновую, но застаивается и подвергается постепенно дезаминированию и циклизации в ксантуруеновую кислоту (см. схему 1).

Изложенные представления, отображенные в схеме 1, позволяют объяснить соотношения главных продуктов превращения триптофана в теле животных и основные нарушения его обмена при недоста-

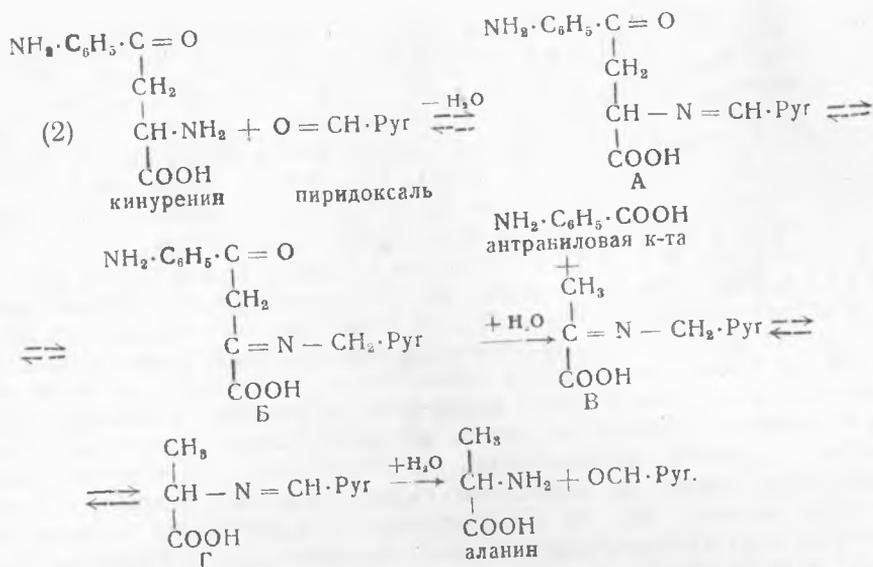
точности витамина В<sub>6</sub>. Неясными остаются причины прекращения при В<sub>6</sub>-авитаминозе образования кинуреновой кислоты после нагрузки триптофаном. Предположение, что при участии витамина В<sub>6</sub>, кроме действия кинурениназы, протекают те или иные промежуточные реакции, ведущие от кинуренина к кинуреновой кислоте (например дезаминирование), было бы трудно совместить с тем обстоятельством, что авитаминоз В<sub>6</sub> способствует совершенно аналогичному процессу образования ксантуреновой кислоты.

О механизме ферментатического расщепления кинуренина. Гидролиз кинуренина на антраниловую кислоту и аланин при действии кинурениназы — весьма своеобразная реакция, не имеющая прямых аналогий в органической химии и еще недавно не имевшая их в биохимии. Распад кинуренина в водном растворе при нагревании в щелочной среде ведет к образованию *o*-аминоацетофенона и аммиака (Котаке) и носит, следовательно, совершенно иной характер. Другим соединениям, содержащим 1,3-аминокетонную группировку, также не свойствен гидролитический разрыв углеродной цепи между СН<sub>2</sub>- и СО-группами, для которого электронная структура этой группировки не дает предпосылок. Гидролизу углеродной цепи кинуренина, несомненно, должны предшествовать изменения структуры молекулы при взаимодействии с ферментом, облегчающие этот гидролиз. Общеизвестно, что β-дикетоны и эфиры β-кетокислот, имеющие активную метиленовую группу между двумя СО-группами, в отличие от 1,3-аминокетонов, легко доступны гидролизу („кислотному расщеплению“). Примером могут служить реакции разрыва углеродной цепи при действии щелочей на ацетоуксусный эфир, ацетил-ацетон или циклогексан-1,3-дион (7). Большое сходство с этими реакциями представляет недавно открытый (8) ферментатический гидролиз 2,4-дикетокислот (алифатических и ариалифатических) в животных тканях с отщеплением пировиноградной кислоты, например:



При кинурениназной реакции промежуточное образование 2,4-дикетокислоты (*o*-аминобензоилпировиноградной) исключается, так как реакция не сопровождается дезаминированием. Кроме того, в случае образования этой кислоты в ткани следовало бы ожидать циклизации ее в кинуреновую кислоту (схема 1).

Участие фосфопиридоксала в действии кинурениназы позволяет приблизиться к пониманию этой реакции. В соответствии с образом действия фосфопиридоксала как активного компонента других ферментов (аминофераз, аминокислотных декарбоксилаз (4)), мы вправе предполагать, что и в кинурениназе альдегидная группа пиридоксала (ОСН·Pyr) конденсируется с α-аминогруппой субстрата в промежуточное соединение (шиффово основание А, схема 2), находящееся в равновесии с таутомерной формой Б. Таутомер Б представляет замещенную 2-имино-4-кетокислоту. В силу близкого сходства электронных структур и химического поведения иминной (С=N—) и кетонной (С=О) групп метиленовая группа в этом соединении активна, и оно должно, подобно β-дикетонам и 2,4-дикетокислотам, легко подвергаться гидролитическому расщеплению, давая антраниловую кислоту и шиффово основание В. Последнее не гидролизуется непосредственно на пировиноградную кислоту и аминокислотную форму фермента (пиридоксаминпротеид), как это имеет место при действии фермента. Оно должно сперва перейти обратно в таутомерную форму Г с водородом при α-углероде, которая затем распадается на аланин и неизмененную альдегидную форму кинурениназы (пиридоксальпротеид):



Образование аминов при энзиматическом декарбоксилировании  $\alpha$ -аминокислот объясняется подобной же обратной таутомерной перегруппировкой промежуточных шиффовых оснований ((4), стр. 26 и 100).

Полную аналогию к разрыву углеродной цепи кинуренина представляет отщепление  $\beta$ -карбоксила *L*-аспарагиновой кислоты с образованием  $\alpha$ -аланина под влиянием бактериальной аспартикодекарбоксилазы, открытой С. Р. Мардашевым. По последним данным, протестической группой этого энзима, вероятно, также является фосфопиридоксаль (8). Механизм его действия должен выражаться той же схемой реакций, что и действие кинурениназы (см. выше).

Взаимодействуя с различными энзимами, содержащими фосфопиридоксаль, аминокислоты подвергаются совершенно различным превращениям: аминотрансферазы осуществляют перенос аминогруппы (переаминирование), аминокислотные декарбоксилазы — отщепление  $\alpha$ - или  $\beta$ -карбоксила, кинурениназа — гидролиз между  $\beta$ -метиленовой и  $\gamma$ -кетонной группами, триптофаназа бактерий — расщепление триптофана на индол и  $\alpha$ -аминоакриловую кислоту (6). Направление реакций зависит, очевидно, как от строения субстрата, так и от природы специфического белкового компонента энзима, с которым соединен фосфопиридоксаль. Все эти превращения, однако, находят объяснение в ионотропных и индуктивных изменениях электронной структуры молекулы аминокислот при конденсации их с пиридоксалем (ср. (10)), а именно, в большой подвижности последних к обратимым таутомерным перегруппировкам. Теория резонанса позволяет предвидеть пути превращения, вероятные при данной структуре молекулы субстрата.

Институт биологической и медицинской химии  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
11 II 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 А. Браунштейн и Е. Горяченкова, Биохимия, 14, № 2 (1949).
- 2 А. Браунштейн и Е. Горяченкова, Биохимия, 8, 37 (1943). 3 Н. Вгау, et al., Biochem. J., 42, 434 (1948).
- 4 А. Браунштейн, Биохимия аминокислотного обмена, М., 1948.
- 5 А. Meister and J. Greenstein, J. biol. Chem., 175, 573 (1948).
- 6 W. Wood, I. Gunsalus and W. Umbreit, ibid., 170, 313 (1947).
- 7 V. Meyer u. P. Jacobson, Lehrbuch d. organ. Chem., 2. Aufl. 1, T. 2, S. 843, 1167, Berlin, 1923.
- 8 С. Мардашев и Р. Эттингер, Биохимия, 13, 402 (1948).
- 9 H. Mitchell and J. Nyc, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 34, 1 (1948).
- 10 М. Шемякин и И. Редькин, ЖОХ, 11, 1142 (1941).