

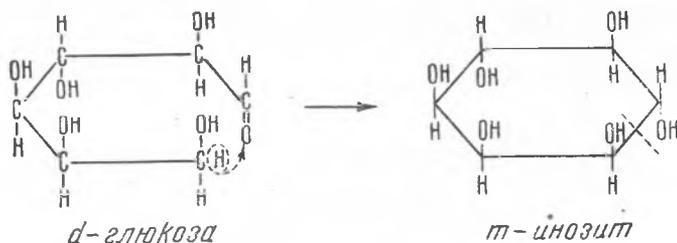
Член-корреспондент АН СССР А. КУРСАНОВ, М. ВОРОБЬЕВА
и Э. ВЫСКРЕБЕНЦЕВА

m-ИНОЗИТ В ЛИСТЬЯХ ЧАЯ И ПУТИ ЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

Некоторое время тому назад в нашей лаборатории были начаты исследования над образованием полифенолов в листьях чая. Тогда же было обнаружено, что в листьях чая, которые отличаются сильно выраженной способностью к образованию полифенолов, всегда присутствует около 1% инозита (¹). Роль инозита в растениях, видимо, довольно разнообразна, однако нахождение его в листьях чая, и притом в относительно высоких количествах, представляло, с нашей точки зрения, особый интерес, так как в большинстве гипотез, касающихся синтеза полифенолов, инозиту отводится место промежуточного продукта, предшествующего образованию ароматического кольца.

Позднее было обнаружено, что в листьях чая может быть экспериментально вызван синтез инозита при инъекции в ткани глюкозы, сахарозы или некоторых гликозидов (²).

Из трех стереоизомеров инозита, встречающихся в растениях (*m*-, *d*- и *l*-инозит), только *m*-инозит соответствует по своей конфигурации глюкозе, из которой он мог бы быть получен при возникновении связи между ее крайними углеродными атомами (альдольное замыкание). С другой стороны, разрыв цикла *m*-инозита между 5-м и 6-м углеродными атомами с переносом водорода от 5-го к 6-му углероду должен был бы приводить к возникновению глюкозы (⁴) (см. схему).



Образование других форм инозита не может быть представлено непосредственно из глюкозы. Более вероятно поэтому, что их синтез осуществляется вторично, в результате перегруппировок, происходящих в молекуле *m*-инозита (⁵). Не исключена, однако, и возможность, что синтез различных форм инозита происходит не непосредственно из глюкозы, а из более простых продуктов, например из глициринового альдегида или из гликолевого альдегида, из которых при аль-

дольной конденсации мог бы образоваться инозит различной конфигурации. Из сказанного следует, что установление стереоизомерной формы инозита в листьях чая может способствовать выяснению пути образования его в растении.

Среди известных в настоящее время стереоизомеров инозита только *m*-инозит является необходимым фактором для развития некоторых микроорганизмов. На этой особенности *m*-инозита и был основан в 1941 г. метод его количественного определения ⁽⁶⁾.

В своих исследованиях мы воспользовались культурой пивных дрожжей низового брожения *Saccharomyces carlsbergenses* (*Sacch. carlsberg*), которая была нам любезно предоставлена Е. Н. Одинцовой.

Названная раса дрожжей, как установила Е. Н. Одинцова, совершенно неспособна синтезировать *m*-инозит.

Основной средой служила смесь Риддера с добавлением к ней витамина В₆, биотина, кальциевой соли пантотеновой кислоты, В₁ и никотиновой кислоты.

Для установления зависимости роста дрожжей от содержания инозита были проведены опыты, в которых к среде, стерильно разлитой в пробирки (по 5 мл), добавлялись различные дозы *m*-инозита (от 0,1 до 5 μ г на каждый мл среды). Зараженные одной каплей дрожжевой суспензии (2-дневной культуры) растворы вы-

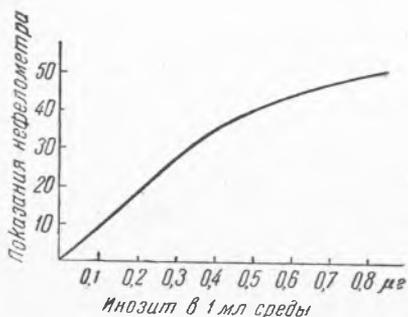


Рис. 1. Зависимость между интенсивностью развития дрожжей (мутностью) и концентрацией *m*-инозита в растворе

держивались 5 дней при 27° и затем испытывались на мутность в ступенчатом колориметре, снабженном приспособлением для определения концентрации взвешенных частиц в отраженном свете.

Результаты представлены на рис. 1.

Для извлечения инозита из листьев чая высушенные и измельченные листья 3 раза экстрагировались горячей водой; объединенный экстракт обрабатывался средним уксуснокислым свинцом, избыток свинца удалялся сероводородом, а бесцветный раствор упаривался на водяной бане до малого объема и стерилизовался.

При работе с чайными экстрактами мы всегда стремились разбавить экстракт таким образом, чтобы получить в среде для выращивания концентрацию *m*-инозита не более 0,4 μ г на 1 мл, так как в этом пределе определение *m*-инозита по мутности удается наиболее точно (рис. 1).

Уже первые опыты позволили констатировать в листьях грузинской разновидности чая наличие биологически активного инозита, что соответствовало и литературным указаниям ⁽⁷⁾. Для того чтобы узнать, весь ли инозит в чае является мезо-формой, мы производили определения свободного и связанного инозита в различных образцах чайных листьев параллельно — химическим методом А. Смирнова ⁽⁸⁾ и биологическим методом. В табл. 1 приводятся некоторые данные, характеризующие суммарное содержание инозита, определяемое каждым из этих методов.

Из приведенных цифр видно, что биологический метод открывает не только весь инозит, определяемый химическим путем, но обнаруживает даже несколько повышенные количества, что объясняется индивидуальными особенностями метода.

Эти данные позволяют сделать заключение, что весь инозит, содержащийся в листьях чая, является *m*-инозитом.

Для того чтобы выяснить, какая форма инозита образуется в ли-

стях чая при искусственном обогащении их сахарами или другими вероятными предшественниками, мы разрезали взрослые листовые пластинки по средней жилке на половинки и инфильтрировали одни из

Таблица 1
Общее количество инозита в листьях чая, определяемое химическим и биологическим методами (в мг на 1 г сухого веса) (Листья собраны с различных плантаций в Грузии)

Химический метод	Биологический метод
8,2	8,9
6,0	7,0
9,3	11,3
6,4	7,3
4,9	5,4

них 0,05 М растворами того или иного вещества*, а другие, параллельные к ним, — водой. Через 1 час после инфильтрации листья фиксировались быстрым высушиванием в токе горячего воздуха (98°). Анализы этих образцов биологическим методом привели к результатам, представленным в табл. 2.

Приведенные цифры показывают, что при экспериментальном синтезе инозита в листьях чая из глюкозы, фруктозы, сахарозы и глюкозо-1-фосфата также образуется *m*-инозит. Часть его обнаруживается в свободном состоянии, однако главная масса уже за первый час входит в состав каких-то соединений, из которых инозит может быть освобожден 12-часовым гидролизом с 22% серной кислотой. Мы еще недостаточно знаем о природе инозитсодержащих соединений в чае, однако известно, что около 25% связанного инозита отщепляется под действием β-глюкозидазы⁽³⁾.

Синтез *m*-инозита из сахарозы происходил в этих опытах в 3 раза быстрее, чем из глюкозы, что совпадает с результатами прежних опытов, в которых инозит определялся химическим путем⁽²⁾. Такое преимущество сахарозы нельзя отнести за счет использования ее фруктозного компонента, так как синтез *m*-инозита из свободной фруктозы, как видно из табл. 2, не обнаруживает существенного преимущества перед глюкозой.

Более вероятно поэтому, что легкое использование сахарозы для синтеза *m*-инозита находится в зависимости от наличия в ней глюкозидной связи, которая каким-то образом способствует этому превращению. В пользу такой зависимости говорят и прежние наши опыты, показавшие, что из β-глюкозидов (салицина и арбутина) синтез инозита происходит быстрее, чем из свободной глюкозы⁽²⁾. Аналогичная картина получена и в опыте с глюкозо-1-фосфатом (табл. 2), который показал, что глюкоза, связанная в положении 1 с фосфорной кислотой, в 3 раза быстрее превращается в инозит, чем свободная глюкоза.

Однако не всякая глюкозидная связь может способствовать синтезу инозита. В частности, мальтоза совсем не используется для этого синтеза (табл. 2), что объясняется, вероятно, недоступностью ее 1:4 α-глюкозидной связи ферментативному аппарату чайного листа.

* Все вещества, употреблявшиеся в этих опытах, были проверены на отсутствие в них примеси инозита.

Таблица 2

Синтез *m*-инозита в листьях чая из различных предшественников (в мг на 1 г сухого веса). (Взрослые листья собирались с одних и тех же растений на плантации в Анасеули, Грузия)

Дата сбора	Введенное вещество	<i>m</i> -инозит					
		свободный		связанный		общий	
		содержание	прирост за 1 час	содержание	прирост за 1 час	содержание	прирост за 1 час
12 IX	H ₂ O	2,4		4,4		6,8	
	Глюкоза	2,1	(-0,3)	5,6	1,2	7,7	0,9
14 IX	H ₂ O	1,6		6,2		7,8	
	Фруктоза	1,8	0,2	7,1	0,9	8,9	1,1
14 IX	H ₂ O	3,2		3,8		7,0	
	Сахароза	3,8	0,6	6,2	2,4	10,0	3,0
9 IX	H ₂ O	2,0		9,4		11,4	
	Глюкозо-1-фосфат . . .	3,0	1,0	11,3	1,9	14,3	2,9
13 IX	H ₂ O	—		—		6,2	
	Мальтоза	—	—	—	—	6,1	-0,1
10 IX	H ₂ O	1,7		4,6		6,3	
	Рамноза	1,7	(0,0)	4,6	(0,0)	6,3	(0,0)
16 IX	H ₂ O	—		—		11,6	
	Глицериновый альдегид	—	—	—	—	11,4	(-0,2)
16 IX	H ₂ O	—		—		11,3	
	Гликолевый альдегид . .	—	—	—	—	11,1	(-0,2)

Рамноза также не дает прироста инозита, определяемого биологическим или химическим путем, хотя эта метилпентоза и присутствует постоянно в листьях чая в виде рамнозида кверцитрина.

Из табл. 2 видно, что глицериновый альдегид и гликолевый альдегид, превращение которых в инозит легко представить себе по схеме, в действительности не образуют в листьях чая инозита. Анализ этих образцов был проведен и химическим методом, который также не обнаружил прироста инозита. Отрицательные результаты были получены еще раньше с глицерином и пировиноградной кислотой⁽²⁾.

Все это не дает нам оснований считать, что биозы или триозы, образующиеся в процессе углеводного обмена, являются предшественниками инозита в листьях чая. Полученные данные более соответствуют представлению о синтезе *m*-инозита из глюкозы в результате возникновения связи между ее 1-м и 6-м углеродными атомами. Можно думать, что этому превращению предшествуют подготовительные реакции, одна из которых и состоит в образовании глюкозидной связи.

Институт биохимии
им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
27 VII 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Н. Крюкова, Биохимия, 12, 516 (1947). ² А. Курсанов, Н. Крюкова и Э. Выскребенцева, Биохимия, 13, 530 (1948). ³ Н. Крюкова, Сборн. Биохимия чайного производства, 5, 56 (1947). ⁴ P. Fleury et P. Balatre, Les inositols, Paris, 1947, p. 19. ⁵ B. Magasinik and E. Ghargaff, Journ. Biol. Chem., 175, 929 (1948). ⁶ D. Woolley, ibid., 140, 453 (1941). ⁷ E. Eastcott, Journ. Phys. Chem., 32, 1094 (1928). ⁸ А. Смирнов, Сборн. работ по химии табака и махорки, 6, 87 (1935).