Доклады Академии наук СССР
1955. Том 100, № 5

БИОХИМИЯ

Н. А. ПАВЛОВА

БИОСИНТЕЗ ГЛИКОКОЛА ИЗ ГЛИОКСИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И АМИНОКИСЛОТ

(Представлено академиком А. Д. Сперанским 20 VII 1954)

Гликокол является заменимой аминокислотой для большинства животных организмов. Пути синтеза этой аминокислоты различны. В животных организмах обнаружены ферменты, под действием которых происходит расщепление β-оксиаминокислот с образованием гликокола (1). Источником образования гликокола могут быть также глиоксиловая кислота и дикарбоновые аминокислоты и их амиды (2), а также метионин (3), как это было показано на срезах печени. Кроме того, в опытах с мечеными атомами наблюдалось образование гликокола in vivo из глиоксиловой кислоты (4). Но до сих пор неясны пути синтеза глиоксиловой кислоты и источники аминогруппы.

Целью настоящего исследования явилось выяснение вопроса, какие аминокислоты могут служить источником аминогруппы в образовании гликокола из глиоксиловой кислоты.

Постановка опыта. Опыты ставились с переживающими срезами печени крысы. Срезы, 300 мг на пробу, инкубировались в конических колбочках в бане аппарата Варбурга. Инкубация проводилась в атмосфере воздуха при 38° в течение 2 час. в буферной смеси. Состав буферной смеси: 100 мл 0,9% NaCl, 4 мл 1,15% KCl, 1 мл 3,82% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 мл 2,11% KH_2PO_4, 12 мл 0,1 *M* фосфатного буфера, pH 7,4. Общий объем реакционной смеси 3 мл. Инкубация прекращалась добавлением 1 мл 20% раствора трихлоруксусной кислоты. Гликокол определялся в безбелковом трихлоруксусном нейтрализованном фильтрате по методу Александера (5). Глиоксиловая кислота добавлялась в конечной концентрации *M*/150. В качестве источника аминогруппы были исследованы почти все природные аминокислоты и ряд *d*-аминокислот, которые добавлялись в конечной концентрации *M*/75.

Обсуждение результатов. Как видно из результатов опытов (см. табл. 1), пробы, в которых в качестве добавки находилась одна аминокислота, содержали, как правило, столько же, а для ряда аминокислот даже меньше гликокола, чем пробы, имевшие ткань без добавок. (Количество гликокола, образованного тканью без добавок за время инкубации, во всех опытах составляло в среднем 0,2—0,3 мг на 1 г сырой ткани.) Поэтому при расчете прироста гликокола из количества гликокола, образованного в пробах, содержащих глиоксиловую кислоту и аминокислоту, вычиталось количество гликокола, образованного в присутствии одной глиоксиловой кислоты.

Полученные данные, во-первых, подтверждают тот факт, что в данных условиях опыта глиоксиловая кислота не аминируется неорганическими аммонийными солями (2), а, во-вторых, согласуются с уже

Таблица 1

Образование гликокола из глиоксиловой кислоты и аминокислот (в мг на 1 г сырой ткани)

Аминокислота	Глиоксиловая кислота (*a*)	Аминокислота (*b*)	Глиоксиловая + аминокислота (*c*)	Прирост гликокола (*c*—*a*)	Аминокислота	Глиоксиловая кислота (*a*)	Аминокислота (*b*)	Глиоксиловая + аминокислота (*c*)	Прирост гликокола (*c*—*a*)
l-аланин	1,08	0,30	2,28	1,20	*l*-тирозин	1,56	0,20	1,96	0,40
l-метионин . . .	1,40	0,22	2,27	0,87	*l*-фенилаланин . .	1,53	0,16	1,89	0,36
l-лейцин	1,43	0,30	2,04	0,61	*l*-триптофан . . .	1,53	0,24	1,52	—
l-аспарагиновая .	1,28	0,16	1,69	0,41	*l*-лизин	1,33	0,12	1,20	—
l-глутаминовая .	1,23	0,15	1,73	0,50	*l*-валин	1,42	0,28	1,31	—
l-аспарагин . . .	1,38	0,23	2,18	0,80	*l*-цистеин	1,38	0,20	0,55	—
l-глутамин	1,39	0,22	2,43	1,04	*l*-изолейцин . . .	1,27	0,28	1,37	0,1
l-орнитин	1,23	0,27	1,64	0,41	*d*-аланин	1,45	0,30	1,30	—
l-аргинин	1,23	0,25	1,74	0,51	*d*-метионин . . .	1,58	0,15	1,25	—
l-гистидин	1,45	0,13	2,01	0,56	*d*-триптофан . . .	1,26	0,18	1,01	—
					NH_4Cl	1,23	0,20	1,23	—

известным фактом, что введенная в организм крысы глиоксиловая кислота в 3—4 раза увеличивает синтез гликокола ([4]).

Из полученных нами данных следует, что гликокол образуется при взаимодействии глиоксиловой кислоты с аланином, метионином, лейцином, аспарагиновой и глутаминовой кислотами, аспарагином, глутамином, орнитином, аргинином, гистидином, тирозином, фенилаланином.

Обнаружение неэнзиматического переаминирования глиоксиловой кислоты с различными аминокислотами показало, что эта реакция для ряда аминокислот осуществляется очень легко при довольно низкой температуре и физиологическом значении pH ([6]). Интересно отметить, что при неэнзиматическом переаминировании, так же как и при энзиматическом, амиды дикарбоновых аминокислот образуют гликокол с большей скоростью, чем дикарбоновые аминокислоты. С другой стороны, *l*-лейцин активно переаминируется в энзиматическом катализе и совершенно не активен при неэнзиматическом переаминировании.

В предварительных опытах на крысах с пиридоксиновой недостаточностью мы не смогли установить снижение скорости энзиматического переаминирования с глиоксиловой кислотой. Возможно, что это объясняется недостаточно развитым авитаминозом в наших опытах. Однако было установлено, что пиридоксамин не переаминируется с глиоксалатом в условиях неэнзиматической реакции при 20—30° и pH 7,4 ([6]) и переаминируется в аналогичных модельных опытах только при pH 5 и 79—100° ([7]).

До последнего времени принималось, что непременным партнером реакции переаминирования является α-кетокислота, причем с дикарбоновыми аминокислотами скорость реакции переаминирования была наибольшей. Сравнение скорости реакции переаминирования глиоксиловой кислоты с аланином и метионином со скоростью переаминирования глиоксиловой кислоты с аспарагиновой и глутаминовой кислотами позволяет исключить эти условия и считать, что здесь имеет место прямое переаминирование глиоксиловой кислоты с упомянутыми аминокислотами.

Тот факт, что гликокол образуется при переаминировании глиоксиловой кислоты со многими аминокислотами, заставляет думать, что, повидимому, гликокол играет какую-то непосредственную роль в обмене аминокислот в животном организме.

В заключение приношу благодарность проф. С. Р. Мардашеву за руководство работой.

Первый московский
медицинский институт

Поступило
19 VII 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] А. Е. Браунштейн, Г. Я. Виленкина, ДАН, **66**, 243 (1949); Г. Я. Виленкина, ДАН, **69**, 385 (1949). [2] С. Р. Мардашев, Л. А. Семина, ДАН, **74**, 537 (1950). [3] Н. О. Затейщикова, Диссертация, М., 1954. [4] S. Weinhouse, B. Friedmann, J. Biol. Chem., **191**, 707 (1951). [5] B. Alexander, G. Landwehr, A. Seligman, ibid., **160**, 51 (1945). [6] H. J. Nakado, S. Weinhouse, ibid., **204**, 831 (1953). [7] D. E. Metzler, J. Olivard, E. Snell, J. Am. Chem. Soc., **76**, 644 (1954).