

БИОХИМИЯ

В. А. БИБЕР и И. М. ФАРБМАН

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ
ПРОСТРАНСТВЕННО-ИЗОМЕРНЫХ КИСЛОТ**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 7 VII 1950)

Наиболее типичными представителями этиленовой стереоизомерии являются фумаровая и малеиновая кислоты. Цис- и транс-изомерные конфигурации известны не только у дикарбоновых кислот. Такого рода изомеры получены и для непредельных одноосновных жирных кислот и для непредельных жирно-ароматических кислот и фенолокислот. Цис-изомерные формы кислот отличаются от транс-изомеров более низкой температурой плавления, большей растворимостью и более сильным кислотным характером, как это следует из сравнения первых констант диссоциации.

В связи с большим запасом энергии, лабильные цис-кислоты более способны к химическим превращениям. Относительная стабильность транс-форм обусловлена большей симметрией строения и пространственной удаленностью в расположении одинаково заряженных групп. Переход одной формы в другую происходит под влиянием факторов физического и химического характера. При нагревании до температуры плавления, при катализитическом действии галоидоводородных кислот и галоидов, при действии азотистой кислоты цис-изомерные формы кислот превращаются в транс-формы. Обратный переход происходит при поглощении транс-кислотами необходимого количества энергии, соответствен-но уровню последней в цис-изомерах. Так например, при действии ультрафиолетовых лучей на растворы фумаровой, коричной и кумаровой кислот были получены цис-изомерные малеиновая, алло-коричная и кумариновая кислоты. Более активные в химическом отношении, эти кислоты катализитически восстанавливаются быстрее своих транс-изомеров. Повышенная способность цис-конфигурации к химическим превращениям установлена и для дипептидов: дипептилазами расщепляются только цис-соединения, в которых свободные карбоксильные и аминные группы находятся в непосредственной близости.

Для изучения сравнительной биологической активности цис- и транс-изомерных кислот нами были взяты фумаровая, малеиновая и коричная, алло-коричная кислоты. Для этих кислот переход в цис-форму при действии ультрафиолетовых лучей доказан экспериментально. В наших опытах мы пользовались готовыми химически чистыми фумаровой и малеиновой кислотами; первая плавилась при 237°, вторая — при 130°.

Изомерные коричная и алло-коричная кислоты были приготовлены нами. Приготовленная по способу Перкина коричная кислота плавилась при 133°. Алло-коричная кислота была получена облучением кварцевой лампой бензольного раствора коричной кислоты. Температура плавления очищенной кислоты была равна 67—68°. Из этих кислот готови-

лись 0,001 M и более разбавленные растворы, причем растворение цис-изомерных кислот велось при комнатной температуре. Растворы кислот стерилизовались и хранились в стеклянных ампулах.

При изучении биологической активности мы пользовались следующими тестами: действием растворов кислот на ферментативную активность дрожжей, на развитие прорастающих семян, на дыхание корней и на скорость заживления кожных дефектов у животных.

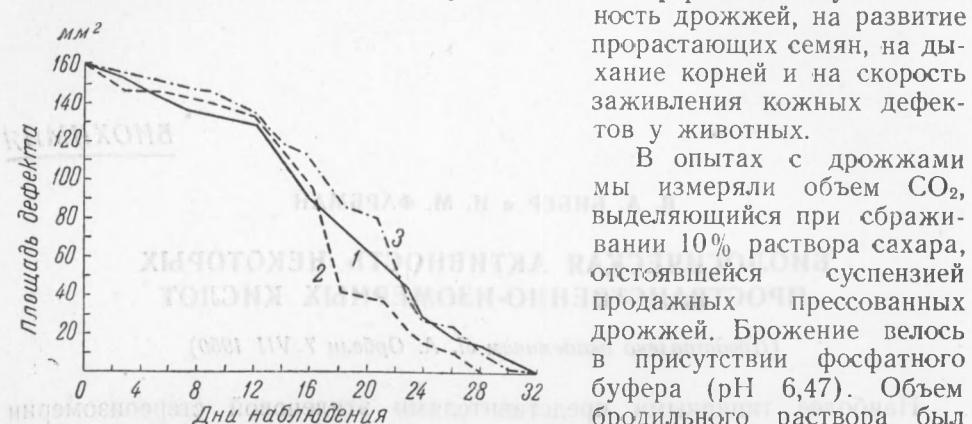


Рис. 1. Влияние инъекций фумаровой и малеиновой кислот на скорость заживления кожных дефектов у кроликов. 1 — фумаровая кислота, 2 — малеиновая к-та, 3 — контроль (физиологический раствор)

судить о стимулирующей активности кислот. Действие каждого раствора проверялось в 5 опытах. Средние данные приведены в табл. 1 и показывают, что M/5000 разбавленные растворы фумаровой и малеиновой кислот не влияют на активность брожения. Растворы коричной и алло-коричной кислот стимулируют процесс брожения, причем стимулирующее действие алло-коричной кислоты значительно превышает активность транс-изомерной коричной кислоты.

Таблица 1

Активность кислот по их действию на ферментативную активность дрожжей (разность опыт — контроль) (в мл CO_2)

	Концентрация кислот							
	M/5000		M/10000		M/15000		алло-корич-ная	алло-корич-ная
	фумаровая	малеиновая	коричная	алло-корич-ная	коричная	алло-корич-ная		
Средн. из 5 опытов	0,0	0,0	+ 8	+20,5	+11	+30,5	+ 9,5	+41,5
Средн. из 5 опытов	— 1	— 1	+ 7	+17	+ 9	+26	+ 8	+38
Границы колебаний	+ 1	+ 1	+ 9	+23	+13	+34	+11	+43

Активность кислот была испытана также действием их на развитие прорастающих семян.

Прорастание велось в чашках диаметром 5 см при комнатной температуре (18—20°). В чашки вливали по 2 мл раствора Кнопа и равный объем раствора испытуемой кислоты. В контрольные чашки к

2 мл раствора Кнопа прибавляли 2 мл дистиллированной воды. В каждую чашку помещали по 20 зерен кукурузы, весивших 2,3—2,5 г. Зерна перед опытом промывались водой и обсушивались фильтровальной бумагой. Чашки во время прорастания покрывались стеклами; последние снимались с чашек два раза в сутки на несколько минут. На 6-е сутки корни и ростки отделялись от зерна и подвергались измерению. Действие каждой концентрации кислоты проверялось на 500—600 зернах.

Результаты опытов представлены в табл. 2 в виде разности между средними данными опыта и контроля. Средняя длина корня у зерен, проросших в раствор Кнопа, была равна 58 мм (52—73), средняя длина ростка — 40 мм (32—44) и средний объем 100 корней $4,6 \text{ см}^3$ (3,9—5,2). Из табл. 2 следует, что стимулирующая активность испытуемых кислот проявляется в сильно разбавленных растворах. Растворы фумаровой и коричной кислот при некоторых концентрациях стимулируют главным образом развитие корней, тогда как их цис-изомеры способствуют развитию ростков. Растворы алло-коричной кислоты оказывают угнетающее действие на развитие корневой системы.

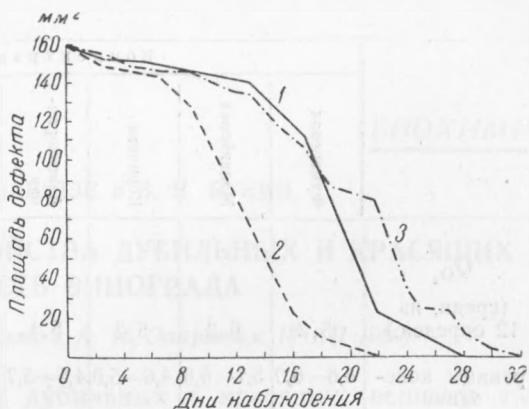


Рис. 2. Влияние инъекций коричной и алло-коричной кислот на скорость заживления кожных дефектов у кроликов. 1 — коричная кислота, 2 — алло-коричная кислота, 3 — контроль (физиологический раствор)

Таблица 2

Концентрация кислот	Фумаровая			Малеиновая			Коричная или убыль			Алло-коричная		
	Средний прирост			объема 100 корней, см³			корня, мм			ростка, мм		
	корня, мм	ростка, мм	объема 100 корней, см³	корня, мм	ростка, мм	объема 100 корней, см³	корня, мм	ростка, мм	объема 100 корней, см³	корня, мм	ростка, мм	объема 100 корней, см³
M/5000 . . .	0,0	+2,4	0,0	+0,2	+2,6	0,0	-5,0	+7,5	-0,6	-18,7	+1,9	-0,5
M/10000 . . .	+11,5	+0,8	+0,3	+7,6	+3,8	+0,7	+2,0	+0,3	+0,3	-9,5	+1,1	-0,5
M/20000 . . .	+11,7	-0,2	+1,0	+5,3	+5,1	+1,0	+1,2	+0,9	+0,8	-4,0	+2,1	+0,2
M/30000 . . .	—	—	—	—	—	—	+2,5	+2,5	+0,4	-1,3	+6,9	+0,2

Дыхание корней кукурузы, проросших в растворах изомерных кислот, определялось по Варбургу. Корни, достигшие длины 45—50 мм, отделялись от зерен, промывались водой и обсушивались бумагой. В сосуд Варбурга вливали по 2 мл раствора Кнопа и помещали 3 корня, разрезанных пополам и весивших 80—120 мг. Измерения производились в течение 1 часа, каждые 15 минут. Опыты велись при 20°, при 80—90 качаний в минуту. По окончании опыта корни промывались водой и в них определялся сухой вес. Результаты опытов приведены

в табл. 3. Величина дыхания Q_{O_2} представляет число миллиметров кислорода, поглощенного 1 мг сухой ткани за 1 час.

Таблица 3

	Концентрация кислот								Раствор Кюона 1:1
	Фумаровая	Малеиновая	Коричная	Алло-корич- ная	Коричная	Алло-корич- ная	Коричная	Алло-корич- ная	
Q_{O_2} (средн. из 12 определ.)	5,2	6,2	5,2	5,1	5,8	5,5	5,8	5,7	4,1
Границы колебаний	4,6—6,0	5,1—6,6	4,6—5,9	4,5—5,7	4,9—6,3	5,1—5,9	5,2—6,4	5,0—6,2	3,4—4,6

Из данных табл. 3 видно, что $M/5000$ раствор цис-изомерной малеиновой кислоты действует сильнее раствора фумаровой кислоты. Стимулирующее действие на дыхание корней растворов коричной и алло-коричной кислот в наших опытах оказалось одинаковым.

Стимулирующая активность изомерных кислот была проверена в опытах действием на заживление кожного дефекта у кроликов. Иссечение кожи производилось на внутренней поверхности уха трепаном диаметром 14 мм, и высеченный кружок отсепарировался ножницами. Животные были одного возраста и почти одинакового веса. Стерильные растворы кислот для инъекций готовились на физиологическом растворе. Инъекции производились через день, в область спины по 0,5 мл. Контрольным кроликам вводилось то же количество физиологического раствора. Измерение диаметров дефектов производилось по двум взаимно перпендикулярным направлениям. Площади дефектов рассчитывались как площади круга. Действие каждого раствора проверялось на 8 кроликах. Результаты опытов выражены графически (рис. 1 и 2). Они показывают, что цис-изомерные малеиновая и особенно алло-коричная кислоты обладают более сильным стимулирующим действием на заживление дефекта.

Поступило
24 VII 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ R. Stoegmег, Вег., 42, 4865 (1909). ² А. В. Благовещенский, Сборник «Ферменты» под ред. акад. А. Н. Баха, Изд. АН СССР, 1940. ³ Л. Физер и М. Физер, Органическая химия, 1949.