

А. МАЙСТЕР

БИОХИМИЯ
АМИНОКИСЛОТ

БИОХИМИЯ
АМИНОКИСЛОТ



BIOCHEMISTRY
of
THE AMINO ACIDS

ALTON MEISTER

*Professor of Biochemistry
Tufts University
School of Medicine
Boston, Massachusetts*

1957

ACADEMIC PRESS INC. PUBLISHERS
NEW YORK

А. МАЙСТЕР

БИОХИМИЯ АМИНОКИСЛОТ

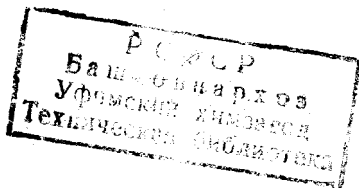
Перевод с английского

Г. Я. Виленкиной, Е. В. Горячевой,
Г. С. Пасхиной и И. С. Севериной

Под редакцией

и с предисловием

член-корр. АН СССР А. Е. Браунштейна



ИЗДАТЕЛЬСТВО
ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Москва, 1961

АННОТАЦИЯ

В книге дано систематизированное изложение обширных и тщательно отобранных данных по одному из важнейших разделов биологической химии. На материале свыше 2800 работ освещено современное состояние биохимии аминокислот и их значение в питании и обмене веществ у различных организмов. Приведен большой сравнительно-биохимический материал и кратко изложены основные данные по химии аминокислот. В заключительной главе рассмотрены некоторые патологические нарушения аминокислотного обмена.

Книга предназначена для биохимиков и физиологов.

ПРЕДИСЛОВИЕ К РУССКОМУ ИЗДАНИЮ

В книге профессора А. Майстера, предлагаемой вниманию читателей, в систематизированной монографической форме излагается обширный, тщательно отобранный материал, освещающий современное состояние вопросов биохимии аминокислот, их роли в питании, превращений у организмов различных классов, а также некоторых патологических нарушений обмена аминокислот. В монографии приведено множество сравнительно-биохимических данных и кратко изложены основные сведения по химии аминокислот (история открытия, свойства, методы определения и получения, распространение аминокислот и некоторых пептидов в природе). Весьма полезным справочным материалом служат приведенные в тексте сводные схемы биохимических превращений отдельных аминокислот и обширная библиография (цитировано свыше 2800 наиболее важных работ, изданных в данной области до начала 1957 г., в том числе исследования ряда советских авторов).

Автор книги — авторитетный и очень активный исследователь, опубликовавший множество ценных экспериментальных работ и обзоров по различным вопросам химии и биохимии аминокислот.

Будучи, бесспорно, лучшей из появившихся за последние годы монографий по биохимии аминокислот, книга Майстера не свободна вместе с тем от некоторых недостатков. К числу их относится известная сухость изложения, фрагментарность и чрезмерная лаконичность текста, местами доступного лишь хорошо подготовленному читателю. По сравнению с тщательно разработанными разделами, посвященными обмену аминокислот и энзимологическим вопросам, главы, касающиеся физиологических функций аминокислот и их производных, а также патологии аминокислотного обмена, написаны более поверхностно. Значительные пробелы имеются и в чрезмерно сжатом изложении химии аминокислот. Нельзя не отметить, что многие хорошо обоснованные и общепризнанные выводы из экспериментальных исследований излагаются автором в неоправданно сдержанной, скептической форме.

При редактировании перевода книги в тексте сделаны лишь незначительные исправления: опущены отдельные повторения, исправлено несколько фактических неточностей. В свете важных дополнительных данных, появившихся после выхода в свет английского издания книги (1957 г.), некоторые положения изложены в менее неопределенной, чем у автора, форме или снабжены соответствующими подстрочными примечаниями. Вносить в русское издание более обширные дополнения, излагающие результаты огромного числа вышедших за последние годы работ по биохимии аминокислот, мы не считали целесообразным, так как основные черты процессов обмена аминокислот были изучены к 1957 г. с достаточной полнотой; принципиально новые открытия в этой области немногочисленны, наиболее существенные из них отражены в примечаниях редактора.

А. Браунштейн

ИЗ ПРЕДИСЛОВИЯ АВТОРА

В последние годы аминокислоты послужили объектом многочисленных биохимических исследований; посвященная им обширная литература отражает внушительные успехи, достигнутые в этой области за полтора столетия, истекшие со времени открытия первой аминокислоты.

В настоящей книге автор попытался по возможности полно осветить современные данные о биохимических взаимосвязях и превращениях аминокислот, встречающихся в природе. Книга разбита на пять глав. Гл. I посвящена рассмотрению природных аминокислот и форм, в которых они встречаются; описаны общие свойства аминокислот и, в частности, рассмотрены стереохимические соотношения, имеющие глубокое биологическое значение. В гл. II изложены данные о роли аминокислот в питании. В гл. III и IV отражен современный уровень наших знаний об обмене аминокислот — о процессах их синтеза и распада, о взаимоотношениях аминокислот друг с другом и с прочими метаболитами. Гл. V, посвященная нарушениям обмена аминокислот при патологических состояниях, как бы дополняет изложенные в предыдущих главах сведения о процессах обмена «в норме».

В развитии биохимии аминокислот можно различить несколько этапов. Первый этап состоял в выделении аминокислот, встречающихся в природных объектах, и в изучении их свойств. Второй характеризуется работами по питанию экспериментальных животных и микроорганизмов. Отправной точкой этих исследований послужили наблюдения, продемонстрировавшие роль белков как необходимых компонентов пищи животных; проведению таких исследований способствовало аналитическое определение аминокислотного состава белков и создание усовершенствованных методов выделения аминокислот. Эти работы привели к открытию ряда новых аминокислот и показали, что одни аминокислоты могут синтезироваться в организме, а другие — нет; кроме того, были получены важные данные, указывающие на характер взаимосвязей в обмене различных аминокислот.

Следующий этап связан с методом изотопных индикаторов, благодаря которому удалось обнаружить динамическое состояние белков в организме и выявить многие частные биохимические реакции. В настоящее время известны каталитические компоненты клеток, осуществляющие многие из этих реакций. При помощи генетических, изотопных и химических методов расшифрованы механизмы, посредством которых осуществляются процессы синтеза и превращения аминокислот у микроорганизмов. Заслуживает внимания, что процессы промежуточного обмена аминокислот часто (хотя и не всегда) сходны у организмов, принадлежащих к далеким видам.

Вполне естественно, что эти этапы исследования аминокислот перекрывались и влияли друг на друга. Те 22 аминокислоты, которые широко распространены в обычных белках, были обнаружены уже к 1935 г.; но в настоящее время известно свыше 80 природных аминокислот, причем более половины из них открыты за последние 10 лет. Этими успехами мы в большой мере обязаны развитию хроматографии и разработке новых методов органического синтеза.

Экспериментальные подходы, применяемые в биохимии питания, по-прежнему играют важную роль в исследованиях по генетике и обмену и в изучении антиметаболитов аминокислот. Примечательно, что в последнее время работы в области проблемы аминокислотного питания распространены на человека и на культуры клеток человеческого организма.

В такой книге, как эта, неизбежно приходится воздерживаться, иногда по субъективным мотивам, от рассмотрения некоторых вопросов, сопредельных с основной темой или перекликающихся с ней. Так, например, химические и физические свойства аминокислот рассмотрены нами лишь поверхностно. Не уделено достаточного места и биохимии белков — области, наиболее тесно примыкающей к биохимии аминокислот. Этот предмет прекрасно изложен в недавно опубликованном четырехтомном труде «Белки» под ред. Г. Нейрата и К. Бэйли¹. Хотя количество данных, касающихся белков, весьма велико, наши познания о механизме биологического синтеза белков еще крайне недостаточны. К числу наиболее важных реакций, свойственных аминокислотам, следует, очевидно, отнести те, которые приводят к синтезу белков; решение этой проблемы ознаменует наступление нового этапа исследований.

Алтон Майстер

Февраль 1957

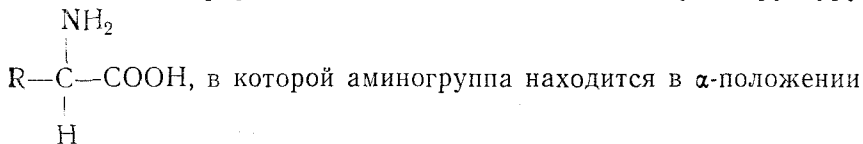
¹ Книга переведена на русский язык («Белки», под ред. Г. Нейрата и К. Бэйли, ИЛ, М., 1957—1959 г.). — *Прим. ред.*

Глава I

ПРИРОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ

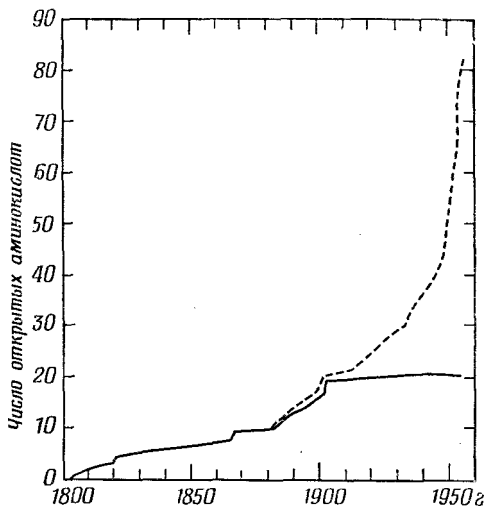
ВВОДНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Аминокислотами называют химические соединения, содержащие одновременно аминные и карбоксильные группы. Молекулы большинства природных аминокислот имеют общую структуру



по отношению к карбоксильной группе. Исключение из этого правила составляют аминокислоты, имеющие более одной карбоксильной или аминной группы, содержащие иминогруппы, обладающие кислотными группами других типов, а также аминокислоты, у которых аминогруппы не связаны с α -углеродным атомом. Большая часть аминокислот обладает по меньшей мере одним асимметрическим атомом углерода, благодаря чему они могут существовать по крайней мере в двух оптически активных формах. Большинство природных аминокислот имеет L-конфигурацию, но в природе встречается также и целый ряд D-аминокислот.

Номенклатура аминокислот имеет две особенности. Во-первых, в биохимии применяется ряд тривиальных названий для аминокислот. Такая терминология проста и весьма удобна; в этой области, как и в любой другой специальной области науки, необходимо знать общепринятый профессиональный



Фиг. 1. Открытие природных аминокислот
— аминокислоты, обычно обнаруживаемые в белках; - - - - все аминокислоты.

жаргон. Во-вторых, желательнее, и обычно необходимо, указывать оптическую конфигурацию аминокислоты (в тех случаях, когда она известна), используя для этого прописные буквы D и L. Если конфигурация неизвестна, то аминокислоте можно придавать обозначения *d* или *l* в зависимости от направления ее оптического вращения в водном растворе.

По поводу обозначений оптической конфигурации и направления вращения аминокислот существовала некоторая путаница; подробнее этот вопрос освещен ниже (стр. 81).

Настоящая глава посвящена рассмотрению природных аминокислот. Из них первыми стали известны аспарагин, открытый в 1806 г., и цистин, открытый в 1810 г. Начиная с этого времени было обнаружено существование более 80 аминокислот. Кривая, изображенная на фиг. 1 (пунктир), показывает, что наибольшее число новых природных аминокислот открыто за последние 10 лет. Вместе с тем после 1935 г., в котором был открыт треонин, не найдено ни одной новой аминокислоты, входящей в состав белков, что видно из сплошной кривой, также изображенной на фиг. 1. Аминокислоты, обычно обнаруживаемые в белковых гидролизатах, рассматриваются в следующем разделе. Те аминокислоты, которые редко встречаются в белках, и аминокислоты, найденные в составе соединений других типов или в свободном состоянии, обсуждаются в последних разделах настоящей главы.

АМИНОКИСЛОТЫ, ОБЫЧНО ВСТРЕЧАЮЩИЕСЯ В БЕЛКАХ

«При более тщательном исследовании продуктов растительного происхождения современные химики обнаружили множество соединений, не известных более ранним исследователям; однако давно уже, я полагаю, не находили в растениях соединения столь исключительного и интересного, как то, на котором мы теперь остановимся... В некотором количестве сока спаржи, сконцентрированного выпариванием, я обнаружил довольно большое число кристаллов, два вида которых, как мне кажется, принадлежат новым веществам; так как эти кристаллы различались по форме, по прозрачности и по вкусу, для меня не представило трудностей разделить их». Вокелен (1806).

Введение

Известны 22 аминокислоты, которые регулярно или часто встречаются в гидролизатах белков. Открытие этих аминокислот явилось важным этапом в развитии современной биохимии. Более детальные сведения по истории интереснейших капитальных

работ, приведших к обнаружению этих аминокислот, изложены в обзоре Виккери и Шмидта [1]. По мнению названных авторов, наличие той или иной аминокислоты в белковых гидролизатах можно считать установленным лишь в том случае, если она была выделена по крайней мере двумя исследователями независимо друг от друга и если ее строение подтверждено синтезом. Эти критерии и в настоящее время сохраняют свое значение при оценке сообщений о вновь открываемых аминокислотах. Между тем их нельзя считать непогрешимыми; об этом свидетельствует хотя бы тот факт, что Виккери и Шмидт сами впали в ошибку, отнеся β -оксиглутаминовую кислоту к числу «признанных» продуктов гидролиза белков (стр. 88). К категории «признанных» аминокислот в течение известного времени причисляли также и норлейцин.

Аминокислоты, рассматриваемые ниже, многократно выделялись из белковых гидролизатов, и их структура окончательно установлена. В этот список вошли все аминокислоты, перечисленные в 1931 г. Виккери и Шмидтом, за исключением β -оксиглутаминовой кислоты и йодсодержащих аминокислот, и, кроме того, аспарагин, глутамин, цистеин и треонин. Следует отметить, что использованное в тексте выражение «„обычно обнаруживаемые“ в гидролизатах аминокислоты» до известной степени произвольно и допускает некоторое расхождение в толковании. Так, например, известно, что 3,5-дйодтирозин и тироксин присутствуют в тиреоглобулине; точно установлено наличие в некоторых белках δ -оксализина. Эти аминокислоты и некоторые другие, реже встречающиеся в белковых гидролизатах, будут рассмотрены в соответствующем разделе (стр. 62).

Аминокислоты, обсуждаемые в настоящем разделе, приведены в алфавитном порядке. Они могут быть классифицированы следующим образом:

Алифатические аминокислоты

Моноаминомонокарбоновые

Глицин

Аланин

Изолейцин

Лейцин

Валин

Оксиаминомонокарбоновые

Серин

Треонин

Моноаминодикарбоновые

Аспарагиновая кислота

Глутаминовая кислота

Амиды моноаминодикарбоновых кислот

Аспарагин

Глутамин

Диаминомонокарбоновые

Аргинин

Лизин

Серусодержащие

Цистеин и цистин

Метионин

Ароматические аминокислоты

Фенилаланин

Тирозин

Гетероциклические аминокислоты

Триптофан

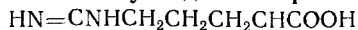
Гистидин

Пролин

Оксипролин

L-Аланин (α -аминопропионовая кислота)

Аланин принадлежит к числу тех аминокислот, которые сначала были получены синтетически и лишь позднее признаны природными продуктами. В 1850 г. Штреккер [2], пытаясь получить молочную кислоту, обработал продукт конденсации ацетальдегида и аммиака цианитоводородной и соляной кислотами; полученный в кристаллической форме аланин был превращен в молочную кислоту путем обработки азотистой кислотой. Реакция Штреккера ведет к образованию аминонитрила, который после гидролиза дает соответствующую аминокислоту; оказалось, что эта реакция может быть использована для получения ряда других аминокислот из соответствующих альдегидов. Через 38 лет после того, как Штреккер синтезировал аланин, Вейл [3] выделил эту аминокислоту из кислотного гидролизата шелка — белка, наиболее богатого аланином. Позднее Фишер и Скита [4] получили L-аланин из шелка и установили его структуру и конфигурацию путем превращения его в молочную кислоту.

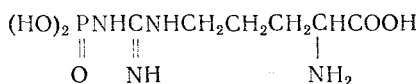
L-Аргинин (α -амино- β -гуанидиновалерьяновая кислота)

Шульце и Штайгер [5] выделили аргинин из этиолированных проростков люпина в 1866 г. В 1895 г. Хедин [6] сообщил

о получении азотосеребряной соли аргинина из гидролизатов рога. Впоследствии Коссель и Гросс [7] нашли, что аргинин является одной из главных составных частей основных белков спермы рыб. Строение аргинина было установлено путем его щелочного гидролиза на орнитин и мочевину [8] и синтезом из бензилорнитина [9].

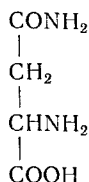
Во время кислотного гидролиза белков аргинин может расщепляться до орнитина, благодаря чему последний иногда обнаруживается в белковых гидролизатах. Описано также превращение аргинина в цитруллин при щелочном гидролизе [10]. При обработке 1-нафтолом и гипохлоритом или гипобромитом натрия аргинин дает красную окраску (реакция, впервые описанная Сакагути [11]). Аргинин может быть осажден из растворов в виде моно- или дифлавианата [7]; этой реакцией пользуются для выделения аргинина из белковых гидролизатов.

Аргинин не только содержится в белках, но встречается и в свободном состоянии, а также в виде фосфоаргинина



в мышцах беспозвоночных, где это соединение выполняет функцию, аналогичную функции фосфокреатина у высших животных [12, 13]. Кроме того, аргинин входит в состав октопина (стр. 57) и аргининоянтарной кислоты (стр. 339). Родственное ему в химическом отношении соединение, канаванин, было выделено из бобов *Canavalia* (стр. 49)

L-Аспарагин (β-амид α-аминоянтарной кислоты)



Аспарагин был первой аминокислотой, выделенной из природных продуктов. В 1806 г. Вокелен и Робике [14] получили его из сока спаржи. Кислотный гидролиз белка приводит к дезамидированию аспарагина в аспарагиновую кислоту. Наличие аммиака в кислых гидролизатах белка привело Глазивеца и Габермана в 1873 г. [15] к предположению, что источником этого аммиака могут служить амидные группы глутамина и аспарагина. Однако наличие аспарагина в белках было доказано

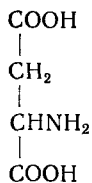
лишь в 1932 г., когда Дамодаран [16] описал выделение аспарагина из ферментных гидролизатов эдестина.

Аспарагин представляет собой широко распространенное соединение; он накапливается в значительных концентрациях у некоторых видов высших растений, а также встречается в свободном состоянии в тканях животных. При расщеплении белков под действием кислот происходит гидролиз аспарагина; однако его амидная группа относительно более устойчива, чем амидная группа глутамина.

В отличие от большинства аминокислот, реагирующих с нингидрином с образованием продукта, окрашенного в пурпурный цвет, аспарагин и некоторые другие β -аспартилпроизводные дают при реакции с нингидрином коричневую окраску. Было отмечено, что появление коричневой окраски при реакции нингидрина с аспарагином не сопровождается выделением CO_2 [17]. Данные, полученные при изучении инфракрасных спектров [18] и дифракции рентгеновских лучей [19, 20], свидетельствуют о наличии внутримолекулярного взаимодействия между амидной и карбоксильной группами молекулы аспарагина; не исключено, что этим взаимодействием обусловлено аномальное поведение аспарагина при реакции с нингидрином.

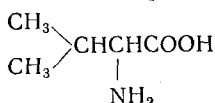
Предположение Стюарда и Томпсона [17], что аспарагин может существовать в виде гидрата циклического имида, не подтвердилось, поскольку было установлено, что синтетический имид α -аминоянтарной кислоты не идентичен аспарагину [21].

L-Аспарагиновая кислота (α -аминоянтарная кислота)

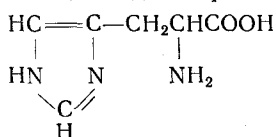


Аспарагиновая кислота была сначала описана как продукт гидролиза аспарагина. Позднее Ритгаузен [22] выделил аспарагиновую кислоту из белкового гидролизата. Пириа [23] получил яблочную кислоту из аспарагиновой кислоты воздействием на последнюю азотистой кислотой, а затем был осуществлен и синтез аспарагиновой кислоты [24, 25].

N-Ацетил-L-аспарагиновая кислота найдена в экстрактах мозга кошки в концентрациях порядка 100 мг на 100 г ткани; она содержится также в мозге крысы и в меньших количествах (от 1 до 3 мг на 100 г) в печени, почках, мышцах и моче кошки [26].

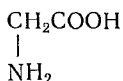
L-Валин (α -аминоизовалерьяновая кислота)

Валин был открыт в экстрактах поджелудочной железы Горуп-Безанессом в 1856 г. [95], однако первым, кто показал, что валин является продуктом гидролиза белка (альбумина), был Шютценбергер [96]. Строение валина было окончательно выяснено в 1906 г. Фишером [97], который идентифицировал природный валин с одним из стереоизомеров, полученных при разделении синтетической аминокислоты. Валин присутствует во многих белках, но обычно — в относительно малых количествах

L-Гистидин (α -амино- β -имидазолпропионовая кислота)

Гистидин был выделен Косселем [50] в 1896 г. из сернокислых гидролизатов стурина (протамин спермы осетра). В том же году Хедин [51] независимо от Косселя выделил гистидин из белковых гидролизатов. Паули доказал наличие имидазольного кольца в молекуле гистидина и нашел, что при взаимодействии гистидина с диазотированной сульфаниловой кислотой в щелочном растворе развивается красное окрашивание (реакция Паули).

В результате работ Паули [52] и других авторов [53, 54] было выяснено строение молекулы гистидина, которое было окончательно доказано синтезом гистидина, осуществленным Пайменом [55] в 1911 г. Гистидин присутствует в относительно больших количествах в гемоглобине; кроме того, он входит в состав эрготионина (в виде тиолгистидина), карнозина и ансерина (стр. 55 и 70).

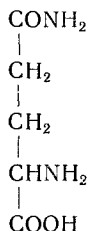
Глицин (аминоуксусная кислота)

Глицин явился первой аминокислотой, выделенной из белкового гидролизата. В 1820 г. Браконно [46] получил глицин из сернокислого гидролизата желатины и обратил внимание на сладкий вкус этой аминокислоты. В дальнейшем описанный

Браконно «сахар желатины» был назван гликоколлом, а затем глицином. Браконно не знал о наличии азота в молекуле глицина; более поздние работы, завершением которых явились исследования Каура [47, 48], привели к установлению строения глицина и синтезу его из монохлоруксусной кислоты и аммиака.

Глицин присутствует в больших количествах в желатине и входит в состав многих других белков. В виде амида он встречается в окситоцине и вазопрессине (стр. 72). Глицин является составной частью целого ряда природных веществ, например глутатиона, а также гиппуровой и гликохолевой кислот. Помимо этого, в природе встречается N-метилпроизводное глицина, саркозин; было показано, что это вещество является продуктом тканевого обмена у млекопитающих (стр. 329). Саркозин обнаружен также в составе белка земляного ореха [49] и в гидролизатах некоторых антибиотиков (стр. 77).

L-Глутамин (γ-амид α-аминоглутаровой кислоты)



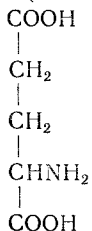
Интересно, что, тогда как выделение аспарагина предшествовало выделению аспарагиновой кислоты, глутамин был впервые получен лишь через 17 лет после обнаружения глутаминовой кислоты в белковых гидролизатах.

Шульце и Босхард [39] получили его из сока свеклы в 1883 г. Глазивец и Габерман [15] впервые высказали предположение о присутствии глутамина в белке; это предсказание относительно недавно подтвердили Дамодаран и др. [40], выделившие глутамин из ферментных гидролизатов эдестина. Первый синтез глутамина осуществили Бергман и др. [41]. Глутамин накапливается в значительных количествах у некоторых видов высших растений и служит одним из главных аминокислотных компонентов крови млекопитающих.

При обработке смесью азотистой и уксусной кислот 1 моль глутамина в отличие от аспарагина и некоторых других амидов дает почти 2 моля азота. Отличительным свойством глутамина является относительно высокая лабильность его амидной группы, в связи с чем он легко подвергается циклизации с образованием аммонийной соли пирролидонкарбоновой кислоты. У пептидов глутамина, в которых α-аминогруппы замещены,

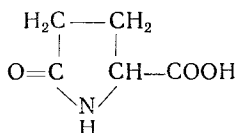
амидные группы относительно устойчивы [42—44]. Другие γ -глутамилпроизводные (γ -глутамилпептиды, γ -этиловый эфир глутаминовой кислоты) и гомоглутамин также проявляют склонность к циклизации [45]. Процесс циклизации глутамина и родственных ему соединений катализируется фосфатами и некоторыми другими анионами (стр. 315).

L-Глутаминовая кислота (α -аминоглутаровая кислота)



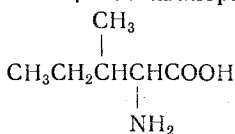
Глутаминовая кислота была выделена Ритгаузенom [35] в 1866 г. из гидролизатов клейковины эндосперма пшеницы. В дальнейшем было показано, что из глутаминовой кислоты при действии азотистой кислоты и последующем восстановлении образуется глутаровая кислота [36, 37]. В 1890 г. Вельф [38] осуществил первый химический синтез глутаминовой кислоты. Эта кислота относится к числу наиболее широко распространенных аминокислот и имеет большое значение в обмене веществ.

Глутаминовая кислота кристаллизуется из водных растворов в присутствии соляной кислоты в виде труднорастворимого хлоргидрата. При кипячении водного раствора этой кислоты она переходит в пирролидон- α -карбоновую кислоту (пироглутаминовая кислота, 5-оксо-2-пирролидинкарбоновая кислота):



L-Глутаминовая кислота в виде мононатриевой соли находит широкое применение как вкусовая приправа.

L-Изолейцин (α -амино- β -метилвалерьяновая кислота)



Изолейцин был выделен Эрлихом из свеклосахарной мелассы в 1904 г. Позднее Эрлих выделил эту аминокислоту из неполного

18346

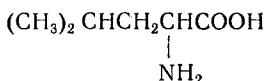
Библиографический указатель
УФН

гидролизата фибрина, полученного обработкой соком поджелудочной железы, а также из клейковины пшеницы, яичного альбумина и говяжьего мяса.

По наблюдениям Эрлиха, выделенный им продукт имел тот же химический состав, что и лейцин, но по ряду свойств (растворимость, точка плавления, растворимость медной соли) отличался от лейцина. Эрлиху [60—62] удалось расщепить L-изолейцин до *d*-амиламина и синтезировать эпимер изолейцина из *d*-изовалеральдегида.

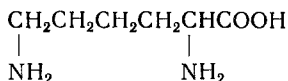
Интересно отметить, что за несколько лет до работ Эрлиха Фишер [63] получил из препаратов «лейцина» фракции, обладающие различной оптической активностью и различной растворимостью.

L-Лейцин (α -аминоизокапроновая кислота)

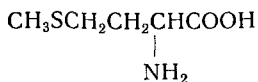


Пруст [64] получил лейцин в неочищенной форме из сыра в 1819 г. В 1820 г. Браконно [65] выделил кристаллическую аминокислоту из кислотных гидролизатов мышц и шерсти и назвал ее лейцином. Лейцин был синтезирован посредством реакции Штреккера из изовалеральдегида, и продукт синтеза оказался идентичным рацемизированному природному соединению [66].

L-Лизин (α , ϵ -диаминокапроновая кислота)

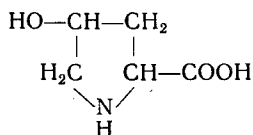


Лизин был впервые выделен из гидролизата казеина Дрекселем [67] в 1889 г. Дрексель предполагал, что лизин представляет собой диамин; правильная структура была установлена в 1902 г. Фишером и Вайгертом [68], которые синтезировали лизин и показали, что синтезированный продукт идентичен рацемизированному природному материалу. Содержание лизина в белках варьирует в широких пределах; он часто входит в состав животных белков, но может отсутствовать или содержаться в очень малых количествах в белках растительного происхождения (например, в зеине и глиадине). При обработке белков азотистой кислотой свободные ϵ -аминогруппы лизина превращаются в гидроксильные группы; по-видимому, у лизина, связанного в белках, большинство ϵ -аминогрупп, если не все, находятся в свободном состоянии (см., однако, стр. 277). Лизин, связанный по ϵ -NH₂-группе, содержится в биоцитине.

L-Метионин (α -амино- γ -метилтиомасляная кислота)

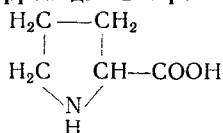
Мюллер [69] открыл эту аминокислоту в 1922 г., пытаясь выяснить природу факторов роста гемолитического стрептококка. Метионин выделили из кислотного гидролизата казеина и определили его элементарный состав. В 1928 г. Барджер и Койн [70] провели синтез метионина при помощи реакции Штреккера и установили строение этого соединения. Впоследствии Виндас и Марвел [71] разделили метионин на оптические антиподы. Интересно, что Осборн [72] задолго до этого отметил наличие в белках двух типов серы — щелочно-лабильной и устойчивой по отношению к щелочам; сера первого типа входит в состав цистеина и цистина, сера второго типа, как теперь известно, принадлежит метионину.

Присутствие метионинсульфоксида в природных объектах обусловлено, вероятно, неферментативным окислением метионина; процесс ферментативного восстановления метионинсульфоксида в метионин описан на стр. 373.

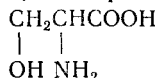
4-Окси-L-пролин (4-оксипирролидин-2-карбоновая кислота)

Оксипролин был выделен в 1902 г. из кислых гидролизатов желатины Фишером [56], который путем восстановления гидроксильной группы превратил эту аминокислоту в пролин. Лейксу и его сотрудникам [57—59] удалось синтезировать оксипролин и получить четыре его стереоизомера.

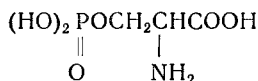
Окси-L-пролин найден только в гидролизатах эластина и коллагена, где на его долю приходится до 13% всех аминокислотных остатков. При обработке нингидрином оксипролин дает на хроматограммах желтую окраску, при обработке изатином он может быть обнаружен в виде синего пятна. Взаимодействие оксипролина с перекисью водорода с последующим подкислением раствора приводит к образованию пиррол-2-карбоновой кислоты (стр. 352), которая дает с *n*-диметиламинобензальдегидом (реактив Эрлиха) интенсивное красно-фиолетовое окрашивание.

L-Пролин (пирролидин-2-карбоновая кислота)

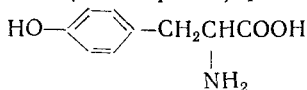
Пролин был синтезирован в 1900 г. Вильштеттером [75] из эфира α, δ -дибромпропилмалоновой кислоты. В 1901 г. Фишер [76] получил L-пролин и DL-пролин из гидролизатов казеина и показал, что второй продукт идентичен синтетическому пролину, который он приготовил из фталимидопропилмалонового эфира. Пролин содержится в коллагене, желатине и других белках. Интересным его свойством является растворимость в спирте. На бумажных хроматограммах пролин дает при обработке нингдрином желтую окраску, а при действии изатина — синюю.

L-Серин (α -амино- β -оксипропионовая кислота)

Серин был впервые выделен Кремером в 1865 г. из белка шелка [77]. Кремер отметил, что по своему строению серин близок аланину и цистину, и пришел к выводу, что серин представляет собой оксиаминокислоту. Строение серина было установлено в 1902 г. Фишером и Лейксом, осуществившими его синтез [78]. Серин широко распространен в белках; относительно большое количество этой аминокислоты находится в фиброине шелка. Серин встречается также в виде фосфорного эфира [79—81]:



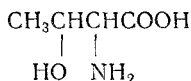
Фосфосерин был выделен Липманом из кислотного гидролизата казеина [79]. Положение фосфатной группы в нативном казеине еще окончательно не установлено. Высказано предположение, что в этом белке имеются N-фосфатные связи и что O-фосфатные связи образуются в результате миграции фосфатного остатка при гидролизе белка [82].

L-Тирозин [α -амино- β -(*p*-оксифенил)пропионовая кислота]

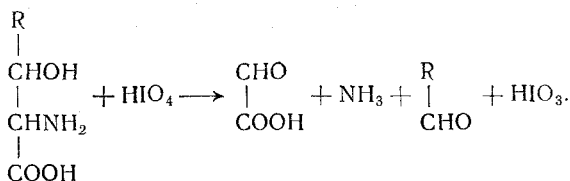
Тирозин был впервые получен в 1846 г. Либихом [91] при расщеплении казеина щелочью. Позднее тирозин выделили

де-Ла-Рю [92] и Бопп [93], первый — из кошенильной тли, второй — из белков (альбумина, казеина, фибрина). Строение тирозина установили в 1883 г. Эрленмейер и Липп [94] путем его синтеза. Тирозин чрезвычайно трудно растворим в воде, и этим свойством удобно пользоваться для выделения этой аминокислоты из белковых гидролизатов. В составе фибриногена и в моче человека обнаружен тирозин-О-сульфат (стр. 0357).

L-Треонин (α -амино- β -оксимасляная кислота)

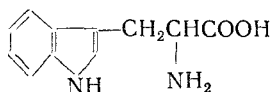


Треонин был получен из кислотных гидролизатов фибрина в 1935 г. Роузом и др. [83]. Работа этих исследователей была направлена на выделение присутствующего в белковом гидролизате фактора, необходимого для роста крыс. Открытие треонина позволило впервые показать, что крысы могут расти на диете, содержащей очищенные аминокислоты. При химическом восстановлении треонина Роуз и его сотрудники получили L- α -аминомасляную кислоту, а путем окисления перевели треонин в D-молочную кислоту. Треонин был синтезирован Картером [84], а затем Вест и Картер [85] получили четыре стереоизомера этой аминокислоты. Как и серин, треонин встречается в форме своего фосфорного эфира [86]. Серин и треонин реагируют с йодной кислотой с образованием глиоксиловой кислоты, аммиака и муравьиного или, соответственно, уксусного альдегида [87]:



Этой реакцией пользуются для количественного определения упомянутых аминокислот.

L-Триптофан (α -амино- β -3-индолпропионовая кислота)

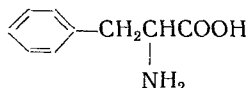


Триптофан был выделен в 1901 г. Гопкинсом и Колом из продуктов переваривания казеина соком поджелудочной железы [88]. До этого Адамкевич [89] наблюдал, что при действии

серной кислоты на смесь ледяной уксусной кислоты и альбумина появляется фиолетовая окраска. Гопкинс и Кол нашли, что развитие этой окраски обусловлено наличием глиоксиловой кислоты в препаратах ледяной уксусной кислоты. Авторы попытались выделить из белковых гидролизатов вещество, дающее эту окраску, и в конечном итоге получили триптофан. Строение триптофана было установлено в 1907 г. Эллингером и Фламандом [90]. Эта аминокислота содержится во многих белках, но обычно в небольшом количестве.

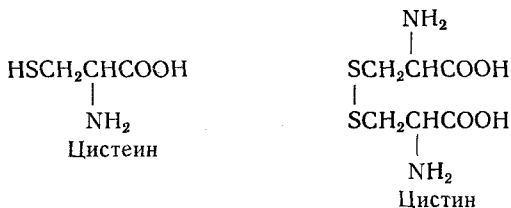
Потребность животных в пищевом триптофане по сравнению с потребностью в других аминокислотах относительно невелика (см. стр. 124).

L-Фенилаланин (α -амино- β -фенилпропионовая кислота)



Фенилаланин был выделен Шульце и Барбьери [73] в 1879 г. из этиолированных побегов люпина. В дальнейшем те же авторы получили эту аминокислоту из гидролизатов растительных белков. В результате химического синтеза фенилаланина, осуществленного в 1882 г. Эрленмейером и Липпом [74], Шульце и Барбьери смогли установить идентичность выделенной ими аминокислоты с синтетическим продуктом [73].

**L-Цистеин (α -амино- β -меркаптопропионовая кислота)
и L-цистин [β , β' -дитиоди(α -аминопропионовая кислота)]**



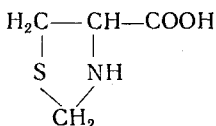
Цистин был выделен Волластоном [27] в 1810 г. из мочевых камней.

В 1899 г. Мёрнер [28] получил цистин из гидролизатов рога. Цистин в значительных количествах входит в состав кератинов и присутствует также во многих других белках. Существуют убедительные доказательства наличия цистеина в составе белков, но в кислотных гидролизатах белков обычно находят только цистин — продукт окисления цистеина. При наличии в белке большого количества триптофана возможно образование ци-

стеина во время гидролиза кислотой [29]; вместе с тем как цистин, так и цистеин разрушаются при обработке щелочью.

О наличии цистеина в некоторых белках свидетельствует тот факт, что эти белки дают положительную цветную (красную) реакцию с нитропруссидом. В нейтральном или щелочном растворе, особенно в присутствии ионов металлов, цистеин быстро окисляется в цистин. Бауман [30] в 1884 г. описал восстановление цистина в цистеин при обработке оловом и соляной кислотой. Эрленмейер [31, 32] установил строение цистина и цистеина путем синтеза этих аминокислот.

Цистеин реагирует с формальдегидом с образованием тиазолдинкарбоновой кислоты:



Эта реакция, не свойственная цистину, была использована для раздельного определения цистина и цистеина [33].

Высокоспецифической цветной реакцией на цистеин служит реакция Салливана: цистеин дает характерную красно-коричневую окраску с 1,2-нафтохинон-4-сульфонатом натрия в сильно восстанавливающей среде [34].

Аминокислотный состав белков

«...Свойства белка не являются отражением суммы свойств составляющих его компонентов, но они определяются структурой его молекулы... Мы можем получить некоторое представление о возможном разнообразии в сочетаниях составных частей белка, если вспомним, что число этих последних соответствует числу букв английского алфавита, посредством которых можно выразить бесконечный ряд мыслей». Коссель (1911).

Гидролиз белка производится при помощи кислот (соляной, серной, йодистоводородной), щелочей (гидроокись натрия или бария) или протеолитических ферментов. Серная кислота была использована Браконно в 1820 г. [46] для гидролиза желатины. В дальнейшем стали пользоваться соляной кислотой [15], применение которой в настоящее время общепринято. Обычная процедура гидролиза заключается в обработке белка 5—20-кратным по весу количеством 3—12 н. соляной кислоты при 100—120° в течение 3—40 час. После гидролиза избыток соляной кислоты удаляют многократным выпариванием. Для разделения

смеси хлоргидратов аминокислот существует ряд способов: осаждение аминокислот относительно специфическими реагентами, получение и разделение производных аминокислот (эфиров, солей серебра или меди), методы электрофореза, ионофореза и хроматографии. Последний метод оказался весьма ценным и будет подробно рассмотрен ниже (стр. 40).

Гидролиз белков кислотой обычно сопровождается разрушением (в результате окисления) большей части триптофана, окислением цистеина в цистин и некоторым распадом серина и треонина. Щелочной гидролиз имеет то преимущество перед кислотным, что триптофан в этих условиях более стабилен. Однако при щелочном гидролизе имеет место интенсивный распад серина, треонина, цистина, цистеина и аргинина. Кроме того, при щелочном гидролизе наблюдается рацемизация природных аминокислот. Гидролиз белка как кислотой, так и щелочью сопровождается дезамидированием глутамина и аспарагина. Эти амиды аминокислот и триптофан можно выделить из гидролизатов, полученных при помощи протеолитических ферментов. Однако ферментативный метод также страдает определенными недостатками: в частности, гидролиз может быть неполным и сам фермент может распадаться с освобождением аминокислот. Выделение аминокислот из белков и получение их с количественным выходом представляет очень сложную задачу, которой занимались многие исследователи. Эта обширная область всесторонне рассмотрена в монографии Блока и Боллинг [98].

Недавно для гидролиза белка было рекомендовано применение ионообменных смол. По одной из методик казеин гидролизуют путем кипячения с обратным холодильником в присутствии сильного катионита (дауэкс-50); образующиеся при гидролизе аминокислоты связываются смолой и могут быть освобождены путем обработки смолы баритом [571, 572].

Белки, как известно, сильно различаются по аминокислотному составу; по этому вопросу накопилась уже большая литература [98—101, 571, 572]. Исследование аминокислотного состава белков оказалось довольно сложной задачей, так как существует ряд трудностей, связанных с приготовлением чистых белков и последующим количественным выделением продуктов их гидролиза.

Несмотря на значительные усилия многих исследователей, до сих пор получено сравнительно мало данных, позволяющих правильно толковать строение белков. Совершенно очевидно, что свойства белка не могут определяться лишь суммой свойств составляющих его аминокислот. Тем не менее знание аминокислотного состава белка является основной предпосылкой, необходимой для успешного выяснения порядка расположения amino-

кислот и других особенностей строения белка. Данные об аминокислотном составе белков имеют существенное значение для решения практических вопросов, связанных с проблемой питания, а также для понимания физических и химических свойств очищенных белков.

Хотя детальное рассмотрение химии белков не входит в задачу этой книги, интересно все же обсудить аминокислотный состав некоторых белков. До настоящего времени подвергнуты анализу более 50 белков, однако полученные результаты не позволяют сделать сколько-нибудь широких обобщений. Тем не менее исследование белков, обладающих специфическими функциями, выявило целый ряд их характерных особенностей. Некоторые примеры из литературы приведены в табл. 1.

Пытаясь найти некоторые общие принципы, лежащие в основе аминокислотного состава белков, Бейли [101] построил ряд гистограмм, отражающих аминокислотный состав двух десятков белков. В целом Бейли не был удовлетворен результатами этой попытки, но ему все же удалось сделать некоторые заключения. Например, он указал на широкое распространение валина, лейцина и изолейцина и отметил, что белки обычно содержат меньше изолейцина, чем лейцина. В белках обычно присутствуют фенилаланин, пролин, тирозин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота и цистин, тогда как триптофан, метионин, лизин, гистидин, аргинин, глицин и аланин встречаются реже.

Тристрам [99] применил этот подход к некоторым другим белкам и заключил, что «некоторые группы аминокислот распределяются в белках таким образом, что гистограммы последних носят характер одной или нескольких частично перекрывающихся кривых нормального распределения. Если такое распределение отражает какую-то природную закономерность, то это может указывать либо на то, что механизм синтеза белка более или менее одинаков для всех видов клеток, либо скорее на то, что механизмы синтеза избирательны и не допускают образования любых стереохимически возможных белков».

Разработка хроматографических методов исследования белков и новых способов выяснения порядка чередования аминокислот позволяет ожидать, что в будущем данные по аминокислотному составу белков можно будет использовать более широко.

Некоторые белки отличаются своеобразными особенностями аминокислотного состава. Так, например, сальмин, принадлежащий к группе протаминов, характеризуется высоким содержанием аргинина и отсутствием таких распространенных компонентов белков, как глутаминовая кислота и лейцин, хотя в нем присутствуют остатки изолейцина и валина (см. табл. 1). Кератин

Аминокислотный состав некоторых белков [99]

Таблица 1

Аминокислоты	Сальмин *	Инсулин быка *	Тиреоглобулин быка ** (0,54% динитротирозина и 0,21% тироксина)	Гемоглобин лошади *	Сывороточный альбумин человека *	γ-Глобулин человека **	α-Казеин **	Пепсин *	Кератин шерсти **	Фиброин шелка **	Коллаген **
Аланин	1	3	83,1	54	—	—	42,8	—	46,4	334,0	106,9
Аргинин	40	1	73,2	14	25	27,9	24,7	2	59,7	6,3	49,4
Аспарагиновая кислота	0	3	—	51	46	66,2	63,2	41	54,1	20,8	47,3
Валин	2	5	12,4	50	45	83,0	53,9	21	39,7	30,8	29,1
Гистидин	0	2	14,4	36	16	16,1	18,7	2	6,8	2,3	4,8
Глицин	3	4	50,7	48	15	56,0	30,2	29	87,0	581,0	363,0
Глутаминовая кислота .	0	7	—	38	80	80,4	153,1	28	96,0	14,7	77,0
Изолейцин	1	1	—	0	9	20,6	—	28	—	8,4	—
Лейцин	0	6	97,8	75	58	71,0	109,2	27	86,3	7,0	42,8
Лизин	0	1	23,5	38	58	55,5	61,0	2	18,9	4,7	30,7
Метионин	0	—	8,7	4,5	6	7,3	16,8	4	4,7	—	5,4
Оксилизин	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6,8
Оксипролин	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	107
Пролин	4	1	—	22	31	70,5	65,1	15	82,6	6,4	131,3
Серин	7	3	10,3	35	22	108,8	60,0	40	95,4	154,3	32,3
Тирозин	0	4	17,2	11	18	37,6	44,8	16	25,7	70,7	5,5
Треонин	0	1	—	24	27	70,6	41,1	28	53,9	13,5	19,2
Триптофан	0	—	10,2	5	1	14,2	7,9	4	8,8	0	0
Фенилаланин	0	3	40,5	30	33	27,9	27,9	13	22,1	20,4	15,2
Цистеин	0	—	—	3	4	5,8	—	2	—	—	0
Цистин (1/2 молекулы) .	0	1,5	30,0	2,5	32	19,9	3,6	4	98,9	—	0
Амидный азот	0	6	—	(36)	(44)	(79,5)	(114,3)	(32)	(83,2)	—	47,1
Фосфор	—	—	—	—	—	—	(31,6)	—	—	—	—
Молекулярный вес	8 000	6 000	650 000	68 000	69 000	156 000	—	34 400	—	—	—

* Число аминокислотных остатков в расчете на молекулу белка.

** Число аминокислотных остатков в расчете на 100 000 г белка.

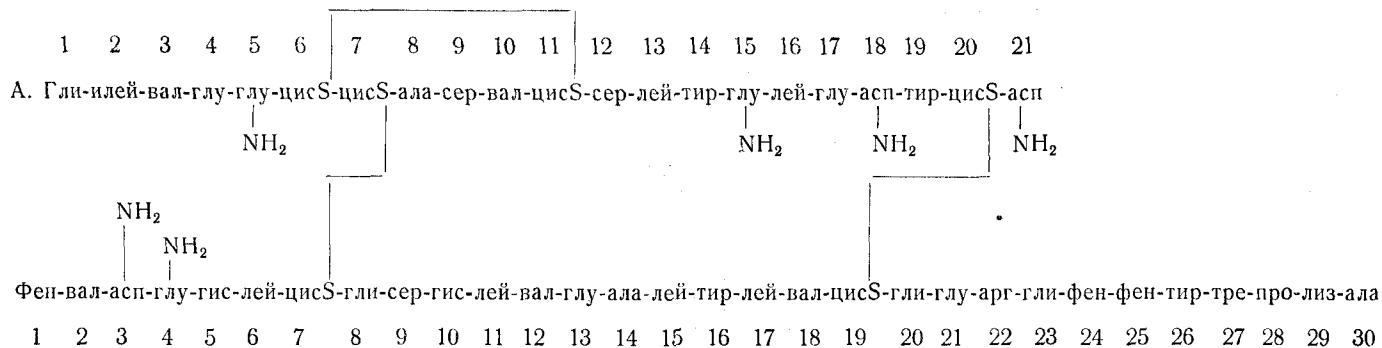
шерсти отличается высоким содержанием цистина, в фиброине шелка имеется относительно большое количество глицина, аланина и серина, а коллаген является единственным белком, содержащим оксипролин и оксилизин. Уже давно известно, что тиреоглобулин содержит тироксин и дийодтирозин, а в последнее время найдено, что в состав тиреоглобулина могут входить и другие йодсодержащие аминокислоты. Приведенные примеры дают представление о характерном аминокислотном составе некоторых известных белков.

Определение числа и природы С- и N-концевых аминокислотных остатков позволило добиться существенных успехов в выяснении структуры некоторых белков. Инсулин оказался первым белком, для которого полностью установлен порядок расположения всех аминокислот [102—107]. Сангер и его сотрудники путем окисления инсулина надмуравьиной кислотой получили два основных продукта, которые оказались пептидами, содержащими цистеиновую кислоту и состоящими из 21 и соответственно 30 аминокислотных остатков. Более короткая цепь (по обозначению Сангера — пептид «А») имеет N-концевой остаток глицина и С-концевой остаток аспарагина. В более длинной цепи (пептид «В») N-концевой аминокислотой оказался фенилаланин, а на С-конце цепи находится аланин. С помощью остроумных приемов, заключающихся в широком использовании метода получения динитрофенильных производных при помощи 1-фтор-2,4-динитробензола (стр. 35) и в выделении пептидов, образующихся при кислотном и ферментативном гидролизе белка, авторам удалось полностью расшифровать порядок расположения аминокислот в пептидных цепях «А» и «В» инсулина, полученного от рогатого скота (фиг. 2).

ε-Аминогруппы лизина в молекуле инсулина свободны. В состав цепи «А» входят 2 остатка глутамина и 2 остатка аспарагина, тогда как цепь «В» содержит по одному остатку обоих амидов. Положение дисульфидных мостиков указано на фиг. 2 [107].

Интересно отметить, что строение цепи «В» в молекулах инсулина, полученного от разных видов животных (рогатый скот, свинья и овца), одинаково, тогда как цепь «А» в инсулине свиньи отличается от цепи «А», представленной на фиг. 2, наличием остатка треонина в положении 8 и остатка изолейцина в положении 10. В инсулине овцы в положении 9 вместо серина находится глицин.

В порядке расположения аминокислот в молекуле инсулина пока нельзя уловить какой-либо закономерной последовательности; этот белок, очевидно, обладает уникальным, ему одному присущим, порядком чередования аминокислот. Конечно, страшно



Фиг. 2. Порядок чередования аминокислот в инсулине (по Сангеру).

Аминокислота	Сокращенное обозначение [573]	Аминокислота	Сокращенное обозначение [573]
Аланин	ала	Изолейцин	илей
Аргинин	арг	Лейцин	лей
Аспарагин	асп-NH ₂	Лизин	лиз
Аспарагиновая кислота *	асп	Метионин *	мет
Цистеин *	цисSH	Фенилаланин	фен
Цистин	(цисS) ₂	Пролин	про
Глутаминовая кислота	глу	Серин	сер
Глутамин	глу-NH ₂	Тренин	тре
Глицин	гли	Триптофан *	три
Гистидин	гис	Тирозин	тир
4-Оксипролин *	опро	Валин	вал

* Отсутствует в инсулине.

подумать, что для каждого белка (и для каждого вида организмов) характерна своя особая последовательность аминокислот, но не исключено, что дальнейшие исследования позволят обнаружить какие-то общие закономерности, которые не могут быть выявлены на основе данных, имеющихся в настоящее время. Возможно, что изучению этой сложной области помогут физические методы исследования и рассмотрение пространственных взаимоотношений.

Данные, полученные при изучении продуктов ферментативного расщепления инсулина [108], указывают на то, что для проявления биологической активности, возможно, не требуется полной сохранности молекулы инсулина. Такие исследования представляют большой интерес и могут оказаться полезными для расшифровки механизма действия инсулина.

ОБЩИЕ СВОЙСТВА АМИНОКИСЛОТ

Хотя детальное изложение химии аминокислот не входит в задачу этой книги, уместно рассмотреть те их свойства, которые представляют интерес с биохимической точки зрения.

Физико-химические свойства аминокислот¹

Все обычные аминокислоты, входящие в состав белков, представляют собой белые кристаллические вещества, устойчивые в твердом состоянии при обычной температуре (около 25°). При нагревании до относительно высокой температуры (обычно в интервале, охватывающем несколько градусов) они разлагаются (табл. 2). Аминокислоты не имеют резких точек плавления или разложения, поэтому определение этих точек имеет ограниченную ценность для характеристики аминокислот. Как правило, аминокислоты устойчивы в водных растворах; автоклавирование таких растворов при температуре 100—200° в течение короткого времени (0,5—2 час.) не вызывает заметного разложения. Глутамин составляет исключение из этого правила; автоклавирование при нейтральном рН приводит к полной его циклизации в аммонийную соль пирролидонкарбоновой кислоты. Глутаминовая кислота также циклизуется при нагревании в водных растворах, но гораздо медленнее, чем глутамин. Устойчивость аминокислот во время гидролиза белков кислотами и щелочами обсуждалась выше (стр. 24).

¹ Оптические свойства аминокислот рассмотрены на стр. 79—96.

Таблица 2

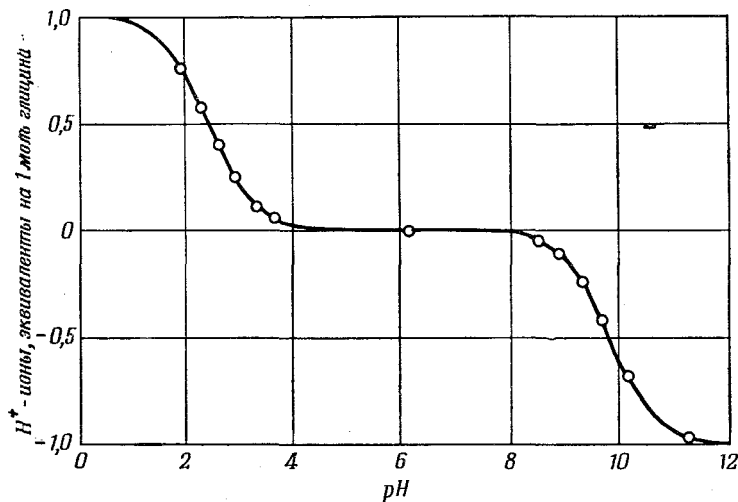
Некоторые свойства аминокислот, обычно встречающихся в белках*

Аминокислота	Точка разложения, °С [109]	Растворимость, на 100 г воды [109]	pK'_1 (COOH) [114]	pK'_2 (NH ₃ ⁺) [114]	pK'_3 [114]	p
Аланин . . .	297	16,51 (16,72 DL)	2,34	9,69		6,0
Аргинин . . .	238		2,17	9,04	12,48 (гуанидин)	10,5
Аспарагин . .	236	3,11 (28°)	2,02	8,80		5,4
Аспарагиновая кислота . .	270	0,500 (0,775 DL)	1,88	3,65 (COOH)	9,60 (NH ₃ ⁺)	2,7
Валин	315	8,85 (7,09 DL)	2,32	9,62		5,9
Гистидин . . .	277	4,29	1,82	6,00 (имидазол)	9,17 (NH ₃ ⁺)	7,5
Глицин	290	24,99	2,34	9,60		5,9
Глутамин . . .	185	3,6 (18°)	2,17	9,13		5,6
Глутаминовая кислота . .	249	0,843 (2,054 DL)	2,19	4,25 (COOH)	9,67 (NH ₃ ⁺)	3,5
Изолейцин . .	284	4,117 (2,011 DL)	2,36	9,68		6,0
Лейцин	337	2,19 (1,00 DL)	2,36	9,60		5,9
Лизин	224		2,18	8,95 (α)	10,53 (ε-NH ₃ ⁺)	9,7
Метионин . . .	283	3,35 (DL)	2,28	9,21		5,7
Оксипролин . .	270	36,11	1,92	9,73		5,8
Пролин	222	162,3	1,99	10,96		6,5
Серин	228	5,023 (DL)	2,21	9,15		5,6
Тирозин	344	0,045 (0,351 DL)	2,20	9,11	10,07 (OH)	5,6
Треонин	253	20,5 (DL)	2,71	9,62		6,1
Триптофан . .	282	1,14	2,38	9,39		5,8
Цистеин	178 (хлоргидрат)		1,96 (30°)	8,18	10,28 (SH)	5,0
Цистин	261	0,011 [0,0326 DL (19°)]	< 1,00 (30°)	1,7 (COOH)	$pK_3 = 7,48$ (NH ₃ ⁺) $pK_4 = 9,02$ (NH ₃ ⁺)	4,6
Фенилаланин	284	2,965 (1,29DL)	1,83	9,13		5,4

* Данные относятся к L-аминокислотам (если в таблице не указана другая форма). Растворимость pK и pI измерены при 25° (если в таблице нет других указаний).

Интересно отметить, что чистый триптофан в кислом растворе относительно устойчив, тогда как триптофан, входящий в состав белка, окисляется при кислотном гидролизе последнего.

Растворимость аминокислот в воде сильно варьирует (см. табл. 2) [109]. Наименьшей растворимостью обладают цистин и тирозин, наибольшей — пролин и оксипролин. Пролин является единственной аминокислотой, хорошо растворимой в спирте (около 1,6 г в 100 мл при 20°). Растворимость большинства аминокислот в абсолютном спирте очень незначительна [110];



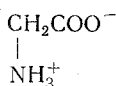
Фиг. 3. Кривая диссоциации глицина [113].

однако даже в этих низких концентрациях (0,0003—0,002 M) некоторые аминокислоты можно обнаружить в спиртовом растворе при помощи высокочувствительной реакции с нингидрином.

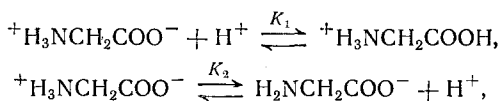
Как правило, хлоридраты нейтральных и дихлоридраты основных аминокислот более растворимы в воде, чем соответствующие свободные аминокислоты; большинство хлоридратов аминокислот хорошо растворяется в спирте. Натриевые соли аминокислот (и динатриевые соли дикарбоновых аминокислот) также гораздо легче растворяются в воде и в спирте, чем свободные аминокислоты. Известно, что тирозин и цистин очень плохо растворяются в воде в интервале pH от 2,5 до 9, однако при более низких или более высоких значениях pH растворимость этих аминокислот повышается. На растворимость аминокислот в водных средах влияет присутствие солей. Некоторые аминокислоты аналогично белкам лучше растворяются при добавлении солей. Так, например, растворимость цистина увеличивается

в присутствии сульфата аммония; при дальнейшем повышении ионной силы раствора цистин «высаливается» из раствора [111]. Более подробно вопрос о растворимости аминокислот рассматривается в обзорах Эдсолла и Скетчерда [112], а также Кона и Эдсолла [110].

В водных растворах аминокислоты находятся в виде дипольных ионов (цвиттерионов); например, молекула глицина может быть представлена следующим образом:



Согласно Брэнстеду, кислотой называется соединение, способное отдавать протон, а основанием — вещество, которое может присоединять протон. Кривая титрования глицина соляной кислотой и натронной щелочью имеет 2 точки перегиба (фиг. 3) [113]. Таким образом глицин может реагировать и как кислота и как основание, иначе говоря, он является амфолитом:



где

$$K_1 = \frac{[{}^+\text{H}_3\text{NCH}_2\text{COO}^-][\text{H}^+]}{[{}^+\text{H}_3\text{NCH}_2\text{COOH}]}$$

и

$$K_2 = \frac{[\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COO}^-][\text{H}^+]}{[{}^+\text{H}_3\text{NCH}_2\text{COO}^-]}.$$

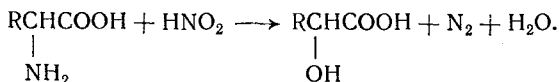
Для глицина $\text{pK}'_1 = 2,34$ и $\text{pK}'_2 = 9,60$ (обычно принято указывать величины pK' аминокислот в порядке уменьшения кислотности). Так как pK' для уксусной кислоты равно 4,8, то ясно, что наличие NH_3^+ -группы в молекуле глицина повышает кислотность карбоксильной группы глицина. Последнее обстоятельство можно объяснить тем, что NH_3^+ -группа способствует отталиванию иона водорода от карбоксильной группы. Ацилирование аминогруппы глицина уменьшает степень диссоциации карбоксильной группы; так, величины pK'_1 для ацетилглицина и хлорацетилглицина равны 3,60 и 3,37 соответственно. У глицин-амида $\text{pK}'_2 = 7,93$, тогда как у глицина $\text{pK}'_2 = 9,60$.

Диссоциационные кривые тех аминокислот, молекулы которых содержат более двух диссоциирующих групп, имеют дополнительные точки перегиба. Так, величины pK' для гистидина составляют 1,82 (карбоксил), 6,00 (имидазол) и 9,17 (NH_3^+).

Изоэлектрической точкой (рI) аминокислоты считается то значение рН, при котором молекула аминокислоты электронейтральна; при этом рН не происходит передвижения аминокислоты в электрическом поле. Величина рI для глицина равна 5,97; однако из его титрационной кривой (см. фиг. 3) видно, что глицин находится в изоэлектрическом состоянии в довольно широком интервале рН. Изоэлектрическую точку для монокарбоновой аминокислоты можно найти путем деления суммы pK'_1 и pK'_2 на 2. Для аминокислот с тремя диссоциирующими группами рI с достаточной точностью может быть определена как среднее из двух преобладающих величин pK' . Величины pK' для диссоциации гуанидиновой группы аргинина, фенольной группы тирозина и сульфгидрильной группы цистеина составляют соответственно 12,48, 10,07 и 10,78. Для более детального ознакомления с этим вопросом читателя можно отослать к обзору Эдсолла [114]. Величины pK' для аминокислот, обычно встречающихся в белках, приведены в табл. 2.

Химические реакции

Для синтеза, определения и характеристики аминокислот, выделенных из природных продуктов и находящихся применение в биохимических исследованиях, существенное значение имеют свойственные им химические реакции. Кроме того, многие реакции аминокислот, с которыми имеет дело химик-органик, подобны тем, которые имеют место и в живой клетке. Ниже рассматриваются химические свойства аминокислот, представляющие интерес с биохимической точки зрения. Более подробно вопросы химии аминокислот освещены в монографиях Кларка [115], Блока [116], Хау [109] и Денюэля [117]. Аминокислоты, обладающие первичной аминогруппой, реагируют с азотистой кислотой с образованием соответствующей оксикислоты и выделением азота:

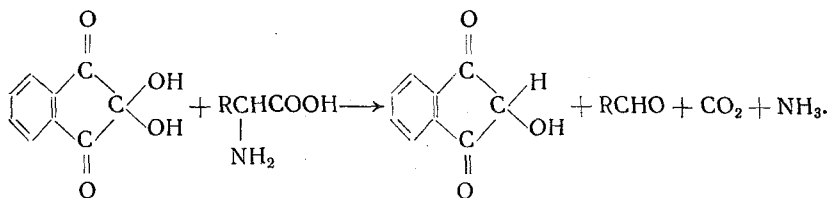


Эта реакция легла в основу нитритного метода Ван-Слайка для определения аминокислот; выделяющийся азот может быть определен газометрическим [118, 119] или манометрическим методом [120].

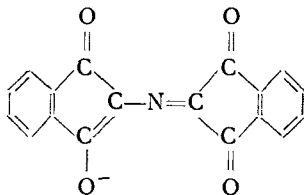
В реакции с азотистой кислотой пролин и оксипролин не дают азота, а цистеин, цистин и глутаминовая кислота дают его в количестве, превышающем эквимолекулярное.

Реакция аминокислот с нингидрином имеет большое значение для обнаружения аминокислот на хроматограммах и для их

количественного определения. Большинство аминокислот реагирует с нингидрином с образованием угольного ангидрида, аммиака и соответствующего альдегида [121—123]:

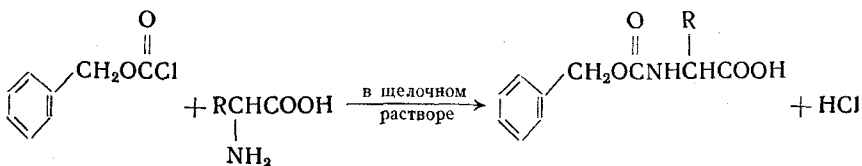


Образовавшиеся аммиак, угольный ангидрид и альдегид доступны количественному определению. Кроме того, можно определить интенсивность сине-фиолетовой окраски «пурпура Руэмманна» (енолят индандион-2-N-2'-инданона), образующегося при реакции аммиака с нингидрином и продуктом восстановления нингидрина (инданон-ендиолом) [124—126]; формула «пурпура Руэмманна» имеет вид



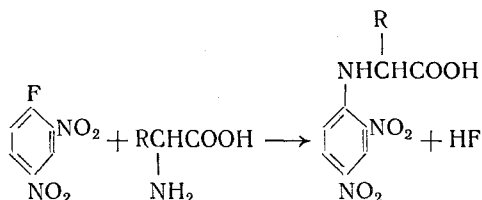
При реакции аспарагиновой кислоты с нингидрином выделяются две молекулы углекислоты, а пролин и оксипролин дают с нингидрином желтую окраску, но не образуют аммиака. Пептиды глутаминовой и аспарагиновой кислот, в которых α -карбоксыльные и α -аминные группы свободны, в отличие от α -глутамил- и α -аспартил-пептидов реагируют с нингидрином с образованием CO_2 и аммиака.

Аминогруппы аминокислот можно подвергнуть ацилированию при помощи различных реагентов, например ацетилхлорида, бензоилхлорида, хлорацетилхлорида, фталевого ангидрида, карбобензоксихлорида. Последний реагент, введенный в практику Бергманом и Цервасом [127], оказался особенно ценным для защиты аминогруппы при синтезе пептидов:



Карбобензоксигруппу можно легко отщепить путем каталитического гидрирования [127], а также при помощи бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте [128], йодистого фосфония [129] или металлического натрия в жидком аммиаке [130].

Большое значение имеет реакция образования 2,4-динитрофенильных (ДНФ-) производных аминокислот:



Динитрофенильные производные аминокислот относительно устойчивы при кислотном гидролизе; это свойство и другие особенности этих производных дают возможность использовать их для определения N-концевых групп белков и пептидов.

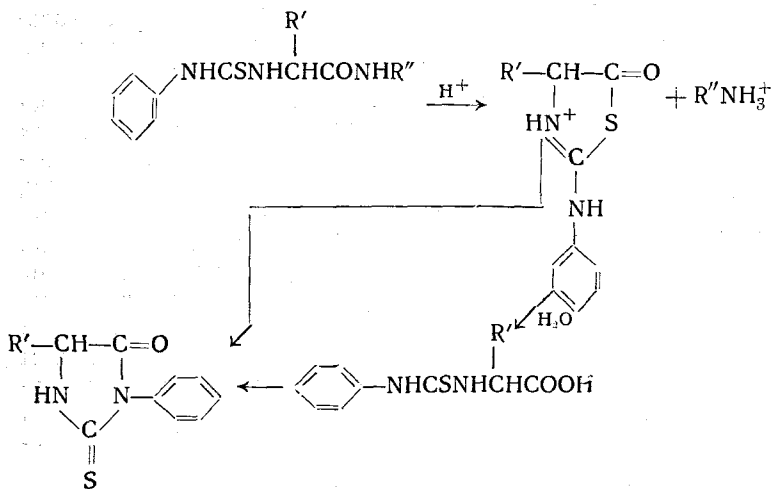
Абдергальден и Стикс [131] впервые получили динитрофенильные производные аминокислот при кипячении щелочных растворов аминокислот с 1-хлор-2,4-динитробензолом. Соответствующее фторпроизводное, рекомендованное Сангером [132, 133], реагирует с аминокислотами в растворе бикарбоната при комнатной температуре и потому практически более удобно. Все N-динитрофенильные производные аминокислот окрашены в желтый цвет, что облегчает их идентификацию на хроматограммах. Некоторые аминокислоты реагируют более чем с одним молекул реagenta; так, в реакцию с 1-фтор-2,4-динитробензолом вступают как α -, так и ω -аминогруппы лизина и орнитина, иминоазот гистидина, фенольная группа тирозина и сульфгидрильная группа цистеина. Поэтому перечисленные аминокислоты образуют бис-динитрофенильные производные.

Сангер нашел, что свободные аминогруппы белков реагируют с 1-фтор-2,4-динитробензолом при слабощелочном pH и комнатной температуре. Ему удалось осуществить гидролиз динитрофенильных производных белков в условиях, при которых связи между динитрофенильной группой и аминокислотами сохраняются. Пользуясь указанным методом, можно во многих случаях определить число открытых пептидных цепей в молекуле белка и установить природу N-концевых остатков. Этот метод позволяет судить о содержании лизина в белках, так как фтординитробензол реагирует со свободными ϵ -аминогруппами лизина, входящего в состав белка. Метод динитрофенильных производных оказывает большую помощь в расшифровке

строения белковой молекулы: одним из выдающихся примеров явилось успешное применение этого метода Сангером при выяснении строения молекулы инсулина (стр. 27).

Для определения природы и числа концевых групп белков применяются и другие методы. Эдман [134] использовал реакцию между аминогруппой и фенилизотиоцианатом, при которой образуются фенилтиокарбамиламинопроизводные. Фенилтиокарбамилпептиды расщепляются под действием кислот с образованием тиогидантоина соответствующей N-концевой аминокислоты. Непосредственным продуктом кислотного расщепления фенилтиокарбамилпептида является соответствующий 2-анилино-5-тиазолинон. Тиазолинон гидролизуется с образованием фенилтиокарбамиламинокислоты, которая циклизуется в тиогидантоин.

В безводной среде тиазолинон может переходить непосредственно в тиогидантоин путем внутримолекулярной перегруппировки:



n-Иодфенилсульфонилхлорид (пипсилхлорид) также реагирует с аминогруппами белков. Метод, основанный на этой реакции, был использован для определения N-концевых групп [135].



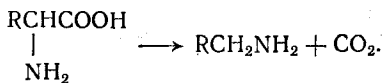
Свободные карбоксильные группы белков труднее поддаются определению, чем свободные аминогруппы. Один из приемов, предложенных для этой цели, заключается в превращении

карбоксильной группы в спиртовую [136]. Путем обработки белка или пептида спиртовым раствором хлористого водорода или диазометаном переводят свободные карбоксильные группы в эфирные, а затем эфирные группы восстанавливают до спиртовых литийборгидридом (LiBH_4). При кислотном гидролизе обработанного таким образом материала остатки аспарагиновой кислоты дают лактон гомосерина, а остатки глутаминовой кислоты появляются в виде α -амино- δ -оксивалерьяновой кислоты. Остатки глутамин и аспарагин, присутствующие в молекуле исходного белка, при гидролизе превращаются в соответствующие дикарбоновые кислоты. Один из способов определения С-концевых остатков основан на применении карбокси-пептидазы (из сока поджелудочной железы), специфически отщепляющей С-концевую аминокислоту. Этот метод страдает рядом недостатков, один из которых состоит в том, что фермент может отщеплять наряду с С-концевой группой следующий за ней аминокислотный остаток. Описание других методов, применяемых для определения концевых групп в белках, можно найти в статье Фокса [137].

О превращении эфиров аминокислот в спирты упомянуто выше. Эфиры аминокислот широко использовал Фишер для разделения аминокислот и для синтеза пептидов. Наиболее полезным в ряде случаев оказалось применение бензиловых эфиров аминокислот, так как они легко расщепляются при каталитическом восстановлении, а также путем омыления. Эфиры аминокислот служат промежуточными продуктами при получении соответствующих амидов, гидроксамовых кислот, гидразидов и азидов.

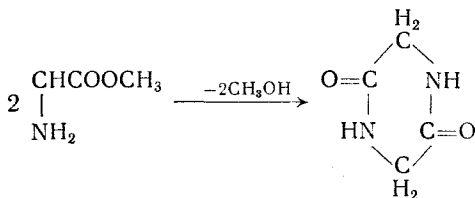
Восстановление карбоксильной группы аминокислоты в метильную достигается путем превращения соответствующего спирта в ди-О,*N*-*n*-толуолсульфонильное производное; последнее восстанавливают литийалюминийгидридом в *N*-*n*-толуолсульфонильное производное желаемого амина [138].

При нагревании аминокислот в сухом состоянии или в высококипящих растворителях они декарбоксилируются [139], в результате чего образуется соответствующий амин. Реакция аналогична ферментативному декарбоксилированию аминокислот (стр. 199):



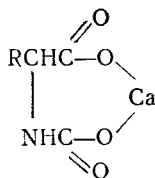
При нагревании аминокислот могут образовываться дикетопиперазины. Эфиры аминокислот также могут превращаться

в соответствующие дикетопиперазины. Метилвый эфир глицина спонтанно переходит в дикетопиперазин в водном растворе:



С метилвым эфиром глицина реакция протекает легче, чем с глициновыми эфирами высших спиртов [140]. Незначительные количества дикетопиперазинов найдены в белковых гидролизатах; возможно, что циклизация аминокислот происходит во время гидролиза белков или при выделении аминокислот.

Аминокислоты реагируют в щелочном растворе с углекислотой, превращаясь в карбамидокислоты, которые можно осадить в виде солей:



Некоторые из них обладают малой растворимостью и нашли применение для выделения аминокислот. При кипячении водных растворов солей карбамидокислот они разлагаются [141, 142]. Карбамидная связь играет известную роль в переносе углекислоты кровью.

В литературе описано получение фосфоамидных производных аминокислот [143, 144]. На аминокислоты (глицин, глутаминовую кислоту, аланин, тирозин) воздействуют хлорокисью фосфора в щелочной суспензии гидрата окиси магния и выделяют продукт реакции в виде магниевой соли. Хотя полученные продукты не были полностью охарактеризованы, величины отношения N/P соответствовали теоретически рассчитанным. Продукты синтеза гидролизуются разбавленными кислотами и препаратами фосфатазы.

Получены также фосфокарбонные производные некоторых аминокислот. Первым был приготовлен β -аспартилфосфат; Блэк и Райт [145] получили это соединение в растворе при помощи следующих реакций. α -Бензиловый эфир β -хлорангидрида N-карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты реагировал со смесью фосфата серебра и фосфорной кислоты с образованием соот-

ветствующего β -фосфата. Затем бензильную и карбобензоксигруппу удаляли путем каталитического гидрирования. Качальский и Пехт [146] получили фосфокарбоновые производные ряда аминокислот путем конденсации серебряной соли карбобензоксиаминокислоты с дибензилхлорфосфонатом. После удаления блокирующих групп обработкой сухим бромистым водородом фосфоангидриды аминокислот получали в виде масел, содержащих 70—90% чистого продукта. Качальский и Пехт синтезировали также γ -глутамилфосфат, применив метод, аналогичный методу Блэка и Райта [145], с той разницей, что для защиты аминогруппы было применено ацетилирование; ацетильный остаток затем отщепляли ферментативно при pH 7 [147].

Шантрени синтезировал карбобензоксиглицил-фенилфосфат, приводя карбобензоксиглицилхлорид во взаимодействие с дисеребряной солью фенилфосфата. Карбобензоксиглицил-фенилфосфат реагирует с аминокислотами при нейтральном pH с образованием соответствующих пептидов. Кроме того, Шантрени осуществил синтез гиппуровой кислоты из дибензоилфосфата и глицина [148—150].

Определение аминокислот

Для количественного определения аминокислот применяют самые разнообразные методы; наиболее важные из них можно разбить на следующие группы: 1) химические методы; 2) ферментативные методы; 3) методы с применением изотопов; 4) микробиологические методы и 5) хроматографические методы. Из химических методов особое значение имеют метод с использованием азотистой кислоты (стр. 33) и методы, основанные на реакции с нингидрином (стр. 33—34).

Для определения отдельных аминокислот разработан ряд специфических методов. В качестве примера можно привести окисление оксиаминокислот йодной кислотой (стр. 21), применимое для определения серина, треонина и δ -оксилизина (стр. 50). Применяются также весовые методы, основанные на избирательном осаждении некоторых аминокислот специфическими реагентами. К специфическим химическим методам определения аминокислот относятся также модифицированная реакция Паули на гистидин (стр. 15), цветная реакция Сакагути на аргинин (стр. 13) и реакция Салливана на цистеин (стр. 23).

Некоторые аминокислоты (гистидин, лизин, аргинин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, орнитин, фенилаланин) могут быть определены путем их ферментативного декарбоксилирования специфическими бактериальными препаратами

(стр. 206). Для определения аминокислот в белковых гидролизатах с успехом применен метод разбавления изотопной метки [151, 152]. Принцип его заключается в том, что к гидролизату белка добавляют меченый препарат какой-либо аминокислоты; последнюю выделяют, и рассчитывают концентрацию ее в гидролизате по степени разбавления изотопной метки в выделенной аминокислоте.

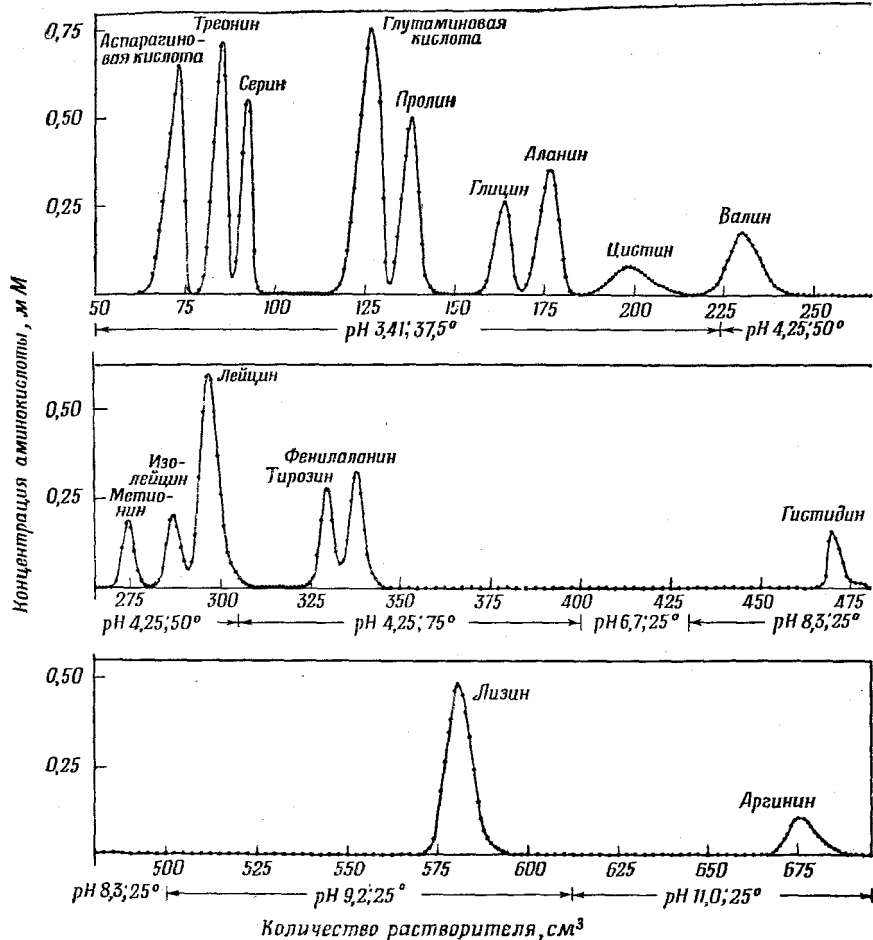
При другом изотопном методе аминокислоты, присутствующие в смеси, количественно переводят в производные радиоактивного реагента [например, *n*-йодфенилсульфонилхлорида (пипсилхлорида)] и после добавления определенной пипсил-аминокислоты в качестве «носителя» выделяют соответствующее производное в чистом виде.

Зная количество добавленного к смеси нерадиоактивного носителя и удельные активности производного, выделенного из смеси (вместе с носителем) и соответствующим образом приготовленного стандарта, можно рассчитать количество данной аминокислоты в исходной смеси [153].

Существуют также многочисленные микробиологические методы определения аминокислот, основанные на подборе таких условий, при которых определяемая аминокислота становится фактором, лимитирующим скорость роста того или иного микроорганизма. Вопрос о потребности микроорганизмов в аминокислотах для обеспечения роста рассматривается в гл. II (стр. 133).

Развитие хроматографических методов разделения и идентификации аминокислот значительно облегчило проведение исследований с аминокислотами; многие успехи, достигнутые в изучении аминокислот за последнее время, непосредственно связаны с применением хроматографии. Занимаясь разделением аминокислот, Нейбергер [154] в 1938 г. обнаружил, что у ацетил-производных разных нейтральных аминокислот коэффициенты распределения между водой и несмешивающимися с водой растворителями различны. В 1941 г. Мартин и Синг [155] осуществили разделение ацетилированных аминокислот на силикагеле; последний служил инертной опорой для водной фазы, через которую протекал неводный растворитель. В дальнейшем эта техника была усовершенствована. Большим достижением явилось использование фильтровальной бумаги в качестве неподвижной фазы [156], что привело к широкому развитию разнообразных методов хроматографии на бумаге (см. Блок и др. [157]). В настоящее время считают, что в процессе разделения веществ на бумаге наряду с распределением между растворяющими фазами играют роль также механизмы адсорбции и ионного обмена.

В последние годы получил широкое распространение метод разделения аминокислот на колонках с крахмалом или полистироловыми смолами (например, дауэкс-50), разработанный



Фиг. 4. Разделение смеси аминокислот на колонке с катионитом дауэкс-50 [158].

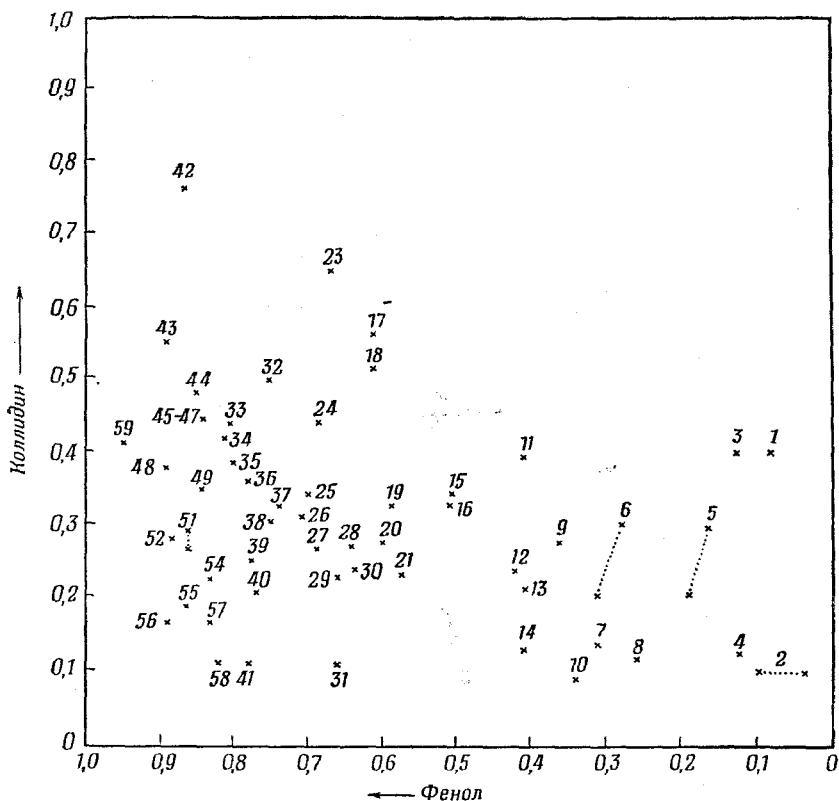
Муром и Стайном [158]. Принцип метода заключается в том, что исследуемый раствор смеси аминокислот вносят в верхнюю часть колонки, заполненной адсорбентом или ионообменной смолой. При соответствующих условиях удается элюировать аминокислоты отдельно и определить их количественно посредством колориметрической реакции с нингидрином. Пример

разделения смеси аминокислот известного состава при помощи этого метода представлен на фиг. 4. При хроматографическом определении аминокислот на бумаге небольшое количество исследуемого материала наносят на полосу бумаги и высушивают, после чего опускают край бумаги в растворитель, который под действием капиллярных сил протекает по полосе бумаги, омывая точки нанесения веществ. Отношение расстояния, на которое переместилась на бумаге данная аминокислота, к расстоянию, пройденному фронтом растворителя (величина R_f) характерно для каждой аминокислоты при определенных условиях (тип бумаги, состав растворителя, температура и т. д.). Несколько аминокислот могут в данной системе иметь одно и то же значение R_f ; поэтому при исследовании смеси аминокислот желательно использовать несколько различных систем растворителей. При помощи двухмерного хроматографирования удается разделить почти все природные аминокислоты. При этом способе через бумагу пропускают два растворителя в двух взаимно-перпендикулярных направлениях. На фиг. 5 изображена схема двухмерной хроматограммы, проявленной сперва смесью фенол—вода—аммиак, а затем коллидином, с последующим опрыскиванием хроматограммы раствором нингидрина для выявления расположения аминокислот. При обработке нингидрином большинство аминокислот обнаруживается на хроматограммах в виде пурпурных пятен. Предложен ряд способов количественного определения аминокислот путем извлечения прокрашенных пятен из хроматограмм и определения интенсивности окраски полученных растворов.

Очень важно помнить, что, несмотря на большую ценность хроматографического метода как способа разделения аминокислот, для окончательной идентификации аминокислот этот метод следует использовать в сочетании с другими. Даже если величины R_f неизвестной аминокислоты и аминокислоты, используемой в качестве эталона, не различаются при хроматографировании в целом ряде растворителей, для окончательного доказательства тождества между неизвестной аминокислотой и аминокислотой-эталонном необходимы дополнительные критерии; тем не менее совершенно очевидно, что данные хроматографического анализа часто оказываются решающими при идентификации вещества.

Для обнаружения и идентификации аминокислот на хроматограммах помимо нингидринового теста могут быть использованы и другие цветные реакции. Так, гистидин и другие имидазольные производные можно обнаружить в виде красных пятен, применяя диазореакцию по Паули или варианты этой реакции. Пролин и оксипролин обнаруживаются в виде синих

пятен после обработки хроматограмм изатином, а оксипролин дает, кроме того, фиолетовое окрашивание с реактивом Эрлиха



Фиг. 5. Схема двухмерной хроматограммы аминокислот на бумаге [159].

1 — цистеиновая кислота; 2 — фосфосерин; 3 — гомоцистеиновая кислота; 4 — глутатин; 5 — аспарагиновая кислота; 6 — глутаминовая кислота; 7 — цистатионин; 8 — лантанин; 9 — серин; 10 — фосфозаноламин; 11 — таурин; 12 — глицин; 13 — аспарагин; 14 — дженколовая кислота; 15 — алло-треонин; 16 — треонин; 17 — диодитирозин; 18 — тирозин; 19 — пеницилламин (окисленная форма); 20 — аланин; 21 — глутамин; 23 — моноидитирозин; 24 — глюкозамин; 25 — метионисульфон; 26 — α -аминомасляная кислота; 27 — гистидин; 28 — оксипролин; 29 — β -аланин; 31 — метионин; 35 — норвалин; 36 — валин; 37 — α -аминоизомасляная кислота; 38 — α -амино- ϵ -оксикапроновая кислота; 39 — метионин-сульфоксид; 40 — γ -аминомасляная кислота; 41 — орнитин; 42 — тироксин; 43 — α -аминооктановая кислота; 44 — фенилаланин; 45 — лейцин; 46 — изолейцин; 47 — норлейцин; 48 — этаноламин; 49 — α -метил- α -аминомасляная кислота; 51 — метилгистидин; 52 — пролин; 54 — карнозин; 55 — ϵ -аминогексановая кислота; 56 — аргинин; 57 — ζ -аминовалерьяновая кислота; 58 — лизин; 59 — гистамин.

(*n*-диметиламинобензальдегид) после предварительной обработки хроматограммы перекисью водорода или изатином (стр. 19). Серин и треонин можно обнаружить на хроматограммах при помощи раствора периодата, содержащего реактив

Несслера; аммиак, образующийся при реакции оксиаминокислот с периодатом (стр. 21), дает с реактивом Несслера желтую окраску. Аргинин выявляется на хроматограмме в виде красных пятен, если обработать ее щелочным раствором 1-нафтола и затем опрыскать раствором гипохлорита (реакция Сакагути). Нитропруссидную реакцию можно с успехом использовать для обнаружения цистеина и цистина; эти аминокислоты (после обработки цианидом) при опрыскивании хроматограммы раствором нитропрусида образуют красные пятна. Цистеин, метионин и некоторые другие восстанавливающие вещества могут быть идентифицированы в виде белых пятен на розовом фоне при обработке хроматограммы реактивом с йодистой платиной. Триптофан дает с реактивом Эрлиха пурпурную окраску, если хроматограмму прогреть при 100° в течение нескольких минут. Эти и другие методы обнаружения аминокислот на хроматограммах подробно описаны в книге Блока и др. [157].

Полезен способ определения тирозина и триптофана, основанный на измерении поглощения ими ультрафиолетовых лучей [160]. У тирозина максимум поглощения расположен при 275 м μ , у триптофана — при 280 м μ . Фотометрию в ультрафиолете используют также для определения содержания этих аминокислот в белках [160]. По интенсивности поглощения в ультрафиолетовой части спектра можно измерять концентрацию белка в растворе [161—165] (поглощение обусловлено в основном присутствием в белке остатков тирозина, триптофана и, в меньшей степени, фенилаланина). При этом обычно требуется поправка на поглощение в ультрафиолете за счет нуклеиновых кислот (их учитывают по величине оптической плотности при 260 м μ) [165].

ДРУГИЕ ПРИРОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ

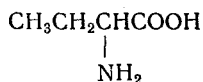
Введение

Фиг. 1 наглядно иллюстрирует поразительно высокие темпы открытия новых аминокислот в последние годы. Резкий подъем кривой после 1940 г. в большой степени был обусловлен широким распространением хроматографических методов в сочетании с высокочувствительной цветной реакцией с нингидрином. Можно не сомневаться, что к тому времени, когда эта книга будет издана, число известных аминокислот превысит то, которое указано на фиг. 1. В настоящем разделе рассматриваются аминокислоты, обнаруживаемые в белках не регулярно, а также те, которые входят в состав других соединений или встречаются

в свободном виде; кроме того, рассмотрен ряд аминокислот, представляющих собой промежуточные продукты обмена веществ.

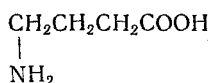
Моноаминомонокарбоновые кислоты

L-α-Аминомасляная кислота



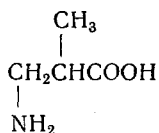
Эта аминокислота обнаружена хроматографически в моче у здоровых людей и у больных с синдромом Фанкони (стр. 469) [166]. Она встречается в свободном виде в тканях животных [167, 168] и растений [184], но до сих пор не обнаружена в составе белков.

γ-Аминомасляная кислота

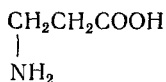


γ-Аминомасляная кислота встречается в свободном виде в мозге животных и в некоторых растениях [170—177]. Эта аминокислота была сперва обнаружена хроматографическим методом и лишь позднее выделена в кристаллическом виде. Уже давно известно, что некоторые бактерии образуют γ-аминомасляную кислоту из глутаминовой кислоты. Недавно γ-аминомасляная кислота получена путем декарбоксилирования глутаминовой кислоты ферментными препаратами, выделенными из растительных и животных тканей, а также из бактерий (см. стр. 199).

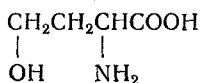
β-Аминоизомасляная кислота



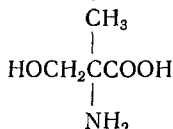
Эта аминокислота была впервые обнаружена в моче человека при помощи хроматографического метода, а затем выделена в кристаллическом виде [178]. Имеются указания на то, что резкие количественные различия в экскреции этой аминокислоты с мочой обусловлены наследственно. Предшественником выводимой с мочой β-аминомасляной кислоты служит, вероятно, 5-метилпиримидин [179] (стр. 309).

β -Аланин (β -аминопропионовая кислота)

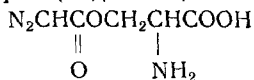
Эта аминокислота является составной частью карнозина, ансерина, пантотеновой кислоты и кофермента А; она встречается также и в свободном виде [168, 175, 177]. Некоторые бактерии способны декарбоксилировать аспарагиновую кислоту с образованием β -аланина, хотя у животных образование β -аланина, по-видимому, происходит иными путями [180] (стр. 308)

L-Гомосерин (α -амино- γ -оксимасяная кислота)

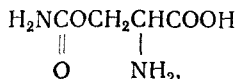
Гомосерин был обнаружен при хроматографическом исследовании растительных экстрактов и выделен из *Pisum sativum* в виде соответствующего лактона [193]. Гомосерин является промежуточным продуктом в обмене треонина, аспарагиновой кислоты и метионина (стр. 333 и 368).

 α -Метил-D-серин (α -амино- β -оксизомасяная кислота)

Правовращающий α -метилсерин выделен из антибиотика амицетина, содержащего также *n*-аминобензойную кислоту и цитозин [194]. В настоящее время доказано, что эта аминокислота имеет D-конфигурацию.

L-Азасерин (O-диазоацетил-L-серин)

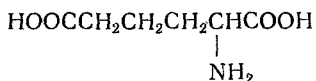
L-Азасерин, который тормозит рост некоторых экспериментальных опухолей, был выделен из фильтратов культуры одного штамма *Streptomyces* [195, 196]. Строение этого соединения подтверждено химическим синтезом. Другое производное серина, O-карбамил-D-серин



выделено из культур другого штамма *Streptomyces* [197].

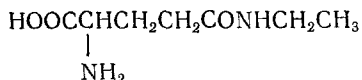
Моноаминодикарбоновые кислоты

L-α-Аминоадипиновая кислота



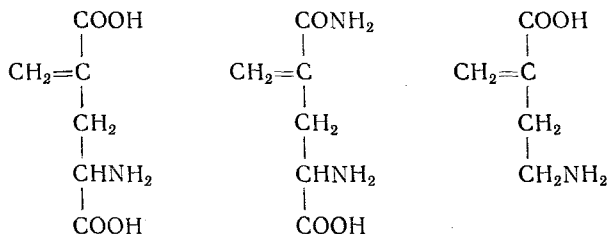
α-Аминоадипиновая кислота была обнаружена в составе одного из белков водной вытяжки кукурузы и, в свободном виде, в зернах кукурузы и в мицелии *Aspergillus oryzae* [198]. Она встречается также и в некоторых других растениях [199]. α-Аминоадипиновая кислота является промежуточным продуктом в обмене лизина (стр. 426) и выделяется с мочой после введения лизина в организм человека [200].

L-Теанин (γ-этиламид L-глутаминовой кислоты)



L-Теанин выделен из японского зеленого чая. Строение теанина установлено путем расщепления и подтверждено синтезом [201].

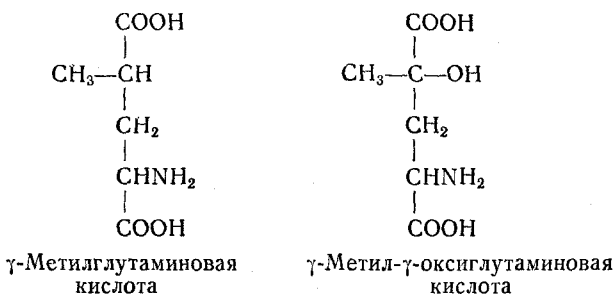
γ-Метиленглутаминовая кислота, γ-метиленглутамин, γ-амино-α-метиленмасляная кислота и родственные им соединения



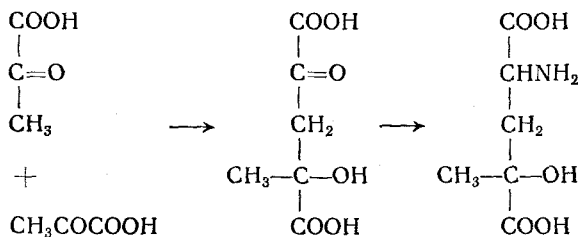
γ-Метиленглутаминовая кислота и соответствующий ей ω-амид найдены в земляном орехе [202] и в луковицах тюльпана [203]; соединение, по-видимому, имеет L-конфигурацию.

Позднее [204] в земляном орехе была обнаружена γ-амино-α-метиленмасляная кислота и показано, что эта аминокислота образуется в результате ферментативного декарбоксилирования γ-метиленглутаминовой кислоты (стр. 204). Осуществлен синтез γ-метиленглутаминовой кислоты, а также ее амида [205].

Недавно обнаружено наличие в природных объектах γ -метил-глутаминовой и γ -метил- γ -оксиглутаминовой кислот:



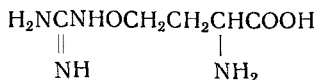
Виртанен [206], Стюард [207] и их сотрудники при помощи хроматографического метода независимо друг от друга выявили эти соединения у некоторых видов папоротников. Возможные взаимоотношения между различными γ -замещенными производными глутаминовой кислоты в обмене веществ еще подлежат исследованию. γ -Метил- γ -оксиглутаминовая кислота синтезирована химическим путем аминирования лактона димера пировиноградной кислоты [207]. В папоротнике *Adiantum pedatum* [206] была найдена γ -метил- γ -окси- α -кетоглутаровая кислота. Не исключена возможность, что это соединение возникает путем конденсации двух молекул пировиноградной кислоты:



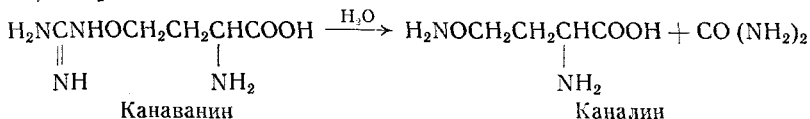
Отнятие воды от молекулы γ -метил- γ -оксиглутаминовой кислоты привело бы к образованию γ -метиленглутаминовой кислоты, которая может далее восстановиться в γ -метилглутаминовую кислоту или в результате амидирования превратиться в соответствующее производное глутаминна.

Диаминомонокарбоновые кислоты

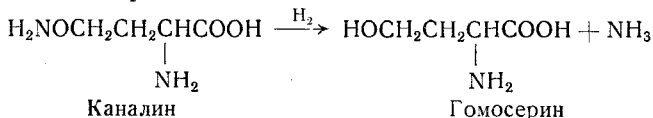
L-Канаванин (α -амино- γ -гуанидиноксималяная кислота)



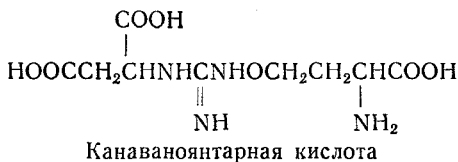
Канаванин найден в свободном состоянии в соевой муке и в бобах *Canavalia* [185, 186]. Под действием аргиназы канаванин подвергается гидролизу с образованием мочевины и каналина [187, 188]:



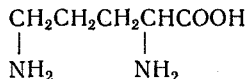
При каталитическом восстановлении каналин распадается на аммиак и гомосерин:



Канаванин тормозит рост некоторых микроорганизмов [169, 189, 190], возможно, в результате конкуренции с аргинином при действии аргиназы, при ферментативном дезимидировании [191] или при конденсации аргинина с фумаровой кислотой; из последней и канаванина образуется канаваноянтарная кислота [192] (стр. 339).



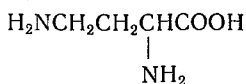
L-Орнитин (α , δ -диаминовалерьяновая кислота)



До сих пор еще нет данных о наличии орнитина в белках, хотя он может образовываться из аргинина во время гидролиза белка. Орнитин встречается в свободном состоянии в растениях [208]; пептидно-связанный орнитин найден в составе ряда антибиотиков (стр. 77). Его роль в цикле мочевинообразования рассматривается ниже (стр. 338). δ -Ацетилорнитин выделен из

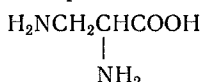
растений [209]. Диникотиноилорнитин и дибензоилорнитин (орнитуровая кислота) содержатся в моче птиц. α -Ацетилорнитин, по-видимому, является промежуточным продуктом в обмене орнитина у некоторых микроорганизмов (стр. 345).

L- α , γ -Диаминомасляная кислота



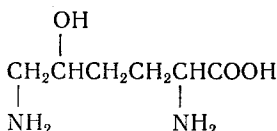
Эта аминокислота выделена из гидролизатов антибиотиков, в том числе антибиотиков группы полимиксина [210—212].

α , β -Диаминопропионовая кислота



Эта аминокислота найдена в гидролизатах виомицина [213], который содержит, кроме того, L-серин и β -лизин.

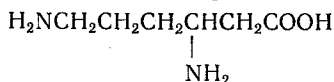
δ -Окси-L-лизин (α , ϵ -диамино- δ -оксикапроновая кислота)



Эта аминокислота была впервые выделена из гидролизатов желатины [214—216]. Положение гидроксильной группы установлено при помощи синтеза этого соединения [217—219]; получены 4 возможных изомера δ -окси-L-лизина [220].

δ -Окси-L-лизин входит в состав фосфатида, выделенного из *Mycobacterium phlei*; связь с остальной частью молекулы осуществляется через ϵ -амино- и δ -оксигруппы [221]. Имеются данные о наличии фосфорилированной формы оксилизина в эмбрионе теленка и других тканях [222, 223]. Аллоформа оксилизина, возможно, содержится в зубном дентине человека [224].

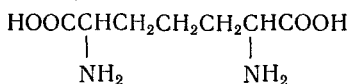
β -Лизин (β , ϵ -диаминокапроновая кислота)



β -Лизин был выделен из антибиотиков виомицина, стрептолина и стрептотрицина [213, 225, 226]. Строение аминокислоты установлено путем расщепления выделенной аминокислоты и сравнения природной аминокислоты с синтетически полученным продуктом.

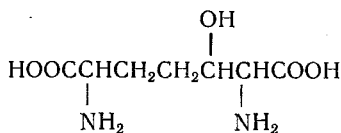
Диаминодикарбоновые кислоты

Мезо- и LL- α, ϵ -диаминопимелиновая кислота

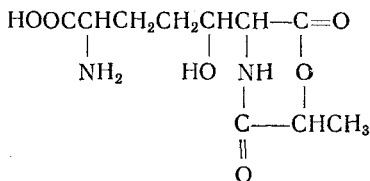


Диаминопимелиновая кислота была впервые выделена из *Corynebacterium diphtheriae* [227], а затем найдена и в других бактериях [228, 229]. Возможно, что эта кислота входит в состав бактериальных белков; кроме того, она встречается в свободном состоянии. По имеющимся данным, в природе встречаются как мезо-, так и LL-изомер (стр. 87). Диаминопимелиновая кислота служит предшественником лизина у *Escherichia coli* (стр. 428). С ее обменом, возможно, связано образование α, ϵ -диамино- β -оксипимелиновой и дипиколиновой кислот.

α, ϵ -Диамино- β -оксипимелиновая кислота



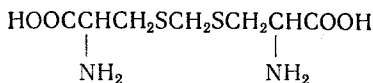
Эта аминокислота, которой присвоено тривиальное название «табтоксинин», выделена из фитопатогенного токсина *Pseudomonas tabaci* [230] — организма, вызывающего бактериальный ожог табака. Строение этого соединения установлено путем химического расщепления его молекулы и исследования полученных продуктов. Имеется сообщение о синтезе α, ϵ -диамино- β -оксипимелиновой кислоты [574]; конфигурация асимметрических центров в природной кислоте еще не известна. Этот токсин, по-видимому, представляет собой лактон α -лактиламино- β -окси- ϵ -аминопимелиновой кислоты:



Предполагают, что он является специфическим антагонистом метионина [230].

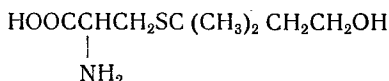
Серусодержащие аминокислоты

L-Дженколовая кислота (L-цистеин-тиоацеталь формальдегида)



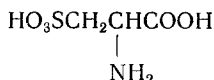
Дженколовая кислота была впервые выделена из мочи жителей Явы, употребляющих в пищу дженколовые бобы (*Pithecolobium lobatum*) [231]. Хотя эти бобы являются излюбленным пищевым продуктом, они обладают некоторой токсичностью. Дженколовая кислота выделена также из самих бобов и получена путем химического синтеза [231—233].

Фелинин



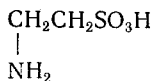
Эта аминокислота впервые была обнаружена при хроматографическом исследовании мочи кошки. Вслед за этим она была выделена и предположительно определена структура ее молекулы [234]. Количество фелинина в моче кошки весьма значительно: выделение его доходит иногда до 120 мг в день. Фелинин найден в моче только у видов хищников, принадлежащих к кошкам.

L-Цистеиновая кислота (β-сульфо-α-аминопропионовая кислота)

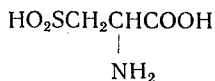


Цистеиновая кислота содержится в наружных частях шерстного покрова овец [235]. Наличие этой аминокислоты в свободном состоянии в моче и тканях объясняется ее образованием в процессе окисления цистеина (стр. 380).

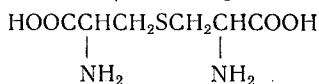
Таурин (2-аминоэтансульфоновая кислота)



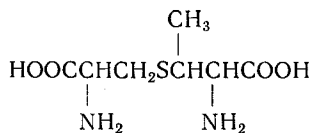
Таурин встречается в свободном виде в различных растительных и животных тканях [236, 237] и в виде таурохолевой кислоты входит в состав желчи. Таурин образуется в процессе обмена цистеина (стр. 384). Гуанидотаурин обнаружен в мышцах кольчатых червей [238]. Гуанидотаурин и карбамилтаурин появляются в моче у крыс после нагрузки их таурином [239].

L-Цистеинсульфиновая кислота (β -сульфинил- α -аминопропионовая кислота)

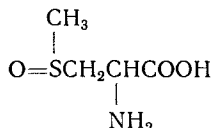
Эта аминокислота сначала была получена химическим путем из цистеина [240], и лишь в последнее время установлено наличие аналогичной ферментативной реакции (стр. 380). Цистеинсульфиновая кислота и продукт ее декарбоксилирования, гипотаурин $\text{HO}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, найдены в свободном виде в мозге крысы [241].

Лантионин [β, β' -тиоди(α -аминопропионовая) кислота]

Мезо- и *DL*-формы этой аминокислоты выделены из щелочных гидролизатов шерсти и получены синтетически [242—245]. Лантионин входит в состав антибиотиков субтилина и низина. Эти антибиотики содержат также метилзамещенный лантионин, молекуле которого приписывают следующую структуру [246, 247]:



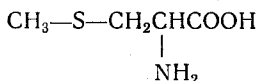
После десульфуризации «метил-лантионина» путем восстановления никелем Рэнея с последующей обработкой динитрофторбензолом были получены ДНФ-*L*-аланин и ДНФ-*D*- α -аминомасляная кислота. Конфигурация третьего асимметрического атома углерода в «метил-лантионине» не известна.

(+)-S-Метил-L-цистеинсульфоксид

Эта аминокислота выделена из капусты [248] и репы [249]. Она встречается и в других растениях (редис, брокколи, цветная капуста). Строение ее установлено путем химического исследования природного продукта и сравнения его с синтетической кислотой. В противоположность метионину *S*-метилцистеин не

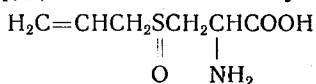
окисляется при комнатной температуре в соответствующий сульфоксид [249]. Ввиду этого маловероятно образование сульфоксида в результате окисления S-метилцистеина в процессе обработки растительного материала. Сульфоксид S-метилцистеина отчасти обуславливает характерный запах некоторых овощей (например, вареной капусты).

(—)-S-Метил-L-цистеин



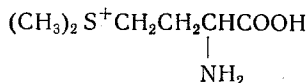
S-Метил-L-цистеин был сравнительно недавно выделен из *Phaseolus vulgaris*. Эта аминокислота служит, вероятно, предшественником соответствующего сульфоксида (см. выше), и не исключено, что обе аминокислоты превращаются одна в другую в процессах обмена [575].

Аллиин [(+)-S-аллил-L-цистеинсульфоксид]



Аллиин выделен из луковиц чеснока. Строение его установлено путем сравнения выделенной аминокислоты с аминокислотой, полученной путем химического синтеза. Получены все 4 возможных изомера аллиина; особенность природного изомера состоит в том, что он содержит асимметрический атом серы. Аллиин под действием фермента аллииназы превращается в аллицин, которому свойствен характерный запах чеснока [250, 251] (стр. 379).

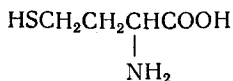
α -Амино-S-диметил- γ -бутиротетин



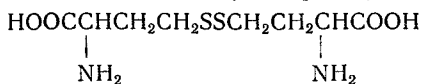
Это соединение, представляющее собой метилсульфониевое производное метионина, обнаружено в капусте, спарже и других овощах [252, 253]. По-видимому, в природе встречаются и другие родственные соединения [254].

Перечисленные ниже другие серусодержащие аминокислоты также найдены в биологических объектах, но они не были выделены препаративно из природных продуктов и точно не охарактеризованы.

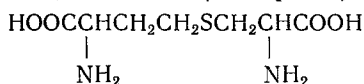
L-Гомоцистеин (см. стр. 374)



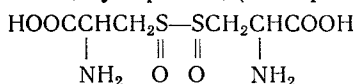
L-Гомоцистин (см. стр. 374)



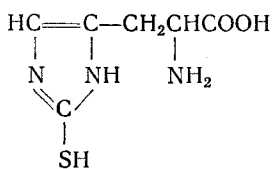
L-Цистатионин (см. стр. 367)



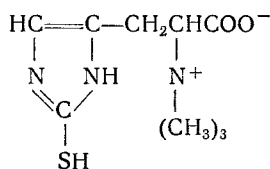
Цистиндисульфоксид (см. стр. 383)



В состав бетаина эрготионеина, полученного из спорыньи, входит аминокислота тиолгистидин. Эрготионеин обнаружен в эритроцитах [255]; тиолгистидин не найден в составе белков [256] (стр. 394).



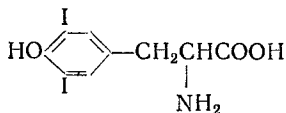
Тиолгистидин



Эрготионеин

Галоидсодержащие аминокислоты

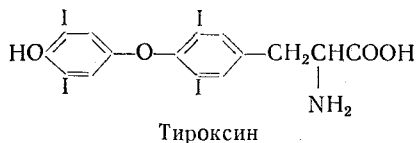
Среди галоидсодержащих аминокислот одним из первых был открыт 3,5-дийод-L-тирозин [257], обнаруженный у некоторых морских организмов и в составе белка щитовидной железы.



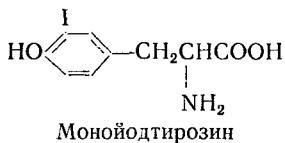
3,5-Дийодтирозин

В природе встречается также 3,5-дибромтирозин, найденный в некоторых видах кораллов [258] и наряду с монобромтирозином — в тканях морских звезд [259].

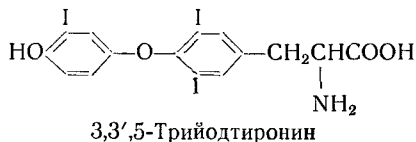
L-Тироксин входит в состав белка щитовидной железы; описано выделение этого вещества и установлена его структура [260, 261]:



Сравнительно недавно в ткани щитовидной железы обнаружены еще две йодсодержащие аминокислоты. Моноидтирозин найден при хроматографическом исследовании гидролизатов щитовидной железы [262—264]; по-видимому, он не является продуктом распада дийодтирозина. Моноидтирозин входит также в состав морских губок [259].



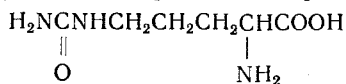
3, 3', 5-Трийод-L-тиронин выделен из щитовидной железы быка [265]; его можно, кроме того, обнаружить в трипсиновых гидролизатах щитовидной железы крыс после введения им I^{131} -йодида.



Подобно тироксину, трийодтиронин встречается в организме и в свободном виде. Интересно, что в тесте по предотвращению развития зоба трийодтиронин проявляет примерно в 5 раз большую биологическую активность, чем тироксин. Данные новейших работ указывают на наличие дийодтирозина и моноидтистинина в тиреоглобулине собак и крыс после введения им I^{131} -йодида натрия [266].

Другие аминокислоты

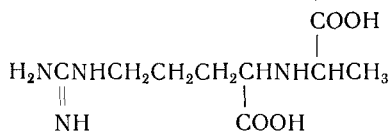
L-Цитруллин (α -амино- β -карбамидовалерьяновая кислота)



Цитруллин, впервые обнаруженный в свободном виде в соке арбуза [181], в дальнейшем был найден и в других растениях

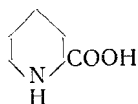
[182, 183], а также в тканях животных [184]. Наличие цитруллина в ферментативных гидролизатах казеина объясняют расщеплением аргинина. (О роли цитруллина в образовании мочевины см. на стр. 338.)

Октопин [N-α-(1-карбоксиэтил) аргинин]



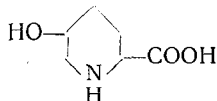
Октопин встречается в свободном виде в мышцах некоторых моллюсков и осьминога [267—270]. Его можно рассматривать как продукт восстановления основания Шиффа, образующегося при конденсации пировиноградной кислоты и аргинина [271]. В состав молекулы природного октопина входит остаток аргинина в L-конфигурации и остаток D-аланина. Синтетически получен «изооктопин», в молекуле которого оба симметрических атома имеют L-конфигурацию [272].

L-Пипеколиновая кислота (пиперидин-2-карбоновая кислота)



L-Пипеколиновая кислота встречается в свободном состоянии в растительных тканях; значительные количества ее найдены в растениях семейства бобовых [273—275]. Пипеколиновая кислота является продуктом обмена лизина (стр. 427).

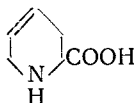
5-Оксипипеколиновая кислота (5-оксипиперидин-2-карбоновая кислота)



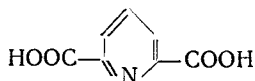
Это соединение выделено из листьев пальмы *Rhapis excelsa* и из других растений, в том числе из мякоти плодов финиковой пальмы *Phoenix dactylifera* [207, 276]. Природная 5-оксипипеколиновая кислота при хроматографическом исследовании оказалась идентичной синтетическому продукту; аналитические данные и исследование инфракрасного спектра поглощения подтвердили указанное выше строение молекулы этого соединения. Предполагают, что между 5-оксипипеколиновой кислотой и

5-оксилизином в процессах обмена существуют такие же взаимоотношения, как между пипеколиновой кислотой и лизином (стр. 433).

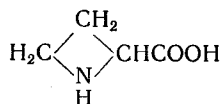
Л-Байкиаин (1,2,3,6-тетрагидропиридин- α -карбоновая кислота)



Байкиаин выделен из водной вытяжки древесины южноафриканского тикового дерева (*Baikiaea plurijuga*) [277]. Кроме того, имеются данные, свидетельствующие о наличии 5-бутилпиполиновой кислоты в грибе *Fusarium lycopersici* [278]. Родственное ей соединение, дипиколиновая кислота, выделено из прорастающих спор *Bacillus megatherium* [279]; из бактериальных спор получен также моноэтиловый эфир дипиколиновой кислоты [576]:

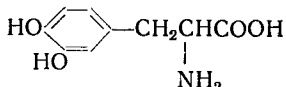


Азетидин-2-карбоновая кислота



Азетидин-2-карбоновая кислота обнаружена на хроматограммах экстрактов ландыша (*Convallaria majalis* L.); это соединение было выделено и оказалось идентичным синтетически полученному продукту. Азетидин-2-карбоновая кислота, гомолог пролина, отличается наличием в молекуле редко встречающегося четырехчленного цикла. Эта аминокислота относительно устойчива к действию щелочей, но разлагается при обработке соляной кислотой с образованием γ -амино- α -хлормасляной кислоты, γ -хлор- α -аминомасляной кислоты и гомосерина. При обработке йодистоводородной кислотой азетидин-2-карбоновая кислота дает смесь гомосерина, γ -аминомасляной и α -аминомасляной кислот [280].

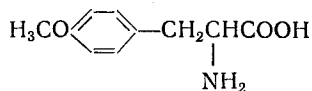
3,4-Диоксифенил-L-аланин (ДОФА)



Эта аминокислота найдена в экстрактах некоторых растений [281—283], в которых она, вероятно, образуется в результате

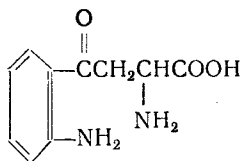
окисления тирозина. Она является промежуточным продуктом при образовании меланинов и, возможно, при других процессах обмена (стр. 423). Вопрос о том, встречается ли ДОФА в составе белков, окончательно не решен; отсутствие этой аминокислоты в белковых гидролизатах можно объяснить большой склонностью этого соединения к спонтанному окислению.

β-(*p*-Метоксифенил)-L-аланин (O-метил-L-тирозин)

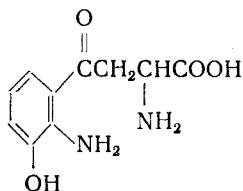


Эта аминокислота выделена из антибиотика пуромицина [284]. Строение этого антибиотика рассматривается ниже (стр. 78).

L-Кинуренин (β-антраилоил-α-аминопропионовая кислота)



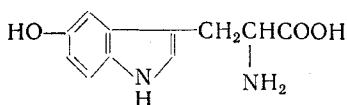
Кинуренин впервые был обнаружен в моче кроликов после введения им с пищей больших доз триптофана [285]; установлено строение этой аминокислоты [286]. Кинуренин представляет собой один из главных промежуточных продуктов обмена триптофана; он окисляется в 3-окси-L-кинуренин



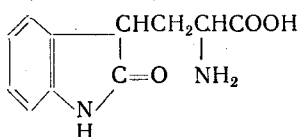
который, вероятно, является предшественником никотиновой кислоты (стр. 400).

3-Оксикинуренин выделяется с мочой у животных при недостаточности витамина В₆. Кроме того, он найден в моче некоторых туберкулезных больных; по-видимому, положительная диазореакция по Эрлиху, характерная для такой мочи [287], обусловлена главным образом этим соединением.

5-Окси-L-триптофан

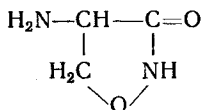


5-Окситриптофан, предшественник серотонина, является промежуточным продуктом в превращениях триптофана, связанных с декарбоксилированием (стр. 201). Образование 5-окситриптофана из триптофана наблюдали у *Chromobacterium violaceum* [288]. Описан синтез этой аминокислоты [289].

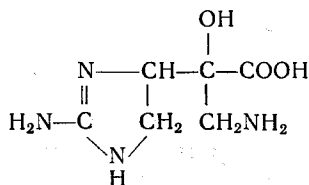
 β -3-Оксиндолаланин

β -3-Оксиндолаланин был выделен из гидролизатов фаллоидина (ядовитого пептида из гриба *Amanita phalloidea*) Виландом и Виткопом [290]. По всей вероятности, эта аминокислота как таковая не является составной частью пептида, хотя и образуется при его гидролизе [291] (см. также стр. 399).

D-Циклосерин (оксамицин; 4-аминоизоксазолидон-3)



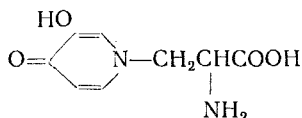
Этот антибиотик выделен из *Streptomyces orchidaceus*; опубликованы данные, доказывающие приведенную выше структуру молекулы [292—294].

Розеонин [2-амино-4 (или 5)-
(1-карбокситетрагидро-1-оксо-2-амино)этил-2-имидазолин]

Эта аминокислота получена из антибиотика розеотрицина, выделенного из *Streptomyces roseochromogenus*. Химические

свойства вещества согласуются со структурой молекулы, изображенной выше [295]. Гидролизаты розеотрицина содержат также β -лизин.

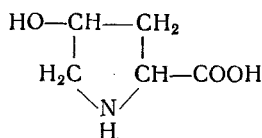
Мимозин (3-окси-4-оксо-1 (4H)-пиридиналин; β -[N-(3-оксипиридон-4)]- α -аминопропионовая кислота)



Эта аминокислота, известная также под названием лейценин, лейцеиол или люцинол, выделена из *Leucaena glauca* Bentham и из *Mimosa pudica* [296, 297]. Строение ее установлено, и описан ее полный химический синтез.

При исследовании оптической активности мимозина ($[\alpha]_D^{22} = -21^\circ$ в воде; $[\alpha]_D^{23} = +10^\circ$ в 1-процентной HCl) оказалось, что он легко рацемизируется [298]. Ввиду токсического действия мимозина на животных (кроме жвачных) он представляет особый интерес.

алло-4-Окси-L-пролин (алло-4-оксипирролидин-2-карбоновая кислота)

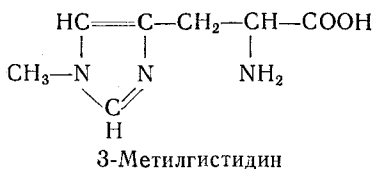


Эта аминокислота выделена из гидролизатов фаллоидина—пептида, обуславливающего токсичность ядовитых грибов *Amanita phalloides* [290]. Кроме того, она встречается в свободном состоянии в листьях и цветах сандалового дерева (*Santalum album*) [299].

N-Метиламинокислоты

N-Метил-L-триптофан выделен из семян *Abrus precatorius* — растения, произрастающего на Тайване [300]. Саркозин (N-метилглицин) имеет более широкое распространение и обнаружен в различных животных и растительных тканях [301—303] (стр. 329). Кроме того, имеются данные о наличии N-метилпроизводных изолейцина, лейцина и валина в составе антибиотиков группы энниатинов [304]. 1-Метилгистидин входит в состав

ансерина и обнаружен в свободном виде в моче и в ткани почек [305—307]



3-Метил-L-гистидин выделен из мочи человека при помощи хроматографии на колонке [308]. По свойствам выделенный продукт идентичен аминокислоте, полученной путем химического синтеза.

К числу природных N-метилпроизводных аминокислот относятся также N-метилтирозин (суринамин) и стахидрин (стр. 349).

Прочие аминокислоты, встречающиеся в природе

Из кожуры яблок выделена аминокислота, обладающая свойствами метилпроизводного пролина, однако для окончательного установления структуры этого соединения необходимы дальнейшие исследования [309]. Недавно опубликованы данные о наличии в некоторых растениях α -аминопимелиновой кислоты [310], α -амино- γ -оксипимелиновой кислоты [311] и γ -оксиглутаминовой кислоты [312]. Из *Astragalus pectinatus*, выросшего на почве с высоким содержанием селена, была выделена аминокислота, содержащая в своем составе селен [313]. Известно, что селен появляется в белках пшеницы, выросшей на почве, содержащей селен. Вероятно, селен замещает серу в молекуле цистина [314]. По данным, пока не подтвержденным, *Escherichia coli* образуют аминокислотный аналог пантоиновой кислоты — α -амино- β , β' -диметил- γ -оксимасляную кислоту [315].

Высказано предположение, что в состав белков входит карбаминовая кислота [316]. α -Аминотрикарбаллиловая кислота (стр. 88) не найдена в природных продуктах, хотя соответствующие α -окси- и α -кетокислоты представляют собой важные промежуточные продукты обмена. О наличии β -оксиглутаминовой кислоты в составе белков сообщалось в одной из старых работ [317]. Однако дальнейшие исследования опровергли это предположение [318, 319]; при помощи хроматографического метода было окончательно установлено, что первоначально описанный продукт не содержит β -оксиглутаминовой кислоты

[320]. Ранее предполагали, что в состав белков входит норлейцин [321—323]. Это предположение также опровергнуто данными хроматографического исследования [324].

Распространение свободных аминокислот

Хотя и было известно, что многие аминокислоты встречаются в природе в свободном состоянии, более детальные сведения о распространении свободных аминокислот получены лишь в последнее время. При помощи хроматографического метода [325], широко используемого в последние годы, оказалось возможным определить аминокислотные «спектры» или «профили» различных тканей; по этому вопросу ежегодно публикуется множество исследований. Результаты, полученные с применением новейших методов, во многих случаях подтвердили данные, добытые ранее при помощи химических, ферментативных и микробиологических методов. Однако метод хроматографии позволяет с такой быстротой и удобством одновременно исследовать большое количество аминокислот, что он стал одним из главных приемов изучения аминокислот.

При помощи хроматографических и других методов получены детальные сведения о содержании свободных аминокислот в различных растительных и животных тканях. Много внимания было уделено аминокислотному составу плазмы крови [326], мочи [307], пота [327, 328] и спинномозговой жидкости [328]. В табл. 3 приведены цифры, характеризующие содержание аминокислот в некоторых тканях кошки, в плазме крови и моче человека и в клубнях картофеля. Многие ткани отличаются своеобразным «спектром» свободных аминокислот (см., например, [329—333]), наглядно выявляемым при двухмерной хроматографии на бумаге [168, 329, 334] (стр. 43). Метод Мура и Стайна (стр. 41), хотя он и более сложен, чем хроматография на бумаге, имеет большие преимущества, так как дает возможность получить точные количественные данные.

Интересны данные о содержании аминокислот в плазме крови человека [326]. Главным аминокислотным компонентом плазмы является глутамин; на его долю приходится около $\frac{1}{4}$ всего содержания аминокислот. Глутаминовая и аспарагиновая кислоты присутствуют в плазме в сравнительно небольшом количестве. Содержание аланина, валина, пролина и лизина выше, чем остальных аминокислот. Наконец, заслуживает внимания наличие в плазме аспарагина, орнитина, цитруллина и таурина.

Аминокислотный состав мочи человека непостоянен; он зависит в известной мере от состава пищи, а также от других

Таблица 3

Содержание свободных аминокислот в некоторых биологических объектах *

	Цель, кон- ки ** [303]	Мозг кон- ки ** [303]	Мышцы кон- ки (икронож- ная мышца) ** [303]	Почки кон- ки ** [303]	Плазма крови человека *** [326]	Моча чело- века **** [307, 342—349]	Клубни карто- феля ** [340]
Аланин	16,5	8,4	24,7	20,7	3,4—4,2	19—36	13,2
β-Аланин	1,7	0,6	6,9	1,3			
α-Аминоадипино- вая кислота						≈ 10	
α-Аминомасляная кислота					0,2—0,3		
γ-Аминомасляная кислота	1,0	23,4	0,1	0,5			30,0
β-Аминоизомаля- ная кислота	0,3	0,1	0,2	0,4			
Ансерин			200				
Аргинин	0,2	1,4	2,7	1,2	1,5—2,5	4—21	35,6
Аспарагин	2,5	1,4		2,3	0,6—1,0—1,4	34—92	137,4
Аспарагиновая ки- слота	11,6	29,7	3,9	7,3	0,01—0,07	0—1	10,7
Валин	4,3	2,1	2,3	6,2	2,7—3,4	4—12	24,3
Гистидин	9,1	0,9	3,6	2,7	1,0—2,1	69—320	
Глицин	9,1	10,1	6,7	14,4	1,1—2,8	68—737	2,8
Глицерофосфатанол- амин	271	2,9	3,6	77,8			
Глутамин	> 50,0	> 50	> 50	> 20	5,8—9,7		302
Глутаминовая кисло- та	66,0	128	36,2	137	0,7—4,4	0—61	17,8
Глутатион	118	27,1	28,7	61,6			
Изолейцин	1,7	1,2	1,7	2,3	0,9—1,8	4—28	10,4
Карнозин			150				
Креатинин		57	24				
Лейцин	3,6	1,8	2,3	3,2	1,7—2,4	9—18	
Лизин	3,6	2,0	5,5	3,7	2,2—3,0	1—48	6,3
1-Метилгистидин		0,3	106		0,1		
3-Метилгистидин	0,4	0,3	3,2	1,1	0,1	47—384	
Метонин	0,9	1,5	0,4	1,1	0,3—0,9	2—14	8,3
Мочевина	40,0	25,0	35	100			
Орнитин	2,0	0,6	0,4	0,6	0,6—0,8		
Пролин	2,6	1,6	3,2	4,6	2,4—2,9	7—15	0

Продолжение табл. 3

	Печень кош- ки ** [303]	Мозг кош- ки ** [303]	Мышцы кош- ки (икронож- ная мышца) ** [303]	Почки кош- ки ** [303]	Плазма крови человека *** [326]	Моча чело- века **** [307, 342—349]	Клубни карто- феля ** [340]
Саркозин							
Серин	3,4	7,6	5,4	3,9	1,0—1,3	21—73	6,6
Таурин	172	24,0	78,6	44,3	0,4—0,8	86—294	
Тирозин	2,1	1,2	0,8	1,8	1,0—1,5	11—49	12,1
Треонин	3,1	2,6	3,9	3,6	1,3—3,1	15—53	10,1
Триптофан	1,0	0,7	1,5	0,7	1,1—1,7		
Фелинин	1,2	0,6	0,3	1,0			
Фенилаланин	1,8	1,2	1,0	1,6	0,8—1,9	3—31	13,8
Фосфоэтаноламин	19,1	41,9	1,8	21,7			
Цистин	0,2	1,0	0,2	1,1	1,0—2,0	10—108	
Цитруллин	0,9	0,4	0,2	0,9	0,5		
Этаноламин	2,0	20,7	0,5	3,3			

* Некоторые величины, приведенные в таблице, являются приблизительными и основываются на небольшом числе определений; тем не менее они дают представление о порядке величин, характеризующих содержание аминокислот в перечисленных биологических объектах. Другие данные о содержании свободных аминокислот в животных тканях, в моче и плазме крови человека и в растениях можно найти в статьях Таллана, Мура и Стайна [303], Стайна [367], Стайна и Мура [326] и Стюарда и Томпсона [340].

** В миллиграммах на 100 г сырого веса ткани.

*** В миллиграммах на 100 мл плазмы крови; определения произведены при помощи различных методов и в разных лабораториях.

**** В миллиграммах на суточную порцию мочи.

факторов, в том числе и наследственных. В противоположность аминокислотам плазмы многие аминокислоты встречаются в моче в связанных формах (например, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, глицин, пролин, цистин, лизин, серин) [307]. Некоторые аминокислоты выделяются с мочой в очень малых количествах (аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, пролин, метионин, аргинин). Аспарагиновая и глутаминовая кислоты появляются в моче при хранении, вероятно, в результате гидролиза амидов или иных связанных форм этих аминокислот. Значительная часть ежесуточной экскреции аминокислот у человека (около 1 г за день) приходится на долю таурина, глицина, гистидина и метилгистидина.

„Спектры” свободных аминокислот плазмы крови и ряда тканей у животных разных видов довольно сходны, тогда как

аминокислотный состав мочи у них весьма различен [335]. Разительный пример представляет наличие фелинина в моче у одних только кошек (стр. 52). Здесь невозможно рассмотреть все известные в настоящее время данные о содержании свободных аминокислот в различных тканях и биологических жидкостях; данные о содержании аминокислот в некоторых наиболее тщательно исследованных тканях приведены в табл. 3. В тканях в отличие от плазмы крови концентрации глутаминовой и аспарагиновой кислот имеют обычно тот же порядок, что и концентрации соответствующих амидов, или несколько выше [336—338]. Глутатион и цистеин находятся в тканях преимущественно в восстановленной форме; в относительно высоких концентрациях присутствует таурин.

Преобладающими аминокислотными компонентами тканей у животных являются глутаминовая и аспарагиновая кислоты, глицин и аланин; орнитин, α -аминомасляная, γ -аминомасляная, саркозин, α -аминоизомасляная и α -аминоадипиновая кислоты присутствуют в относительно низких количествах. Из связанных форм аминокислот наиболее известны глутатион, ансерин и карнозин. Однако данные, полученные при исследовании продуктов кислотного гидролиза тканевых экстрактов, свидетельствуют о наличии также других связанных форм аминокислот (например, N-ацетил-аспарагиновая кислота в мозге) [303].

Свободные аминокислоты, встречающиеся в растениях, гораздо более разнообразны [339, 340]. Многие аминокислоты обнаружены пока только в экстрактах из растительных тканей, например мимозин, γ -метиленглутаминовая кислота, дженколовая кислота, байкианин, канаванин, алло-оксипролин. В табл. 3 указан аминокислотный состав небелковой фракции клубней картофеля. Многим растениям свойственно высокое содержание глутамина и аспарагина; в клубнях картофеля на долю этих амидов приходится около 75% небелкового азота. В растениях присутствуют также связанные формы аминокислот — пептиды и, возможно, комплексы, состоящие из аминокислот и углеводов [341].

ПРИРОДНЫЕ D-АМИНОКИСЛОТЫ

«...Если бы таинственное воздействие, обуславливающее определенного типа асимметрию естественных продуктов, изменилось по направлению, или знаку, то составные элементы живых существ превратились бы в свое зеркальное отображение, и перед нами, возможно, предстал бы новый мир. Кто может предвидеть, какой была бы организация живых существ, если бы глюкоза из правовращающей стала левовращающей и левовращающий альбумин крови стал правовращающим?»

Перед нами — загадки, на разрешение которых в будущем придется затратить немало труда и которые уже сейчас побуждают ученых к углубленному размышлению». Пастер (1860).

В настоящее время нет убедительных данных о наличии D-аминокислот в составе белков растений и животных. Ввиду того что при кислотном гидролизе белков аминокислоты могут подвергаться некоторой рацемизации, трудно исключить наличие в белках малых количеств D-аминокислот. Не так давно Кёгль и Эркслебен [350] сообщали о наличии некоторых D-аминокислот (в особенности D-глутаминовой кислоты) в белках опухолей. Кёгль и его сотрудники высказали предположение, что само возникновение опухолей находится в какой-то связи с присутствием D-аминокислот. Данные Кёгля и его сотрудников послужили толчком к большому числу экспериментальных

Таблица 4

Природные D-аминокислоты

D-Аминокислота	Источник	Источник данных
Аланин	Молочнокислые бактерии Октопин Некоторые пептиды	[355] (см. стр. 57) [356]
α -Аминоадипиновая кислота	Цефалоспорин N	[357, 369, 370]
α -Аминомасляная кислота	Субтилин	(см. стр. 53)
Аспарагиновая кислота	<i>Bacillus brevis</i> Молочнокислые бактерии	[358, 359] [360]
Валин	Грамицидин D	[365, 378]
Глутаминовая кислота	Полиглутаминовая кислота капсулы клеток <i>B. subtilis</i> , <i>B. anthracis</i> и других бактерий	[361—364, 368]
O-Карбамилсерин	<i>Streptomyces</i>	[197]
Лейцин	Грамицидин D, полимиксины и циркулин	[365—367, 371, 372]
α -Метилсерин	Амицетин	[373]
Пеницилламин	Пенициллины	[374]
Серин	Полимиксин	[377]
Фенилаланин	Грамицидин, тироцидин, <i>B. brevis</i>	[359, 375, 376]
Циклосерин	<i>Streptomyces</i>	(см. стр. 60)

исследований и стали предметом обширной дискуссии. Большинство исследователей при попытках воспроизвести данные Кёгля не смогли подтвердить полученные им результаты. Миллер [351] недавно опубликовал обзор, посвященный детальному обсуждению этого вопроса. Хотя большинство исследователей не разделяют точку зрения Кёгля, нельзя считать полностью исключенным присутствие малых количеств D-глутаминовой кислоты в белках. Кёглем [352] опубликованы дальнейшие данные, согласующиеся с первыми его наблюдениями, а недавно и другие исследователи сообщили о наличии D-аминокислот в животных тканях [353, 354]. Вопрос и по настоящее время еще не решен; вероятно, необходимо применить более совершенные методы гидролиза и выделения.

Хотя присутствие D-аминокислот в белках не доказано, наличие их в свободном состоянии и в виде пептидов в клетках различных микроорганизмов не вызывает сомнений. Как видно из данных, представленных в табл. 4, выражение «природная конфигурация» утратило свой смысл.

Многие антибиотики, в том числе полимиксины, тироцидин и грамицидин, содержат остатки D-аминокислот. Пенициллин содержит D-пеницилламин (β, β' -диметил-D-цистеин) (стр. 76). D-Аспарагиновая кислота и D-фенилаланин встречаются в гидролизатах *Bacillus brevis* и, по-видимому, существуют в клетках этого микроба в связанной форме [359]. D-Аланин входит в состав клеток *Lactobacillus arabinosus* и некоторых других микроорганизмов, использующих эту аминокислоту для роста [355]. D-Аспарагиновая кислота также необходима для роста некоторых молочнокислых бактерий и присутствует в гидролизатах этих микроорганизмов [360].

D-Глутаминовая кислота встречается в гидролизатах *L. arabinosus* [364] и в полипептиде, входящем в состав капсулы клеток *B. anthracis* и родственных организмов (стр. 72). D-Пролин выделен из кислотных гидролизатов алкалоидов спорыньи еще в 1935 г. [379]; это наблюдение воспроизведено другими исследователями [380]. Однако в настоящее время имеются данные, свидетельствующие о том, что в самих алкалоидах спорыньи, до их гидролиза, пролин имеет L-конфигурацию [381]. алло-D-Изолейцин, найденный в гидролизатах актиномицина [382, 383], также, вероятно, возникает во время гидролиза в результате эимеризации L-изолейцина, входящего в состав этого пептида [384].

Распространение D-аминокислот пока еще представляется несколько ограниченным. Однако надо учесть, что исследования по этому вопросу начаты сравнительно недавно и им уделяется большое внимание; это дает основание предвидеть в будущем

открытие новых D-изомеров в составе природных продуктов. О роли D-аминокислот в биологических объектах судить довольно трудно; наличие их в природе позволяет подвести по крайней мере телеологическое основание под существование D-аминокислотной оксидазы (стр. 184). Существуют и другие ферментные системы, осуществляющие обмен D-изомеров. Очевидно, что D-аминокислоты могут образоваться при действии аминокислотных рацемаз бактерий (стр. 240). Остатки D-аминокислот, входящие в состав некоторых антибиотиков, придают молекулам последних повышенную устойчивость, делая их менее доступными воздействию пептидаз. В связи с этим интересно отметить, что глутаминовая кислота, входящая в состав клеточных белков *B. subtilis*, имеет L-конфигурацию, тогда как глутаминовая кислота, выделенная из клеточных капсул, является D-изомером. Предположение о том, что биологическая активность некоторых антибиотиков обусловлена наличием в их молекуле остатков D-аминокислот, лишено фактического основания.

У некоторых видов молочнокислых бактерий содержание D-аланина составляет от 1 до 2% сухого веса клеток; около 40% этого D-аланина можно извлечь из клеток горячей трихлоруксусной кислотой, а остальная его часть, по-видимому, находится в связанной форме во фракции клеточных оболочек [385]. В клеточной оболочке молочнокислых бактерий содержится также D-глутаминовая кислота; ряд данных указывает на то, что D-аминокислоты в клеточной оболочке бактерий связаны с аминокислотами¹ [368].

Для определения оптической конфигурации аминокислот применяется микрометод, основанный на использовании D- и L-аминокислотных оксидаз (стр. 183) в сочетании с хроматографией на бумаге. При обработке гидролизатов казеина, ультрафильтратов нормальной плазмы, мочи и спинномозговой жидкости человека препаратами L-аминокислотной оксидазы наблюдается исчезновение аминокислот, чувствительных к действию указанного фермента. Этого не происходит при обработке тех

¹ В последние годы рядом авторов (Парк, Штрюмингер и др.) установлено, что в образовании высокополимерных мукопептидов клеточной стенки бактерий участвуют в качестве предшественников нуклеотидные производные мукопептидов, содержащих D-аминокислоты, как, например, уридилдифосфо-N-ацетилгалактозамин-О-лактил-L-ала-D-глу-L-лиз-D-ала-D-аланин (у *Staphylococcus aureus*) или аналогичное соединение, содержащее вместо остатка лизина остаток мезо-диаминопимелиновой кислоты (у *E. coli*) (см. стр. 96, а также J. L. Strominger, S. S. Scott and R. H. Threnn, *Feder. Proceed.* 18, 334 (1959)). Накопление подобных продуктов в бактериальных клетках наблюдается в присутствии пенициллина, тетрациклинов и других антибиотиков, угнетающих биосинтез вещества клеточной стенки бактерий. — *Прим. ред.*

же материалов оксидазой D-аминокислот. Отсюда следует, что большая часть, если не вся масса, присутствующих в этих объектах аминокислот имеет L-конфигурацию [577]. Этим же методом было установлено присутствие D-аланина в крови насекомого *Oncopeltus fasciatus* [578].

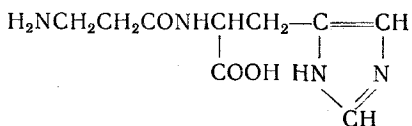
Кроме D-изомеров, указанных в табл. 4, существуют такие природные аминокислоты с несколькими асимметрическими углеродными атомами, у которых по меньшей мере один оптический центр имеет D-конфигурацию. К таким аминокислотам относятся L-треонин, мезо-диаминопимелиновая кислота, алло-окси-L-пролин и «метил-лантионин».

ПЕПТИДЫ И РОДСТВЕННЫЕ ИМ СОЕДИНЕНИЯ

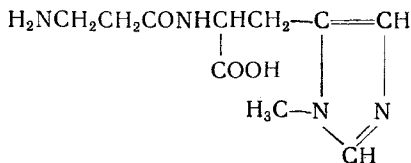
Введение

До сравнительно недавнего времени были известны лишь немногие природные пептиды. С развитием и усовершенствованием новых методов исследования обнаружено множество различных пептидов; некоторые из них обладают интенсивным фармакологическим и физиологическим действием и потому подверглись обстоятельному изучению. Вполне возможно, что существует целый ряд пептидов, не обладающих столь заметным биологическим действием. Пептиды, которые были выделены и охарактеризованы, проявляют самую разнообразную активность. Возможное участие пептидов в синтезе белка будет рассмотрено ниже (стр. 281). В настоящем разделе обсуждаются соединения, в молекулах которых имеются «типичные» пептидные связи, а именно связи между α-амино- и α-карбоксильными группами, а также соединения, в которых встречаются другие типы CO—NH-связей.

Карнозин и ансерин



Карнозин

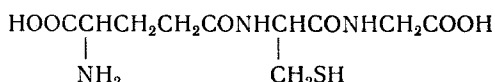


Ансерин

Карнозин был выделен из мышц Гулевичем и Амираджиби [386] в 1900 г.; позднее установлено, что он имеет строение β-аланил-L-гистидина [387, 388]. Ансерин, 1-N-метилпроизводное карнозина, также является составной частью мышц позвоночных [389—391]. Хотя о наличии относительно больших количеств карнозина и ансерина в мышцах известно давно, функции этих веществ изучены сравнительно мало.

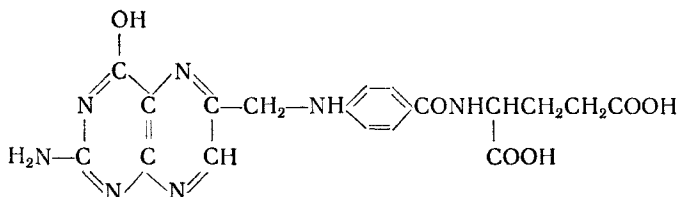
Карнозин гидролизуется с образованием β-аланина и гистидина под действием фермента (карнозиназы), найденного в печени и в почках некоторых животных [392]. Возможность использования карнозина (вместо гистидина) для обеспечения роста животных [393] и микроорганизмов [394] можно объяснить предварительным ферментативным гидролизом карнозина. Ансерин, впервые выделенный из мышц гуся, был обнаружен затем в мышцах многих животных.

Глутатион



Глутатион был выделен из дрожжей Гопкинсом [395] в 1921 г. Харингтон и Мид [396] установили строение этого пептида путем синтеза; он оказался γ-L-глутамил-L-цистеинилглицином. Глутатион может существовать в восстановленной и в дисульфидной форме и широко распространен в природе. Он служит фактором роста для некоторых микроорганизмов [397] и представляет собой кофактор глиоксалазы. Его роль в процессах обмена обусловлена, по крайней мере частично, наличием в его молекуле сульфгидрильной группы (стр. 268 и 315).

Фолевая кислота и родственные ей соединения

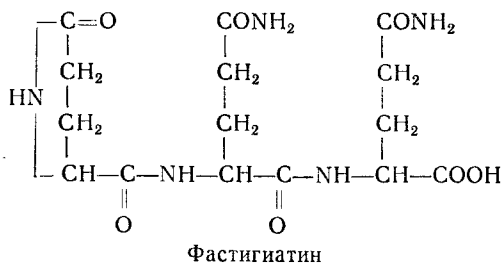


Фолевая кислота (N-птероил-L-глутаминовая кислота, фолацин, витамин B₉, печеночный фактор роста *L. casei*) широко распространена в природе; она обнаружена в печени, шпинате,

дрожжах и многих других материалах. Известен целый ряд родственных соединений, в том числе N-птероил- γ -глутамил- γ -глутамилглутаминовая кислота и производные, содержащие более трех остатков глутаминовой кислоты [398]. Наличие в молекуле фолевой кислоты γ -глутамильной связи представляет определенный интерес, так как аналоги, имеющие связи в α -положении, менее активны, чем фолевая кислота, а N-птероил-D-глутаминовая кислота, по-видимому, лишена биологической активности. Роль фолевой кислоты в процессах обмена рассматривается ниже (стр. 327).

Полиглутамил-пептиды

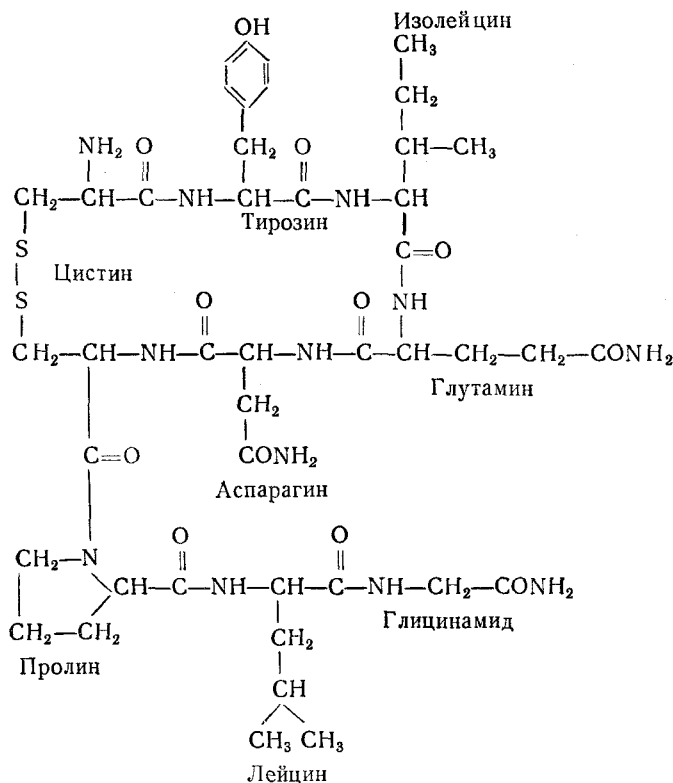
В клеточной оболочке некоторых штаммов *Bacillus subtilis*, *B. anthracis* и *B. megatherium* содержатся полиглутамил-пептиды, молекулярный вес которых колеблется от нескольких тысяч примерно до 50 000. Эти пептиды заслуживают особого внимания потому, что входящая в их состав глутаминовая кислота имеет преимущественно или исключительно D-конфигурацию. По-видимому, в образовании этих пептидов участвуют как α -, так и γ -связи, однако преобладают последние [361—363]. Пептид, в состав которого входит глутамин, — L-пирролидиноил- α -L-глутаминил-L-глутамин (фастигиатин) — выделен из морской бурой водоросли *Pelvetia fastigiata* Деккером и др. [399].



Гормоны задней доли гипофиза

Неочищенные препараты вазопрессина и окситоцина доступны уже в течение ряда лет, однако строение этих гормонов выяснено только в самое последнее время. Дю-Виньо и др. [400—402, 579] установили строение окситоцина и вазопрессина и осуществили химический синтез окситоцина. Полученный путем химического синтеза окситоцин полностью идентичен очищенному природному продукту. Это — выдающееся достижение, поскольку впервые был осуществлен химический синтез

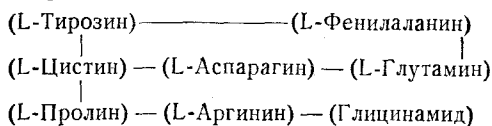
естественного гормона полипептидной природы. Еще до осуществления синтеза окситоцина Дю-Виньо и его сотрудники предложили для окситоцина рогатого скота следующую структурную формулу:



Такую же структуру предложил Туппи [403, 404], основываясь на данных Дю-Виньо и сотрудников, а также на собственных данных, полученных с использованием метода определения концевых групп в виде динитрофенильных производных по Сангеру (стр. 35).

Окситоцин синтезировали путем конденсации N-карбобензокси-S-бензил-L-цистеинил-L-тирозина с L-изолейцил-L-глутаминил-L-аспарагинил-S-бензил-L-цистеинил-L-пролил-L-лейцил-глицинамидом. Полученный амид нонапептида обрабатывали натрием в жидком аммиаке для удаления защитных групп, а затем окисляли с образованием окситоцина.

Вазопрессин рогатого скота имеет аналогичное строение:



Недавно из лаборатории Дю-Виньо вышла работа, в которой описан синтез вазопрессина свиньи [580]. Заслуживает внимания тот факт, что концевым остатком в молекулах упомянутых выше гормонов является глицинамид. В связи с этим возникает важный вопрос: не существуют ли подобные связи и в белках? В молекуле вазопрессина свиньи остаток аргинина замещен лизином. Несмотря на это видовое различие, оба вазопрессина обладают почти одинаковой физиологической активностью. Окситоцин является одним из главных гормонов задней доли гипофиза; он вызывает сокращение мускулатуры матки и выделение молока. Вазопрессин повышает артериальное давление, что связано с его сосудосуживающим действием; кроме того, он проявляет антидиуретическое действие. Подобие строения молекул вазопрессина и окситоцина позволяет объяснить наличие слабой окситоической активности у препаратов вазопрессина и, возможно, также наличие слабой прессорной активности у препаратов окситоцина.

Эти важные успехи органического синтеза позволили осуществить синтезы некоторых соединений, родственных вазопрессину и окситоцину, и исследовать физиологические свойства полученных продуктов; работы в этом направлении дадут возможность приблизиться к объяснению механизма действия названных гормонов.

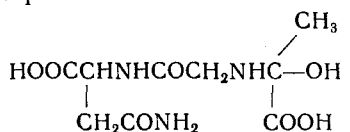
Пептиды спорыньи

Из спорыньи (*Claviceps purpurea*) выделен целый ряд алкалоидов и частично установлено их строение. При гидролизе таких алкалоидов получены лизергиновая кислота, аммиак и ряд amino- и α -кетокислот, в том числе α -кетоизовалерьяновая кислота, пировиноградная кислота, L-лейцин, L-валин, L-фенилаланин и L-пролин. Обнаружение α -кетокислот и аммиака в гидролизатах указывает на возможное наличие соответствующих α -окси- α -аминокислот в молекулах исследуемых пептидов [405—407].

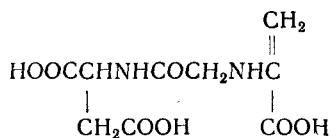
Ликомаразмин

Ликомаразмин — токсин, вызывающий фузариозное увядание томатов, был выделен из гриба *Fusarium lycopersici*. При гидролизе ликомаразмина образуются аспарагиновая кислота,

глицин, аммиак и пировиноградная кислота [408]. Предполагают, что этот токсин представляет собой пептид, молекула которого имеет следующее строение:



При нагревании или хранении растворов ликомаразмина он переходит в неактивное соединение, которое, по-видимому, является производным дегидроаланина [409]:



Пептиды *Amanita phalloides*

Фаллоидин, один из токсичных компонентов бледной поганки, *Amanita phalloides*, оказался циклическим гексапептидом, который при гидролизе дает цистеин, α -окситриптофан, аланин и алло-оксипролин [290]. α - и β -аманитины также, по-видимому, представляют собой пептиды, которые при кислотном гидролизе распадаются с образованием цистеина, глицина, аспарагиновой кислоты и алло-оксипролина [410].

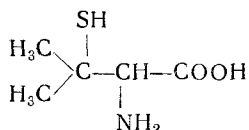
Стрептогенин

Стрептогенином назван фактор пептидной природы, стимулирующий рост некоторых микроорганизмов, в том числе *Lactobacillus casei* и *L. bulgaricus* [411—413]; он ускоряет также рост мышей [414] и снимает токсическое действие ликомаразмина [415, 416]. Трипсиновые гидролизаты некоторых белков, например инсулина, содержат продукты, обладающие активностью стрептогенина [417]. Строение этого фактора (или факторов) роста еще не выяснено, однако известно, что в состав активных пептидов входит глутаминовая кислота [418]. Стрептогениновой активностью обладают некоторые синтетические пептиды: серилглицилглутаминовая кислота, глицилглутаминовая кислота, серилгистидиллейцилвалилглутаминовая кислота и серилгистидиллейцилвалилглутамилаланиллейцин [418, 419].

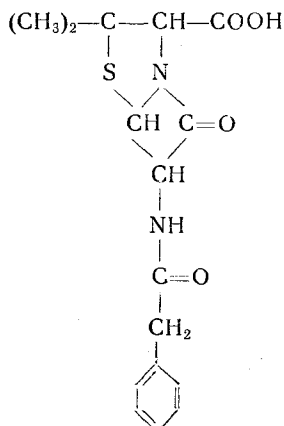
Антибиотики

В молекулах многих антибиотиков обнаружены пептидные связи и аминокислоты, что обусловило в последние годы интенсивное развитие химии пептидов [420].

Как упоминалось выше, некоторые антибиотики содержат остатки D-аминокислот; кроме того, в составе антибиотиков обнаружены некоторые новые аминокислоты. Пенициллины содержат D-пеницилламин, который можно рассматривать как производное D-валина или D-цистеина [374, 421].

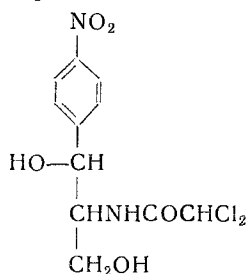
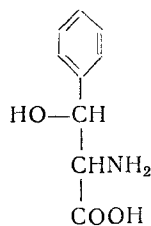


Пеницилламин



Бензилпенициллин

Хлорамфеникол (левомицетин), структурный аналог фенилаланина, в стереохимическом отношении является производным D-трео-β-фенилсерина [422]:

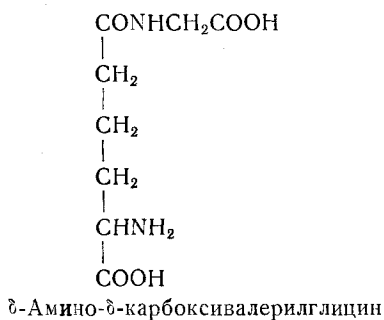
Хлорамфеникол
(левомицетин)

β-Фенилсерин

Bacillus subtilis продуцируют два пептида, обладающих антибиотическим действием, — субтилиин и бацитрацин. В состав

субтилина входят: глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, тирозин, лизин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, мезо-лантионин и «метил-лантионин» (стр. 53) [423]. Препараты бацитрацина состоят из нескольких компонентов; один из них при кислотном гидролизе распадается с образованием цистина, орнитина, лизина, фенилаланина, аспарагиновой кислоты, изолейцина, лейцина и глутаминовой кислоты [424].

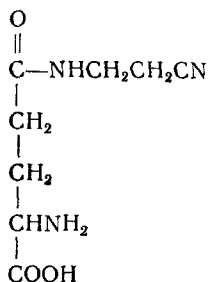
Антибиотики группы тироцидинов и грамицидинов представляют собой циклические пептиды, в составе которых имеются остатки D-аминокислот. Для очищенного тироцидина А была установлена следующая эмпирическая формула: (D-фенилаланин)₂, L-фенилаланин, L-валин, L-тирозин, L-лейцин, L-пролин, L-орнитин, L-глутамин, L-аспарагин [365, 375, 376, 378, 425]. Большое внимание привлекает группа полимиксинов, к которой принадлежат также аэроспорин и циркулин. Эти антибиотики содержат L- α , γ -диаминомасляную кислоту; в продуктах их гидролиза обнаружены также D-серин и D-лейцин [426]. В гидролизатах антибиотиков, принадлежащих к группе актиномицинов, найдены N-метилвалин, саркозин, алло-D-изолейцин (стр. 68) и D-валин [382, 383]. Среди продуктов гидролиза антибиотика цефалоспоринона N обнаружены D- δ -амино- δ -карбоксивалерилглицин [369, 370] — производное δ -амида D- α -аминоадипиновой кислоты [45, 357]. Выделенное соединение



можно рассматривать как высший гомолог γ -D-глутамилглицина. При помощи хроматографического метода было обнаружено наличие γ -глутамилаланина в проростках гороха [427].

Другие соединения

Из семян *Lathyrus odoratus* выделено в кристаллическом виде соединение, родственное γ -глутамиламинокислотам, а именно β -(N- γ -L-глутамил)-аминопропионитрил.



β-(N-γ-L-Глутамил)аминопропионитрил

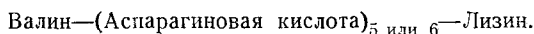
Это соединение вызывает у крыс такие деформации скелета, какие наблюдаются при латиризме [428]. Латиризм — заболевание, связанное с потреблением пищевых продуктов, полученных из некоторых бобовых растений, в том числе *Lathyrus sativus* и *L. odoratus*. Оно характеризуется развитием спастической параплегии, судорогами, остеопорозом и изменениями скелета. Введение действующего начала *L. odoratus* в организм крыс вызывает у них деформацию скелета, но не приводит к гибели животных [429]. Шиллинг и Стронг [428] выделили из кислых гидролизатов фактора *L. odoratus* L-глутаминовую кислоту и β-аланин; позднее они осуществили синтез указанного нитрила.

В молекуле пуромицина — антибиотика, выделенного из *Streptomyces alboniger*, обнаружены *n*-метоксифенил-L-аланин (стр. 59), 6-диметиламинопурин и D-3-аминорибоза [285]. Серратаминовая кислота — пептид, содержащий L-серин и оксидекановую кислоту, продуцируется некоторыми штаммами микроорганизмов, принадлежащих к роду *Serratia* [430]. Недавно выяснено строение гипертенсина [581], АКТГ [528], глюкагона [583] и ряда других природных пептидов [584].

Перечисленные выше пептиды, по всей вероятности, составляют лишь незначительную часть всех пептидов, встречающихся в природе (см. [431, 432]). Из печени некоторых животных в сравнительно чистом виде был выделен так называемый «пептид А» [433]. Описаны пептиды, которые подавляют активность трипсина и пепсина [434]. Получен тканевой пептид, содержащий в своем составе лизин и, подобно синтетическому полилизину, проявляющий антибактериальные свойства [435]. Споры некоторых бактерий, например *Bacillus subtilis*, содержат пептиды, в состав которых входят остатки гексозамина, α,ε-диаминопимелиновой кислоты, глутаминовой кислоты и аланина [436]. Нуклеотиды, которые, по-видимому, содержат D-аланин и D-глутаминовую кислоту, выделены из клеток *Sta-*

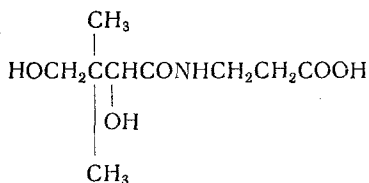
phylococcus aureus [356], подвергнутых действию пенициллина¹. Установлено образование в дрожжевых клетках аденилоянтарной кислоты — нуклеотида, в состав которого входит аспарагиновая кислота [437] (стр. 312). Имеются и другие данные о наличии в природных объектах веществ, представляющих собой соединения аминокислот с углеводами [341, 438].

При аутокаталитической активации трипсиногена от него отщепляется пептид [439, 440], который имеет следующее строение:



При превращении фибриногена в фибрин в присутствии тромбина также наблюдается отщепление пептида [441]. Еще один пример отщепления пептида от белковой молекулы дает превращение яичного альбумина в пластинчатый альбумин [442, 443] под действием субтилизина (протеназы *B. subtilis*).

В природе встречается ряд ацилированных аминокислот. В качестве примера можно привести пантотеновую кислоту:



Пантотеновая кислота — широко распространенный витамин группы В; она встречается в основном в виде кофермента А. Другими представителями природных ациламино кислот являются: ацетиласпарагиновая кислота, бензоилглицин (гиппуровая кислота), α , δ -дибензоилорнитин (орнитуровая кислота), фенилацетилглицин (фенацетуровая кислота), фенилацетилглутамин, α - и δ -ацетилорнитин, фумарил-DL-аланин [444], биоцитин [445], гликохолевая кислота.

ВОПРОСЫ СТЕРЕОХИМИИ АМИНОКИСЛОТ

Аспарагин был первой аминокислотой, выделенной из природного сырья [14], и одной из первых аминокислот, у которых обнаружено наличие оптической активности. Свыше ста лет назад Пастер [446, 447] нашел, что природный аспарагин вращает

¹ См. примечание на стр. 69.

плоскость поляризации влево, тогда как аспарагиновая кислота, полученная в результате гидролиза природного аспарагина, представляет собой правовращающее соединение, а аспарагиновая кислота, полученная путем химического синтеза, оптически неактивна. Поводом к этим исследованиям Пастера, по-видимому, послужило утверждение Дессеня, что аспарагиновая кислота, полученная химическим путем из фумаровой кислоты и аммиака, идентична природной аспарагиновой кислоте [448]. Пастер со всей настойчивостью подчеркивал, что природная и синтетическая аспарагиновые кислоты неидентичны, но от него в то время ускользнул тот факт, что синтетический продукт представляет собой рацемическую смесь двух изомеров, подобно рацемической форме винной кислоты, которую он сам ранее изучил.

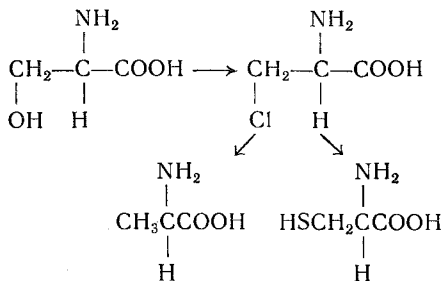
Лишь спустя 34 года Шульце и Босхард [449, 450] показали, что оптически неактивные аминокислоты представляют собой смеси равных количеств право- и левовращающих форм. Эти авторы нашли, что 1) при щелочном гидролизе белков образуются оптически неактивные аминокислоты; 2) такие аминокислоты отличаются по растворимости от оптически активных аминокислот, полученных при кислотном гидролизе белка, и 3) при обработке оптически активных аминокислот баритом при высокой температуре они утрачивают свою оптическую активность. Если ввести такую оптически неактивную аминокислоту в состав питательной среды для выращивания плесени, то по окончании роста микроорганизма из среды можно выделить оптически активную аминокислоту.

Рацематы лейцина и глутаминовой кислоты подвергали воздействию растущей культуры *Penicillium glaucum*, которая, как ранее установил Пастер [451, 452], использует в основном правовращающий изомер винной кислоты. Оптическое вращение лейцина и глутаминовой кислоты, выделенных из среды после роста микроорганизма, было противоположно по знаку и примерно равно по величине оптическому вращению препаратов лейцина и глутаминовой кислоты, полученных из продуктов кислотного гидролиза белков.

Ныне известно, что аминокислоты, обычно встречающиеся в белковых гидролизатах (за исключением глицина), оптически активны, причем все они имеют одинаковую конфигурацию у α -углеродного атома, а именно L-конфигурацию.

Это заключение основано на данных, полученных тремя различными путями. Во-первых, удается осуществить взаимопревращения некоторых аминокислот или превратить их в идентичные продукты, используя реакции, в которых α -углеродный атом не участвует. Примером может служить превращение

L-серина в L-аланин и в L-цистеин, осуществленное Фишером и Раске [453]:



В основе другого ряда доказательств лежит исследование зависимости оптического вращения аминокислот от степени их ионизации и от длины волны поляризованного света [454]. Так, например, α -аминокислоты (и α -оксикислоты) L-конфигурации имеют большее положительное оптическое вращение в кислом растворе, чем в воде (табл. 5). Наконец, представление о том, что аминокислоты, выделенные из белков, имеют одинаковую конфигурацию, подтверждается данными, полученными при использовании ферментов, обладающих оптической специфичностью.

В старой литературе направление оптического вращения аминокислот обозначали малыми буквами *d* (dextro, или правое) и *l* (levo, или левое), указывающими на направление вращения в водном растворе. Позднее, когда выяснилось, что аминокислоты, выделенные из белков, имеют одинаковую конфигурацию, для обозначения аминокислот «природного» стереического ряда стали использовать приставку *l*, а направление вращения обозначать знаками (+) и (—), заключенными в круглые скобки, например *l*(—)-аланин, *l*(+)-глутаминовая кислота. Использование двух систем обозначения в ряде случаев приводило к путанице, которая усугублялась тем, что одни природные аминокислоты имеют левое, а другие — правое вращение. Кроме того, у некоторых аминокислот знаки оптического вращения в водном растворе и в присутствии кислоты противоположны. Дополнительные трудности возникли в отношении аминокислот, в молекуле которых имеется более одного асимметрического атома углерода. Примером может служить выделенный из белка треонин, который сперва был обозначен как *d*(—)-треонин ввиду его родства с D-треозой.

Для унификации номенклатуры аминокислот была предложена новая система, согласно которой для обозначения конфигурации α -углеродного атома используют прописные буквы L и D

Таблица 5

Удельное оптическое вращение (при $25^{\circ} \pm 1^{\circ}$)
аминокислот, обычно встречающихся
в белковых гидролизатах

L-Аминокислота	$[\alpha]_D$ (в H_2O)	$[\alpha]_D$ (в 5 н. HCl)
Аланин *	+ 1,8	+14,6
Аргинин	+12,5	+27,6
Аспарагин		+33,2 **
Аспарагиновая кислота *	+ 5,0	+25,4
Валин *	+ 5,6	+28,3
Гистидин *	-38,5	+11,8
Глутамин	+ 6,3	+31,8 ***
Глутаминовая кислота *	+12,0	+31,8
Изолейцин *	+12,4	+39,5
Лейцин *	-11,0	+16,0
Лизин *	+13,5	+26,0
Метионин *	-10,0	+23,2
4-Оксипролин	-76,0	-50,5
Пролин *	-86,2	-60,4
Серин *	- 7,5	+15,1
Тирозин *		-10,0
Треонин *	-28,5	-15,0
Триптофан *	-33,7	+ 2,8 ***
Фенилаланин *	-34,5	- 4,5
Цистеин *	-16,5	+ 6,5
Цистин *		-232

* Определения произведены с использованием изомеров, полученных путем ферментативного расщепления рацематов [585].

** В 3 н. HCl.

*** В 1 н. HCl.

[455, 456]. Эта система обозначений почти полностью вытеснила старую; однако и по сей день в связи с обозначениями аминокислот в литературе иногда возникают неясности. Когда конфигурация аминокислоты неизвестна, ей обычно придают обозначение *d* или *l* в зависимости от знака ее оптического вращения в водном растворе¹; при этом следует указывать растворитель, применяемый при определении оптического вращения. В табл. 5,

¹ Предпочтительно пользоваться в этих случаях знаками (+) и (-) в круглых скобках. — *Прим. ред.*

6 и 7 приведены величины оптического вращения в воде и в соляной кислоте для аминокислот, обычно встречающихся в белках, а также для других аминокислот.

Таблица 6

Удельное оптическое вращение других природных аминокислот

Аминокислота	$[\alpha]_D$ (в H_2O)	$[\alpha]_D$ (в 5 н. HCl)
(+)-S-Аллил-L-цистеинсульфоксид	+62,8	
L- α -Аминоадипиновая кислота *	+ 3,2	+25,0
L- α -Аминомасляная кислота *	+ 9,3	+20,6
L-Гомосерин *	— 8,8	+18,3
L-Дженколовая кислота		—44,5 **
L- α , γ -Диаминомасляная кислота *	+ 7,2	+31,7
LL- α , ϵ -Диаминопимелиновая кислота *	+ 8,1	+45,1
L- α , β -Диаминопропионовая кислота *	0	+34,0
3,5-Дийод-L-тирозин		+ 2,9 ***
L-Канаванин	+ 7,9	
O-Карбамил-D-серин	+ 2,0	—19,6 ***
L-Кинуренин	—30,5	
α -Метил-D-серин *	+ 4,5	+ 2,0
(+)-S-Метил-L-цистеинсульфоксид	+125	+168 ***
5-Окси-L-лизин *	+ 9,2	+17,8
алло-Окси-L-пролин	—59,5	—18,8
L-Орнитин *	+12,1	+28,4
D-Пеницилламин	—56,0 *****	
L-Пипеколиновая кислота	—24,6	
L-Тироксин	— 4,4 *****	
L-Теанин	+ 6,3	
D-Циклосерин	+116	
L-Цистатионин		+23,7 ***
L-Цитруллин *	+ 4,0	+24,2

* Определения произведены с использованием изомеров, полученных путем ферментативного расщепления рацематов [585].

** В 1-процентной HCl.

*** В 1,1 н. HCl.

**** В 1 н. HCl.

***** В 1-процентном (в расчете на свободную аминокислоту) растворе хлоридрата аминокислоты в 1 н. NaOH.

***** В 0,13 н. растворе NaOH в 70-процентном спирте.

Таблица 7

Удельное оптическое вращение некоторых аминокислот

L-Аминокислота	$[\alpha]_D$ (в H ₂ O)	$[\alpha]_D$ (в 5 н. HCl)
Аллилглицин *	-37,1	-5,7
α -Аминогептановая кислота *	+6,8	+23,3
α -Амино- δ -окси- <i>n</i> -валерьяновая кислота *	+6,0	+28,8
α -Амино- ε -окси- <i>n</i> -капроновая кислота *	+4,0	+23,7
α -Аминокaproиловая кислота *	+9,1	+23,0
α -Аминотрикарбаллиловая кислота (A) *	+7,5	+36,4
α -Аминотрикарбаллиловая кислота (B) *	-32,8	-48,0
α -Аминофенилуксусная кислота *	+114	+168
α -Аминоциклогексилуксусная кислота *	+6,7	+35,5
α -Аминоциклогексилпропионовая кислота *	-9,0	+15,0
Гомоглутамин	+2,6	+21,0 **
Гомолантионин		+37,3
Гомоцистин *		+78,0
Изовалин *	+11,2	+6,7
<i>алло</i> -Изолейцин *	+15,9	+39,6
Лантионин	+43,8 ***	
<i>трет</i> -Лейцин *	-9,7	+7,4
Норвалин *	+7,0	+24,1
Норлейцин *	+4,7	+24,5
<i>алло</i> -5-Оксилизин *	+10,9	+31,4
β -2-Тиенилаланин	-31,7	
<i>алло</i> -Треонин *	+10,0	+31,7
β -Фенилсерин *	-33,1	-50,3
<i>алло</i> - β -Фенилсерин *	+8,2	+81,3
<i>алло</i> -Цистатионин		-25,0 **
Этионин *	-9,2	+23,7

* Определения произведены на изомерах, полученных путем ферментативного расщепления рацематов [585].

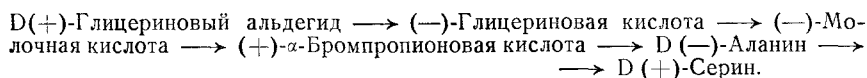
** В 1 н. HCl.

*** В 2-процентном водном растворе, содержащем 1 эквивалент NaOH.

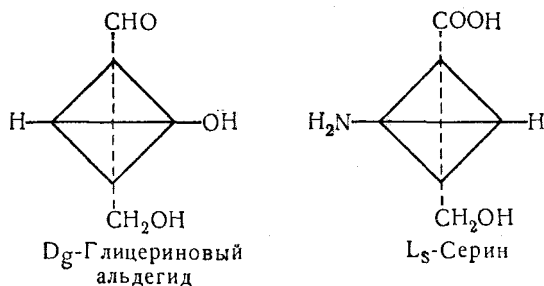
Следует отметить, что даже использование прописных букв D и L не всегда однозначно. Так, маннозаминую кислоту, полученную из D-маннозы, строго говоря, следует считать D-маннозаминую кислотой, однако это соединение в то же время является L-аминокислотой. Во избежание двусмысленности к литерам D и L приписывают справа подстрочные индексы «s» (вместо *serine*) и «g» (вместо *glyceraldehyde*). Так, D_g-маннозаминая кислота = L_s-маннозаминая кислота.

Молекула D-глицеринового альдегида, условно принятая за исходную структуру (эталон сравнения), с которой сопоставляют конфигурацию сахаров, может быть превращена химическим путем без изменения конфигурации в (+)-яблочную кислоту, (—)-молочную кислоту и (+)-винную кислоту. Молекула L-серина — левовращающего серина, обычно присутствующего в белках, была произвольно избрана в качестве эталона сравнения при определении конфигурации аминокислот.

Оба эталона согласуются друг с другом: идентичность конфигураций D-глицеринового альдегида и D-серина была однозначно доказана осуществлением следующего ряда химических реакций [457—460]:

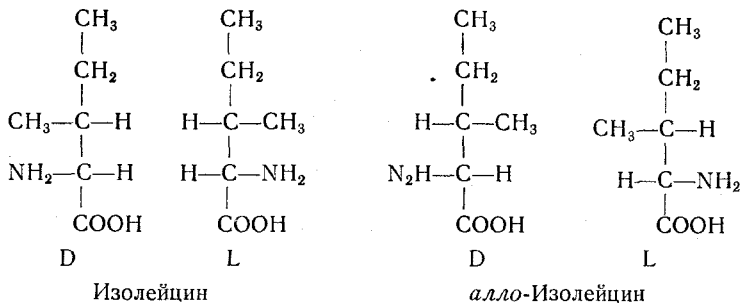


Абсолютная оптическая конфигурация рассмотренных выше аминокислот была установлена на основании данных, полученных методом дифракции рентгеновых лучей и другими методами [461, 462]. Эти данные подтвердили, что условные обозначения, предложенные Фишером, совпадают с истинной абсолютной конфигурацией. Так, молекулы D_g-глицеринового альдегида и L_s-серина имеют следующую конфигурацию:

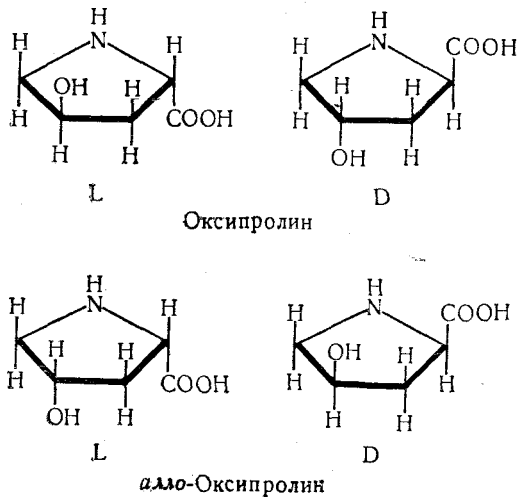


Молекулы большинства природных аминокислот обладают лишь одним асимметрическим атомом, имеющим L-конфигура-

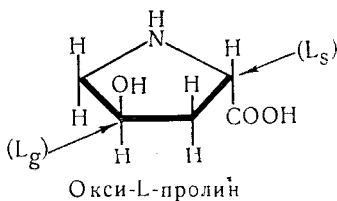
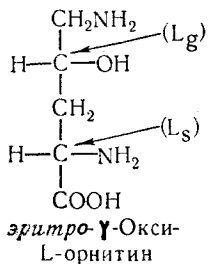
цию, но некоторые природные аминокислоты имеют более одного асимметрического атома углерода и поэтому существуют более чем в двух стереоизомерных формах. В качестве примера можно привести следующие формулы изомеров изолейцина.



β -Углеродный атом L-изолейцина имеет L-конфигурацию [463—466], а β -углеродный атом L-треонина — D-конфигурацию [467]. В окси-L-пролине и его зеркальном изомере гидроксильная группа находится в *транс*-положении по отношению к карбоксильной группе, а в соответствующих *алло*-формах — в *цис*-положении [468—470].



γ -Углеродный атом окси-L-пролина (и *алло*-окси-D-пролина) имеет L-конфигурацию; такой вывод вытекает из соображений, основанных на исследовании взаимоотношений между стереоизомерами оксинитрина и оксипролина [586, 587]:



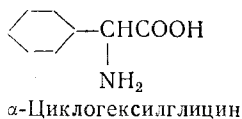
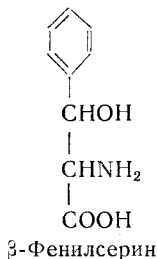
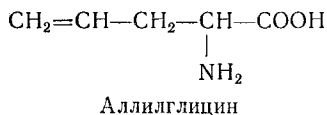
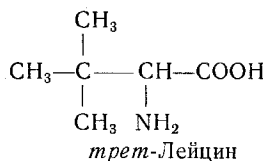
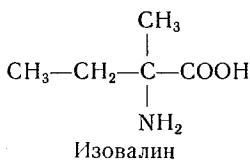
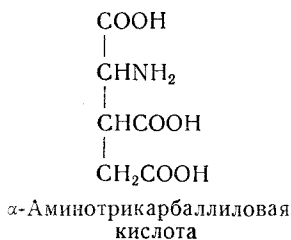
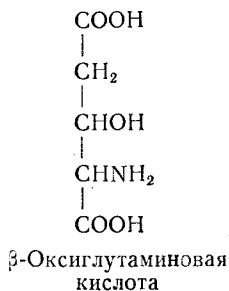
Конфигурация второго асимметрического центра δ-окси-L-лизина в настоящее время окончательно не выяснена, однако на основании имеющихся данных предполагают, что этот асимметрический центр имеет L-конфигурацию. Такую же конфигурацию имеют оба асимметрических углеродных атома природной 5-оксипипеколиновой кислоты [586, 588].

Природный октопин, как известно, содержит в своей молекуле остатки D-аланина и L-аргинина (стр. 57). Метилпроизводное лантионина, полученное из субтилина, содержит, по-видимому, D-α-аминоасляную кислоту и L-аланин, конфигурация же третьего асимметрического атома углерода еще не известна (стр. 53). Природная аргининоянтранная кислота, канаваноаянтранная кислота и цистатионин имеют, вероятно, L-конфигурацию.

Молекулы некоторых аминокислот встречаются во внутренне компенсированной или *мезо*-форме. Так, например, при рацемизации цистина в кислом растворе образуется (наряду с небольшим количеством DL-цистеина) *мезо*-форма, которая не может быть разделена на оптически активные формы приемами, которые позволяют разделить DL-цистин [471, 472]. Получены также *мезо*-формы лантионина [242—245], гомолантионина [473] и цистатионина [474]. *Мезо*-α,ε-диаминопимелиновая кислота выделена из бактерий (стр. 51), но в природе она встречается также в LL-форме [475]; синтезированы *мезо*-, DD- и LL-формы этой кислоты [476]. При химическом расщеплении стрептомицина получена α,γ-диамино-β-оксиглутаровая кислота, которая может существовать в двух *мезо*- и одной рацемической формах [477]. Конфигурация природной α,ε-диамино-β-оксипимелиновой кислоты не известна. Для этой аминокислоты, а также для метильного производного лантионина, выделенного из субтилина (стр. 53), возможны две *мезо*-формы.

Ряд аминокислот, представляющих интерес для биохимиков, не встречается в природе. Некоторые из них были разделены на оптические изомеры и использованы в биохимических исследованиях. Осуществлен химический синтез β-оксиглутаминовой кислоты, которая одно время считалась составной частью

белков (стр. 11). Получены рацематы двух диастереоизомеров этого соединения [478, 479]. Один из них — *алло*-β-оксиглутаминовая кислота, по-видимому, легче поддается ферментативному декарбоксилированию, чем другой (стр. 205). Имеются данные, указывающие на то, что декарбоксилазы *алло*-β-оксиглутаминовой и глутаминовой кислот не идентичны [480].

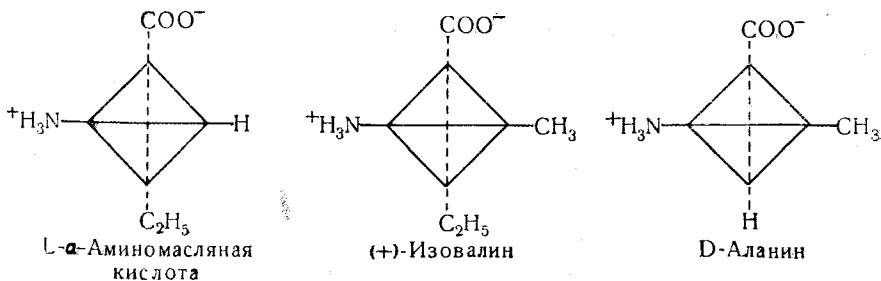


Существование особой декарбоксилазы *алло*-β-оксиглутаминовой кислоты как будто свидетельствует о наличии этой аминокислоты в природе. Однако ввиду того, что при повторном исследовании природного продукта, в котором предполагали β-оксиглутаминовую кислоту, последнюю не обнаружили [320], для подтверждения наличия этой аминокислоты в биологических объектах необходимы новые доказательства [320].

Путем синтеза приготовлена α -аминотрикарбаллиловая кислота — аминокислота — изолимонной и щавелевоянтарной кислот — и получены ее четыре изомера [481]. Последние путем обработки азотистой кислотой были переведены в изомерные изолимонные кислоты. При действии азотистой кислоты на один из левовращающих изомеров α -аминотрикарбаллиловой кислоты, имеющий L-конфигурацию [481], образуется природная d-изолимонная кислота. Последняя подвергается действию дегидрогеназы изолимонной кислоты [482]; ее углеродный атом, очевидно, имеет L-конфигурацию. Что касается β -углеродного атома изолимонной кислоты, то он, очевидно, обладает D-конфигурацией [483]. Получены также 4 изомера β -фенилсерина [484—487]. Эта аминокислота не встречается в природе, однако ее D-трео-изомер в стереохимическом отношении близок к антибиотику хлорамфениколу (левомецитину) (стр. 76).

На оптические изомеры разделен и ряд других неприродных DL-аминокислот, в том числе норвалин (α -аминовалерьяновая кислота), норлейцин (α -аминокапроновая кислота), трет-лейцин (β , β' -диметил- α -аминомасляная кислота), изовалин (α -метил- α -аминомасляная кислота), этионин (α -амино- γ -этилтиомасляная кислота), β -2-тиенилаланин, α -фенилглицин, α -циклогексилглицин, β -циклогексилаланин, аллилглицин и др. Не исключено, что та или иная из перечисленных аминокислот когда-нибудь будет обнаружена в природных продуктах; ведь многие аминокислоты, например аланин [2], α , β -диаминопропионовая кислота [488], γ -аминомасляная кислота [489], α , ϵ -диаминопимелиновая кислота [490] и аспарагиновая кислота [448], были сперва получены синтетически и лишь позднее распознаны среди природных продуктов.

Специальные вопросы возникают при выборе обозначения аминокислот, в молекуле которых имеется α -метильная группа [491]. Например, в (+)-изовалине метильная группа занимает то же положение в пространстве, что и α -водородный атом в молекуле L- α -аминомасляной кислоты. Но вместе с тем можно рассматривать (+)-изовалин как D-аланин, в котором водородный атом замещен этильной группой:

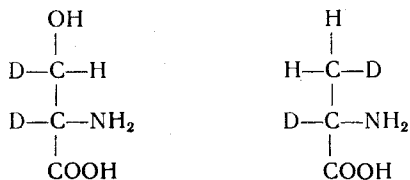


Поэтому правовращающий изовалин можно обозначить либо как α -метил-L- α -аминомасляную кислоту, либо как α -этил-D-аланин. Удельное оптическое вращение (+)-изовалина составляет $+13,1^\circ$ в воде и $+7,8^\circ$ в соляной кислоте; такое направление изменений удельного вращения типично для аминокислот D-ряда. Однако молярное вращение (+)-изовалина в ледяной уксусной кислоте больше, чем в воде, что характерно для L-аминокислот.

Хлорацетил-(+)-изовалин гидролизуется ацилазой почек, а его энантиоморфное производное устойчиво к действию этого фермента. На основе данных подобных исследований (+)-изовалин следует обозначать как L-изовалин. Применение этого биологического критерия для определения оптической конфигурации, по-видимому, вполне оправдано, но из сказанного выше видно, какие трудные задачи возникают при установлении конфигурации α -алкил- α -аминокислот.

Заслуживает внимания вопрос об изомерии S-стереоизомеров метионинсульфоксида [492]. В молекуле метионинсульфоксида атом серы представляет дополнительный центр асимметрии, а потому возможны 4 изомера этого соединения. Были получены: L-метионин-*l*-сульфоксид, L-метионин-*d*-сульфоксид и соответствующий *dl*-сульфоксид. Имеются указания на то, что *d*- и *l*-изомеры сульфоксида различаются по биологической активности (стр. 149). Примером природной аминокислоты, в молекуле которой имеется асимметрический атом серы, служит аланин (стр. 54).

Известны и другие типы стереоизомерии. Например, введение в молекулу атома изотопа может привести к возникновению асимметрического атома углерода. Подобный тип изомерии возможен для молекулы серина, содержащей два атома дейтерия [589]:



В этом отношении представляют интерес исследования, касающиеся ферментативного декарбоксилирования аминокислот в среде D_2O (стр. 257). Наконец, следует указать, что идентичные группы полностью симметричных молекул, например лимонной кислоты, ведут себя по-разному в ферментативных и неферментативных реакциях с оптически активными соединениями. Этот тип асимметрии и реакции подобных веществ были подробно рассмотрены Шварцем и Картером [493].

ПОЛУЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ ИЗОМЕРОВ АМИНОКИСЛОТ

Аминокислоты можно получить из природных материалов или приготовить путем химического синтеза. В первом случае обычно получают L-изомеры аминокислот; аминокислоты, полученные методами химического синтеза (за исключением глицина, β-аланина и т. п.), представляют собой рацематы. Способы выделения аминокислот многообразны, и этому вопросу посвящена весьма обширная литература. Некоторые белки служат хорошим сырьем для получения определенных аминокислот; клейковина (глютен) пшеницы служит основным сырьевым материалом для производства L-глутаминовой кислоты; глютен кукурузы — хороший источник для выделения L-лейцина и L-тирозина; L-аргинин можно получить из желатины и из крови. Продажные препараты L-аспарагина получают из побегов спаржи (ср. [14]).

Для выделения аминокислот используют различные методические приемы — изоэлектрическое осаждение, выделение в виде солей, сложных эфиров, хлоргидратов, солей сульфокислот, электродиализ, ионофорез. Широкое применение получили методы осаждения аргинина в виде флавианата, глутаминовой кислоты — в виде хлоргидрата, аспарагиновой кислоты — в форме тригидрата медной соли, метионина — в виде ртутного комплекса [116, 494—496].

Нет сомнения в том, что из гидролизатов белков могут быть получены высокоочищенные L-аминокислоты. Тем не менее продажные препараты аминокислот зачастую загрязнены аминокислотными примесями, которые могут быть источником экспериментальных ошибок. В связи с этим микробиологи при приготовлении сред для определения аминокислот посредством бактерий нередко предпочитают применять синтетические DL-аминокислоты, а не L-изомеры, выделенные из белковых гидролизатов. Можно привести следующие примеры часто встречающихся загрязнений: в полученных из белков препаратах лейцина и глутаминовой кислоты часто содержатся метионин, а в препаратах глутамина — аргинин и аспарагин; препараты триптофана бывают загрязнены тирозином, а препараты тирозина — цистином. Выделенный из гидролизатов изолейцин обычно содержит лейцин, и наоборот. Развитие современных хроматографических методов в значительной степени упростило задачу выделения аминокислот, и повсеместное применение этих методов, несомненно, улучшит качество продажных препаратов аминокислот.

В настоящее время разделение синтетических рацематов аминокислот является одним из основных приемов получения

L-изомеров и особенно D-изомеров. Большое разнообразие опубликованных методов синтеза аминокислот свидетельствует о многогранном мастерстве химиков, работающих в области органического синтеза. Обсуждение этих методов выходит за рамки настоящей книги; по данному вопросу имеются обстоятельные обзоры [116, 497].

Для получения оптических изомеров аминокислот из соответствующих рацематов разработано несколько методов. Шульце и Босхард, пользуясь плесенью *Penicillium glaucum*, получили некоторые D-изомеры путем избирательного разрушения соответствующих L-изомеров (стр. 80). Позднее избирательное воздействие микроорганизмов на L-изомеры соответствующих рацематов было использовано для получения других D-аминокислот (аланин [498], валин [499], глутаминовая кислота [498], изолейцин [498], гистидин [498], тирозин [499], фенилаланин [500] и серин [500]). Введение рацематов некоторых аминокислот в организм животных приводит иногда к выделению D-изомеров с мочой [501]; таким путем был получен D-гистидин [502—503]. Несколько позднее для тех же целей стали применять ферменты. D-Аргинин получен путем обработки DL-аргинина неочищенным препаратом аргиназы [504]. Для получения D-изомеров лейцина, метионина и фенилаланина [505] и L-изомеров аланина [506, 507], метионина [507] и пролина [508] были использованы специфические оксидазы D- и L-аминокислот. D-Лизин [509] и D-глутаминовая кислота [510] были получены путем обработки рацематов специфическими к L-изомерам бактериальными декарбоксилазами.

Механическое разделение кристаллов изомеров имеет весьма ограниченное применение. Исследования Пастера, посвященные избирательному действию *Penicillium glaucum* и различной растворимости смесей диастериоизомеров, привели в конечном итоге к использованию алкалоидов и ферментов для разделения DL-аминокислот на оптически активные формы. Изомеры аминокислот, меченные изотопными атомами, были получены путем разведения малого количества рацемата аминокислоты большим количеством желаемой оптически активной формы с последующей дробной перекристаллизацией [511, 512].

Фишер [513] впервые применил принцип диастереоизомерии для разделения аминокислот: к N-ацилпроизводному рацемической аминокислоты добавляли оптически активный алкалоид (бруцин, стрихнин, цинхонин, хинидин, хинин), в результате чего возникали две диастереоизомерные формы солей, обладающие различной растворимостью. После разделения этих диастереоизомеров алкалоид регенерировали и ацильную группу

удаляли путем гидролиза. Фишеру с сотрудниками [513—515] и позднее другим исследователям [516] удалось разделить этим методом многие DL-аминокислоты. Иногда этот метод можно использовать непосредственно для разделения свободных аминокислот, без предварительного ацилирования аминокислоты и последующего отщепления ацильной группы. Однако все эти методы, как и первоначальный метод Фишера, обладают рядом недостатков: в частности, весьма существенным недостатком является их сугубо эмпирический характер.

В настоящее время наиболее пригодными и удобными методами разделения аминокислот являются методы, основанные на применении стереоспецифических ферментов. Бергман и его сотрудники [517—520] нашли, что папаин в присутствии N-карбобензоксидL-аминокислот и анилина катализирует синтез анилидов N-карбобензоксидL-аминокислот с большей скоростью, чем синтез соответствующих анилидов D-ряда. L-Анилиды выпадали в осадок первыми, что позволяло разделить изомеры. Позднее этот общий метод получения изомеров аминокислот применяли многие исследователи, используя при этом разнообразные ацилпроизводные и различные ферменты (ср. [521, 522]). Хотя этим методом удается получить чистые изомеры аминокислот, он все же страдает некоторыми недостатками. В частности, фермент может синтезировать анилиды не только L-, но и D-изомеров. Склонность к образованию D-анилидов зависит от строения аминокислоты, природы ацильной группы и других условий. Так как L-анилид обычно образуется быстрее, чем D-форма, очень важно вовремя остановить реакцию. Если реакция обрывается слишком рано, то D-изомер выделяется с примесью L-изомера. Обратное положение возникает в том случае, если оптимальное время реакции превышает. Однако, собирая осадки на протяжении реакции через определенные промежутки времени, можно получить фракции, состоящие из чистых изомеров.

Многие авторы использовали метод разделения изомеров аминокислот путем асимметрического гидролиза их сложных эфиров. В 1906 г. Варбургом было показано, что панкреатин (освобожденный от липазы) гидролизует этиловый эфир DL-лейцина асимметрически; ему удалось выделить из реакционной смеси чистый L-лейцин [523]. Ряд эфиров рацемических аминокислот был разделен при помощи неочищенных препаратов поджелудочной железы, а также кристаллического химотрипсина [524—528]. Ценность этого метода ограничивается склонностью некоторых эфиров аминокислот к самопроизвольному гидролизу, а также к полимеризации в процессе обработки ферментом, с образованием эфиров полипептидов [529].

В настоящее время наиболее ценным общим методом разделения стереоизомеров аминокислот считается метод ферментативного гидролиза ацилированных аминокислот. Стереоспецифичность некоторых гидролитических ферментов в отношении ацилированных аминокислот известна уже давно [530, 531], однако способы применения ферментов для получения D- и L-изомеров аминокислот созданы лишь в последнее время [532, 533]. Общий ферментативный метод разделения рацемических аминокислот, разработанный Гринстайном и др. [534—536, 585], основан на наблюдении, что почечная ацилаза I и карбоксипептидаза, реагируя с рацематами N-ацилпроизводных аминокислот, действуют только на L-изомер. Реакция приходит к концу после гидролиза 50% рацемического продукта. Для разделения образующихся в результате реакции свободной L-аминокислоты и ацил-D-аминокислоты требуется лишь одна операция, так как свободная L-аминокислота нерастворима в неводных растворителях, в которых ацил-D-аминокислота растворяется. Для выделения некоторых аминокислот (пролин, *трет*-лейцин, α,ϵ -диаминопимелиновая кислота) применяется аналогичный метод, в котором используют очищенную амидазу. Отделение ацил-D-аминокислоты (или амида D-аминокислоты) от L-аминокислоты можно также осуществить при помощи ионообменного метода [536]. Как правило, используют ацетил- и хлорацетилпроизводные аминокислот; гидролиз ацил-D-аминокислот при кипячении с кислотой не приводит к рацемизации. Представляет интерес тот факт, что ацилпроизводные L-аспарагиновой кислоты гидролизуются специфической ацилазой II, источником которой также служит ткань почек.

Установлено, что при определенных условиях ацилаза I действует на ацетил- и хлорацетил-D-метионин, однако отношение скоростей гидролиза ацилпроизводных L- и D-метионина составляет величину порядка 40 000. При использовании трифторацетилпроизводных аминокислот имеет место заметный гидролиз некоторых D-изомеров. Эта ацильная группа, следовательно, непригодна для разделения изомеров при помощи ацилазы I; однако трифторацетилпроизводные ароматических DL-аминокислот асимметрически гидролизуются карбоксипептидазой сока поджелудочной железы [537, 538].

Некоторые наблюдения говорят о принципиальной возможности применения хроматографических методов для разделения изомеров аминокислот. При определенных условиях на хроматограммах кинуренина [539, 540], 2,5-диоксифенилаланина [540], 2,3-диоксифенилаланина [540], 3,4-диокси-2-метилфенилаланина [540], фенилглицина [541] и 3-сульфонилтирозина [542] обнаруживаются по два пятна. В опытах с последним веществом пятна

были элюированы отдельно, и оказалось, что они образованы двумя оптическими изомерами [542]. Точно так же два пятна, полученные при хроматографировании рацемического кинуренина, соответствовали D- и L-изомерам [539, 540]. Недавно обнаружено, что в системе растворителей метиловый спирт—вода—пиридин DD- и LL-изомеры α,ϵ -диаминопимелиновой кислоты движутся на хроматограммах с различной скоростью; мезо- и DD-формы обладают одной и той же подвижностью [543]. Имеются также данные о разделении оптических изомеров рацемического монохлоргидрата DL-гистидина [590] и DL-триптофана [591] путем хроматографии на бумаге. В литературе имеются указания [585] о спонтанной кристаллизации одного из изомеров из раствора соответствующего рацемата. Этот прием не находит еще в настоящее время широкого применения для разделения аминокислот, однако возможно, что дальнейшие исследования, направленные на выяснение сущности этого явления, приведут к весьма полезному методу разделения.

Исследования оптической конфигурации аминокислот развиваются в различных направлениях; некоторые из них рассмотрены в настоящей главе, другие будут обсуждены в дальнейших главах, посвященных вопросам обмена аминокислот и их роли в питании. Потребность в оптически чистых изомерах аминокислот для экспериментальных исследований очевидна. Определение удельного оптического вращения имеет значение для характеристики изомеров аминокислот, однако эта методика в большинстве случаев лишена той чувствительности, которая присуща ферментативным методам. Чистоту многих изомеров аминокислот можно проверить при помощи оптически специфических ферментов, таких, как оксидазы D-аминокислот (стр. 184) и L-аминокислот (стр. 187) или специфические к L-изомерам бактериальные декарбоксилазы (стр. 204). Эти методы позволяют обнаружить менее одной молекулы изомера аминокислоты в присутствии 1000 или даже 10 000 молекул ее антипода [544]. Вероятно, при усовершенствовании этих методов легко можно добиться еще более высокой чувствительности.

Многие химические и физические свойства D- и L-изомеров определенной аминокислоты совпадают; у них, например, одинаковы растворимость в оптически неактивных растворителях, ультрафиолетовые и инфракрасные спектры поглощения, точки плавления или разложения, способность к химическим реакциям (с оптически неактивными реагентами). Изомеры аминокислот можно распознавать по оптическому вращению, по реакциям с определенными оптически активными веществами, по их отношению к действию ферментов и иногда хроматографическими методами. Было показано, что оптические изомеры аминокис-

лоты часто имеют различный вкус (табл. 8). Подобные наблюдения были сделаны много лет назад Пастером и другими исследователями, но существенного успеха в понимании этого явления до сих пор не достигнуто.

Таблица 8

Зависимость между оптической конфигурацией и вкусовыми свойствами аминокислот *

Аминокислота	Вкус L-изомера	Вкус D-изомера
Аланин	Сладкий	Очень сладкий
α -Аминоадипиновая кислота	Горьковатый	Сладковатый
α -Аминомасляная кислота	Пресный	Сладкий
α -Аминогептановая кислота	»	Пресный
Аспарагин	Горьковатый	Слегка сладкий
Аспарагиновая кислота	Слегка горький	Пресный
Валин	Горьковатый	Очень сладкий
Гистидин	»	Сладкий
Глутамин	Пресный	»
Глутаминовая кислота	«Мясной»	Почти безвкусный
Гомоглутамин	Слегка горький	Сладкий
Изолейцин	Горький	»
Лейцин	Горьковатый	Очень сладкий
Метионин	Пресный	Сладкий
Норвалин	Горький	»
Норлейцин	Слегка горький	»
Серин	Слегка сладкий	Очень сладкий
Тирозин	Горьковатый	Сладкий
Треонин	Слегка сладкий	»
Триптофан	Пресный	Очень сладкий
Фенилаланин	Слегка горький	Сладкий

* По данным рга [545] и автора.

Хотя такого рода наблюдения носят субъективный характер, тем не менее любопытно, что D-изомеры в основном имеют сладкий вкус, тогда как соответствующие L-формы обычно описываются как безвкусные или даже горькие. L-Глутаминовая кислота имеет характерный «мясной» вкус; она находит широкое применение в качестве вкусовой приправы.

α -КЕТОАНАЛОГИ АМИНОКИСЛОТ

α -Кетоаналоги аминокислот представляют значительный интерес с биохимической точки зрения как промежуточные вещества в процессах биосинтеза и распада аминокислот. Неко-

торые из них являются в то же время промежуточными продуктами цикла лимонной кислоты и играют важную роль связующих звеньев в обмене жиров, углеводов и трех аминокислот (глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и аланина).

α -Кетокислоты образуются из соответствующих им α -аминокислот в результате процессов ферментативного окислительного дезаминирования (стр. 182) и переаминирования (стр. 210). О методах приготовления α -кетокислот см. обзор Майстера [546]. Многие α -кетокислоты получены путем химического синтеза, однако некоторые из них стали доступными лишь благодаря применению ферментативных методов — в частности, окислительного дезаминирования [547]. В табл. 9 приведены многие α -кетокислоты, представляющие интерес с биохимической точки зрения.

α -Кетоаналоги аминокислот, обладающих более чем одним асимметрическим атомом углерода, могут существовать в оптически активных формах. Так, δ -оксилизину, треонину и изолейцину должны соответствовать по две оптически активных α -кетокислоты. До сих пор это подтверждено путем препаративного выделения отдельных изомеров только для α -кетокислотного аналога изолейцина.

Две α -кето- β -метилвалерьяновые кислоты были приготовлены из соответствующих изомеров изолейцина путем ферментативного дезаминирования и выделены в виде натриевых солей [558]. В том случае, когда вторым центром оптической асимметрии является β -углеродный атом, енолизация α -кетокислоты приводит к рацемизации. У изомеров α -кето- β -метилвалерьяновой кислоты это превращение легко осуществляется в щелочном растворе:

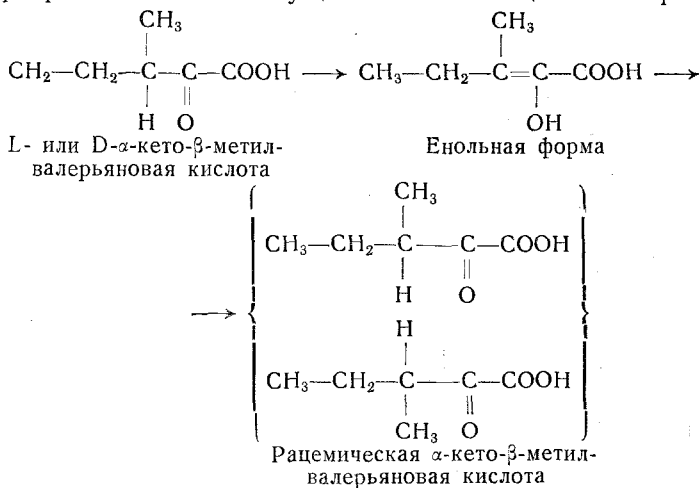


Таблица 9

Свойства α -кетокислот

α -Кетокислота	Соответствующая α -аминокислота	2,4-Динитрофенилгидразон			Восстановление лактадегидрогеназой *	Декарбокслирование дрожевой декарбокслизой **
		кристаллизация		аминокислота после восстановления [556]		
		т. пл., °С	растворитель			
Пировиноградная кислота	Аланин	216	Вода	Аланин	26 800	1 200
δ -Амид α -кетoadипиновой кислоты	δ -Амид α -аминоадипиновой кислоты (гомоглутамин)					
α -Кетoadипиновая кислота	α -Аминоадипиновая кислота	208	»	α -Аминоадипиновая кислота		
α -Кетомасляная кислота	α -Аминомасляная кислота	198	»	α -Аминомасляная кислота	21 000	
α -Кетогептановая кислота	α -Аминогептановая кислота	130	Этилацетат, лигроин	α -Аминогептановая кислота	483	
Мезоксалева кислота	Аминомалоновая кислота	205	Соляная кислота	α -Аминомалоновая кислота, глицин		
α -Кето- ϵ -оксикапроновая кислота	α -Амино- ϵ -оксикапроновая кислота	183	Вода	α -Амино- ϵ -оксикапроновая кислота	181	25
<i>dl</i> -Щавелевоянтарная кислота	α -Аминотрикарбаллиловая кислота					

7*

66:

α -Кетофенилуксусная кислота	α -Аминофенилуксусная кислота	193	Вода	α -Аминофенилуксусная кислота, циклогексилглицин	2,6	0
α -Кето- δ -гуанидиновалерьяновая кислота	Аргинин	216, 267 [548]		Аргинин	9,0	0
Моноамид α -кетоянтарной кислоты	Аспарагин	183		Аспарагин, аспарагиновая кислота	8 930	
Щавелевоуксусная кислота	Аспарагиновая кислота	218	Вода	Аспарагиновая кислота, аланин, β -аланин	12,8	
S-Бензил- β -меркаптопирувиноградная кислота	S-Бензилцистеин	150	Ледяная уксусная кислота			
α -Кетонизовалерьяновая кислота	Валин	196	Вода	Валин	103	922
β -Имидазолпирувиноградная кислота	Гистидин	190—192, 240	Соляная кислота, этилацетат, лигроин [548]	Гистидин		
Глиоксиловая кислота	Глицин	203	Вода	Глицин	21 000	0
Моноамид α -кетоглутаровой кислоты	Глутамин			Глутамин, глутаминовая кислота		
α -Кетоглутаровая кислота	Глутаминовая кислота	220	Вода	Глутаминовая кислота	9,2	0
γ -Этиловый эфир α -кетоглутаровой кислоты	γ -Этиловый эфир глутаминовой кислоты				49,0	721

α -Кетокислота	Соответствующая α -аминокислота	2,4-Динитрофенилгидразон			Восстановление лактатдегидрогеназой *	Декарбоксилирование дрожжевой декарбоксилазой **
		кристаллизация		аминокислота после восстановления [556]		
		т. пл., °С	растворитель			
α -Кето- γ -оксимасляная кислота	Гомосерин					
DL- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота	DL-Изолейцин (или DL-алло-изолейцин)	169	Вода	Изолейцин		
L- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота ***	L-Изолейцин (или D-алло-лейцин)	176	»	»	5,0	1 000
D- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота ****	D-Изолейцин (или L-алло-изолейцин)	176	»	»	1,9	280
α -Кетоизокапроновая кислота	Лейцин	162	»	Лейцин	3,2	306
Триметилпировиноградная кислота	<i>трет</i> -Лейцин	180	»	<i>трет</i> -Лейцин		
α -Кето- ϵ -аминокапроновая кислота	Лизин	212	»	Лизин, пипеколиновая кислота		
α -Кето- γ -метилтиомасляная кислота	Метионин	150	»	Метионин	1 550	125
α -Кето- γ -метилсульфонилмасляная кислота	Метионинсульфон	175	»	Метионинсульфон		

α -Кето- δ -нитрогуанидиновалерьяновая кислота	Нитроаргинин	225	Ледяная уксусная кислота	Нитроаргинин, аргинин	42,6	0
α -Кетовалерьяновая кислота	Норвалин	167	Вода	Норвалин	1 470	
α -Кетокапроновая кислота	Норлейцин	153	»	Норлейцин	560	
α -Кето- δ -аминовалерьяновая кислота	Орнитин, пролин	232—242 [551] 219 [552] 211—212 [553]		Орнитин, пролин, пентагомсерин *****		
β -Оксипировиноградная кислота	Серин	162	Этилацетат	Серин, аланин	26 000	0
β -[3,5-Дийод-4-(3',5'-дийод-4'-оксифенокси)-фенил] пировиноградная кислота	Тироксин					
<i>n</i> -Оксифенилпировиноградная кислота	Тирозин	178	Вода	Тирозин	345	0
DL- α -Кето- β -оксимасляная кислота	DL-Треонин (или DL-алло-треонин)	157—158 [555]		Треонин, α -аминомасляная кислота	20 000	
β -Индолпировиноградная кислота	Триптофан	169	[548]	Триптофан	670	0
Фенилпировиноградная кислота	Фенилаланин	162—164, 192—194 [554]		Фенилаланин	755	0

α -Кетокислота	Соответствующая α -аминокислота	2,4-Динитрофенилгидразон			Восстановление лактата гидрогеназой *	Декарбоксилирование дрожжевой декарбоксилазой **
		кристаллизация		аминокислота после восстановления [556]		
		т. пл., °С	растворитель			
β -Циклогексилпировиноградная кислота	β -Циклогексилаланин	189	Вода	β -Циклогексилаланин	14,6	0
β -Сульфонилипировиноградная кислота	Цистеиновая кислота	210	Ледяная уксусная кислота	Цистеиновая кислота, аланин	89,6	
β -Меркаптопировиноградная кислота	Цистеин	195—200 [549], 161—162 [550]		Аланин	27 000	750
α -Кето- δ -карбамидова-лерьиновая кислота	Цитруллин	190	Вода	Цитруллин	4,3	0
α -Кето- γ -этилтиомасляная кислота	Этионин	131	»	Этионин	1 650	121

* Моли $\times 10^{-8}$ ДПН-Н, окисляемого 1 мг фермента в 1 мин. при 26° [547, 557].

** Число миллилитров CO_2 за 1 час [557].

*** Ранее обозначалась как *d* [558].

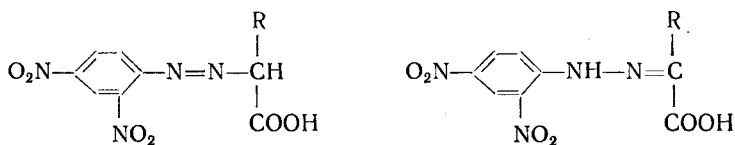
**** Ранее обозначалась как *l* [558].

***** α -Амино- δ -окси-*n*-валерьяновая кислота.

О том, что такая рацемизация (или енолизация) не происходит быстро при любых условиях, свидетельствуют наблюдения, показавшие, что L-изомер α -кето- β -метилвалерьяновой кислоты (соответствующий L-изолейцину и алло-D-изолейцину) более эффективно обеспечивает рост молодых крыс [559] и некоторых бактерий [560], чем оптический антипод этой кетокислоты. Щавелевоантарная кислота теоретически может существовать в двух оптически активных формах, но ввиду склонности этой кислоты к енолизации разделение изомеров будет, по-видимому, затруднено. Между тем не исключена возможность, что лишь один из изомеров щавелевоантарной кислоты метаболически активен. α -Кетокислоты, способные к енолизации, теоретически могут существовать в *цис*- и *транс*-енольных формах, и в некоторых случаях это было доказано экспериментально [561, 562].

В то время как выделению и идентификации аминокислот посвящено множество исследований, их кетокислотным аналогам было уделено относительно мало внимания. Пировиноградная, щавелевоуксусная и α -кетоглутаровая кислоты найдены в тканях многих животных и растений; имеются данные о наличии в биологических объектах глиоксиловой [563], α -кетоизовалерьяновой [564], α -кето- γ -метилглютаровой [565], α -кетоимелиновой [566], α -кетоадипиновой [566], β -оксипировиноградной [566] и α -кето- γ -оксимасляной кислот [566].

Идентификация α -кетокислот в биологическом материале сопряжена с трудностями вследствие нестабильности многих α -кетокислот. Хорошие результаты дает разделение гидразонов α -кетокислот при помощи хроматографического метода. Однако 2,4-динитрофенилгидразон α -кетокислоты в ряде случаев дает на хроматограммах 2 пятна, которые, по-видимому соответствуют *син*- и *анти*-формам гидразона:



При элюировании этих пятен и вторичном их хроматографировании из каждого вещества нередко вновь образуются по два пятна (соответствующие исходным пятнам). Гидрирование каждого из элюатов приводит к образованию одной и той же аминокислоты.

При гидрировании гидразонов α -кетокислот обычно образуются соответствующие аминокислоты [556, 563, 567], которые можно идентифицировать хроматографически. Этот метод представляет большую ценность для идентификации α -кетокислот,

присутствующих в биологическом материале. Нужно, однако, иметь в виду, что 2,4-динитрофенилгидразоны некоторых α -кетокислот при гидрировании дают более одной аминокислоты (см. табл. 9). Для идентификации 2,4-динитрофенилгидразонов α -кетокислот имеют значение их точки плавления; однако в некоторых случаях (например, у 2,4-динитрофенилгидразона фенилпировиноградной кислоты) точка плавления зависит от растворителя, использованного для кристаллизации [554].

Количественное определение α -кетокислот можно производить путем декарбокислирования сульфатом церия [568, 569] или перекисью водорода [570]. К числу других методов, полезных для идентификации кетокислот, относятся получение бисульфитных производных, исследование инфракрасных и ультрафиолетовых спектров поглощения, неферментативное переаминирование с образованием соответствующих α -аминокислот. Некоторые α -кетокислоты, например α -кето- γ -метилтиомасляная кислота, дают те же характерные цветные реакции, что и аналогичные им аминокислоты. Ряд методов определения α -кетокислот основан на реакциях карбонильной группы.

Для обнаружения и количественного определения некоторых α -кетокислот могут быть использованы ферментативные и микробиологические методы. Многие α -кетокислоты восстанавливаются при действии лактатдегидрогеназы, причем по меньшей мере шесть из них (β -меркаптопировиноградная кислота, α -кетомасляная кислота, α -кето- β -оксимасляная кислота, β -оксипировиноградная кислота, пировиноградная кислота и глиоксиловая кислота) восстанавливаются примерно с одинаковой скоростью. Дрожжевая декарбокислаза α -кетокислот также отличается широким диапазоном субстратной специфичности (см. табл. 9).

ЛИТЕРАТУРА

1. Vickery H. B., Schmidt C. L. A., Chem. Revs., 9, 169 (1931).
2. Strecker A., Ann., 75, 27 (1850).
3. Weyl T., Ber., 21, 1407 (1888).
4. Fischer E., Skita A., Z. physiol. Chem., 33, 177 (1901).
5. Schulze E., Steiger E., Ber., 19, 1177 (1886).
6. Hedin S. G., Z. physiol. Chem., 20, 186 (1895).
7. Kossel A., Gross R. E., Z. physiol. Chem., 135, 167 (1924).
8. Schulze E., Winterstein E., Ber., 30, 2879 (1897).
9. Sörensen S. P. L., Ber., 43, 643 (1910).
10. Fox S. W., J. Biol. Chem., 123, 687 (1938).
11. Sakaguchi S., J. Biochem. (Japan), 5, 25 (1925).
12. Meyerhof O., Lohmann K., Biochem. Z., 196, 49 (1928).
13. Ennor A. H., Morrison J. F., Rosenberg H., Biochem. J., 62, 358 (1956).

14. Vauquelin L. N., Robiquet P. J., *Ann. chim. (Paris)*, **57**, 88 (1806).
15. Hlasiwetz H., Habermann J., *Ann.*, **169**, 150 (1873).
16. Damodaran M., *Biochem. J.*, **26**, 235 (1932).
17. Steward F. C., Thompson J. F., *Nature*, **169**, 739 (1952).
18. Davies M., Evans J. C., *J. Chem. Soc.*, p. 480 (1953).
19. Katz L., Pasternak R. A., Corey R. B., *Nature*, **170**, 1066 (1952).
20. Saito Y., Cano-Corona O., Pepinsky R., *Science*, **121**, 435 (1955).
21. Sondheimer E., Holley R. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2467 (1954).
22. Ritthausen H., *J. prakt. Chem. [1]*, **103**, 233 (1868).
23. Piria R., *Ann. chim. et phys. [3]*, **22**, 160 (1848).
24. Dessaignes V., *Compt. rend.*, **30**, 324, **31**, 432 (1850).
25. Piutti A., *Gazz. chim. ital.*, **17**, 519 (1887).
26. Tallan H. H., Moore S., Stein W. H., *J. Biol. Chem.*, **219**, 257 (1956).
27. Wollaston W. H., *Ann. chim. (Paris)*, **76**, 21 (1810).
28. Mörner K. A. H., *Z. physiol. Chem.*, **28**, 595 (1899).
29. Olcott H. S., Fraenkel-Conrat H., *J. Biol. Chem.*, **171**, 583 (1947).
30. Baumann E., *Z. physiol. Chem.*, **8**, 299 (1884).
31. Erlenmeyer E., jr., *Ber.*, **36**, 2720 (1903).
32. Erlenmeyer E., jr., Stoop F., *Ann.*, **337**, 222 (1904).
33. Strickland R. D., Martin E. L., Riebsomer J. L., *J. Biol. Chem.*, **207**, 903 (1954).
34. Sullivan M. X., Hess W. C., Howard H. W., *J. Biol. Chem.*, **145**, 621 (1942).
35. Ritthausen H., *J. prakt. Chem. [1]*, **99**, 454 (1866).
36. Dittmar W., *J. prakt. Chem.*, **113**, 338 (1872).
37. Markownikoff W., *Ann.*, **182**, 347 (1876).
38. Wolff L., *Ann.*, **260**, 79 (1890).
39. Schulze E., Bosshard E., *Landwirtsch. Vers. Sta.*, **29**, 295 (1883).
40. Damodaran M., Jaaback G., Chibnall A. C., *Biochem. J.*, **26**, 1704 (1932).
41. Bergmann M., Zervas L., Salzmann L., *Ber.*, **66**, 1288 (1933).
42. Thierfelder H., Cramm E., von, *Z. physiol. Chem.*, **105**, 58 (1919).
43. Chibnall A. C., Westall R. G., *Biochem. J.*, **26**, 122 (1932).
44. Melville J., *Biochem. J.*, **29**, 179 (1935).
45. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **210**, 17 (1954).
46. Braconnot H., *Ann. chim. et phys. [2]*, **13**, 113 (1820).
47. Cahours A., *Ann.*, **103**, 87 (1857).
48. Cahours A., *Ann.*, **107**, 147 (1858).
49. Haworth R. D., MacGillivray R., Peacock D. H., *Nature*, **167**, 1068 (1951).
50. Kossel A., *Z. physiol. Chem.*, **22**, 176 (1896).
51. Hedin S. G., *Z. physiol. Chem.*, **22**, 191 (1896).
52. Pauly H., *Z. physiol. Chem.*, **42**, 508 (1904).
53. Fränkel M., *Monatsh.*, **24**, 229 (1903).
54. Knoop F., Windaus A., *Beitr. chem. Physiol. Pathol.*, **7**, 144 (1905), **8**, 406 (1906).
55. Pyman F. L., *Trans. Chem. Soc.*, **99**, 1386 (1911).
56. Fischer E., *Ber.*, **35**, 2660 (1902).
57. Leuchs H., *Ber.*, **38**, 1937 (1905).
58. Leuchs H., Brewster J. F., *Ber.*, **46**, 986 (1913).
59. Leuchs H., Bormann K., *Ber.*, **52**, 2086 (1919).
60. Ehrlich F., *Ber.*, **37**, 1809 (1904).

61. Ehrlich F., Ber., **40**, 2538 (1907).
62. Ehrlich F., Ber., **41**, 1453 (1908).
63. Fischer E., Z. physiol. Chem., **33**, 151 (1901).
64. Proust M., Ann. chim. et phys. [2], **10**, 29 (1819).
65. Braconnot H., Ann. chim. et phys. [2], **13**, 113 (1820).
66. Schulze E., Likiernik A., Ber., **24**, 669 (1891).
67. Dréchsel E., J. prakt. Chem., **39**, 425 (1889).
68. Fischer E., Weigert F., Ber., **35**, 3772 (1902).
69. Mueller J. H., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **19**, 161 (1922).
70. Barger G., Coyne F. P., Biochem. J., **22**, 1417 (1928).
71. Windus W., Marvel C. S., J. Am. Chem. Soc., **53**, 3490 (1931).
72. Osborne T. B., «The Vegetable Proteins». Longmans, London 1919.
73. Schulze E., Barbieri J., Ber., **12**, 1924 (1879), **14**, 1785 (1881); **16**, 1711 (1883).
74. Erlenmeyer E., jr., Lipp A., Ber. **15**, 1006 (1882).
75. Willstätter R., Ber., **33**, 1160 (1900).
76. Fischer E., Z. physiol. Chem., **33**, 151 (1901).
77. Cramer E., J. prakt. Chem., **96**, 76 (1865).
78. Fischer E., Leuchs H., Ber., **35**, 3787 (1902).
79. Lipmann F., Biochem. Z., **262**, 3 (1933).
80. Agren G., Verdier C. H., de, Glomset J., Acta Chem. Scand., **5**, 324 (1951).
81. Lipman F., Levene P. A., J. Biol. Chem., **98**, 107 (1932).
82. Plapinger R. E., Wagner-Jauregg T., J. Am. Chem. Soc., **75**, 5757 (1953).
83. Rose W. C., McCoy R. H., Meyer C. E., Carter H. E., Womack M., Mertz E. T., J. Biol. Chem., **109**, 77 (1935).
84. Carter H. E., J. Biol. Chem., **112**, 769 (1935).
85. West H. D., Carter H. E., J. Biol. Chem., **119**, 109 (1937).
86. Verdier C. H., de, Nature, **170**, 804 (1952), Acta Chem. Scand., **7**, 196 (1953).
87. Nicolet B. H., Shinn L. A., J. Biol. Chem., **139**, 687 (1941).
88. Hopkins F. G., Cole S. W., Proc. Roy. Soc., **68**, 21 (1901).
89. Adamkiewicz A., Pflügers Arch. ges. Physiol., **9**, 156 (1874); Ber., **5**, 161 (1875).
90. Ellinger A., Flamand C., Ber., **40**, 3029 (1907).
91. Liebig J., Ann., **57**, 127 (1846).
92. De la Rue W., Ann., **64**, 1 (1848).
93. Bopp F., Ann., **69**, 16 (1849).
94. Erlenmeyer E., Lipp A., Ann., **219**, 161 (1883).
95. Gorup-Besanez E., von, Ann., **98**, 1 (1856).
96. Schützenberger P., Ann. chim. et phys. [5], **16**, 289 (1879).
97. Fischer E., Z. physiol. Chem., **33**, 151 (1901); **39**, 2320 (1906).
98. Block R. J., Bolling D., «The Amino Acid Composition of Proteins and Foods»; C. C. Thomas, Springfield Illinois, 1951.
99. Tristram G. R., in «The Proteins» (Neurath and Bailey, eds.), vol. I, Part A, p.181. Academic Press, New York, 1953.
100. Tristram G. R., Advances in Protein Chem., **5**, 84 (1949).
101. Bailey K., Chemistry and Industry, p. 243 (1950).
102. Sanger F., Nature, **160**, 295 (1947).
103. Lens J., Biochim. et Biophys. Acta, **3**, 367 (1949).
104. Sanger F., Tuppy H., Biochem. J., **49**, 463, 481 (1951).
105. Harris J. I., J. Am. Chem. Soc., **74**, 2944 (1952).
106. Sanger F., Thompson E. O. P., Biochem. J., **53**, 353, 366 (1953).
107. Sanger F., Smith L. F., Kital R., Biochem. J., **58**, vi (1954).

108. Harris J. I., Li C. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2945 (1952).
109. Howe E. E., in «Amino Acids and Proteins» (Greenberg, ed.), p. 3. C. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.
110. Cohn E. J., Edsall J. T., eds., in «Proteins, Amino Acids, and Peptides as Ions and Dipolar Ions», p. 196. Reinhold, New York, 1943.
111. Cohn E. J., in «Proteins, Amino Acids, and Peptides as Ions and Dipolar Ions» (Cohn and Edsall, eds.), p. 243. Reinhold, New York, 1943.
112. Edsall J. T., Scatchard G., in «Proteins, Amino Acids, and Peptides as Ions and Dipolar Ions» (Cohn and Edsall, eds.), p. 177. Reinhold, New York, 1943.
113. Hitchcock D. I., in «The Chemistry of the Amino Acids and Proteins» (Schmidt, ed.), p. 608. C. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1938, data of Sørensen S. P. L., *Biochem. Z.*, **21**, 174 (1909), recalculated by Hitchcock D. I.
114. Edsall J. T., in «Proteins, Amino Acids, and Peptides as Ions and Dipolar Ions» (Cohn and Edsall, eds.), p. 75. Reinhold, New York, 1943.
115. Clarke H. T., in «Organic Chemistry» (Gitman, ed.), vol. II, p. 1079. Wiley, New York, 1938.
116. Block R. J., *Chem. Revs.*, **38**, 501 (1946).
117. Desnuelle P., in «The Proteins» (Neurath and Bailey, eds.), vol. I, part A, p. 87, Academic Press, New York, 1953.
118. Van Slyke D. D., *J. Biol. Chem.*, **9**, 185 (1911).
119. Van Slyke D. D., *J. Biol. Chem.*, **12**, 275 (1912).
120. Van Slyke D. D., *J. Biol. Chem.*, **83**, 425 (1929).
121. Van Slyke D. D., Dillon R. T., MacFadyen D. A., Hamilton P. B., *J. Biol. Chem.*, **141**, 627, 671 (1941), **150**, 251 (1943).
122. MacFadyen D. A., *J. Biol. Chem.*, **153**, 507 (1944).
123. Moore S., Stein W. H., *J. Biol. Chem.*, **176**, 367 (1948).
124. Ruhemann S., *J. Chem. Soc.*, **99**, 1491 (1911).
125. MacFadyen D. A., *J. Biol. Chem.*, **186**, 1 (1950).
126. MacFadyen D. A., Fowler N., *J. Biol. Chem.*, **186**, 13 (1950).
127. Bergmann M., Zervas L., *Ber.*, **67**, 1192 (1932).
128. Ben-Ishai D., Berger A., *J. Org. Chem.*, **17**, 1564 (1952).
129. Harington C. R., Mead T. H., *Biochem. J.*, **29**, 1602 (1935).
130. du Vigneaud V., Miller G. L., *J. Biol. Chem.*, **116**, 469 (1936).
131. Abderhalden E., Stix W., *Z. physiol. Chem.*, **129**, 143 (1923).
132. Sanger F., *Biochem. J.*, **39**, 507 (1945).
133. Porter R. R., Sanger F., *Biochem. J.*, **42**, 287 (1948).
134. Edman P., *Acta Chem. Scand.*, **4**, 283 (1950), *Nature*, **177**, 667 (1956), *Acta Chem. Scand.*, **10**, 761 (1956).
135. Udenfriend S., Velick S. F., *J. Biol. Chem.*, **190**, 733 (1951).
136. Chibnall A. C., Rees M. W., *Biochem. J.*, **48**, xlvii (1951).
137. Fox S. W., *Advances in Protein Chem.*, **2**, 155 (1945).
138. Karrer P., Ehrhardt K., *Helv. Chim. Acta*, **34**, 2202 (1951).
139. Johnson J. B., Daschavsky P. G., *J. Biol. Chem.*, **62**, 725 (1925).
140. Abderhalden E., Suzuki S., *Z. physiol. Chem.*, **176**, 101 (1928).
141. Neuberger C., Kerb J., *Biochem. Z.*, **40**, 498 (1912).
142. Siegfried M., Schutt E., *Z. physiol. Chem.*, **81**, 260 (1912).
143. Neuberger C., Oertel W., *Biochem. Z.*, **60**, 491 (1914).
144. Winnick T., Scott E. M., *Arch. Biochem.*, **12**, 201 (1947).
145. Black S., Wright N. G., *J. Biol. Chem.*, **213**, 27 (1955).
146. Katchalsky A., Paecht M., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 6042 (1954).
147. Levintov L., Meister A., *Federation Proc.*, **15**, 299 (1956).
148. Chantrenne H., *Nature*, **160**, 603 (1947).
149. Chantrenne H., *Biochim. et Biophys. Acta*, **2**, 286 (1948).

150. Chantrenne H., *Nature*, **164**, 576 (1949).
151. Shemin D., *J. Biol. Chem.*, **159**, 439 (1945).
152. Foster G. L., *J. Biol. Chem.*, **159**, 431 (1945).
153. Keston A. S., Udenfriend S., Cannan R. K., *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 249 (1949).
154. Neuburger A., *Biochem. J.*, **42**, 1435 (1938).
155. Martin A. J. P., Syngge R. L. M., *Biochem. J.*, **35**, 294 (1941).
156. Consden R., Gordon A. H., Martin A. J. P., *Biochem. J.*, **38**, 224 (1944).
157. Block R. J., Durrum E. L., Zweig G., «A Manual for Paper Chromatography and Paper Elektrophoresis». Academic Press, New York, 1955.
158. Moore S., Stein W. H., *J. Biol. Chem.*, **176**, 337, 367 (1948); **178**, 53 (1949); **192**, 663 (1951); **211**, 893, 907 (1954).
159. Dent C. E., *Biochem. J.*, **43**, 169 (1948).
160. Holiday E. R., Ogston A. G., *Biochem. J.*, **32**, 1166 (1938).
161. Goodwin T. W., Morton R. A., *Biochem. J.*, **40**, 628 (1946).
162. Beaven G. H., Holiday E. R., *Advances in Protein Chem.*, **7**, 320 (1952).
163. Doty P., Geiduschek E. P., in «The Proteins» (Neurath and Bailey, eds.), vol. I, part A, p. 393. Academic Press, New York, 1953.
164. Warburg O., «Wasserstoffübertragende Fermente». Verlag Dr. Werner Saenger G. M. B. H., Berlin, 1948.
165. Warburg O., Christian W., *Biochem. Z.*, **310**, 384 (1942).
166. Dent C. E., *Science*, **105**, 335 (1947).
167. Gordon A. H., *Biochem. J.*, **45**, 99 (1949).
168. Roberts E., Frankel S., Harman P. J., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **74**, 383 (1950).
169. Volcani B. E., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **174**, 893 (1948).
170. Reed L. J., *J. Biol. Chem.*, **183**, 451 (1952).
171. Awapara J., Landua A. J., Fuerst R., Seale B., *J. Biol. Chem.*, **187**, 35 (1950).
172. Roberts E., Frankel S., *J. Biol. Chem.*, **187**, 55 (1950).
173. Udenfriend S., *J. Biol. Chem.*, **187**, 65 (1950).
174. Westall R. G., *Nature*, **165**, 717 (1950).
175. Syngge R. L. M., *Biochem. J.*, **48**, 429 (1951).
176. Thompson J. F., Pollard J. K., Steward F. C., *Plant Physiol.*, **28**, 401 (1953).
177. Hulme A. C., Arthington W., *Nature*, **165**, 716 (1950).
178. Crumpler H. R., Dent C. E., Harris H., Westall R. G., *Nature*, **167**, 307 (1951).
179. Fink K., Henderson R. B., Fink R. M., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **78**, 135 (1951), *J. Biol. Chem.*, **197**, 441 (1952).
180. Schenck J. R., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **54**, 6 (1943).
181. Wada M., *Biochem. Z.*, **224**, 420 (1930).
182. Miettinen J. K., Virtanen A. I., *Physiol. Plantarum*, **5**, 540 (1952).
183. Wolfigang H., Mothes K., *Naturwissenschaften*, **40**, 606 (1953).
184. Dent C. E., Stepka W., Steward F. C., *Nature*, **160**, 682 (1947).
185. Kitagawa M., Monobe S., *J. Biochem. (Japan)*, **18**, 333 (1933), **11**, 265 (1929).
186. Shibuya S., Makizumi S., *J. Japan. Biochem. Soc.*, **25**, 210 (1953).
187. Damodaran M., Narayanan K. G. A., *Biochem. J.*, **34**, 1449 (1940).
188. Gulland J. M., Morris C. J. O. R., *J. Chem. Soc.*, **763** (1935).
189. Horowitz N. H., Srb A. M., *J. Biol. Chem.*, **174**, 371 (1948).

190. Teas H. J., *J. Biol. Chem.*, **190**, 369 (1951).
191. Oginsky E. L., Gehrig R. F., *J. Biol. Chem.*, **198**, 799 (1952).
192. Walker J. B., *J. Biol. Chem.*, **204**, 139 (1954).
193. Miettinen J. K., Kari S., Moisio T., Alfthan M., Virtanen A. I., *Suomen Kemistilehti*, **B2**, 26 (1953).
194. Flynn E. H., Hinman J. W., Caron E. L., Woolf D. O., jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5867 (1953).
195. Bartz Q. R., Elder C. C., Frohardt R. P., Fusari S. A., Haskell T. H., Johannessen D. W., Ryder A., *Nature*, **173**, 72 (1954).
196. Stock C. C., Reilly H. C., Buckley S. M., Clarke D. A., Rhodes C. P., *Nature*, **173**, 71 (1954).
197. Hagemann G., Penasse L., Teillon J., *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 240 (1955).
198. Windsor E., *J. Biol. Chem.*, **192**, 595, 607 (1951).
199. Berg A. M., Kari S., Alfthan M., Virtanen A. I., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 358 (1954).
200. Boulanger P., Biserte G., *Compt. rend.*, **232**, 1451 (1951).
201. Sakato Y., *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **23**, 262 (1950).
202. Done J., Fowden L., *Biochem. J.*, **51**, 451 (1952).
203. Zacharias R. M., Pollard J. K., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1961 (1954).
204. Fowden L., Done J., *Biochem. J.*, **55**, 548 (1953).
205. Wailes P., Whiting M. C., Fowden L., *Nature*, **174**, 130 (1954).
206. Virtanen A. I., Berg A. C., *Acta Chem. Scand.*, **9**, 553 (1955).
207. Grobbelaar N., Pollard J. K., Steward F. C., *Nature*, **175**, 703 (1955).
208. James W. O., *New Phytologist*, **48**, 172 (1949).
209. Manske R. H. F., *Can. J. Research*, **15B**, 84 (1937).
210. Catch J. R., Jones T. S. G., *Biochem. J.*, **42**, lii (1948); Catch J. R., Jones T. S. G., Wilkinson S., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 917 (1949).
211. Hausmann W., Craig L. C., *J. Biol. Chem.*, **198**, 405 (1952).
212. Howell S. F., *J. Biol. Chem.*, **186**, 863 (1950).
213. Haskell T. H., Fusari S. A., Frohardt R. P., Bartz Q. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 599 (1952).
214. Van Slyke D. D., Hiller A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **7**, 185 (1921).
215. Van Slyke D. D., Hiller A., Dillon R. T., MacFadyen D., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **38**, 548 (1938).
216. Hamilton P. B., Anderson R. A., *J. Biol. Chem.*, **213**, 249 (1955).
217. Bergström S., Lindstedt S., *Arch. Biochem.*, **26**, 323 (1950).
218. Weisiger J. R., *J. Biol. Chem.*, **186**, 591 (1950).
219. Sheehan J. C., Bolhofer W. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2466 2469, 2472 (1950).
220. Fones W. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4865 (1953).
221. Barbier M., Lederer E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **8**, 590 (1952).
222. Gordon A. H., *Nature*, **162**, 778 (1948).
223. Astrup T., Carlström G., Stage A., *Acta Physiol. Scand.*, **24**, 202 (1951).
224. Piez K. A., *J. Biol. Chem.*, **207**, 77 (1954).
225. Carter H. E., Hearn W. R., Landsford E. M., jr., Page A. C., jr., Salzman N. P., Shapiro D., Taylor W. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3704 (1952).
226. Tamelen E. E., von, Smissman E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3713 (1952).

227. Work E., *Nature*, **165**, 74 (1950), *Biochem. J.*, **49**, 17 (1951).
228. Asselineau J., Choucroun N., Lederer E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **5**, 197 (1950).
229. Gendre T., Lederer E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **8**, 49 (1952).
230. Woolley D. W., Schaffner G., Braun A. C., *J. Biol. Chem.*, **198**, 807 (1952); **215**, 485 (1955).
231. Veen A. G., van, Hyman A. J., *Rec. trav. chim.*, **54**, 493 (1935).
232. Vigneaud V., du, Patterson W. I., *J. Biol. Chem.*, **114**, 533 (1936).
233. Armstrong M. D., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **173**, 749 (1948).
234. Westall R. G., *Biochem. J.*, **55**, 244 (1953).
235. Martin A. J. P., Syngge R. L. M., *Advances in Protein Chem.*, **2**, 1 (1945).
236. Dent C. E., *Biochem. J.*, **43**, 169 (1948).
237. Roberts E., Frankel S., *Cancer Research*, **9**, 645 (1949).
238. Thoai Ng. V., Robin Y., *Biochim. et Biophys. Acta*, **13**, 533 (1954).
239. Thoai Ng. V., Roche J., Olumucki A., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 448 (1948).
240. Lavine T. F., *J. Biol. Chem.*, **117**, 309 (1937).
241. Bergeret B., Chatagner F., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 297, 543 (1954).
242. Horn M. J., Jones D. B., Ringel S. J., *J. Biol. Chem.*, **138**, 141 (1941), **144**, 87, 93 (1942).
243. Horn M. J., Jones D. B., *J. Biol. Chem.*, **139**, 649 (1941).
244. Horn M. J., Jones D. B., *J. Biol. Chem.*, **139**, 473 (1941).
245. Vigneaud V., du, Brown G. B., *J. Biol. Chem.*, **140**, 767 (1941).
246. Alderton G., Fevold H. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 463 (1951); **75**, 2391 (1953).
247. Berridge N. J., Newton G. G. F., Abraham E. P., *Biochem. J.*, **52**, 529 (1952), *Nature*, **171**, 606 (1953).
248. Syngge R. L. M., Wood J. C., *Biochem. J.*, **60**, xv (1955), **64**, 252 (1956).
249. Morris C. J. O. R., Thompson J. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 1605 (1956).
250. Stoll A., Seebeck E., *Advances in Enzymol.*, **11**, 377 (1951).
251. Klein P., Souverein C., *Biochem. Z.*, **326**, 123 (1954).
252. Challenger F., Hayward B. J., *Biochem. J.*, **58**, iv (1954).
253. McRorie R. A., Sutherland G. L., Lewis M. S., Barton A. D., Glazener R., Shive W., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 115 (1954).
254. Challenger F., Simpson M. I., *J. Chem. Soc.*, **1948**, 1591.
255. Behre J. A., Benedict S. R., *J. Biol. Chem.*, **82**, 11 (1929).
256. Blumenthal D., Clarke H. T., *J. Biol. Chem.*, **110**, 343 (1935).
257. Drechsel E., *Z. Biol.*, **33**, 96 (1896).
258. Mörner C. T., *Z. physiol. Chem.*, **88**, 138 (1913).
259. Low E. M., *J. Marine Research (Sears Foundation)*, **10**, 239 (1951).
260. Kendall E. C., *J. Biol. Chem.*, **20**, 501 (1915).
261. Harington C. R., Barger G., *Biochem. J.*, **21**, 169 (1927).
262. Fink K., Fink R. M., *Science*, **108**, 358 (1948).
263. Taurog A., Chaikoff I. L., Tong W., *J. Biol. Chem.*, **178**, 997 (1949).
264. Taurog A., Tong W., Chaikoff I. L., *J. Biol. Chem.*, **184**, 83 (1950).
265. Gross J., Pitt-Rivers R., *Biochem. J.*, **53**, 645, 652 (1953).
266. Roche J., Lissitzky S., Michel R., *Compt. rend.*, **232**, 2047 (1951).
267. Morizawa K., *Acta Schol. Med. Univ. Kioto*, **9**, 285 (1927).
268. Akasi S., *J. Biochem. (Japan)*, **25**, 261, 281, 291 (1937).
269. Moore E., Wilson D. W., *J. Biol. Chem.*, **119**, 573 (1937).

270. Irvine J. L., Wilson D. W., *J. Biol. Chem.*, **127**, 555 (1939).
271. Knoop F., Martius C., *Z. physiol. Chem.*, **258**, 238 (1939).
272. Herbst R. M., Swart E. A., *J. Org. Chem.*, **11**, 368 (1946).
273. Zacharius R. M., Thompson J. F., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2949 (1952).
274. Hulme A. C., Arthington W., *Nature*, **170**, 659 (1952).
275. Morrison R. I., *Biochem. J.*, **53**, 474 (1953).
276. Virtanen A. I., Kari S., *Acta Chem. Scand.*, **7**, 1290 (1954).
277. King F. E., King T. J., Warwick A. J., *J. Chem. Soc.*, 3590 (1950).
278. Gäumann E., Naef-Roth S., Kobal H., *Compt. rend.*, **234**, 173 (1952).
279. Powell J. F., *Biochem. J.*, **54**, 210 (1953).
280. Fowden L., *Nature*, **176**, 347 (1955), *Biochem. J.*, **64**, 323 (1956).
281. Guggenheim M., *Z. physiol. Chem.*, **88**, 276 (1913).
282. Miller E. R., *J. Biol. Chem.*, **44**, 481 (1920).
283. Damodaran M., Ramaswamy R., *Biochem. J.*, **31**, 2149 (1937).
284. Waller C. W., Fryth P. W., Hutchings B. L., Williams J. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 2025 (1953).
285. Matsuoka Z., Yoshimatsu S., *Z. physiol. Chem.*, **143**, 206 (1925).
286. Butenandt A., Weidel R., Weichert R., Derjugin W., von, *Z. physiol. Chem.*, **279**, 27 (1937).
287. Makino K., Sato K., Fujiki T., Kawaguchi K., *Nature*, **170**, 977 (1952).
288. Mitoma C., Weissbach H., Udenfriend S., *Nature*, **175**, 994 (1955).
289. Ek A., Witkop B., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5579 (1954).
290. Wieland H., Witkop B., *Ann.* **543**, 171 (1940).
291. Cornforth J. W., Dalglish C. E., Neuberger A., *Biochem. J.*, **48**, 591, 598 (1951).
292. Kuehl F. A., Jr., Wolf F. L., Trenner N. R., Peck R. L., Howe E. E., Hunnewell B. D., Downing G., Newstead E., Folkers K., Buhs R. P., Puter I., Ormond R., Lyons J. E., Chaiet L., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2344 (1955).
293. Stammer C. H., Wilson A. N., Holly F. W., Folkers K., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2346 (1955).
294. Hidy P. H., Hodge E. B., Young V. V., Harned R. L., Brewer G. A., Phillips W. F., Runge W. F., Stavely H. E., Pohland A., Boaz H., Sullivan H. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2345 (1955).
295. Nakanishi K., Ito T., Hirata Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2845 (1954).
296. Renz J., *Z. physiol. Chem.*, **244**, 153 (1936).
297. Mascré M., *Compt. rend.*, **204**, 890 (1937).
298. Adams R., Johnson J. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 705 (1949).
299. Radhakrishnan A. N., Giri K. V., *Biochem. J.*, **58**, 57 (1954).
300. Yoshida T., Fukuyama S., *J. Biochem. (Japan)*, **34**, 429 (1941); **36**, 349 (1944).
301. Linko P., Alfthan M., Miettinen J. K., Virtanen A. I., *Acta, Chem. Scand.*, **7**, 1310 (1953).
302. Novellie L., Schwartz H. M., *Nature*, **173**, 450 (1954).
303. Tallan H. H., Moore S., Stein W. H., *J. Biol. Chem.*, **211**, 927 (1954).
304. Plattner P. A., Nagar U., *Helv. Chim. Acta*, **31**, 2192, 2203 (1948).
305. Searle J. M., Westall R. G., *Biochem. J.*, **48**, 1 (1951).
306. Westall R. G., *Biochem. J.*, **52**, 638 (1952).
307. Stein W. H., *J. Biol. Chem.*, **201**, 45 (1953).
308. Tallan H. H., Stein W. H., Moore S., *J. Biol. Chem.*, **206**, 825 (1954).
309. Hulme A. C., *Nature*, **174**, 1055 (1954).

310. Virtanen A. I., Berg A., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1085 (1954).
311. Virtanen A. I., Uksila E., Matikkola E. J., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1091 (1954).
312. Virtanen A. I., Hietala P. K., *Acta Chem. Scand.*, **9**, 175 (1955).
313. Horn M. J., Jones D. B., *J. Biol. Chem.*, **139**, 649 (1941).
314. Fredga A., «Studien über Selen-Di-Karbonsauren und Diselen-Di-Karbonsauren». Uppsala, Sweden, 1935.
315. Ackermann W. W., Kirby H., *J. Biol. Chem.*, **175**, 483 (1948).
316. Corwin A. H., Damerel C. I., *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 1947 (1943).
317. Dakin H. D., *Biochem. J.*, **12**, 290 (1918).
318. Nicolet B. H., Shinn L. A., *J. Biol. Chem.*, **142**, 139 (1942).
319. Bailey K., Chibnall A. C., Rees M. W., Williams E. F., *Biochem. J.*, **37**, 360 (1943).
320. Dent C. E., Fowler D. I., *Biochem. J.*, **56**, 54 (1954).
321. Thudichum J. L. W., «Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere». Franz Pietzcker, Tübingen, 1901.
322. Abderhalden E., Weil A., *Z. physiol. Chem.*, **81**, 207 (1912).
323. Czarnetsky E., J., Schmidt C. L. A., *J. Biol. Chem.*, **97**, 333 (1932).
324. Consden R., Gordon A. H., Martin A. J. P., Rosenheim O., Syngge R. L. M., *Biochem. J.*, **39**, 251 (1945).
325. Martin A. J. P., Syngge R. L. M., *Biochem. J.*, **35**, 1358 (1941).
- ✓ 326. Stein W. H., Moore S., *J. Biol. Chem.*, **211**, 915 (1954).
327. Robinson S., Robinson A. H., *Physiol. Revs.*, **34**, 202 (1954).
328. Dent C. E., Walshe J. M., *Brit. Med. Bull.*, **10**, 247 (1954).
329. Roberts E., Frankel S., *Cancer Research*, **9**, 645 (1949).
330. Awapara J., Landua A. J., Fuerst R., *Biochim. et Biophys. Acta*, **5**, 457 (1950).
331. Astrup T., Carlström G., Stage A., *Acta Physiol. Scand.*, **24**, 202 (1951).
332. Walker D. M., *Biochem. J.*, **52**, 679 (1952).
333. Ansell G. B., Richter D., *Biochem. J.*, **57**, 70 (1954).
334. Radhakrishnan A. N., Vaidyanathan C. S., Giri K. V., *J. Indian Inst. Sci.*, **A37**, 178 (1955).
335. Datta S. P., Harris H., *Ann. Engen. (London)*, **18**, 107 (1953).
336. Hamilton P. B., *J. Biol. Chem.*, **158**, 397 (1945).
337. Krebs H. A., Eggleston L. V., Hems R., *Biochem. J.*, **44**, 159 (1949).
338. Ferdman D. L., Frenkel S. R., Silakova A. I., *Biokhimiya*, **7**, 43 (1942).
339. Steward F. C., Thompson J. F., *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **233**, (1950).
- ✓ 340. Steward F. C., Thompson J. F., in «The Proteins» (Neurath and Bailey, eds.), vol. 2, part A, p. 513. Academic Press, New York, 1954.
341. Syngge R. L. M., *Biochem. J.*, **49**, 642 (1951).
342. Sullivan M. X., Hess W. C., *J. Biol. Chem.*, **116**, 221 (1936).
343. Reed G., *J. Biol. Chem.*, **142**, 61 (1942).
344. Laurie N. R., *Biochem. J.*, **41**, 41 (1947).
345. Hoberman H. D., *J. Biol. Chem.*, **167**, 721 (1947).
346. Dunn M. S., Camien M. N., Shankman S., Block H., *Arch. Biochem.*, **13**, 207 (1947).
347. Frankl W., Dunn M. S., *Arch. Biochem.*, **13**, 93 (1947).
348. Steele B. F., Sauberlich H. E., Reynolds H. S., Baumann L. A., *J. Nutrition*, **33**, 209 (1947).
349. Woodson H. W., Hier S. W., Solomon J. D., Bergeim O., *J. Biol. Chem.*, **172**, 613 (1948).
350. Kögl F., Erxleben H., *Z. physiol. Chem.*, **258**, 57 (1939).
351. Miller J. A., *Cancer Research*, **10**, 65 (1950).

352. Kögl F., *Experientia*, **5**, 173 (1949).
353. Boulanger P., Osteux R., *Compt. rend.*, **256**, 2177 (1953).
354. Hillmann G., Hillmann-Elies A., Methfessel F., *Z. Naturforsch.*, **9b**, 660 (1954).
355. Holden J. T., Furman C., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **178**, 789, 799 (1949).
356. Park J. T., *J. Biol. Chem.*, **194**, 897 (1952).
357. Abraham E. P., Newton G. G. F., *Biochem. J.*, **58**, 266 (1954).
358. Кони́кова А. С., Добберт Н. Н., *Биохимия*, **13**, 115 (1948).
359. Stevens C. M., Gigger R. P., Bowne S. W., jr., *J. Biol. Chem.*, **212**, 461 (1955).
360. Camien M. N., *J. Biol. Chem.*, **197**, 687 (1952).
361. Ivanovics G., Bruckner V., *Z. Immunitätsforsch.*, **90**, 304 (1937).
362. Bovarnick M., *J. Biol. Chem.*, **145**, 415 (1942).
363. Rydon H. N., *Biochem. Soc. Symposia (Cambridge, England)*, **1**, 40 (1948).
364. Dunn M. S., Camien M. N., Shankman S., Block H., *J. Biol. Chem.*, **168**, 43 (1947).
365. Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M., *Biochem. J.*, **37**, 86 (1943).
366. Peterson D. H., Reinecke L. M., *J. Biol. Chem.*, **181**, 95 (1949).
367. Stansly P. G., Sheperd R. C., White H. J., *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **81**, 43 (1947).
368. Ikawa M., Snell E. E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **19**, 576 (1956).
369. Newton G. G. F., Abraham E. P., *Biochem. J.*, **62**, 651 (1956).
370. Abraham E. P., Newton G. G. F., *Biochem. J.*, **62**, 658 (1956).
371. Brownlee G., Jones T. S. G., *Biochem. J.*, **43**, xxy (1948).
372. Catch J. R., Jones T. S. G., Wilkinson S., *Biochem. J.*, **43**, xxvii (1948).
373. Fones W. S., quoted in (456).
374. Clarke H. T., Johnson J. R., Robinson R., «The Chemistry of Penicillin». Princeton U. P., Princeton, New Jersey, 1949.
375. Synge R. L. M., *Biochem. J.*, **39**, 363 (1945).
376. Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M., *Biochem. J.*, **37**, 313 (1943).
377. Stansly P. G., Brownlee G., *Nature*, **163**, 611 (1949).
378. Synge R. L. M., *Biochem. J.*, **38**, 285 (1944).
379. Jacobs W. A., Craig C. L., *J. Biol. Chem.*, **110**, 521 (1935).
380. Smith S., Timmis G. M., *J. Chem. Soc.*, **1937**, 396.
381. Stoll A., Hofmann A., Petrzilka T., *Helv. Chim. Acta*, **34**, 1544 (1951).
382. Brockmann H., Grubhofer N., Kass W., Kalbe H., *Ber.*, **84**, 260 (1951).
383. Brockmann H., Bohnsack G., Gröne H., *Naturwissenschaften*, **40**, 223 (1953).
384. Craig L. C., Hausmann W., Weisiger J. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2839 (1954).
385. Snell E. E., Radin N. S., Ikawa M., *J. Biol. Chem.*, **217**, 803 (1955).
386. Gulewitsch W., Amradzibi S., *Ber.*, **33**, 1902 (1900).
387. Barger G., Tutin F., *Biochem. J.*, **12**, 402 (1918).
388. Baumann L., Ingvaldsen T., *J. Biol. Chem.*, **35**, 263 (1918).
389. Ackermann D., Timpe O., Poller K., *Z. physiol. Chem.* **183**, 1 (1929).
390. Keil A., *Z. physiol. Chem.*, **187**, 1 (1930).
391. Vigneaud V., du Behrens O. K., *Ergeb. Physiol. biol. Chem. u. expil. Pharmakol.*, **41**, 917 (1939).

392. Hansen T., Smith E. L., *J. Biol. Chem.*, **179**, 789 (1949).
393. Vigneaud V., du, Sifferd R. H., Irving G. W., Jr., *J. Biol. Chem.*, **117**, 589 (1937).
394. Mueller J. H., *J. Biol. Chem.*, **123**, 421 (1938).
395. Hopkins F. G., *Biochem. J.*, **15**, 286 (1921).
396. Harington C. R., Mead T. H., *Biochem. J.*, **29**, 1602 (1935).
397. Gould G., *J. Biol. Chem.*, **153**, 143 (1944).
398. Jukes T. H., Stokstad E. L. R., *Physiol. Revs.*, **28**, 51 (1948).
399. Dekker C. A., Stone D., Fruton J. S., *J. Biol. Chem.*, **181**, 719 (1949).
400. Vigneaud V., du, Ressler C., Swan J. M., Roberts C. W., Katsoyannis P. G., Gordon S., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4879 (1953).
401. Vigneaud V., du, Lawler H. C., Popenoe E. A., jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4880 (1953).
402. Vigneaud V., du, Ressler C., Swan J. M., Roberts C. W., Katsoyannis P. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3115 (1954).
403. Tuppy H., *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 449 (1953).
404. Tuppy H., Michel H., *Monatsh.*, **84**, 1011 (1953).
405. Stoll A., *Experientia*, **1**, 250 (1945).
406. Stoll A., Hofmann A., *Helv. Chim. Acta.*, **33**, 1705 (1950).
407. Stoll A., Petrzilka T., Becker B., *Helv. Chim. Acta*, **33**, 57 (1950).
408. Plattner P. A., Clauson-Kaas N., *Helv. Chim. Acta*, **28**, 188 (1944).
409. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **176**, 1291 (1948).
410. Wieland T., *Angew. Chem.*, **61**, 452 (1949).
411. Woolley D. W., *J. Exptl. Med.*, **73**, 487 (1941).
412. Sprince H., Woolley D. W., *J. Exptl. Med.*, **80**, 213 (1944); *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 1734 (1945).
413. Wright L. D., Fruton J. S., Valentik K. A., Skeggs H. R., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **74**, 687 (1950).
414. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **162**, 383 (1946).
415. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **176**, 1291 (1948).
416. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **176**, 1299 (1948).
417. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **171**, 443 (1947).
418. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **166**, 783 (1946); **172**, 71 (1948).
419. Merrifield R. B., Woolley D. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 358 (1956).
420. Duggar B. M., Singleton V. L., *Ann. Rev. Biochem.*, **22**, 459 (1953).
421. Chain E., *Ann. Rev. Biochem.*, **17**, 657 (1948).
422. Carrara G., Weitnauer G., *Gazz. chim. ital.*, **79**, 856 (1949).
423. Lewis J. C., Snell N. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 4812 (1951).
424. Craig L. C., Weisiger J. R., Hausmann W., Harfenist E. J., *J. Biol. Chem.*, **199**, 259 (1952).
425. Battersby A. R., Craig L. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 4019, 4023 (1952).
426. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 853—1000 (1949).
427. Virtanen A. I., Berg A., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1089 (1954).
428. Schilling E. D., Strong F. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2843 (1955).
429. McKay G. F., Lalich J. J., Schilling E. D., Strong F. M., *Arch. Biochem. Biophys.*, **52**, 313 (1954).
430. Cartwright N. J., *Biochem. J.*, **60**, 238 (1955).
431. Syngge R. M. L., *Quart. Revs. (London)*, **3**, 245 (1949).
432. Bricas E., Fromageot C., *Advances in Protein Chem.*, **8**, 1 (1953).
433. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **174**, 1041 (1948).

434. Northrop J. H., Kunitz M., Herriott R. M., "Crystalline Enzymes" Columbia U. P., New York, 1948.
435. Watson D. W., Bloom W. L., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **81**, 29 (1952).
436. Strange R. E., Powell J. F., Biochem. J., **58**, 80 (1954).
437. Carter C. E., Cohen L. H., J. Am. Chem. Soc., **77**, 499 (1955).
438. Potter J. L., Dounce A. L., Federation Proc., **15**, 329 (1956).
439. Davie E. W., Neurath H., J. Am. Chem. Soc., **74**, 6305 (1952).
440. Davie E. W., Neurath H., Biochim. et Biophys. Acta, **11**, 442 (1953).
441. Lorand L., Middlebrook W. R., Biochim. et Biophys. Acta, **9**, 581 (1952).
442. Linderstrøm-Lang K., Ottesen M., Compt. rend. trav. lab. Carlsberg Sér. chim., **26**, 403 (1949).
443. Ottesen M., Wollenberger A., Compt. rend. trav. lab. Carlsberg Sér. chim., **28**, 463 (1953).
444. Birkinshaw J. H., Raistrick H., Smith G., Biochem. J., **36**, 829 (1942).
445. Wolf D. E., Valiant J., Peck R. L., Folkers K., J. Am. Chem. Soc., **74**, 2002 (1952).
446. Pasteur L., Ann., **80**, 146 (1851).
447. Pasteur L., Ann., **82**, 324 (1852).
448. Dessaignes V., Compt. rend., **30**, 324, **31**, 432 (1950).
449. Schulze E., Z. physiol. Chem., **9**, 63 (1885).
450. Schulze E., Bosshard E., Z. physiol. Chem., **10**, 134 (1886).
451. Pasteur L., Compt. rend., **46**, 615 (1858).
452. Pasteur L., Compt. rend., **51**, 298 (1860).
453. Fischer E., Raske K., Ber., **40**, 3717 (1907), **41**, 893 (1908).
454. Neuberger A., Advances in Protein Chem., **4**, 298 (1948).
455. Biochem. J., **42**, 1 (1947).
456. Vickery H. B., J. Biol. Chem., **169**, 237 (1947).
457. Brewster P., Hughes E. D., Ingold C. K., Rao P. A. D. S., Nature, **166**, 178 (1950).
458. Wohl A., Schellenberg R., Ber., **55B**, 1404 (1922).
459. Freudenberg K., Ber., **47**, 2027 (1914).
460. Cowdrey W. A., Hughes E. D., Ingold C. K., J. Chem. Soc., 1252 (1937).
461. Bijvoet J. M., Peerdeman A. F., Bommel A. J., van, Nature, **168**, 271 (1951).
462. Wood W. W., Fickett W., Kirkwood J. G., J. Chem. Phys., **20**, 561 (1952).
463. Rabinovitz M., Olson M. E., Greenberg D. M., J. Am. Chem. Soc., **77**, 3109 (1955).
464. Stallberg-Stenhagen S., Stenhagen E., Arkiv Kemi Mineral Geol., **24B**, No. 9, 1 (1947).
465. Trommel J., Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. Proc. Ser., **B56**, 272 (1953), **57**, 364 (1954).
466. Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., **77**, 3106 (1955).
467. Meyer C. E., Rose W. C., J. Biol. Chem., **115**, 721 (1936).
468. Kaneko T., J. Chem. Soc. Japan, **61**, 207 (1940).
469. Neuberger A., J. Chem. Soc., 429 (1945).
470. Hudson C. S., Neuberger A., J. Org. Chem., **15**, 24 (1950).
471. Hollander L., Vigneaud V., du, J. Biol. Chem., **94**, 243 (1930).
472. Loring H. S., Vigneaud V., du, J. Biol. Chem., **102**, 287 (1933), **107**, 267 (1934).
473. Weiss S., Stekol J. A., J. Am. Chem. Soc., **73**, 2497 (1951).

474. Anslow W. P., jr, Simmonds S., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **166**, 35 (1946).
475. Hoare D. S., Work E., *Biochem. J.*, **60**, ii (1955).
476. Work E., Birnbaum S. M., Winitz M., Greenstein J. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 1916 (1955).
477. Carter H. E., Loo Y. H., Rothrock J. W., *J. Biol. Chem.*, **178**, 325 (1949).
478. Harington C. R., Randall S. S., *Biochem. J.*, **25**, 1917 (1931).
479. Leanza W. J., Pfister K., III, *J. Biol. Chem.*, **201**, 377 (1953).
480. Umbreit W. W., Heneage P., *J. Biol. Chem.*, **201**, 15 (1953).
481. Greenstein J. P., Izumiya N., Winitz M., Birnbaum S. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 707 (1955).
482. Meister A., Baker C. G., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **31**, 460 (1951).
483. Gawron O., Gland A. J., III, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 6638 (1955).
484. Fones W. S., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **36**, 486 (1952), *J. Org. Chem.* **17**, 1534 (1952).
485. Shaw K. N. F., Fox S. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 3417, 3421 (1953).
486. Bergmann E. D., Geras M., Bendas H., *J. Chem. Soc.*, 2673 (1951).
487. Bolhofer W. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 5459 (1952).
488. Klebs E., *Z. physiol. Chem.*, **19**, 301 (1894).
489. Fischer E., *Ber.*, **34**, 2900 (1901).
490. Sörenson S. P. L., Anderson A. C., *Z. physiol. Chem.*, **56**, 250 (1908).
491. Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 716 (1955).
492. Lavine T. F., *Biol. Chem.*, **169**, 477 (1947).
493. Schwartz P., Carter H. E., *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, **40**, 499 (1954).
494. Carter H. E., in "Outline of the Amino Acids and Proteins" (Sahyun, ed.), p. 94. Reinhold, New York, 1944.
495. Calvery H. O., in «Chemistry of the Amino Acids and Proteins» (Schmidt, ed.), p. 123. Thomas Springfield, Illinois, 1938.
496. Dunn M. S., Rockland L. B., in "Amino Acids and Proteins" (Greenberg, ed.), p. 213. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.
497. Archer S., Reid J. C., Tolbert B. M., in «Amino Acids and Proteins» (Greenberg, ed.), p. 115. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.
498. Ehrlich F., *Biochem. Z.*, **1**, 8 (1906), **63**, 379 (1914).
499. Ehrlich F., *Z. physiol. Chem.*, **181**, 140 (1929).
500. Ehrlich F., Wendel A., *Biochem. Z.*, **8**, 399, 438 (1908).
501. Wohlgemuth J., *Ber.*, **38**, 2064 (1905).
502. Abderhalden E., Weil A., *Z. physiol. Chem.*, **77**, 435 (1912).
503. Koyokowa M., *Z. physiol. Chem.*, **214**, 38 (1933).
504. Riesser O., *Z. physiol. Chem.*, **49**, 210 (1906).
505. Stumpf P. K., Green D. E., *J. Biol. Chem.*, **153**, 387 (1944).
506. Behrens O. K., *J. Biol. Chem.*, **141**, 465 (1941).
507. Duschinsky R., Jeanneret J., *Compt. rend.*, **208**, 1359 (1939).
508. Stetten M. R., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **153**, 113 (1944).
509. Neuberger A., Sanger F., *Biochem. J.*, **38**, 125 (1944).
510. Camien M. N., McClure L. E., Dunn M. S., *Arch. Biochem.*, **28**, 220 (1950).
511. Weinhouse S., Millington R. H., *J. Biol. Chem.*, **175**, 995 (1948).
512. Wood J. L., Gutmann H. R., *J. Biol. Chem.*, **179**, 535 (1949).
513. Fischer E., *Ber.*, **32**, 2451, 3638 (1899); **33**, 2370 (1900); **39**, 530, 2390, 2942 (1906); **42**, 2889 (1909).
514. Fischer E., Mouneyrat A., *Ber.*, **33**, 2383 (1900).

515. Fischer E., Schoeller W., *Ann.*, **357**, 1 (1907).
516. Dunn M. S., Rockland L. B., *Advances in Protein Chem.*, **3**, 295 (1947).
517. Bergmann M., Fraenkel-Conrat H., *J. Biol. Chem.*, **119**, 707 (1937); **124**, 1 (1938).
518. Bergmann M., Fruton J. S., *J. Biol. Chem.*, **124**, 321 (1938).
519. Fruton J. S., Irving G. W., jr., Bergmann M., *J. Biol. Chem.*, **133**, 703 (1940).
520. Behrens O. K., Doherty D. G., Bergmann M., *J. Biol. Chem.*, **136**, 61 (1940).
521. Niemann C., Rapport M. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **68**, 1671 (1946).
522. Doherty D. G., Popenoe E. A., jr., *J. Biol. Chem.*, **189**, 447 (1951).
523. Warburg O., *Z. physiol. Chem.*, **48**, 205 (1906).
524. Brenner M., Köcher V., *Helv. Chim. Acta*, **32**, 333 (1949).
525. Brenner M., Sailer E., Köcher V., *Helv. Chim. Acta*, **31**, 1908 (1948).
526. Wretling K. A. J., *Acta Chem. Scand.*, **6**, 611 (1952).
527. Wretling K. A. J., *J. Biol. Chem.*, **186**, 221 (1950).
528. Wretling K. A. J., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **187**, 697 (1950).
529. Brenner M., Müller H. R., Pfister R. W., *Helv. Chim. Acta*, **33**, 568 (1950).
530. Smorodinzev I. A., *Z. physiol. Chem.*, **124**, 123 (1922).
531. Neberg C., Linhardt K., *Biochem. Z.*, **147**, 372 (1924).
532. Fodor P. J., Price V. E., Greenstein J. P., *J. Biol. Chem.*, **178**, 503 (1949).
533. Neberg C., Mandl I., *Enzymologia*, **14**, 128 (1950).
534. Birnbaum S. M., Levintow L., Kingsley R. B., Greenstein J. P., *J. Biol. Chem.*, **194**, 455 (1952).
535. Greenstein J. P., Levintow L., Baker C. G., White J., *J. Biol. Chem.*, **188**, 647 (1951).
536. Baker C. G., Sober H. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4058 (1953).
537. Fones W. S., *J. Biol. Chem.*, **204**, 323 (1953).
538. Fones W. S., Lee M., *J. Biol. Chem.*, **210**, 227 (1954).
539. Mason M., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **195**, 515 (1952).
540. Dalgliesh C. E., *J. Chem. Soc.*, 1952, 137, 394G.
541. Berlingozzi S., Serchi G., Adembri G., *Sperimentale Sez. chim. biol.*, **2**, 89 (1951).
542. Kotake M., Sakan T., Nakamura N., Senoh S., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 2973 (1951).
543. Rhuland L. E., Work E., Denman R. F., Hoare D. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4844 (1955).
544. Meister A., Levintow L., Kingsley R. B., Greenstein J. P., *J. Biol. Chem.*, **192**, 535 (1951).
545. Berg C. P., *Physiol. Revs.*, **33**, 145 (1953).
546. Meister A., in "Methods in Enzymology" (Colowick and Kaplan, eds.), vol. 2, p. 380. Academic Press, New York, 1955.
547. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **197**, 309 (1952).
548. Stumpf P. K., Green D. E., *J. Biol. Chem.*, **153**, 387 (1944).
549. Schneider F., Reinefeld E., *Biochem. Z.*, **318**, 507 (1948).
550. Meister A., Fraser P. E., Tice S. V., *J. Biol. Chem.*, **206**, 561 (1954).
551. Krebs H. A., *Enzymologia*, **7**, 53 (1939).
552. Blanchard M., Green D. E., Nocito V., Ratner S., *J. Biol. Chem.*, **155**, 421 (1944).
553. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **206**, 579 (1954).
554. Fones W. S., *J. Org. Chem.*, **17**, 1534 (1952).

555. Sprinson D. B., Chargaff E., *J. Biol. Chem.*, **164**, 417 (1947).
556. Meister A., Abendschein P. A., *Anal. Chem.*, **28**, 171 (1956).
557. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **184**, 117 (1950).
558. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **190**, 269 (1951).
559. Meister A., White J., *J. Biol. Chem.*, **191**, 211 (1951).
560. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **195**, 813 (1952).
561. Wohl A., Claussner P., *Ber.*, **40**, 2308 (1907).
562. Gault H., Weicke R., *Bull. soc. chim. France* [4], **31**, 867 (1922).
563. Towers G. H. N., Thompson J. F., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2392 (1954).
564. Ramachandran K., Walker T. K., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **35**, 195 (1952).
565. Fowden L., Webb J. A., *Biochem. J.*, **59**, 228 (1955).
566. Virtanen A. I., Alfthan M., *Acta Chem. Scand.*, **9**, 188 (1955).
567. Kulonen E., *Scand. J. Clin. and Lab. Invest.*, **5**, 72 (1953).
568. Fromageot C., Desnuelle P., *Biochem. Z.*, **279**, 174 (1935).
569. Krebs H. A., Johnson W. A., *Enzymologia*, **4**, 148 (1937).
570. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **200**, 571 (1953).
571. Underwood G. E., Deatherage F. E., *Science*, **115**, 2978 (1952).
572. Whitaker J. R., Deatherage F. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 3360, 5298 (1955).
573. Brand E., Edsall J. T., *Ann. Rev. Biochem.*, **16**, 223 (1947).
574. Stewart J. M., Woolley D. W., *Abstr. Am. Chem. Soc. Meeting, Atlantic City, Paper No. 39*, 1956.
575. Thompson J. F., Morris C. J., Zacharius R. M., *Nature*, **178**, 593 (1956).
576. Perry J. J., Poster J. W., *J. Bacteriol.*, **72**, 295 (1956).
577. Bonetti E., Dent C. E., *Biochem. J.*, **57**, 77 (1954).
578. Auclair J. L., Patton R. L., *Rev. can. biol.*, **9**, 3 (1950).
579. Vigneaud V., *du, Science*, **123**, 967 (1956).
580. Bartlett M. F., Jöhl A., Roeske R., Stedman R. J., Stewart F. H. C., Ward D. N., Vigneaud V., *du, J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2905 (1956).
581. Skeggs L. T., jr., Lentz K. E., Kahn J. R., Shumway N. P., Woods K. R., *J. Exptl. Med.*, **104**, 183, 193 (1956).
582. Li C. H., Geschwind I. I., Dixon J. S., Levy A. L., Harris J. I., *J. Biol. Chem.*, **213**, 171 (1955).
583. Bromer W. W., *Abstr. Am. Chem. Soc. Meeting Atlantic City, Paper No. 2N*, 1956.
584. Robinson F. A., *J. Pharm. Pharmacol.*, **8**, 297 (1956).
585. Greenstein J. P., *Advances in Protein Chem.*, **9**, 121 (1954).
586. Witkop B., *Special publication Chem. Soc. (London)*, No. 3, p. 60 (1955).
587. Witkop B., Beiler T., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2882 (1956).
588. Witkop B., *Experientia*, **12**, 372 (1956).
589. Sprinson D. B., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 608. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
590. Weichert R., *Acta Chem. Scand.*, **9**, 547 (1955).
591. Closs K., Haug C. M., *Chemistry and Industry* p. 103 (1953).

Глава II

РОЛЬ АМИНОКИСЛОТ В ПИТАНИИ

«Вопрос о синтезе белка в организме животных из простых «кирпичей» (Bausteine) можно было бы решить однозначно, если бы удалось добиться быстрого увеличения веса и, следовательно, общего количества тканей у растущих животных путем скармливания им продуктов переваривания белка. Постановка такого опыта встречает ряд затруднений, и лишь на основе широких исследований в этой области возможно получить убедительные доказательства». Абдергальден и Оплер (1907).

«Современное развитие исследований в области химии питания выявило решающее значение аминокислот во всех вопросах, которые до сих пор связывали с функциями белков. Попытки полностью заменить белок в питании продуктами его полного гидролиза, так называемыми аминокислотными «кирпичами» (Bausteine), были весьма успешными и привели к многообещающим исследованиям, посвященным судьбе фрагментов пищевого белка по ту сторону пищеварительного барьера в кровяном русле, в тканях, и едва ли не до стадии их превращения в конечные продукты распада. Вопрос о синтезе белка перешел в настоящее время в проблему биохимического поведения аминокислот». Осборн и Мендель (1914).

«Следует ли считать на основании их широкого распространения в животных клетках, что все они (аминокислоты) должны доставляться с пищей в готовом виде? Если нет, то какие из них незаменимы и какие заменимы в том смысле, что они могут синтезироваться *de novo* в организме?» Роуз (1938).

ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Давно уже установлено, что белки необходимы для питания животных и что некоторые из белков по сравнению с другими лучше поддерживают рост. В общем можно считать, что биологическая ценность белка определяется его аминокислотным составом. Этот вывод базируется на том, что введенные с пищей белки подвергаются в желудочно-кишечном тракте гидролизу на отдельные аминокислоты, которые затем всасываются из кишечника. Таким образом, используются не сами белки, а аминокислоты, входящие в состав белков и освобождаемые при их гидролизе. Хотя это представление можно считать в основном правильным, оно требует некоторых уточнений. Так, до сих пор не доказано, что все белки полностью подвергаются гидролизу в пищеварительном тракте; не исключена возможность, что

в кишечнике могут всасываться и некоторые пептиды. Имеются также данные о том, что для оптимального роста животных требуется одновременное поступление многих аминокислот.

Первые данные о потребности крыс в аминокислотах были получены путем добавления кристаллических аминокислот к пищевым белкам с известным содержанием аминокислот. Путем подобных исследований было установлено, что некоторые из аминокислот — так называемые «незаменимые» аминокислоты — должны входить в состав пищи, тогда как другие — «заменимые» аминокислоты — синтезируются в организме. В результате дальнейших исследований представления о «заменимых» и «незаменимых» аминокислотах подверглись значительным изменениям. В настоящее время известно, что данная аминокислота может оказаться «заменимой» или «незаменимой» в зависимости от используемого критерия (например, рост, сохранение азотистого равновесия), от наличия в рационе других пищевых факторов (например, витаминов), от возраста животных и наличия особых физиологических или патологических состояний. Следует отметить, что животные могут, даже убывая в весе, сохранять азотистое равновесие.

Накоплено много данных о потребностях в отдельных аминокислотах у различных лабораторных животных, в том числе у крысы, собаки, мыши, а также у цыплят и у животных некоторых низших видов. В последнее время соответствующие сведения получены и относительно взрослых людей. Кроме того, много внимания уделялось изучению роли аминокислот в питании микроорганизмов; работы по этому вопросу привели к разработке ценных микробиологических методов определения аминокислот. Исследования, посвященные роли аминокислот в питании, способствовали не только решению практических задач, но и выяснению ряда явлений, связанных с процессами обмена веществ. Заслуживает внимания, что прямым результатом исследований по вопросам питания явилось открытие двух аминокислот — метионина и треонина.

ПОТРЕБНОСТЬ В АМИНОКИСЛОТАХ У ВЫСШИХ ЖИВОТНЫХ

Более 40 лет назад Осборн и Мендель [1] установили, что триптофан и лизин являются пищевыми факторами, необходимыми для роста крыс. Эти классические исследования, в которых были использованы рационы из очищенных белков, послужили толчком для дальнейших работ, показавших насущную

роль гистидина [2] и цистина [3]. После открытия в 1935 г. треонина [4] появилась возможность применять рационы, содержащие вместо белков смеси аминокислот. Роуз и его сотрудники [5] установили путем последовательного исключения аминокислот из рациона поодиночке, что для роста молодых крыс незаменимыми являются 10 аминокислот. В табл. 10 приведены данные о потребности в аминокислотах у 9 видов животных. Эти данные интересны во многих отношениях. Аланин, аспарагиновая кислота, оксипролин и серин не являются незаменимыми ни для одного из видов высших животных, из чего можно заключить, что они синтезируются в организме. Аргинин не необходим для сохранения азотистого равновесия у взрослых людей, собаки, крысы и мыши. У молодых крыс аргинин необходим для оптимального роста, хотя некоторый рост наблюдается и на рационах, лишенных этой аминокислоты [19]. В противоположность крысам цыплята не могут синтезировать аргинин [20]. Аргинин удается заменить в питании молодых цыплят цитруллином, но не орнитином [21]. Для обеспечения оптимального роста цыплят необходимы также глицин, глутаминовая кислота и пролин.

Гистидин необходим для роста крысы, собаки, мыши и цыпленка. Он нужен, по-видимому, и для сохранения азотистого равновесия у взрослых крыс [22, 23], хотя более ранние исследования указывали на его заменимость [24]. Для сохранения азотистого равновесия у человека гистидин не нужен [12].

Восемь аминокислот (лизин, треонин, триптофан, метионин, фенилаланин, лейцин, валин и изолейцин) необходимы для всех исследованных видов животных (см. табл. 10). Исследования в области питания во многом способствовали выяснению путей обмена этих аминокислот. Ряд примеров будет приведен здесь и в гл. IV.

Фенилаланин незаменим для крыс и цыплят, но необходимое количество его в рационе может быть значительно снижено за счет добавления к рациону тирозина [25, 26]. Сберегающее действие тирозина связано с установленным в ряде других исследований превращением фенилаланина в тирозин (стр. 417). Обратная реакция, т. е. образование фенилаланина из тирозина, у высших животных, по-видимому, не происходит [27], вследствие чего тирозин не может полностью заместить фенилаланин в питании.

Потребность крыс в метионине может быть покрыта за счет приема с пищей гомоцистина при условии введения в рацион донаторов «лабильных» метильных групп или достаточного количества фолевой кислоты и витамина В₁₂ [28, 29]. Цистин оказывает «сберегающее» влияние на потребность в метионине [30—

Таблица 10

Потребность в аминокислотах у животных различных видов *

Аминокислоты	Крыса [5]	Собака [6]	Мышь [7-9]	Цыпленок [10, 11]	Человек [12]	<i>Trichomonas foetus</i> [13]	<i>Tetrahymena geleii</i> [14-16]	<i>Tribolium confusum</i> [17]	<i>Aedes aegypti</i> [18]
Аланин	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Аргинин	+	—	—	+	—	+	+	+	+
Аспарагиновая кислота	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Валин	+	+	+	+	+	+	+	+	?
Гистидин	+	+	+	+	—	+	+	+	+
Глицин	—	—	—	(+)	—	+	—	—	+
Глутаминовая кислота	—	—	—	(+)	—	—	—	—	—
Изолейцин	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Лейцин	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Лизин	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Метионин*	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Оксипролин	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Пролин	—	—	—	(+)	—	+	—	—	—
Серин	—	—	—	—	—	+	+	—	—
Тирозин	—	—	—	(+)	—	—	—	—	+
Треонин	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Триптофан	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Фенилаланин	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Цистин	—	—	—	(+)	—	—	—	—	—

* + незаменима; — заменима; (+) необходима в определенных условиях. У всех животных, кроме человека, критерием служит рост; у человека критерием служит обеспечение азотистого равновесия.

** Потребность в серине зависит от штамма.

*** Необходимо одновременное наличие тирозина и фенилаланина (см. стр. 133).

32]. L-Цистатионин может заменять в питании цистин, а L-аллоцистатионин, превращающийся в организме в гомоцистеин, поддерживает рост в тех же условиях, что и гомоцистеин [33]. Эти факты вполне понятны в свете имеющихся данных об обмене упомянутых аминокислот (стр. 367).

При помощи опытов по кормлению животных были выяснены взаимосвязи аргинина, пролина и глутаминовой кислоты в обмене веществ. Глутаминовая кислота или пролин могут частично замещать аргинин как фактор, повышающий скорость роста молодых крыс [32].

В исследованиях по аминокислотному питанию обычно пренебрегали значением кишечной флоры. Бактерии кишечника играют заметную роль в синтезе витаминов, однако не доказано, что они выполняют такую же функцию в отношении аминокислот. Исследования, проведенные с применением антибактериальных средств, не показали сколько-нибудь заметного влияния этих соединений [34—36]. Четкий ответ на этот вопрос можно было бы получить в опытах, проводимых в условиях полной стерильности животных (ср. [29]). Использование аминокислот при их парентеральном введении установлено как у лабораторных животных, так и у человека. Возможно, что бактерии кишечника в какой-то мере разрушают принятые с пищей аминокислоты и другие азотистые соединения (см., например, данные о роли бактериальной уреазы, стр. 173), однако до сих пор не получено данных о сколько-нибудь значительной роли синтеза аминокислот бактериями в питании животных. Полагают, что образование значительных количеств аминокислот при самопереваривании протеолитических ферментов в желудочно-кишечном тракте может играть некоторую роль, обеспечивая наличие в кишечнике смеси аминокислот относительно постоянного состава [290]. Такую же роль, очевидно, может играть действие пищеварительных ферментов на бактериальную флору.

Роуз и его сотрудники [12, 37—52] исследовали количественно потребность в аминокислотах для сохранения азотистого равновесия у здоровых взрослых мужчин. Испытуемые получали рацион, состоявший из чистых аминокислот, мансового крахмала, сахара, коровьего и кукурузного масла, рыбьего жира, неорганических солей, центрифугированного лимонного сока, муки и витаминов. В этом рационе на аминокислоты приходилось 95% общего количества азота, главным источником остального азота служили примеси в препарате крахмала. После установления азотистого равновесия ту или другую аминокислоту исключали из рациона, причем постоянство общего количества вводимого с пищей азота обеспечивалось увеличением количества других аминокислот. Таким путем была установлена незаменимость восьми аминокислот (см. табл. 10). Значительный интерес представляет установление того факта, что гистидин не является необходимым для обеспечения азотистого равновесия у человека. Отсюда можно заключить, что обмен гистидина у крысы (и у других животных) существенным образом отличается от его обмена у человека. Олбениз и сотрудники [53] нашли, что азотистое равновесие у людей может быть сохранено без введения гистидина, однако испытуемые в этих условиях теряют в весе; Роуз и сотрудники [42] не наблюдали у испытуемых потери веса при условии введения с пищей большего количества калорий.

Следует также иметь в виду, что гистидин может образоваться в известных условиях при распаде гемоглобина [55]. Известно, что гистидин играет большую роль в регенерации гемоглобина у крыс, подвергнутых кровопусканию [54]. В кратковременных опытах на крысах, не получавших с пищей гистидина, сохранению азотистого равновесия сопутствовал распад гемоглобина [55].

Используя описанный выше метод, Роуз и сотрудники [43—52] определили количества аминокислот, необходимые для сохранения азотистого равновесия у молодых взрослых мужчин. В состав рациона в качестве добавочных источников азота включали глицин, мочевину или оба этих соединения; с целью повысить калорийность рациона до 55 кал на 1 кг веса тела добавляли сливочное масло и сахар. Этим способом были получены данные, приведенные в табл. 11. Число обследованных людей было сравнительно невелико (все они были примерно одного возраста), и впредь до проведения более широких исследований полученные данные нужно рассматривать как предварительные. Следует также отметить, что опытный рацион давали в течение сравнительно короткого срока и что единственным критерием при этом служило сохранение азотистого равновесия.

Таблица 11

Потребность в аминокислотах у человека [52] *

Аминокислота	Число количественных опытов	Экспериментально установленные пределы потребности, г в день	Количество, условно принятое за минимальное, г в день	«Безусловно достаточное» количество, г в день	Число людей, сохранявших азотистое равновесие при приеме «достаточных» или меньших количеств аминокислот
L-Триптофан . . .	3	0,15—0,25	0,25	0,50	42
L-Фенилаланин . .	6	0,80—1,10	1,10	2,20	32
L-Лизин	6	0,40—0,80	0,80	1,60	37
L-Треонин	3	0,30—0,50	0,50	1,00	29
L-Валин	5	0,40—0,80	0,80	1,60	33
L-Метионин	6	0,80—1,10	1,10	2,20	23
L-Лейцин	5	0,50—1,10	1,10	2,20	18
L-Изолейцин . . .	4	0,65—0,70	0,70	1,40	17

* Все величины определены при использовании рационов, содержащих 8 незаменимых аминокислот и добавочный азот в количестве, достаточном для синтеза заменимых аминокислот.

Роуз и сотрудники нашли, что установленная ими минимальная потребность в L-метионине может быть покрыта на 80—89% введением в рацион L-цистина и что 70—75% потребного L-фенилаланина удастся заменить L-тирозином. Сберегающее влияние тирозина и цистина на потребность в фенилаланине и соответственно метионине было несколько большим, чем в аналогичных опытах на крысах. Наконец, Роуз и сотрудники [51] в своих исследованиях установили, что количество вводимого с пищей азота, необходимое для синтеза заменимых аминокислот, не превышает 2,55 г в день.

Потребности в аминокислотах у младенцев были изучены Олбенизом [20]. О потребности в определенной аминокислоте судили по тому, какое количество ее необходимо для обеспечения нормального прироста веса и усвоения азота у ребенка, получавшего ранее недостаточное питание. Эти исследования показали, что гистидин и аргинин, по-видимому, не существенны для питания младенцев мужского пола, что незаменимыми являются те восемь аминокислот, которые незаменимы в питании взрослых людей, и что в известных условиях проявляется потребность в цистине и тирозине. Данные о потребности в аминокислотах у младенцев и у взрослых сопоставлены в табл. 12. Хотя эти данные носят предварительный характер и требуют дальнейшего подтверждения, интересно отметить, что младенцы нуждаются в относительно больших количествах лизина, треонина и валина, чем взрослые. Весьма любопытно, что относительная потребность в изолейцине у взрослых и у младенцев почти одинакова, тогда как потребность в лейцине у последних значительно выше.

Есть основание думать, что потребности организма в аминокислотах должны в количественном отношении соответствовать аминокислотному составу синтезируемых белков. Так, например, отмечено близкое соответствие между потребностями в аминокислотах у крыс и цыплят и соотношением аминокислот в основных тканях тела этих животных [56—61]. Эти данные говорят о том, что совокупность механизмов синтеза белка, которыми располагает организм, обеспечивает эффективное использование имеющихся аминокислот. Изменения содержания аминокислот в пище не отражаются на аминокислотном составе белков тела крысы и цыпленка. Если аминокислоты вводятся с пищей в количестве, близком тому, которое необходимо для обеспечения синтеза белка, то содержание аминокислот в крови возрастает лишь незначительно; введение аминокислот в избытке сопровождается повышением их содержания в крови [62].

Потребность в аминокислотах возрастает во время беременности и лактации, а также при некоторых заболеваниях и после

Таблица 12

Сопоставление потребностей взрослых мужчин [43—52] и младенцев [20] в отношении незаменимых аминокислот пищи

Аминокислота	Взрослые мужчины		Младенцы мужского пола	
	потребность, мг/кг	относительное значение для азотистого равновесия *	потребность, мг/кг	относительное значение для роста *
Триптофан	7,2	1,0	30	1,0
Фенилаланин	31	4,3	169	5,6
Лизин	23	3,2	170	5,6
Треонин	14	1,9	87	2,9
Валин	23	3,2	161	5,4
Метионин	31	4,3	85	2,8
Лейцин	31	4,3	425	14,0
Изолейцин	20	2,8	90	3,0

* При расчете относительного значения потребности в каждой аминокислоте для сохранения азотистого равновесия и обеспечения роста за единицу приняты величины потребности в триптофане.

травмы, так как при этом аминокислоты расходуются для добавочного синтеза клеток крови, белков молока, антител и т. д. (ср. [63]). Иногда возникает потребность в больших, чем обычно, количествах определенных аминокислот. Например, для обильного роста шерсти у овец необходимо введение с кормом относительно больших количеств серусодержащих аминокислот. При фенилпировиноградной олигофрении к рациону с низким содержанием ароматических аминокислот необходимо добавлять тирозин, в котором здоровые люди не нуждаются; поэтому тирозин следует считать незаменимой аминокислотой при этом заболевании (стр. 474).

ИССЛЕДОВАНИЕ РОСТА ЖИВОТНЫХ ПРИ КОРМЛЕНИИ ИХ СМЕСЯМИ АМИНОКИСЛОТ

Молодые крысы могут расти на рационе со смесью из 10 незаменимых аминокислот; однако установлено, что на рационе, включающем 19 аминокислот, интенсивность их роста увеличивается примерно на 25% [32]. Всю группу заменимых аминокислот можно заместить эквивалентным в расчете на азот количеством лимоннокислого или уксуснокислого аммония [64, 65], а также мочевиной (частично). Шёнхаймер [66] и

Блох [67] установили, что лишь очень небольшое количество азота мочевины, введенной с пищей, включается в аммиак мочи и в белки. Однако в опытах с C^{14} -мочевиной было найдено, что мочевина быстро превращается в углекислоту [68, 69]. Расщепление мочевины до углекислоты и аммиака катализируется бактериями, присутствующими в желудке, кишечнике и других частях тела (например, в верхних дыхательных путях) [69]. Добавление заменимых аминокислот, ионов аммония или мочевины к рациону, состоящему из 10 незаменимых аминокислот, дает лучший эффект, чем повышение количества самих незаменимых аминокислот. Из этого можно заключить, что незаменимые аминокислоты в общем медленнее превращаются в продукты обмена, необходимые для роста [70]; следовательно, возможны такие экспериментальные условия, при которых ионы аммония будут оказывать более благоприятное влияние на рост, чем смесь незаменимых аминокислот. Как упомянуто выше, некоторые аминокислоты, необходимые для обеспечения роста и азотистого равновесия, могут быть частично замещены заменимыми аминокислотами. Так, у молодых крыс цистин может покрывать от $\frac{1}{6}$ до $\frac{1}{3}$ потребности в метионине [30, 31], а тирозин может восполнить около половины потребности в фенилаланине [32]. Возможность замены метионина гомоцистеином зависит от наличия в пище витамина B_{12} и фолевой кислоты или донаторов метильных групп. Возможно, что будут найдены такие условия, при которых рост будет поддерживаться и в отсутствие некоторых других «незаменимых» аминокислот. Результаты исследований, в которых определялись рост и азотистое равновесие, свидетельствуют лишь о том, что *данные функции* не обеспечиваются процессами синтеза *in vivo*.

Возможно, что животные в какой-то мере обладают способностью синтезировать незаменимые аминокислоты. При инкубировании препаратов мозга однодневной мыши в присутствии равномерно меченой C^{14} -глюкозы изотопная метка была найдена почти во всех аминокислотах (в том числе и в незаменимых), за исключением пролина и треонина. Исследование скоростей оборота показало, что от 5 до 12% аминокислот в белках мозга были замещены с использованием углерода глюкозы. В аналогичных опытах с тканями печени и кишечника включения изотопа не наблюдали; оно не было обнаружено и в опытах с мозгом более взрослых животных. Едва ли молекулы незаменимых аминокислот могут целиком синтезироваться в мозге однодневного животного; в эксперименте около 50% радиоактивности было найдено в α -карбоксильных группах аминокислот. Тем не менее эти данные представляют определенный инте-

рес и указывают на наличие в обмене веществ таких явлений, которые заслуживают дальнейшего изучения [71—74]. Исследования со смесями аминокислот показали также, что для оптимального использования незаменимых аминокислот все они должны быть налицо одновременно [22, 75, 76]. Кэннон и его сотрудники [77] нашли, что при чередующемся кормлении животных двумя рационами, содержащими по пять различных незаменимых аминокислот, использование аминокислот нарушается. Отдельная аминокислота, введенная парэнтерально, используется лишь в том случае, если она введена не позднее, чем через несколько часов после кормления животного [20]. Необходимость одновременной доставки всех незаменимых аминокислот указывает на то, что аминокислоты не могут накапливаться в организме в сколько-нибудь значительном количестве; они удаляются из организма в результате процессов распада и путем экскреции. Введение неполноценных смесей аминокислот или белков сопровождается повышенным выделением аминокислот с мочой. Из этого следует, что биологическая ценность белка зависит в известной мере от скорости, с которой отдельные аминокислоты освобождаются при его переваривании. Наличие заменимых аминокислот также имеет известное значение, поэтому присутствие их в пище или скорость, с которой они синтезируются из жиров, углеводов или незаменимых аминокислот, весьма существенны.

Уже давно известно, что животные могут находиться в состоянии азотистого равновесия в условиях, когда имеет место потеря углерода организмом. Установлено также, что углеводы и жиры оказывают по отношению к белку сберегающее влияние, по-видимому выполняя роль источников углеродных цепей для синтеза некоторых заменимых аминокислот. Исследования Роуза и его сотрудников, посвященные потребности человека в аминокислотах, показали, что для сохранения азотистого равновесия у людей, получающих смесь аминокислот, необходима доставка относительно большого количества калорий. На трех испытуемых было установлено, что в том случае, когда источником азота в питании служил казеин, сохранение азотистого равновесия обеспечивалось рационом, доставляющим 35 кал на 1 кг веса тела. При использовании же эквивалентной казеину смеси аминокислот для сохранения азотистого равновесия требовалось 45,5 кал на 1 кг. В настоящее время эти данные объяснить довольно трудно. Превосходство казеина в сравнении с эквивалентной смесью аминокислот, быть может, зависит от темпов всасывания аминокислот. Очевидно, свободные аминокислоты смесей всасываются быстрее, чем аминокислоты белка, а быстрая доставка аминокислот, возможно, менее благоприятна для

организма. Тем не менее трудно понять, почему введение повышенного количества калорий помогает преодолеть это затруднение. Следует также учитывать возможность непосредственного всасывания и использования белка или пептидов [78—83]. Некоторые безазотистые компоненты пищи могут каким-то образом благоприятствовать использованию аминокислот в организме.

ПРОЯВЛЕНИЯ НЕДОСТАТОЧНОСТИ АМИНОКИСЛОТ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Исключение из пищи всех аминокислот приводит к обеднению всего организма белком, что сопровождается потерей веса, анемией, гипопроотеинемией и общей атрофией мышц. При этом организм становится более восприимчивым к инфекциям и хуже переносит травмы и заболевания (ср. [84]). С появлением очищенных рационов из аминокислот стало возможным исследовать изменения, возникающие при выключении одной незаменимой аминокислоты из состава рациона, полноценного в других отношениях. В опытах на животных, лишенных какой-либо одной незаменимой аминокислоты, наиболее отчетливо проявляется потеря аппетита; потребление пищи резко снижается уже после первого дня. Потерю аппетита (анорексию) и отрицательный баланс азота как немедленное следствие исключения одной аминокислоты наблюдали также при исследованиях на людях. Механизм анорексии еще не вполне ясен. Сомнительно, чтобы значительная роль здесь принадлежала вкусовым ощущениям; более вероятно, что анорексия связана с глубокими общими нарушениями в состоянии организма. Введение неполноценной смеси аминокислот через желудочный зонд в опытах на животных не способствует увеличению веса, сохранению азотистого равновесия или улучшению аппетита.

Имеются данные о том, что у крыс последствия недостаточности некоторых незаменимых аминокислот проявляются в виде характерных синдромов. Так, найдено, что недостаточность триптофана вызывает помутнения роговицы, катаракту, выпадение шерсти, анемию и поражение зубов [85, 86]. У цыплят при недостаточности триптофана возникает повышенная потребность в никотиновой кислоте; о связи между триптофаном и никотиновой кислотой речь будет ниже (стр. 397). Недостаток лизина у крыс не сопровождается специфическими изменениями; наблюдаемые при этом явления изнурения и атрофии, а также умеренную анемию приписывают общему нарушению синтеза белка [87, 88]. У человека при недостаточности лизина наблюдали повышенную чувствительность к шуму, тошноту и голово-

кружения [89]; сообщалось также о повышенном выделении с мочой органических кислот, не содержащих кетонной группы ([89], см. также [291]), однако новейшие исследования этого не подтвердили [46]. Имеются указания на снижение уровня гемоглобина при недостаточности гистидина [55], что согласуется с высоким содержанием этой аминокислоты в молекуле гемоглобина (табл. 1). Валин наряду с гистидином играет роль в регенерации гемоглобина у крыс [90]. Было найдено, что недостаток аргинина приводит у крыс к атрофии семенников [91], а у мужчин — к снижению количества сперматозоидов [92]. Эти данные находятся в соответствии с высоким содержанием аргинина в белке сперматозоидов, однако последние исследования Роуза и сотрудников [52] не подтверждают их. Отмечено, что недостаток метионина вызывает поражение печени и почек [93, 94]. Известно, что метионин и другие донаторы метильной группы обладают липотропным действием [95—97]. Феномен отложения жира в печени отражает сложный процесс и требует дальнейшего изучения; влияние метионина на этот процесс, по-видимому, связано с его способностью доставлять метильные группы [98, 99]. Ткани крыс, страдающих недостаточностью определенных аминокислот, послужили объектом интересных гистологических исследований (см., например, [292, 293]); при специфической недостаточности различных аминокислот наблюдали атрофию тканей и перерождение клеток.

Нет ничего удивительного в том, что во многих случаях экспериментальная недостаточность какой-либо одной аминокислоты не дает характерных нарушений. Дело в том, что выключение одной только аминокислоты должно отразиться на всем процессе синтеза белка. Поскольку потребность в аминокислотах у животных и у человека обычно покрывается белками, развитие явлений, связанных с недостаточностью какой-либо одной аминокислоты, маловероятно. При некоторых патологических состояниях повышается интенсивность использования определенных аминокислот, и в этих условиях развитие указанных явлений становится возможным. Например, у больных с карциноидной опухолью кишечника значительная часть пищевого триптофана может расходоваться на образования серотонина, выделяемого с мочой, что приводит к относительной недостаточности триптофана (стр. 479). При далеко зашедшей злокачественной меланоме значительное количество тирозина (и, возможно, фенилаланина) превращается в меланин; можно думать, что с таким использованием фенилаланина и тирозина связано быстрое истощение, характерное для больных, страдающих этим заболеванием.

ПОТРЕБНОСТЬ В АМИНОКИСЛОТАХ У КЛЕТОК, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЕ

До последнего времени выращивание клеток в тканевой культуре проводили на сложных средах, неопределенных по составу. Фишеру и сотрудникам [100—102] удалось показать относительную потребность миеобластов куриного эмбриона в ряде аминокислот (глутамин, аргинин, цистин, триптофан, гистидин, пролин) в качестве стимуляторов роста. Ими было также установлено, что для роста клеток млекопитающих в культуре тканей необходим глутамин [101]. Игл [103, 104] разработал метод культуры тканей, позволяющий определять потребность клеток в отдельных аминокислотах (и других соединениях). Таким образом, появилась возможность выращивать клетки млекопитающих (включая клетки карциномы человека) на средах, состоящих преимущественно из известных химических компонентов. Состав основной среды, используемой в этих исследованиях, приведен в табл. 13. Помимо перечисленных составных частей, необходимо добавлять к среде небольшое количество диализованной сыворотки крови. Но, по-видимому, сыворотка не играет здесь роли источника аминокислот. Как фибробластам мыши, так и раковым клеткам человека необходимо для роста наличие 13 L-аминокислот; соответствующие D-изомеры не активны. Одновременная потребность в цистине и метионине указывает на то, что эти

Таблица 13

Состав основной среды для выращивания клеток карциномы человека (HeLa) и фибробластов мыши [103]

L-Аминокислоты	Витамины	Соли	Другие соединения
Аргинин	Биотин	NaCl	Глюкоза
Валин	Никотинамид	KCl	Пенициллин
Гистидин	Пантотеновая кислота	NaH ₂ PO ₄	Стрептомицин
Глутамин	Пиридоксаль	NaHCO ₃	
Изолейцин	Рибофлавин	CaCl ₂	
Лейцин	Тиамин	MgCl ₂	
Лизин	Фолевая кислота		
Метионин	Холин		
Тирозин			
Треонин			
Триптофан			
Фенилаланин			
Цистин			

клетки не способны превращать метионин в цистин со скоростью, отвечающей потребностям роста. Аналогичное заключение может быть сделано в отношении превращения фенилаланина в тирозин. Потребность в глутамине представляет особый интерес, поскольку в целом организме мыши или у человека эта аминокислота не является необходимой для роста и сохранения азотистого равновесия. Для фибробластов мыши глутаминовая кислота даже при добавлении ионов аммония и аденозинтрифосфата не заменяет глутамин. Глутаминовая кислота несколько усиливает рост раковых клеток человека, но значительно слабее, чем глутамин. Очевидно, в данных условиях способность этих клеток синтезировать глутамин ограничена; в этом отношении они сходны с некоторыми микроорганизмами, которые также проявляют относительную потребность в глутамине (стр. 318). Через несколько дней после исключения из среды одной из необходимых аминокислот клетки повреждаются и вскоре погибают. При своевременном добавлении соответствующей аминокислоты рост клеток быстро возобновляется.

Клетки, выращиваемые в тканевой культуре, могут утратить способность к ряду обменных превращений. Вполне вероятно, однако, что лишь некоторые виды клеток животного организма осуществляют такие реакции, как синтез глутамин или превращение фенилаланина в тирозин. По-видимому, глутамин синтезируется в определенных клетках и переносится к другим током крови. Интересно отметить, что минимальная концентрация глутамин, необходимая для оптимального роста тканевых культур, значительно выше, чем необходимые концентрации других аминокислот. Количество глутамин в крови также значительно превосходит содержание в ней других аминокислот (табл. 3).

Эванс и сотрудники [105, 106] выращивали фибробласты мыши (линия L-929) на среде определенного химического состава, не содержащей белка. В эту среду входили 25 аминокислот (в том числе 13 аминокислот, использованных Иглом), а также ряд других соединений (например, инозит, витамин А, *n*-аминобензоат, дифосфопиридиннуклеотид, дезоксигуанозин); еще не установлено, необходимы ли все эти соединения для роста и сохранности этих клеток. Сходная среда была предложена Хили и сотрудниками [107].

ПОТРЕБНОСТЬ В АМИНОКИСЛОТАХ У НИЗШИХ ЖИВОТНЫХ

Потребность в аминокислотах была исследована лишь у немногих видов *Protozoa* и беспозвоночных; соответствующие данные приведены в табл. 10. *Trichomonas foetus* требует наличия

тех десяти аминокислот, которые незаменимы для крысы, и, кроме того, глицина, пролина и серина. Однако в этой среде максимальный рост не достигается; возможно, что недостающими факторами являются пептиды [13]. Таковы же и потребности *Tetrahymena geleii*, за исключением глицина, в котором этот организм не нуждается, и серина, потребность в котором проявлялась лишь у одного из двух изученных штаммов [14—16]. Аналогично тому, что наблюдалось у высших животных, тирозин оказывает сберегающее влияние на потребность в фенилаланине, цистин и гомоцистин — на потребность в метионине, цитруллин и орнитин — на потребность в аргинине. Мучной хрущак *Tribolium confusum* нуждается в таком же наборе аминокислот, как и крыса [17]. Такие же результаты были получены с *Anthrenus scrofulariae* [16]. Потребности личинок комара *Aedes aegypti* [18] изучены еще не полностью; для них не была установлена потребность в валине; ни фенилаланин, ни тирозин не оказались незаменимыми, хотя одновременное исключение обеих аминокислот привело к остановке роста. В общем потребность в аминокислотах у низших организмов, с одной стороны, и у крысы, собаки, цыпленка, мыши и человека — с другой, поразительно одинакова. Как показывает табл. 10, существует восемь «главных» аминокислот, в которых нуждаются все эти виды животных.

ПОТРЕБНОСТЬ В АМИНОКИСЛОТАХ У МИКРООРГАНИЗМОВ

У бактерий потребности в аминокислотах колеблются в широких пределах — начиная от бактерий, которые могут синтезировать все необходимые им аминокислоты (например, *Escherichia coli*), и кончая теми, которые нуждаются в сложном наборе аминокислот (например, *Leuconostoc mesenteroides*). Большой материал собран относительно пищевых потребностей молочнокислых бактерий, поскольку эта группа организмов оказалась особенно удобной для количественного определения аминокислот. Мутанты микроорганизмов (например, мутанты *E. coli*, *Neurospora crassa*), нуждающиеся лишь в одной аминокислоте, также оказались пригодными для аналитических целей. Данные о потребности ряда бактерий в аминокислотах приведены в табл. 14.

Потребность в аминокислотах может в значительной мере меняться в зависимости от состава питательной среды, температуры и других факторов (например, присутствия углекислоты). Роль глутамина как фактора роста для некоторых бактерий будет обсуждена в другом месте (стр. 318). Бактерии могут приспосабливаться к различным питательным средам, поэтому

Таблица 14

Потребность в аминокислотах у некоторых бактерий *

Аминокислота	<i>Lactobacillus arabinosus</i> [108]	<i>Streptococcus lactis</i> [109]	<i>Lactobacillus casei</i> [110]	<i>Streptococcus faecalis</i> [111]	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> [112]	<i>Treponema Peileri</i> [113]
Аланин	—	—	(+)	+	(+)	—
Аргинин	(+)	+	+	+	+	+
Аспарагиновая кислота	(+)	—	+	+	+	+
Валин	+	+	+	—	+	+
Гистидин	(+)	(+)	(+)	—	+	+
Глицин	—	—	—	+	+	—
Глутаминовая кислота	+	—	+	+	+	+
Изолейцин	+	+	(+)	+	+	+
Лейцин	+	+	+	+	+	+
Лизин	+	(+)	(+)	+	+	+
Метионин	(+)	+	(+)	—	+	+
Пролин	—	—	—	—	+	**
Серин	—	(+)	+	+	+	(+)
Тирозин	(+)	—	+	(+)	+	(+)
Треонин	(+)	—	(+)	+	+	+
Триптофан	+	—	+	+	+	+
Фенилаланин	(+)	(+)	+	—	+	+
Цистин	+	—	+	(+)	+	+

* + незаменима; — заменима; (+) стимулирует рост.

** Может быть заменен глутаминовой кислотой.

отнесение отдельных веществ к числу дополнительных ростовых факторов имеет лишь относительное значение. Наличие примесей в используемых аминокислотах не раз приводило к ошибкам; ввиду этого многие исследователи предпочитают использовать синтетические аминокислоты, обычно свободные от примеси других аминокислот (стр. 91). Однако применение рацемических аминокислот также ведет к некоторым осложнениям. Присутствие D-изомера может вызвать торможение роста, а положительное влияние того или иного D-изомера на рост может оказаться замаскированным. Явления торможения могут возникать и при использовании высоких концентраций некоторых L-аминокислот (или других факторов роста). Вопросу о потребности бактерий в аминокислотах посвящена обширная литература. Для детального ознакомления с микробиологическими методами определения аминокислот можно рекомендовать обзоры Снелла [114] и Данна [115].

При изучении условий роста микроорганизмов был получен ряд ценных сведений о взаимоотношениях между аминокислотами. Синтез аминокислот у *E. coli*, *N. crassa* и других микроорганизмов явился объектом многочисленных детальных исследований, которые будут обсуждены в гл. IV.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОРГАНИЗМАМИ D-АМИНОКИСЛОТ

В тканях высших животных D-аминокислоты не найдены; если они и присутствуют в этих тканях, то их концентрации, очевидно, невелики. Тем не менее животные способны усваивать D-изомеры некоторых аминокислот, и иногда в такой степени, что последние могут обеспечивать рост животных взамен соответствующих L-изомеров. Усвоение D-аминокислот зависит в основном от скорости их превращения в L-изомеры. Такая инверсия может осуществляться по крайней мере двумя путями: 1) окислительное превращение D-изомера в аналогичную α -кетокислоту и последующее специфическое для L-конфигурации реаминирование (переаминирование, стр. 210) и 2) прямая рацемизация — реакция, которую до сих пор наблюдали лишь у бактерий (стр. 239). По-видимому, наличие оксидазы D-аминокислот является необходимым, но не всегда достаточным условием использования D-аминокислот в организме животных. Как показывает табл. 15, D-фенилаланин и D-метионин усваиваются мышью, крысой и человеком. Однако имеются данные о том, что у человека D-фенилаланин не может полностью покрывать потребность в L-изомере, хотя эквивалентное количество DL-фенилаланина достаточно для поддержания азотистого равновесия [46].

При сравнительно высоких концентрациях D-валина в пище он обеспечивает рост крыс в отсутствие L-изомера [129]. D-гистидин усваивается крысами, но не мышами. D-триптофан не может быть использован для поддержания азотистого равновесия у человека, тогда как у крысы рост может обеспечиваться обоими изомерами. Интересно отметить, что ни крыса, ни человек не могут использовать ацетил-D-триптофан, тогда как ацетил-L-изомер усваивается ими [43, 44]. У человека 75% введенного с пищей ацетил-D-триптофана выводится с калом [132]. D-Тирозин усваивается крысами, оказывая сберегающее влияние на потребность в L-фенилаланине [128]. D-Изомеры фенилаланина, тирозина, гистидина и метионина дезаминируются очищенной оксидазой D-аминокислот (стр. 184). D-Треонин и D-лизин не используются для роста и не подвергаются действию оксидазы D-аминокислот. Вместе с тем D-лейцин и D-изолейцин

Таблица 15

Использование D-аминокислот *

D-аминокислота	Мышь **	Крыса **	Человек ***
Валин	— [117]	— [5]; + [129]	— [12]
Гистидин	— [116]	+ [120]	
Изолейцин	— [117]	— [5]	— [12]
Лейцин	— [117]	— [5]	— [12]
Лизин	— [118]	— [121]	— [12]
Метионин	+ [117]	+ [5, 31, 122]	+ [12]
Тирозин		+ [128]	
Треонин	— [117]	— [124]	— [12]
Триптофан	— [116]	+ [125—127]	— [12, 130]
Фенилаланин	+ [117]	+ [123]	+ [12]
Цистин ****		— [119]	

* + используется; — не используется.

** Использование для роста.

*** Использование для обеспечения азотистого равновесия.

**** мезо-Цистин вдвое менее активен, чем L-цистин [131, 294].

доступны действию этого фермента, но не поддерживают рост. Непригодность этих аминокислот для обеспечения роста объясняется, вероятно, тем, что скорость их инверсии относительно невелика. Поскольку соответствующие лейцину и изолейцину α -кетокислоты легко используются для роста (табл. 16), можно заключить, что лимитирующим фактором является скорость дезаминирования этих аминокислот. То, что D-лейцин действительно подвергается инверсии в организме, подтверждено исследованиями, в которых крысам вводили меченный дейтерием D-лейцин. Выделенный после этого из ткани L-лейцин содержал заметное количество изотопа [139].

В общем пищевая ценность D-изомеров, используемых для роста, ниже, чем у соответствующих L-изомеров, хотя найдены экспериментальные условия, при которых оба изомера проявляют почти одинаковое действие. Возможно, что степень усвоения D-изомера повышается при наличии в рационе следов L-формы, однако механизм этого явления не ясен [140]. Данные, приведенные в табл. 15, основаны на исследованиях, проведенных с D-аминокислотами. Аналогичные результаты дали исследования, в которых сравнивали действие L- и DL-аминокислот. Получены данные, согласно которым цыплята используют D-изо-

Таблица 16

Использование α -кетокислот для роста крыс

α -Кетокислота	Биологический эффект	Источник данных
α -Кето- δ -гуанидиновалерьяновая . . .	—	[133]
Имидазолпировиноградная	+	[134]
L- α -Кето- β -метилвалерьяновая	+	[36]
D- α -Кето- β -метилвалерьяновая	+	[36]
α -Кетозокапроновая	+	[36]
α -Кето- γ -метилтиомасляная	+	[135]
Фенилпировиноградная	+	[136]
Индолпировиноградная	+	[137]
<i>n</i> -Оксифенилпировиноградная	+	[136]
α -Кетозовалерьяновая	+	[138]

меры фенилаланина, метионина, триптофана и лейцина, но не используют D-треонин, D-валин и D-изолейцин [141—146].

Ван-Пилсум и Берг [147] исследовали пищевую ценность рационов, составленных из рацемических аминокислот. В противовес высказанным ранее предположениям представление о том, что D-аминокислоты оказывают значительное тормозящее действие, не нашло убедительного подтверждения. Если только уровень метионина не слишком высок, рационы, составленные из рацемических и из L-аминокислот, оказывают на крыс одинаковое действие. При использовании относительно высоких концентраций аминокислот возможно торможение роста. Однако при этом оказывается, что L-изомеры проявляют по крайней мере такое же тормозящее действие, как и D-формы, если не большее [31, 148]. D-Аминокислоты могут утилизироваться для синтеза заменимых аминокислот при доставке всех незаменимых L-аминокислот [149]. Если в состав рациона включены одновременно несколько D-аминокислот, подвергающихся быстрой инверсии (например, фенилаланин и метионин), то наблюдается меньшая скорость роста, чем при их отдельном введении. На основании этих данных можно думать, что активность оксидазы D-аминокислот невелика.

α -Кетокислоты, соответствующие большинству незаменимых аминокислот, способствуют росту почти в такой же мере, что и аналогичные им L-аминокислоты (см. табл. 16). Кроме того, было найдено, что молодые крысы росли с одинаковой скоростью на рационе, состоящем из десяти незаменимых аминокислот с добавлением глутаминовой кислоты, и на диете, в которой

лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин и метионин были одновременно заменены соответствующими α -кетокислотами и эквивалентным источником азота [150]. Хотя α -кетокислоты, соответствующие лизину и треонину, описаны, их использование в питании еще не исследовано. Непригодность α -кетокислоты аргинина в качестве замены L-аргинина в питании растущей крысы может быть обусловлена плохим всасыванием этой кетокислоты, ее разрушением в результате побочных реакций или относительно малой скоростью переаминирования с образованием аргинина.

Введение рацематов или D-изомеров аминокислот приводит к появлению D-изомеров в моче [151—156]. Установлено также, что после приема с пищей ряда рацемических аминокислот и некоторых их аналогов с мочой выделяются соответствующие α -кетокислоты [157, 158]. По величине экскреции D-аминокислот или α -кетокислот после введения D- или DL-аминокислот пытались судить об использовании D-аминокислот организмом. Этот экспериментальный подход позволяет получить ряд полезных сведений, однако значительно более ценные данные об использовании D-аминокислот дали исследования, проведенные при помощи меченных изотопами изомеров аминокислот, а также исследования, посвященные влиянию D-аминокислот на рост и азотистое равновесие. Значение D-аминокислот в обмене зависит от ряда факторов. Известно, например, что D-аминокислоты всасываются слизистой кишечника значительно медленнее, чем соответствующие L-изомеры (стр. 165). Это свидетельствует о наличии «активного» механизма всасывания, способствующего поступлению в организм L-аминокислот. То обстоятельство, что D-изомеры всасываются относительно медленно и что для их инверсии требуется некоторое время, снижает, надо полагать, их ценность как материала для синтеза белка.

Бактерии обычно используют D-аминокислоты более эффективно, чем высшие животные. Это и не удивительно, так как D-аминокислоты входят в состав клеток бактерий (стр. 67). Кроме того, бактерии значительно легче, чем высшие организмы, приспосабливаются к особым условиям питания. Некоторые бактерии могут использовать D-изомеры аминокислот непосредственно, другие обладают ферментными системами, катализирующими инверсию D-аминокислот путем рацемизации, окисления и реаминирования и, возможно, другими путями. Ценный обзор, посвященный использованию D-аминокислот бактериями и другими организмами, составлен Райдоном [159]. Автор сообщает о 26 видах бактерий, использующих по крайней мере одну из 13 D-аминокислот. Наиболее часто используются D-изомеры валина, аланина, серина, глутаминовой кислоты,

аспарагиновой кислоты и гистидина. Имеются также сообщения об использовании бактериями D-изомеров лейцина, тирозина, фенилаланина, цистина, цистеина, пролина, метионина и триптофана.

Bacillus subtilis и родственные виды, образующие капсульные или внеклеточные полиглутаминовые кислоты с преобладанием D-конфигурации, используют D-глутаминовую кислоту. Эти организмы обладают аланинрацемазой и D-трансминазой. У других организмов (например, у *Lactobacillus arabinosus*) усвоение D-глутаминовой кислоты связано с превращением ее в L-изомер рацемазой глутаминовой кислоты (стр. 243). D-Аланин используется для роста у *Streptococcus faecalis* и ряда других организмов. Взаимопревращение L-аланина и D-аланина осуществляется рацемазой, действующей при участии пиридоксальфосфата. Конкретные функции D-аланина в метаболизме этих организмов мало изучены (см., однако, стр. 69). D-Серин превращается у некоторых организмов в пировиноградную кислоту, а D-треонин — в α -кетомасляную. У некоторых микроорганизмов D-цистеин подвергается десульфированию и дезаминированию с образованием пирувата. Многие D-аминокислоты дезаминируются микроорганизмами, у которых имеются оксидазы D-аминокислот (стр. 184).

АНТАГОНИСТЫ АМИНОКИСЛОТ

Общие замечания

Путем изменения структуры молекулы метаболитов можно получить соединения, которые уже не могут нормально функционировать в обмене веществ и тормозят обмен соответствующих природных аналогов. Классическим примером может служить торможение действия сукцинодегидрогеназы малоновой кислотой [160]. В последние годы интерес к антиметаболитам значительно возрос и были синтезированы многочисленные аналоги аминокислот, витаминов, пуринов и других метаболитов. Некоторые из них представляют интерес для биохимических исследований и для терапии [161—164]. Механизм действия антиметаболитов еще не совсем ясен, однако известно, что они каким-то образом тормозят обмен природных аналогов. Поэтому антагонист может оказывать действие, сходное с влиянием недостаточности природного продукта обмена. Торможение нередко снимается одновременным или предварительным введением природного метаболита. В других случаях торможение устранить труднее или оно вообще необратимо. При истинно конкурентном торможении действие ингибитора пропорционально отношению его концентрации к концентрации природного

метаболита, причем пропорциональность сохраняется в широких пределах концентраций. Не все аналоги природных продуктов обмена являются активными антагонистами; некоторые соединения, проявляющие антагонистическое действие в одних биологических системах, могут оказаться неактивными в других. Вместе с тем данный аналог может нередко проявлять активность у совершенно отличных друг от друга организмов. Взаимоотношения между определенными особенностями строения молекул и антагонистическим действием еще точно не установлены. Для выяснения этого вопроса необходимы дальнейшие исследования с применением изолированных ферментных систем. Примером подхода к решению этой проблемы могут служить работы Нейрата и сотрудников, широко исследовавших ингибиторы некоторых протеолитических ферментов. Полученные данные позволили сделать выводы о размерах и характере активных центров этих ферментов [165].

Халворсон и Шпигельман [166] провели интересную серию исследований, посвященных индуцированному присутствием субстратов образованию ферментов у дрожжей. Было изучено влияние многих антагонистов аминокислот на образование ферментов в отсутствие экзогенных источников азота. Присутствие данного антагониста предотвращало включение его гомолога и тормозило также использование всех остальных аминокислот, причем наблюдалось прямое соответствие между торможением роста и подавлением образования ферментов. Эти данные согласуются с другими работами, показавшими, что для синтеза белка необходимо одновременное наличие всех аминокислот [22, 75, 76].

При рассмотрении вопроса об аналогах аминокислот сразу бросается в глаза, что многие природные аминокислоты сходны по своей структуре. Имеется много примеров антагонистических отношений между двумя природными аминокислотами; картина значительно усложняется в системах, содержащих многие аминокислоты. Ниже рассмотрены некоторые простейшие описанные в литературе примеры взаимодействия между метаболитами и антиметаболитами в ряду аминокислот. Сводка имеющихся данных представлена в табл. 17. В ней перечислены природные аминокислоты наряду с их структурными аналогами, которые были испытаны в качестве антиметаболитов. При изучении антагонистического действия были использованы различные биологические системы. В большинстве случаев исследовали влияние антиметаболитов на скорость роста; проводились также различные опыты *in vitro*. Окончательный ответ на вопрос о механизме действия антиметаболитов будет, вероятно, получен при исследовании изолированных ферментных систем.

Таблица 17

Антагонисты аминокислот

Аминокислоты	Аналоги	Биологические объекты	Действие	Источники данных
α -Аланин	α -Аминоэтансульфоновая кислота	Бактерии	+	[167]
	То же	Опухоль мышей	—	[168]
	Глицин	Бактерии	+	[169]
	α -Аминоизомасляная кислота	»	—	[170]
	Серин	»	+	[169]
β -Аланин	β -Аминомасляная кислота	Дрожжи	+	[171]
	Пропионовая кислота	Бактерии	+	[172]
	Аспарагин	Дрожжи	+	[173]
Аргинин	Канаванин	Дрожжи	+	} [174—178]
	»	<i>Neurospora</i>	+	
	»	Бактерии	+	
	»	Животные	+	[179, 180]
	»	Растения	+	[181]
	Лизин	Аргиназа	+	[182]
	Орнитин	»	+	[183]
Гомоаргинин	Бактерии	+	[178, 184]	
Аспарагиновая кислота	Цистеиновая кислота	Бактерии	—	[167, 185]
	»	»	+	[186]
	Оксиаспарагиновая кислота	»	+	[187]
	Диаминоянтарная кислота	»	+	[187]
	Аспартофенон	Бактерии, дрожжи	+	[170]
	α -Аминолевулиновая кислота	То же	+	[170]
	α -Метиласпарагиновая кислота	Бактерии	+	[188]
	β -Гидразид аспарагиновой кислоты	»	+	[188]

Продолжение табл. 17

Аминокислоты	Аналоги	Биологические объекты	Действие	Источник данных
Валин	α -Аминоизобутансульфоновая кислота	Бактерии	+	[167, 168, 185]
	То же	Вирус осповакцины	+	[202]
	α -Аминомасляная кислота	Бактерии	+	[170, 259]
	Норвалин	»	+	[170]
	Лейцин, изолейцин	»	+	[209, 259]
	Металлилглицин	Бактерии, дрожжи	+	[170]
	β -Оксивалин	Бактерии	+	[212, 260]
Гистидин	D-Гистидин	Гистадаза	+	[203]
	Имидазол		+	[203]
Глицин	α -Аминометансульфоновая кислота	Бактериофаг	+	[201]
	То же	Вирус осповакцины	+	[202]
	» »	Бактерии	+	[167]
	» »	<i>E. coli</i>	-	[170]
Глутаминовая кислота	Метионинсульфоксид	Бактерии	+	[191, 192]
	То же	Система синтеза глутамин	+	[193]
	γ -Этиламид глутаминовой кислоты	Бактерии	+	[194]
	β -Оксиглутаминовая кислота	»	+	[195, 196]
	Метионин-сульфоксимиц	»	+	[197, 198]
	α -Метилглутаминовая кислота	Ферменты	+	[199, 200]
α, ϵ -Диаминопимелиновая кислота	α, α' -Диаминопробковая кислота	Бактерии	+	[190]
	α, α' -Диаминосебацಿನовая кислота	»	+	[190]

Продолжение табл. 17

Аминокислоты	Аналоги	Биологические объекты	Действие	Источник данных
Изолейцин	Лейцин	Бактерии	+	[204]
	»	Крысы	+	[205]
	Металлилглицин	Бактерии, дрожжи	+	[170, 189]
Лейцин	D-Лейцин	Бактерии	+	[206]
	α -Аминоизоамилсульфоновая кислота	»	+	[167, 185]
	То же	Опухоль мыши	—	[168]
	Норвалин	Бактерии	+	[170]
	Норлейцин	»	+	[167, 170, 208]
	Металлилглицин	Дрожжи, бактерии	+	[170]
	α -Амино- β -хлормасляная кислота	То же	+	[170]
	Валин	Бактерии	+	[209]
	δ -Хлорлейцин	<i>Neurospora</i>	+	[210]
	Изолейцин	Бактерии	+	[211]
	β -Оксинорлейцин	»	+	[212]
β -Оксилейцин	»	+	[212]	
Лизин	α -Амино- ϵ -оксикапроновая кислота	Крысы	+	[213]
	Аргинин	<i>Neurospora</i>	+	[214]
	2,6-Диаминогептановая кислота	Бактерии	+	[215]
Метионин	2-Амино-5-гептеновая кислота (критилаланин)	<i>E. coli</i>	+	[216]
	Метоксинин	Бактерии	+	[217]
	»	Вирус осповакцины	+	[202]
	»	Крысы	+	[218]
	Норлейцин	Бактерии	+	[208, 219]
	Этионин	Бактерии, животные	+	[217, 219—231]
	Метионин-сульфоксимин	Бактерии	+	[232]
	Треонин	<i>Neurospora</i>	+	[233]
Селенометионин	<i>Chlorella</i>	+	[295]	

Продолжение табл. 17

Аминокислоты	Аналоги	Биологические объекты	Действие	Источник данных
Орнитин	α -Амино- δ -оксивальериановая кислота	Бактерии	—	[177]
	Каналин	»	—	[177]
Пролин	Оксипролин	Грибы	+	[256]
Серин	α -Метилсерин	Бактерии	—	[170]
	Гомосерин	»	+	[170]
	Треонин	»	+	[257, 258]
Тирозин	Фтортирозины	Грибы	+	[240]
	»	Крыса	+	[272]
	<i>l</i> -Аминофенилаланин	Грибы	+	[238]
	<i>m</i> -Нитротирозин	Бактерии	+	[239]
Тироксин	Эфиры 3,5-дигидротирозина	Головастики	+	[261]
Треонин	Серин	Бактерии	+	[257—259]
	β -Оксинорвалин	»	+	[212, 260]
	β -Оксинорлейцин	»	+	[212, 260]
Триптофан	Метилтриптофаны	Бактерии	+	[262—264]
	»	Бактериофаг	+	[265]
	Нафтилаланины	Бактерии	—	[266, 267]
	»	Крыса	—	[170]
	Индолакриловая кислота	Бактерии	+	[268]
	Нафтилакриловая кислота	»	+	[269]
	β -(2-Бензотиенил)-аланин	»	+	[270]
	Стирилуксусная кислота	»	+	[269]
	Индол	Бактериофаг	+	[271]
α -Амино- β -3(индазол)-пропионовая кислота	Дрожжи	+	[289]	

Продолжение табл. 17

Аминокислоты	Аналоги	Биологические объекты	Действие	Источник данных
Фенилаланин	α -Амино- β -фенил-этансульфоновая кислота	Опухоль мыши	—	[168]
	Тирозин	Бактерии	+	[234]
	β -Фенилсерин	»	+	[235, 236]
	Циклогексилаланин	Крысы	+	[237]
	<i>n</i> -Аминофенилаланин	Бактерии	+	[238, 239]
	Фторфенилаланины	Грибы, бактерии	+	[239—241]
	Хлорфенилаланины	Грибы	+	[240]
	Бромфенилаланины	»	+	[240]
	β -2-Тиенилаланин	Крысы, бактерии, дрожжи	+	[235, 242—250]
	β -3-Тиенилаланин	Бактерии, дрожжи	+	[251]
	β -2-Фурилаланин	То же	+	[170]
	β -3-Фурилаланин	» »	+	[170]
	β -2-Пирролаланин	» »	+	[252]
	β -2-Пиридилаланин	Бактерии	+	[255]
	β -4-Пиридилаланин	»	+	[253]
β -4-Пиразолилаланин	»	+	[255]	
β -4-Тиазолилаланин	»	+	[255]	
<i>n</i> -Нитрофенилаланин	»	+	[239]	
Триптофан	»	+	[254]	
Цистеин	Аллилглицин	Бактерии, дрожжи	+	[189]

Антагонизм между природными аминокислотами

Явления антагонизма между природными аминокислотами неоднократно наблюдались при исследовании факторов питания бактерий. Много усилий было приложено к разработке «сбалансированных сред» для обеспечения оптимального роста микроорганизмов, используемых в качестве биологических тест-объектов. Можно привести ряд примеров такого рода антагонизма. Глицин, серин, треонин и β -аланин тормозят рост *Streptococcus faecalis*, и это торможение может быть снято увеличением концентрации аланина в среде [169]. Ряд наблюдений свидетельствует об антагонизме между аргинином и лизином. У мутантного штамма *Neurospora crassa*, утерявшего способность синтезировать лизин, было отмечено отсутствующее у исходного

дикого типа конкурентное торможение роста L-аргинином, причем торможение на 50% наблюдали при эквимоллярных концентрациях аргинина и лизина в среде [214]. С другой стороны, известно, что лизин, орнитин и, в меньшей степени, другие L-аминокислоты тормозят действие аргиназы, тогда как мочевины не оказывают заметного влияния. Действие лизина и орнитина снимается аргинином [182, 183]. У молочнокислых бактерий наблюдали взаимный антагонизм между серином и треонином [257—259]. Сходные явления описаны для лейцина, изолейцина и валина — группы аминокислот с разветвленной углеродной цепью [204, 205, 209, 211, 259].

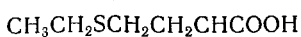
Антагонизм между природными аминокислотами отмечен также у животных. У крыс, получавших рационы с высоким содержанием лейцина, наблюдалось торможение роста; при добавлении к рациону изолейцина действие лейцина частично снималось [205]. Если, помимо изолейцина, добавляли еще и валин, то нормальный рост восстанавливался полностью [273]. При соответствующих условиях питания можно наблюдать антагонизм между фенилаланином и изолейцином, фенилаланином и валином, треонином и фенилаланином [273, 296]. При увеличении количества белка в рационах, содержащих казеин и желатину или казеин и окисленный казеин, у крыс возникают нарушения, говорящие о неправильном соотношении между аминокислотами. Наступающее при этом торможение роста, повышенная экскреция триптофана с мочой и снижение уровня содержания триптофана в плазме крови устранялись при добавлении к рациону триптофана, но не снимались никотиновой кислотой [288, 297].

Таким образом, ряд исследований указывает на необходимость определенного количественного соотношения между аминокислотами, вводимыми с пищей. В эксперименте удается подобрать надлежащие условия для изучения явлений антагонизма между парой определенных аминокислот, однако весьма вероятно, что избыток какой-либо одной аминокислоты оказывает тормозящее влияние на обмен целого ряда других аминокислот. Такое торможение может быть как прямым (в том смысле, что нарушается обмен определенной аминокислоты), так и косвенным, поскольку нарушается синтез белка, для которого необходима возможность одновременного использования многих аминокислот.

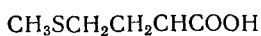
Антагонисты метионина

Исследование синтетического антиметаболита одной из аминокислот было впервые проведено Дайер в 1938 г. Она синтезировала этионин — S-этильный аналог метионина — и

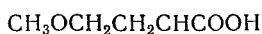
установила, что это соединение не заменяет метионин, необходимый для роста крыс.



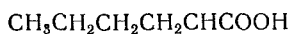
Этионин



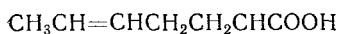
Метионин



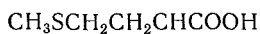
Метоксинин



Норлейцин



Кротилаланин



Метионин-сульфоксими

Дайер отметила также, что при скармливании крысам этионина они теряли в весе быстрее, чем при полном исключении метионина из рациона, причем такое действие этионина снижалось при одновременном введении метионина [223]. Наблюдения Дайер неоднократно подтверждены; установлено, кроме того, что этионин тормозит рост микроорганизмов [217, 220]. У крысы этионин тормозит включение глицина и серы метионина в белки тела, а также превращение метионина в цистин [221]. У самок крысы введение больших количеств этионина вызывает вскоре жировое перерождение печени; это нарушение устраняется введением метионина, но не может быть снято рядом других исследованных аминокислот [226]. Этионин тормозит у крыс перенос метильной группы метионина к холину, но не влияет на образование креатина [222]. Интересно отметить, что холин, подобно метионину, оказывает благоприятное действие при интоксикации этионином [224]. После введения крысам этионина, меченного C^{14} по метиленовому углероду этильной группы, значительное количество радиоактивного изотопа было обнаружено в триметиламиновом остатке холина. Углерод этильной группы включался также в креатинин; кроме того, сера этионина переходила в состав цистина [225]. Вполне очевидно, что этионин подвергается превращениям в организме крысы. Высказано предположение, что его токсическое действие обусловлено образованием этильных аналогов холина и других соединений [274, 275]. Это предположение подтверждается данными о том, что триэтилхолин подавляет рост крыс [225] и тормозит синтез

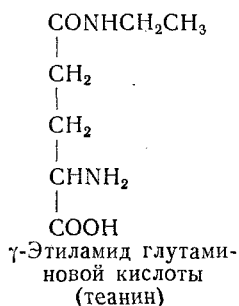
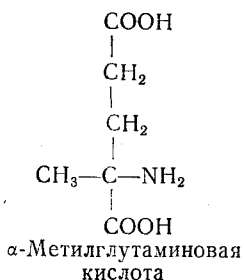
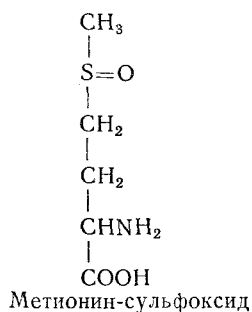
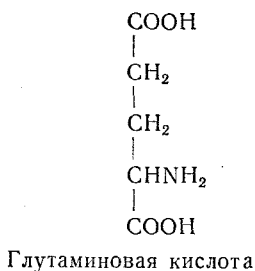
ацетилхолина у мышей [227]; действие триэтилхолина частично устраняется холином. Опыты с этионином, меченным по метиленовому углероду этильной группы, показали, кроме того, что углерод этильной группы включается в белки; ряд авторов подчеркивает, что при этом образуются белки, отличающиеся от нормальных [207, 228, 229, 274]. При введении этионина крысам снижается активность ферментных систем холин- и саркозиноксидазы [230] и повышаются концентрации некоторых аминокислот в печени [231]. Токсическое действие этионина может быть обусловлено либо превращением незаменимых продуктов обмена в соответствующие этильные аналоги, либо образованием белков, в которых метионин замещен этионином, либо обоими этими факторами (стр. 277). Этионин подвергается, по крайней мере частично, тем же превращениям, что и метионин. Так, например, при выращивании *Torula utilis* и *Saccharomyces cerevisiae* на среде, содержащей этионин, наблюдали образование 5'-этилтиоаденозина [276].

Найдено, что DL-селенометионин, $\text{CH}_3\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$, в качестве конкурентного антагониста L- и D-метионина тормозит рост *Chlorella vulgaris* [295]. Токсичность селенового аналога снимается метионином, который, по-видимому, препятствует поглощению антагониста клетками. Соли селеновой кислоты сами являются активными антиметаболитами и, по-видимому, могут в клетках водоросли превращаться в органические соединения.

К антагонистам метионина относятся, далее, 2-амино-5-гептеновая кислота (виниловый аналог метионина), метоксинин (кислородный аналог), метионин-сульфоксимин и норлейцин. 2-Амино-5-гептеновая кислота тормозит рост одного из штаммов *Escherichia coli*, но не вызывает торможения у двух других штаммов и у дрожжей [216]. Бактериостатическое влияние DL-метоксинина на *E. coli* и на *Staphylococcus aureus* может быть снято L-метионином, но не устраняется его D-изомером [217]. Метионин-сульфоксимин (см. формулу на стр. 147) действует как сильный антиметаболит глутаминовой кислоты [197, 198] и метионина [232]. Этот антиметаболит образуется при обработке пшеничной муки треххлористым азотом («агеном») в результате действия этого отбеливающего препарата на белки муки. Метионин-сульфоксимин, как и обработанная агеном мука, вызывает у собак состояние, известное как «собачья истерия», или «припадки судорожного бега»; он оказывает также токсическое действие на других животных. Определенных данных о действии метионин-сульфоксимина на человека не имеется, однако приняты меры к воспреещению использования треххлористого азота при обработке пищевых продуктов.

Антагонисты глутаминовой кислоты

Несколько лет назад было отмечено, что метионин-сульфоксид тормозит рост *Lactobacillus arabinosus* при наличии в питательной среде глутаминовой кислоты, но не оказывает такого действия в тех случаях, когда глутаминовая кислота заменяется глутамином [191]:

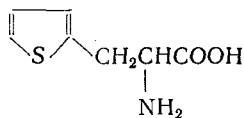


Дальнейшие исследования показали, что этот антагонист конкурентно тормозит ферментативный синтез глутамина из глутаминовой кислоты [193]. Интересно отметить, что сульфоксид L-метионина более активен, чем сульфоксид D-метионина; различия в активности существуют также между сульфоксидными стереоизомерами L-метионин-сульфоксида [192]. Этионин-сульфоксид и ряд его высших гомологов при исследовании их влияния на рост бактерий оказались менее активными антагонистами глутаминовой кислоты, чем метионин-сульфоксид. β -Оксиглутаминовая кислота также тормозит рост [195]; активностью обладает, по-видимому, лишь один из ее стереоизомеров [196]. α -Метилглутаминовая кислота тормозит действие L-глутамат-декарбоксилазы *Escherichia coli* при инкубировании аналога с ферментом до добавления глутаминовой кислоты. При одно-

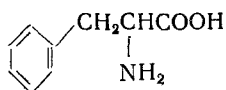
временном добавлении ингибитора и субстрата наблюдается лишь слабое торможение; по-видимому, оно вызвано образованием комплекса фермент — ингибитор [199]. α -Метилглутаминовая кислота тормозит также глутаминазу почек собаки, но почти в той же степени тормозят этот фермент L- и D-изомеры глутаминовой кислоты [200].

Антагонисты фенилаланина

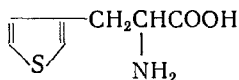
Изучены многие аналоги фенилаланина; как правило, изменение строения молекулы фенилаланина путем введения заместителей в бензольное ядро или замены углеродных атомов ядра кислородом или серой приводит к образованию активных анти-метаболитов. Накопилась обширная литература, посвященная торможению роста микроорганизмов и животных такими соединениями, как тиенилаланины, галоидные производные фенилаланина и родственные соединения (см. табл. 17). Торможение обычно носит конкурентный характер и снимается только фенилаланином, но в некоторых случаях действуют также тирозин и триптофан. Обычно применяли рацемические формы аналогов; при раздельном использовании оптических изомеров они нередко проявляют неодинаковую активность.



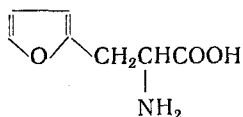
β -2-Тиенилаланин



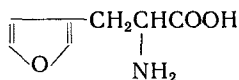
Фенилаланин



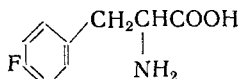
β -3-Тиенилаланин



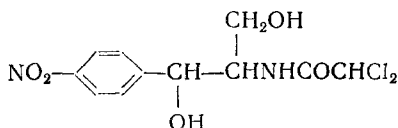
β -2-Фурилаланин



β -3-Фурилаланин



n-Фторфенилаланин



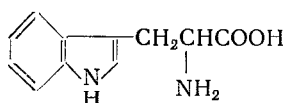
Хлоромецетин (левомецетин, хлорамфеникол)

Так, например, рост некоторых микроорганизмов [250] тормозит лишь L-изомер β -2-тиенилаланина, тогда как у крысы оба стереоизомера этого аналога оказались активными антагонистами [246]. Многие аналоги фенилаланина окисляются оксидазами аминокислот [277, 278], а β -2-тиенилаланин может подвергаться и переаминированию (см. табл. 22). Активность β -2-тиенил-D-аланина у крысы зависит, вероятно, от его инверсии в результате окисления в соответствующую α -кетокислоту и последующего переаминирования с образованием L-формы.

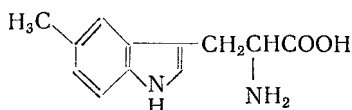
Торможение роста бактерий антибиотиком хлоромицетином в известных условиях устраняется фенилаланином, хотя антагонизм в данном случае носит преимущественно неконкурентный характер. Исследование ряда родственных соединений показало, что последовательное изменение структуры молекулы фенилаланина с приближением к структуре хлоромицетина приводит к постепенному изменению характера антагонизма в сторону неконкурентного торможения [164, 279]. Хлоромицетин, по-видимому, обладает некоторой антифенилаланиновой активностью, с которой, возможно, связаны его антибиотические свойства. Однако, по некоторым данным, механизм действия этого антибиотика нельзя объяснить целиком его свойствами как антиметаболита аминокислот [287].

Антагонисты триптофана

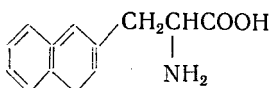
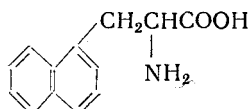
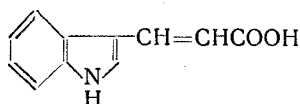
Путем введения заместителей в бензольное кольцо или замены индольного ядра другими группами получен ряд антагонистов триптофана.



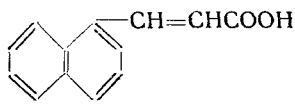
Триптофан



5-Метилтриптофан

 β -2-Нафтилаланин β -1-Нафтилаланин

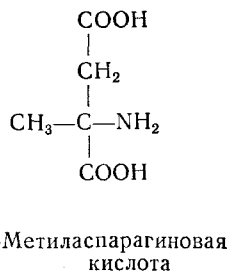
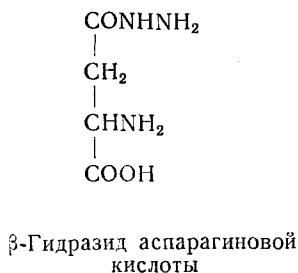
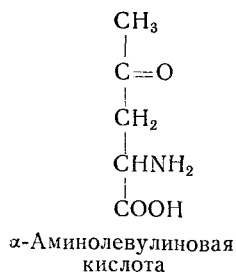
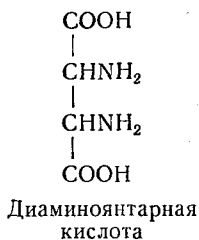
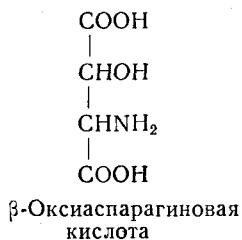
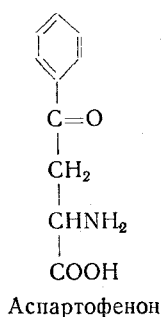
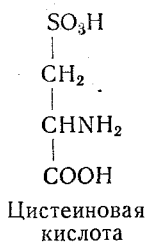
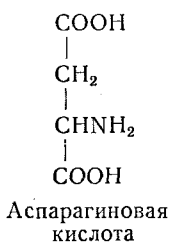
Индолакриловая кислота

 β -1-Нафтилакриловая кислота

Как правило, они действуют в качестве конкурентных ингибиторов роста микроорганизмов и животных. Такие изменения боковой цепи, как в молекуле индолакриловой кислоты (но не индолуксусной кислоты), также приводят к образованию ингибиторов.

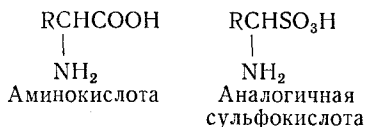
Антагонисты аспарагиновой кислоты

Активные антагонисты были получены путем внесения различных изменений в структуру молекулы аспарагиновой кислоты. К ним относятся замещение β -карбокисильной группы сульфонильным остатком (цистеиновая кислота), замещение водородного атома при β -углероде амино- или оксигруппой и введение ацильных групп.

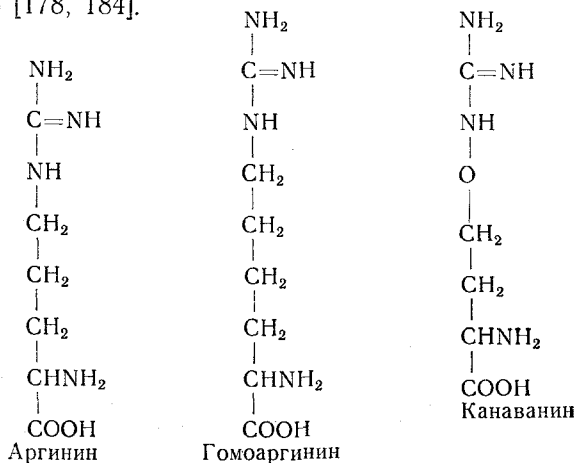


Антагонисты других аминокислот

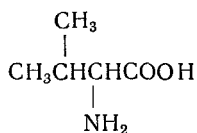
Одними из первых синтетических антагонистов аминокислот явились аналогичные им сульфоновые кислоты. Многие из этих производных, в том числе сульфоамещенные аналоги глицина, валина, лейцина, фенилаланина и аланина, обладают бактериостатическим действием. Оно, как правило, снимается природным аналогом и нередко другими аминокислотами [167].



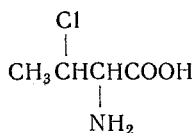
Канаванин, встречающийся в различных растениях (стр. 49), оказывает тормозящее действие на рост бактерий и животных. Эта аминокислота расщепляется аргиназой на каналин и мочевины [280] и при взаимодействии с фумаратом превращается в канаваноантарную кислоту [281] (стр. 49); вместе с тем она может конкурентно тормозить отщепление имидогруппы от аргинина [282] (стр. 342). Торможение роста, вызванное канаванином, может быть снято аргинином и в некоторых случаях лизином, цитруллином или орнитинем. Любопытно, что торможению роста *Torula utilis* канаванином противодействует также α -амино- ϵ -гуанидинокапроновая кислота (гомоаргинин) — соединение, которое до сих пор не найдено в природе и не является продуктом обмена [178]. Гомоаргинин, который, по литературным данным, оказывает слабое, но явно положительное действие на рост крыс при недостаточности лизина в рационе [283], вызывает конкурентное торможение роста у *Chlorella vulgaris* и *Escherichia coli* B [178, 184].



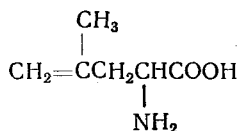
Помимо отмеченных выше (стр. 150) галоидзамещенных антагонистов фенилаланина, были синтезированы аналоги тирозина [240, 272], валина, изолейцина и лейцина, содержащие атомы галоидов. В аналогах последних трех аминокислот метильную группу заменял атом хлора [170]:



Валин

 α -Амино- β -хлормасляная кислота

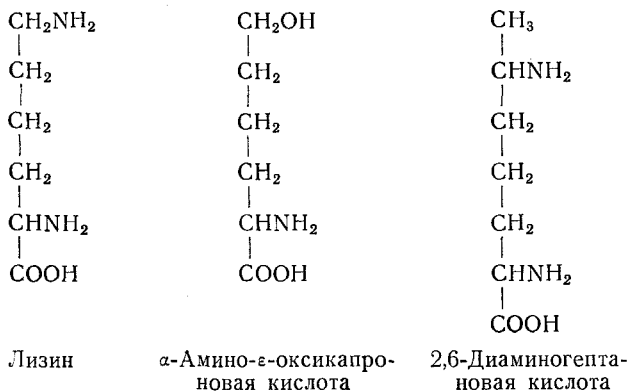
Одно из изменений структуры, во многих случаях приводящее к образованию антагонистов, состоит в введении ненасыщенных групп в молекулы аминокислот. Примером полученных этим путем производных может служить металилглицин — антагонист валина, лейцина и изолейцина [170]:



Металилглицин

Иногда торможение вызывается оптическими антиподами, хотя это явление наблюдается нечасто. Так, например, найдено, что у *Lactobacillus arabinosus* D-лейцин конкурентно тормозит усвоение L-лейцина [206].

При замене ϵ -аминогруппы лизина гидроксильной группой образуется соединение, токсичное для крыс. При скормливании крысам α -амино- ϵ -оксикапроновой кислоты или казеина, обработанного азотистой кислотой (при действии которой ϵ -аминогруппа лизина превращается в оксигруппу), у животных развивается анемия, устранимая путем введения лизина [213] (стр. 426). Другим соединением, действующим как конкурентный антиметаболит лизина (по крайней мере у бактерий), является высший гомолог лизина, 2,6-диаминогептановая кислота [215].



Опубликован ряд наблюдений, свидетельствующих о стимулировании роста различных организмов пептидами, причем в ряде случаев установлено, что определенные пептиды оказывают на рост более благоприятное действие, чем входящие в их состав аминокислоты (стр. 261). Эти наблюдения привлекли к себе особое внимание в связи с возможной ролью пептидов как промежуточных продуктов при биосинтезе белка. Однако имеются и другие возможности для объяснения отмеченного прерывающегося пептидов как стимуляторов роста по сравнению с соответствующими аминокислотами. Так, аминокислоты, соединенные пептидной связью, могут оказаться защищенными от побочных реакций распада; поэтому постепенный гидролиз пептида может лучше обеспечивать снабжение клеток данной аминокислотой, чем внесение эквивалентного количества свободной аминокислоты. Некоторые пептиды более активно противодействуют влиянию антагонистов аминокислот, чем свободные аминокислоты. Так, например, глицилфенилаланин лучше снимает торможение роста *Escherichia coli* и *Lactobacillus arabinosus* β -2-тиенилаланином, чем фенилаланин. Подобным же образом глицил- и аланилпептиды метионина оказались активнее самого метионина при снятии токсического действия этионина у тех же микроорганизмов [249]. Причина большей активности пептидов еще не ясна.

Среди найденных в природных объектах антиметаболитов имеется, вероятно, немало таких, которые нарушают обмен аминокислот. За увядание листьев томата, вызываемое *Fusarium lycopersici*, по-видимому, ответствен выработываемый этим грибом ликомаразин (стр. 74) — пептидное производное аспарагина, глицина и α -оксиаланина. Действие этого токсина на листья томата можно предотвратить при помощи пептидов типа стрепто-

генина [284] (стр. 75). Это интересное наблюдение дает основание предполагать существование других антиметаболитов пептидной природы, действие которых направлено на аналогичные им нормальные продукты обмена.

Вполне очевидно, что факты, рассмотренные выше и приведенные в табл. 19, представляют лишь «первую разведку» в области изучения антагонистов аминокислот. Найденны многие мощные антагонисты и намечаются некоторые выводы относительно роли определенных изменений в строении молекул аминокислот. Ряд антагонистов, очевидно, подвергается обмену, однако пути превращения большинства из них, равно как механизм их действия, не выяснены. Изучение антиметаболитов вознаграждается иногда созданием новых лекарственных препаратов, но чаще такие исследования позволяют найти ключ к пониманию тех или иных процессов обмена (ср. [285, 286]). Для получения более исчерпывающих данных об этих процессах требуется, однако, применение других экспериментальных методов (гл. III и IV). Наличие антагонистов аминокислот в природных объектах заставляет считаться с возможным их значением как патогенных факторов. Вместе с тем они могут (например, в виде некоторых антибиотиков) играть роль терапевтических средств. Наконец, взаимный антагонизм между различными природными аминокислотами может представлять собой один из физиологических механизмов управления процессами роста и обмена веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Osborne T. B., Mendel L. B., *J. Biol. Chem.*, **17**, 325 (1914).
2. Rose W. C., Cox G. J., *J. Biol. Chem.*, **61**, 761 (1924).
3. Osborne T. B., Mendel L. B., *J. Biol. Chem.*, **20**, 351 (1915).
4. Rose W. C., McCoy R. H., Meyer C. E., Carter H. E., Womack M., Mertz E. T., *J. Biol. Chem.*, **109**, 77 (1935).
5. Rose W. C., *Science*, **86**, 298 (1937); *Physiol. Revs.*, **18**, 109 (1938).
6. Rose W. C., Rice E. E., *Science*, **90**, 186 (1939).
7. Bauer C. D., Berg C. P., *J. Nutrition*, **26**, 51 (1943).
8. Totter J. R., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **127**, 375 (1939).
9. Almquist H. J., Mecchi E., Kratzer F. H., Grau C. R., *J. Nutrition*, **24**, 385 (1942).
10. Almquist H. J., Grau C. R., *J. Nutrition*, **28**, 325 (1944).
11. Almquist H. J., *J. Nutrition*, **34**, 543 (1947).
12. Rose W. C., *Federation Proc.*, **8**, 546 (1949).
13. Weiss E. D., Ball G. H., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **65**, 278 (1947).
14. Kidder G. W., Dewey V. C., *Physiol. Zool.*, **18**, 136 (1945).
15. Kidder G. W., Dewey V. C., in "Biochemistry and Physiology of Protozoa" (Lwoff, ed.), vol. I, p. 323, Academic Press, New York, 1951.
16. Kidder G. W., in "Biochemistry and Physiology of Nutrition" (Bourne and Kidder, eds.), vol. II, p. 162, Academic Press, New York, 1953.
17. Lemonde A., Bernard B., *Can. J. Zool.*, **29**, 80 (1951).

18. Goldberg L., Meillon B., de, *Biochem. J.*, **43**, 379 (1948).
19. Borman A., Wood T. R., Black H. C., Anderson E. G., Oesterling M. J., Womack M., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **166**, 585 (1946).
20. Albanese A. A., (ed.), "Protein and Amino Acid Requirements of Mammals". Academic Press, New York, 1950.
21. Klose A. A., Almqvist H. J., *J. Biol. Chem.*, **135**, 153 (1940).
22. Frazier L. E., Wissler R. W., Steffee C. H., Woolridge R. L., Cannon P. R., *J. Nutrition*, **33**, 65 (1947).
23. Benditt E. P., Woolridge R. L., Steffee C. H., Frazier L. E., *J. Nutrition*, **40**, 335 (1950).
24. Burroughs E. W., Burroughs H. S., Mitchell H. H., *J. Nutrition*, **19**, 363 (1940).
25. Rose W. C., Womack M., *J. Biol. Chem.*, **166**, 103 (1946).
26. Armstrong M. D., *J. Biol. Chem.*, **213**, 409 (1955).
27. Grau C. R., Steele R., *J. Nutrition*, **53**, 59 (1954).
28. Dyer H. M., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **109**, 477 (1935).
29. du Vigneaud V., Ressler C., Rachele J. R., *Science*, **112**, 267 (1950).
30. Womack M., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **141**, 375 (1941).
31. Wretling K. A. J., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **187**, 697 (1950).
32. Rose W. C., Oesterling M. J., Womack M., *J. Biol. Chem.*, **176**, 753 (1948).
33. Anslow W. P., jr., Simmonds S., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **166**, 35 (1946).
34. Williams H. L., Watson E. M., *Science*, **103**, 654 (1946).
35. Rose W. C., Smith L. C., *J. Biol. Chem.*, **187**, 687 (1950).
36. Meister A., White J., *J. Biol. Chem.*, **191**, 211 (1951).
37. Rose W. C., Johnson J. E., Haines W. J., *J. Biol. Chem.*, **182**, 541 (1950).
38. Rose W. C., Haines W. J., Warner D. T., Johnson J. E., *J. Biol. Chem.*, **188**, 49 (1951).
39. Rose W. C., Haines W. J., Warner D. T., *J. Biol. Chem.*, **193**, 605 (1951).
40. Rose W. C., Warner D. T., Haines W. J., *J. Biol. Chem.*, **193**, 611 (1951).
41. Rose W. C., Haines W. J., Warner D. T., *J. Biol. Chem.*, **206**, 421 (1954).
42. Rose W. C., Coon M. J., Lambert G. F., *J. Biol. Chem.*, **210**, 331 (1954).
43. Rose W. C., Lambert G. F., Coon M. J., *J. Biol. Chem.*, **211**, 815 (1954).
44. Rose W. C., Coon M. J., Lambert G. F., Howe E. E., *J. Biol. Chem.*, **212**, 201 (1955).
45. Rose W. C., Leach B. E., Coon M. J., Lambert G. F., *J. Biol. Chem.*, **213**, 913 (1955).
46. Rose W. C., Borman A., Coon M. J., Lambert G. F., *J. Biol. Chem.*, **214**, 579 (1955).
47. Rose W. C., Coon M. J., Lockhart H. B., Lambert G. F., *J. Biol. Chem.*, **215**, 101 (1955).
48. Rose W. C., Eades C. H., jr., Coon M. J., *J. Biol. Chem.*, **216**, 225 (1955).
49. Rose W. C., Wixom R. L., *J. Biol. Chem.*, **216**, 763 (1955).
50. Rose W. C., Wixom R. L., *J. Biol. Chem.*, **217**, 95 (1955).
51. Rose W. C., Wixom R. L., *J. Biol. Chem.*, **217**, 997 (1955).
52. Rose W. C., Wixom R. L., Lockhart H. B., Lambert G. F., *J. Biol. Chem.*, **217**, 987 (1955).

53. Albanese A. A., Holt L. E., jr., Frankston J. E., Irby V., *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **74**, 251 (1944).
54. Sebrell W. H., jr., McDaniel E. G., *J. Nutrition*, **47**, 477 (1952).
55. Nasset E. S., Gatewood V. H., *J. Nutrition*, **53**, 163 (1954).
56. Lee W. C., Lewis H. B., *J. Biol. Chem.*, **107**, 649 (1934).
57. Grau C. R., *J. Biol. Chem.*, **170**, 661 (1947).
58. Price W. A., jr., Taylor M. W., Russell W. C., *J. Nutrition*, **51**, 413 (1953).
59. Price W. A., jr., Taylor W. M., Russel W. C., *J. Nutrition*, **51**, 413 (1953).
60. Fisher H., Scott H. M., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **51**, 517 (1954).
61. Williams H. H., Curtin L. V., Abraham J., Loosli J. K., Maynard L. A., *J. Biol. Chem.*, **208**, 277 (1954).
62. Almqvist H. J., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **52**, 197 (1954).
63. Pollack H., "Symposia on Protein Metabolism, Toronto" No. 8, p. 91. National Vitamin Foundation, New York, 1954.
64. Rose W. C., Smith L. C., Womack M., Shane M., *J. Biol. Chem.*, **181**, 307 (1949).
65. Lardy H. A., Feldott G., *J. Biol. Chem.*, **179**, 509 (1949).
66. Schoenheimer R., "The Dynamic State of Body Constituents," p. 50, Harvard U. P., Cambridge, 1942.
67. Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **165**, 469 (1946).
68. Dintzis R. Z., Hastings A. B., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **39**, 571 (1953).
69. Kornberg H. L., Davies R. E., *Physiol. Revs.*, **35**, 169 (1955).
70. Frost D. V., in "Protein and Amino Acid Requirements of Mammals" (Albanese, ed.), p. 33. Academic Press, New York, 1950.
71. Winzler R. J., Moldave K., Rafelson M. E., jr., Pearson H. E., *J. Biol. Chem.*, **199**, 485 (1952).
72. Moldave K., Rafelson M. E., jr., Lagerborg D., Pearson H. E., Winzler R. J., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **50**, 383 (1954).
73. Moldave K., *J. Biol. Chem.*, **210**, 343 (1954).
74. Moldave K., Winzler R. J., Pearson H. E., *J. Biol. Chem.*, **200**, 357 (1953).
75. Geiger E., *J. Nutrition*, **34**, 97 (1947); *Science*, **111**, 594 (1950).
76. Berg C. P., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **82**, 479 (1929).
77. Cannon P. R., Steffee C. H., Frazier L. E., Rowley D. A., Stepto R. C., *Federation Proc.*, **6**, 390 (1947).
78. Sprince H., Woolley D. W., *J. Exptl. Med.*, **80**, 213 (1944).
79. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **159**, 173 (1945).
80. Sprince H., Woolley D. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 1734 (1945).
81. Womack M., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **162**, 735 (1946).
82. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **162**, 383 (1946).
83. Fisher R. B., "Protein Metabolism." Wiley, New York, 1954.
84. Cannon P. R., "Protein and Amino Acid Deficiencies." C. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1948.
85. Totter J. R., Day P. L., *J. Nutrition*, **24**, 159 (1942).
86. Albanese A. A., Randall R. M., Holt L. E., jr., *Science*, **97**, 312 (1943).
87. Harris H. A., Neuberger A., Sanger F., *Biochem. J.*, **37**, 508 (1943).
88. Gillespie M., Neuberger A., Webster J. A., *Biochem. J.*, **39**, 203 (1945).
89. Albanese A. A., Holt L. E., jr., Brumback J. E., jr., Hayes M., Kajdi C., Wangerin D. M., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **48**, 728 (1941); **52**, 209 (1943).

90. Sebrell W. H., *Federation Proc.*, **8**, 568 (1949).
91. Albanese A. A., Frankston J. E., *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **77**, 81 (1945).
92. Holt L. E., jr., Albanese A. A., Shettles L. B., Kajdi C., Wangerin D. M., *Federation Proc.*, **1**, 116 (1942).
93. Bennett M. A., *Gastroenterology*, **5**, 491 (1945).
94. Griffith W. H., *Biol. Symposia*, **5**, 193 (1941).
95. Daff F. S., Sebrell W. H., Lillie R. D., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **50**, 1 (1942).
96. Shaffer C. B., Critshfield F. H., *J. Biol. Chem.*, **174**, 489 (1948).
97. White A., in "Diseases of Metabolism" (Duncan, ed.), Saunders, Philadelphia, 1954.
98. Vigneaud V., du, Chandler J. P., Mayer A. W., Keppel D. M., *J. Biol. Chem.*, **131**, 57 (1939).
99. Vigneaud V., du, *Biol. Symposia*, **5**, 234 (1941).
100. Fischer A., *Biochem. J.*, **43**, 491 (1948).
101. Ehrensward G., Fischer A., Stjernholm R., *Acta Physiol. Scand.*, **18**, 218 (1949).
102. Fischer A., Astrup T., Ehrensward G., Oehlenschlager P., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **67**, 40 (1948).
103. Eagle H., *Science*, **122**, 501 (1955); *J. Biol. Chem.*, **214**, 839 (1955).
104. Eagle H., *J. Exptl. Med.*, **102**, 595 (1955); *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **89**, 96 (1955).
105. Evans V. J., Bryant J. C., Fioramonti M. C., McQuilkin W. T., Sanford K. K., Earle W. R., *Cancer Research*, **16**, 77 (1956).
106. Evans V. J., Bryant J. C., McQuilkin W. T., Fioramonti M. C., Sanford K. K., Westfall B. B., Earle W. R., *Cancer Research*, **16**, 87 (1956).
107. Healy G. M., Fisher D. C., Parker R. C., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **89**, 71 (1955); *Can. J. Biochem. Physiol.*, **32**, 327 (1954).
108. McMahon J. R., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **152**, 83 (1944).
109. Niven C. F., jr., *J. Bacteriol.*, **47**, 343 (1944).
110. Hutchings B. L., Peterson W. H., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **52**, 36 (1943).
111. Snell E. E., Guirard B. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **29**, 66 (1943).
112. Hac L. R., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **159**, 291 (1945).
113. Steinman H. G., Eagle H., Oyama V. I., *J. Biol. Chem.*, **200**, 775 (1953).
114. Snell E. E., *Advances in Protein Chem.*, **2**, 85 (1945).
115. Dunn M. S., *Physiol. Revs.*, **29**, 219 (1949).
116. Clander D. R., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **202**, 339 (1953).
117. Bauer C. D., Berg C. P., *J. Nutrition*, **26**, 51 (1953).
118. Totter J. R., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **127**, 375 (1939).
119. Vigneaud V., du, Dorfmann R., Loring H. S., *J. Biol. Chem.*, **98**, 577 (1932).
120. Cox G. J., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **107**, 497 (1934).
121. Berg C. P., *J. Nutrition*, **12**, 671 (1936).
122. Jackson R. W., Block R. J., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **30**, 587 (1932).
123. Rosa W. C., Womack M., *J. Biol. Chem.*, **166**, 103 (1946).
124. West H. D., Carter H. E., *J. Biol. Chem.*, **122**, 611 (1938).
125. Vigneaud V., du, Sealock R. R., Etten C., van J. *J. Biol. Chem.*, **98**, 565 (1932).
126. Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **104**, 373 (1934).

127. Oesterling M. J., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **196**, 33 (1952).
128. Bubl E. C., Butts J. S., *J. Biol. Chem.*, **174**, 637 (1948).
129. White J., Fones W. S., Sober H. A., *J. Biol. Chem.*, **199**, 505 (1952).
130. Baldwin H. R., Berg C. P., *J. Nutrition*, **39**, 203 (1949).
131. Loring H. S., Dorfmann R., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **103**, 403 (1933).
132. Langner R. R., Volkmann C. M., *J. Biol. Chem.*, **213**, 433 (1955).
133. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **206**, 587 (1954).
134. Harrow B., Sherwin C. P., *J. Biol. Chem.*, **70**, 683 (1926).
135. Cahill W. M., Rudolph G. G., *J. Biol. Chem.*, **145**, 201 (1942).
136. Bubl E. C., Butts J. S., *J. Biol. Chem.*, **180**, 839 (1949).
137. Jackson R. W., *J. Biol. Chem.*, **84**, 1 (1929).
138. Wood J. L., Cooley S. L., Kelley I. M., *J. Biol. Chem.*, **186**, 641 (1950).
139. Ratner S., Schoenheimer R., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **134**, 653 (1940).
140. Berg C. P., *Physiol. Revs.*, **33**, 145 (1953).
141. Grau C. R., Almquist H. J., *J. Nutrition*, **26**, 613 (1943).
142. Grau C. R., Almquist H. J., *J. Nutrition*, **28**, 263 (1944).
143. Grau C. R., Peterson D. W., *J. Nutrition*, **32**, 181 (1946).
144. Grau C. R., *J. Biol. Chem.*, **170**, 661 (1947).
145. Wilkening M. C., Schweigert B. S., *J. Biol. Chem.*, **171**, 209 (1947).
146. Grau C. R., *J. Nutrition*, **37**, 105 (1949).
147. Van Pilsum J. F., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **183**, 279 (1950).
148. Wretling K. A. J., *Acta Physiol. Scand.*, **17**, Suppl. 59, 1 (1949); **25**, 276 (1952); **20**, 1 (1950).
149. Phillips W. A., Berg C. P., *J. Nutrition*, **53**, 481 (1954).
150. Wood J. L., Cooley S. L., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **85**, 409 (1954).
151. Albanese A. A., *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **75**, 175 (1944).
152. Albanese A. A., *J. Biol. Chem.*, **158**, 101 (1945).
153. Albanese A. A., Irby V., Frankston J. E., *J. Biol. Chem.*, **160**, 25 (1945).
154. Albanese A. A., Frankston J. E., Irby V., *J. Biol. Chem.*, **160**, 441 (1945).
155. Albanese A. A., Irby V., Lein M., *J. Biol. Chem.*, **166**, 513 (1946).
156. Perlzweig W. A., Rosen F., Levitas N., Robinson J., *J. Biol. Chem.*, **167**, 511 (1947).
157. Waelsch H., Miller H. K., *J. Biol. Chem.*, **145**, 1 (1942).
158. Gaudry R., Martel F., *Compt. rend.*, **148**, 472 (1954).
159. Rydon H. N., *Biochem. Soc. Symposia (Cambridge, Engl.)*, **1**, 40 (1948).
160. Quastel J. H., Wooldridge W. R., *Biochem. J.*, **21**, 1224 (1927); **22**, 689 (1928).
161. Roblin R. O., jr., *Chem. Revs.*, **38**, 255 (1946).
162. Woolley D. W., *Advances in Enzymol.*, **6**, 729 (1946).
163. Roblin R. O., jr., *Ann. Rev. Biochem.*, **23**, 501 (1954).
164. Woolley D. W., "A Study of Antimetabolites." Wiley, New York, 1952.
165. Neurath H., Schwert G. W., *Chem. Revs.*, **46**, 69 (1950).
166. Halvorson H. O., Spiegelman S., *J. Bacteriol.*, **64**, 207 (1952).
167. McIlwain H., *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **22**, 148 (1941).
168. Greenberg D. M., Schulman M. P., *Science*, **106**, 271 (1947).
169. Snell E. E., Guirard B. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **29**, 66 (1943).
170. Dittmer K., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **52**, 1274 (1950).
171. Nielsen N., *Naturwissenschaften*, **31**, 146 (1943).

172. Wright L. D., Skeggs H. R., Arch. Biochem., **10**, 383 (1946).
173. Sarett H. P., Cheldelin V. H., J. Bacteriol., **49**, 31 (1945).
174. Horowitz N. H., Srb A. M., J. Biol. Chem., **174**, 371 (1948).
175. Teas H. J., J. Biol. Chem., **190**, 369 (1951).
176. Miller E. J., Harrison J. S., Nature, **166**, 1035 (1950).
177. Volcani B. E., Snell E. E., J. Biol. Chem., **174**, 893 (1948).
178. Walker J. B., J. Biol. Chem., **212**, 207 (1955).
179. Owaga M., J. Agr. Chem. Soc. Japan, **10**, 225 (1934); Chem. Abstr., **28**, 4458 (1934).
180. Owaga M., J. Agr. Chem. Soc. Japan., **11**, 11, 558 (1935); Chem. Abstr., **29**, 740, 3379 (1935).
181. Bonner J., Am. J. Botany, **36**, 323, 429 (1949).
182. Hunter A., Downs C. E., J. Biol. Chem., **157**, 427 (1945).
183. Gross R. E., Z. Physiol. Chem., **112**, 236 (1921).
184. Walker J. B., J. Biol. Chem., **212**, 617 (1955).
185. McIlwain H., J. Chem. Soc., **75** (1941).
186. Shive W., Ackerman W. W., Ravel J. M., J. Am. Chem. Soc., **69**, 2567 (1947).
187. Shive W., Macow J., J. Biol. Chem., **162**, 452 (1946).
188. Roberts E., Hunter P. F., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **83**, 720 (1953).
189. Dittmer K., Goering H. L., Goodman I., Cristol S. J., J. Am. Chem. Soc., **70**, 2499 (1948).
190. Simmonds D. H., Biochem. J., **58**, 520 (1954).
191. Borek E., Miller H. K., Sheiness P., Waelsch H., J. Biol. Chem., **163**, 347 (1946).
192. Borek E., Waelsch H., Arch. Biochem., **14**, 143 (1947).
193. Elliot W. H., Gale E. F., Nature, **161**, 129 (1948).
194. Lichtenstein N., Grossowicz N., J. Biol. Chem., **171**, 387 (1947).
195. Borek E., Waelsch H., J. Biol. Chem., **177**, 135 (1949).
196. Ayengar P., Roberts E., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **79**, 476 (1952).
197. Pace J., McDermott E. E., Nature, **169**, 415 (1952).
198. Heathcote J. G., Pace J., Nature, **166**, 353 (1950).
199. Roberts E., J. Biol. Chem., **202**, 359 (1953).
200. Lichtenstein N., Ross H. E., Cohen P. P., Nature, **171**, 45 (1953); J. Biol. Chem., **201**, 117 (1953).
201. Spizizen J., J. Infectious Diseases, **73**, 212 (1943).
202. Thompson R. L., J. Immunol., **55**, 345 (1947).
203. Edlbacher S., Baur H., Becker M., Z. physiol. Chem., **265**, 61 (1940).
204. Doudoroff M., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **53**, 73 (1943).
205. Harper A. E., Benton D. A., Winje M. E., Elvehjem C. A., Arch. Biochem. and Biophys., **51**, 523 (1954).
206. Fox S. W., Fling M., Bollenback G. N., J. Biol. Chem., **155**, 465 (1944).
207. Gross D., Tarver H., J. Biol. Chem., **217**, 169 (1955).
208. Harding W. M., Shive W., J. Biol. Chem., **174**, 743 (1948).
209. Brickson W. L., Henderson L. M., Solhjell I., Elvehjem C. A., J. Biol. Chem., **176**, 517 (1948).
210. Ryan F. J., Arch. Biochem. and Biophys., **36**, 487 (1952).
211. Hirsh M. L., Cohen G. N., Biochem. J., **53**, 25 (1953).
212. Buston H. W., Bishop J., J. Biol. Chem., **215**, 217 (1955).
213. Pagé E., Gaudry R., Gringras R., J. Biol. Chem., **171**, 831 (1948).
214. Daermann A. H., Arch. Biochem., **5**, 373 (1944).
215. McLaren A. D., Knight C. A., J. Am. Chem. Soc., **73**, 4478 (1951).
216. Goering H. L., Gristol S. J., Dittmer K., J. Am. Chem. Soc., **70**, 3314 (1948).

217. Roblin R. O., jr., Lampen J. O., English J. P., Cole Q. P., Vaughan J. R., jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 290 (1945).
218. Shaffer C. B., Critchfield F. H., *J. Biol. Chem.*, **174**, 489 (1948).
219. Porter J. R., Meyers F. P., *Arch. Biochem.*, **8**, 169 (1945).
220. Harris J. S., Kohn H. I., *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **73**, 383 (1941).
221. Simpson M. V., Farber E., Tarver H., *J. Biol. Chem.*, **182**, 81 (1950).
222. Simmonds S., Keller E. B., Chandler J. P., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **183**, 191 (1950).
223. Dyer H. M., *J. Biol. Chem.*, **124**, 519 (1938).
224. Stekol J. A., Weiss K., *J. Biol. Chem.*, **179**, 1049 (1949).
225. Stekol J. A., Weiss K., *J. Biol. Chem.*, **185**, 577, 585 (1950).
226. Farber E., Simpson M. V., Tarver H., *J. Biol. Chem.*, **182**, 91 (1950).
227. Keston A. S., Wortis S. B., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **61**, 439 (1946).
228. Levine M., Tarver H., *J. Biol. Chem.*, **192**, 835 (1951).
229. Tarver H., in "The Proteins" (Neurath and Bailey, eds.), Vol. II, Part B, p. 1199. Academic Press, New York, 1954.
230. Swendseid M. E., Swanson A. L., Bethell F. H., *J. Biol. Chem.*, **201**, 803 (1953).
231. Levy H. M., Montanez G., Murphy E. A., Dunn M. S., *Cancer Research*, **13**, 507 (1953).
232. Heathcote J. G., *Lancet*, **257**, 1130 (1949).
233. Doudney C. O., Wagner R. P., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **38**, 196 (1952); **39**, 1043 (1953).
234. Beerstecher E., jr., Shive W., *J. Biol. Chem.*, **167**, 527 (1947).
235. Beerstecher E., jr., Shive W., *J. Biol. Chem.*, **164**, 53 (1946).
236. Fox S. W., Warner C. K., *J. Biol. Chem.*, **210**, 119 (1954).
237. Baltus B. J., Elliott W. H., Doisy E. A., jr., Doisy E. A., *J. Biol. Chem.*, **194**, 627 (1952).
238. Burckhalter J. H., Stephens V. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 56 (1951).
239. Bergmann E. D., Sicher S., Volcani B. E., *Biochem. J.*, **54**, 1 (1953).
240. Mitchell H. K., Niemann C., *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 1232 (1947).
241. Atkinson D. E., Melvin S., Fox S. W., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **31**, 205 (1951).
242. Vigneaud V., du, McKennis H., jr., Simmonds S., Dittmer K., Brown G. B., *J. Biol. Chem.*, **159**, 385 (1945).
243. Dittmer K., Ellis G., McKennis H., jr., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **164**, 761 (1946).
244. Dittmer K., Herz W., Chambers J. S., *J. Biol. Chem.*, **166**, 541 (1946).
245. Garst R. G., Campaigne E., Day H. G., *J. Biol. Chem.*, **180**, 1013 (1949).
246. Ferger M. F., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **179**, 61 (1949).
247. Drea W. F., *J. Bacteriol.*, **56**, 257 (1948).
248. Dunn F. W., Dittmer K., *J. Biol. Chem.*, **188**, 263 (1951).
249. Kihara H., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **212**, 83 (1955).
250. Ferger M. F., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **174**, 241 (1948).
251. Dittmer K., *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 1205 (1949).
252. Herz W., Dittmer K., Cristol S. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 504 (1948).
253. Elliott D. F., Fuller A. T., Harington C. R., *J. Chem. Soc.* **85** (1948).

254. Beerstecher E., jr., Shive W., *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 461 (1947).
255. Lansford E. M., jr., Shive W., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **38**, 347 (1952).
256. Robbins W. J., McVeigh I., *Am. J. Botany*, **33**, 638 (1946).
257. Meinke W. W., Holland B. R., *J. Biol. Chem.*, **173**, 535 (1948).
258. Holland B. R., Meinke W. W., *J. Biol. Chem.*, **178**, 7 (1949).
259. Gladstone G. P., *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **20**, 189 (1939).
260. Buston H. W., Churchman J., Bishop J., *J. Biol. Chem.*, **204**, 665 (1953).
261. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **164**, 11 (1946).
262. Anderson T. F., *Science*, **101**, 565 (1945).
263. Fildes P., Rydon H. N., *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **28**, 211 (1947).
264. Marshall J. H., Woods D. D., *Biochem. J.*, **51**, ii (1952).
265. Cohen S. S., Anderson T. F., *J. Exptl. Med.*, **84**, 525 (1946).
266. Erlenmeyer H., Grubemann W., *Helv. Chim. Acta*, **30**, 297 (1947).
267. Dittmer K., Herz W., Cristol S. J., *J. Biol. Chem.*, **173**, 323 (1948).
268. Fildes P., *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **22**, 293 (1941).
269. Block H., Erlenmeyer H., *Helv. Chim. Acta*, **25**, 694, 1063 (1942).
270. Avakian S., Mars J., Martin G. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 3075 (1948).
271. Delbrück M., *J. Bacteriol.*, **56**, 1 (1948).
272. Niemann C., Rapport M. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **68**, 1671 (1946).
273. Benton D. A., Harper A. E., Spivey H. E., Elvehjem C. A., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **60**, 147 (1956).
274. Levine M., Fopeano J. V., jr., *J. Biol. Chem.*, **202**, 597 (1953).
275. Stekol J. A., Weiss K., Weiss S., *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2309 (1950).
276. Schlenk F., Tillotson J. A., *J. Biol. Chem.*, **206**, 687 (1954).
277. Blaschko H., Stinen J., *Biochem. J.*, **46**, 88 (1950).
278. Frieden E., Hsu L. T., Dittmer K., *J. Biol. Chem.*, **192**, 425 (1951).
279. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **185**, 293 (1950).
280. Damodaran M., Narayanan K. G. A., *Biochem. J.*, **34**, 1449 (1940).
281. Walker J. B., *J. Biol. Chem.*, **204**, 139 (1953).
282. Oginsky E. L., Gehrig R. F., *J. Biol. Chem.*, **198**, 799 (1952).
283. Stevens C. M., Bush J. A., *J. Biol. Chem.*, **183**, 139 (1950).
284. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **166**, 783 (1946).
285. Shive W., Roberts E. C., *J. Biol. Chem.*, **162**, 463 (1946).
286. Shive W., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **52**, 1212 (1950).
287. Hopps H. E., Wissemann C. L., jr., Hahn F. E., Smadel J. E., Ho R., *J. Bacteriol.*, **72**, 561 (1956).
288. Elvehjem C. A., *Federation Proc.*, **15**, 965 (1956).
289. Halvorson H., Spiegelman S., Hinman R. L., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **55**, 512 (1956).
290. Nasset E. S., in "Amino Acid Supplementation" (Cole ed.) p. 3. Rutgers Univ. Press. New Brunswick, New Jersey.
291. Van Slyke D. D., Palmer W. W., *J. Biol. Chem.*, **41**, 567 (1920).
292. Scott E. B., *Arch. Pathol.*, **58**, 129 (1954).
293. Scott E. B., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **92**, 134 (1956).
294. Vigneaud V., du, Crafts H., Loring H. S., *J. Biol. Chem.*, **104**, 81 (1934).
295. Shrift A., *Am. J. Botany*, **41**, 345 (1954).
296. Benton D. A., Harper A. E., Spivey H. E., Elvehjem C. A., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **60**, 156 (1956).
297. Sauberlich H. E., Salmon W. D., *J. Biol. Chem.*, **214**, 463 (1955).

Глава III

ОБЩАЯ БИОХИМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ АМИНОКИСЛОТНОГО ОБМЕНА

ПЕРЕНОС АМИНОКИСЛОТ В КЛЕТКИ

Внутриклеточному обмену аминокислот, естественно, должен предшествовать их перенос через клеточную мембрану. Механизмы, обеспечивающие этот процесс, еще не выяснены, хотя и исследован ряд участвующих в нем факторов. Для изучения процесса поглощения аминокислот используются различные экспериментальные модели: препараты кишечника, тканевые срезы, эритроциты, свободные клетки опухолей, суспензии бактерий. Один из применяемых для этих целей экспериментальных приемов состоит в инкубировании изолированных клеток в среде, содержащей аминокислоты, и в определении начальной и конечной концентраций аминокислот в растворе и в клетках. Другой способ заключается в определении аминокислоты, появляющейся в растворе, омывающем серозную поверхность петли кишечника, в которую введен раствор аминокислот.

Из имеющихся в настоящее время данных следует, что аминокислоты могут проникать в клетки как путем простой диффузии, так и в результате активного процесса, при помощи которого они концентрируются внутри клеток. Наличие активного переноса подтверждается данными опытов, показавших, что внутриклеточная концентрация аминокислот значительно превышает концентрацию их во внеклеточной жидкости, а также, что L-изомеры аминокислот проникают в клетки значительно быстрее, чем соответствующие им D-изомеры. Перенос определенной аминокислоты в клетки разных типов может осуществляться неодинаковыми механизмами; наряду с этим у клеток одного типа механизм поглощения разных аминокислот может быть различным. Явление концентрирования аминокислот играет существенную роль при всасывании аминокислот из пищеварительного канала, при их реабсорбции в почках и при переносе аминокислот из материнской крови в кровь плода [1].

Получены убедительные данные, подтверждающие способность клеток организма млекопитающих концентрировать аминокислоты. Концентрация аминокислот в тканях значительно выше, чем в жидкостях тела [2]. Аминокислоты, введенные в пищеварительный канал или в кровяное русло, быстро уда-

ляются из крови и накапливаются в тканях. Ван-Слайк и Мейер [3] уже давно пришли к выводу, что высокую концентрацию аминокислот в тканях нельзя объяснить простой диффузией; эти авторы высказали предположение о возможных механизмах переноса, связанных с адсорбцией аминокислот или с образованием непрочных молекулярных соединений между аминокислотами и белками. В 1912 г. Ван-Слайк и Мейер писали, что «обсуждение этого вопроса в настоящее время преждевременно». Хотя за 45 лет, истекших с того времени, появилось много экспериментальных работ, посвященных проблеме переноса аминокислот, до сих пор нельзя прийти к окончательному заключению относительно механизма этого процесса.

По-видимому, большая часть белков пищи подвергается в пищеварительном канале гидролизу на составляющие их аминокислоты, и, следовательно, аминокислоты всасываются из кишечника преимущественно, если не исключительно, в свободном виде. Не существует данных, полностью исключающих возможность того, что некоторые белки могут всасываться как таковые.

Данные, свидетельствующие о всасывании яичного белка через грудной лимфатический проток, получены при помощи иммунологических методов [4]. Фишер [5] и некоторые другие авторы считают, что аминокислоты могут всасываться в виде пептидов; возможно, что всасывание пептидов в небольших количествах действительно имеет место (стр. 483). Концентрация пептидов в плазме крови крайне незначительна [2], однако это не позволяет исключить участие пептидов или ациламино кислот в процессе всасывания.

Процессу всасывания аминокислот в кишечнике посвящен ряд исследований. В опытах на интактных животных было показано, что содержание аминного азота в крови быстро нарастает после приема отдельных аминокислот (например, глутаминовой кислоты, лейцина) [6, 7]. В некоторых исследованиях [8—10] получены данные, согласующиеся с механизмом всасывания путем простой диффузии, однако очевидно, что существует и механизм активного всасывания. Так, было найдено, что всасывание аланина, глицина и валина не пропорционально концентрации этих аминокислот в просвете кишечника [11]. Далее, установлено, что при внесении растворов DL-аминокислот в изолированную петлю тонкого кишечника крысы L-изомеры аминокислот поглощаются со значительно большей скоростью, чем соответствующие D-изомеры [12]. В других опытах с препаратами тонких кишок также было отмечено более быстрое всасывание L-аминокислот по сравнению с их D-изомерами [13—20]. Так, например, после внесения рацемического аланина

в петлю тонкого кишечника кошки венозная кровь, оттекающая от петли, богаче L-аланином, чем D-аланином [14, 15]; такие же результаты были получены с рацемическим фенилаланином и лейцином [13]. В исследованиях этого рода показано также, что L-глутаминовая и L-аспарагиновая кислоты не поглощаются из кишечника против градиента концентрации [17].

В опытах *in vitro*, при которых изолированные отрезки тонкой кишки погружали в суспензионную жидкость [21], было найдено, что L-гистидин и L-фенилаланин в противоположность D-изомерам этих аминокислот переносятся через стенку кишечника против градиента концентрации. L-Глутаминовая кислота переносится с такой же скоростью, что и вода, в которой она растворена [19]. Перенос аминокислот против градиента концентрации тормозится цианидом и 2,4-динитрофенолом; в присутствии этих ингибиторов скорость всасывания L-изомеров была приблизительно равна скорости всасывания D-изомеров [20]. В опытах с изолированным отрезком тонкой кишки морской свинки L-изомеры гистидина и аланина переносились из просвета кишечника в раствор, омывающий серозную поверхность, значительно быстрее, чем соответствующие D-изомеры; перенос L-аминокислот был заторможен в анаэробных условиях, а также в присутствии 2,4-динитрофенола.

Флоридзин не оказывает влияния на активное всасывание L-аминокислот [18]. Еще ранее было отмечено, что у крыс, получавших флоридзин, всасывание глицина и аланина происходило быстрее, чем в нормальных условиях, тогда как всасывание глюкозы было нарушено [22]. Найдено, что 4-дезоксипиридоксин тормозит всасывание DL-аланина из препаратов кишечника морской свинки [18], а также, подобно 2,4-динитрофенолу, тормозит поглощение глюкозы и фруктозы [23]. Совокупность имеющихся данных указывает на зависимость механизма всасывания от сохранности дыхания и на возможную связь его с процессами фосфорилирования. Тот факт, что флоридзин тормозит всасывание сахаров, но не подавляет всасывание аминокислот, свидетельствует о том, что поглощение аминокислот и сахаров осуществляется при помощи различных механизмов. Тормозящее влияние 4-дезоксипиридоксина указывает на возможное участие витамина B₆ в процессе всасывания аминокислот; с этим предположением согласуются также данные других исследований (стр. 169). Опыты, касающиеся всасывания аминокислот препаратами кишечника, показали, что всасывание аминокислот не задерживается в присутствии глюкозы, за исключением тех случаев, когда концентрация последней очень высока; эти данные вновь подтверждают наличие разных механизмов всасывания для аминокислот и сахаров. Заслуживает

внимания, что глутамин всасывается нерасщепленным и притом значительно быстрее, чем глутаминовая кислота. Аспарагин также всасывается быстрее, чем аспарагиновая кислота, однако он в процессе всасывания подвергается гидролизу [18]. Эти данные созвучны с результатами других исследований, согласно которым глутамин проникает в различные ткани, в особенности в ткань мозга, значительно быстрее, чем глутаминовая кислота (стр. 174).

Поглощение аминокислот наблюдали и в других экспериментальных системах. Так, например, было найдено, что срезы коры головного мозга морской свинки накапливают L-глутаминовую кислоту против градиента концентрации [24]. L-Глутамин поглощался корой головного мозга значительно быстрее, однако конечные концентрации аминокислоты в ткани в опытах с глутаминовой кислотой и глутамином были примерно одинаковы. В опытах с глутаминовой кислотой нарастание ее концентрации в ткани прекращалось, когда разность между концентрациями кислоты в ткани и в окружающей среде составляла около 0,02 М. Эритроциты человека и утки, а также ретикулоциты кролика способны концентрировать аминокислоты. Активность ретикулоцитов кролика подавляется 2,4-динитрофенолом и цианидом; на концентрирование аминокислот эритроцитами человека и утки эти агенты почти не оказывают влияния [25, 26].

Изолированная диафрагма крысы накапливает глицин; этот процесс чувствителен к действию цианида и 2,4-динитрофенола [27, 28]. Активное поглощение глицина тканями наблюдали также в опытах *in vivo* на морских свинках при кормлении их глицином [29—31]. Количество поглощаемого тканями глицина снижалось, если животным одновременно с глицином давали другие аминокислоты; эти данные указывают на существование конкурентных соотношений между аминокислотами в процессе их переноса. Есть основание предполагать, что многие аминокислоты концентрируются в тканях посредством одного и того же механизма.

Кристенсен и сотрудники [32—35] применили для изучения переноса аминокислот удачный экспериментальный объект. Эти исследователи обнаружили, что свободные клетки мышинной карциномы Эрлиха поглощают аминокислоты активнее, чем клетки большинства других тканей млекопитающих. При подходящих условиях градиенты концентрации глицина между клетками опухоли и суспензионной средой превышали 60 *ммолей* на 1 л воды. Активное концентрирование аминокислот тормозилось в условиях анаэробноза, а также под влиянием цианида, арсената, 2,4-динитрофенола, малоната, ауреомицина и хлоро-

мицетина. Поглощению глицина сопутствовали выход ионов калия из клеток и поступление в них воды и ионов натрия [32].

При интерпретации данных, относящихся к процессу переноса аминокислот, большое значение приобретает вопрос о состоянии аминокислот внутри клетки. Вполне очевидно, что поглощение той или иной аминокислоты клеткой может зависеть от концентрации аминокислоты в окружающей жидкости, от активности системы, переносящей аминокислоту в клетку, и от превращений, которым аминокислота подвергается в реакциях клеточного обмена. Различными способами удается извлечь из клеток свободные аминокислоты; однако не исключено, что в неповрежденных клетках они находятся в связанной форме. Соответствующие связи могут быть сравнительно нестойкими и способными распадаться даже при мягких условиях экстракции. Между тем данные исследований Кристенсена [32—34] и Гайнца [35] указывают на то, что легко экстрагируемые из клеток аминокислоты существуют в клетках в виде свободных аминокислот. Для удержания глицина в тех высоких концентрациях, в которых он поглощается клетками асцитной опухоли, потребовались бы столь же высокие концентрации связывающего агента; данных, указывающих на наличие подобного агента, до сих пор не получено. Наблюдения, показавшие, что вместе с аминокислотами в клетки поступает вода, также говорят в пользу присутствия в клетках свободных аминокислот. В опытах со свободными раковыми клетками наблюдалась прямая зависимость между градиентом концентрации глицина и увеличением содержания воды в клетках (осмотический эффект). Гайнец [35] в опытах на клетках асцитной опухоли исследовал кинетику поступления и выхода глицина в процессе переноса и нашел, что зависимость между скоростью притока глицина в клетки и концентрацией глицина в среде можно описать уравнением Михаэлиса — Ментена. Скорость поступления глицина не снижается и даже возрастает при предварительном насыщении клеток глицином. Автор приходит к выводу, что фактором, ограничивающим скорость поглощения глицина, служит связывание глицина с каким-то компонентом клеточной стенки. Полученные им результаты согласуются с представлением о наличии глицина в клетках в свободном состоянии и указывают на то, что выход глицина происходит главным образом путем диффузии.

Природа первичного акта связывания аминокислот, на существование которого указывают данные кинетики, не известна. Данные, согласно которым пиридоксаль стимулирует накопление аминокислот клетками мышинной карциномы, свидетельствуют о возможном участии витамина В₆ в этом процессе [36]. Асцитные клетки, полученные от В₆-авитаминозных мышей,

отличаются более слабой активностью переноса аминокислот от клеток опухоли, развившейся у контрольных мышей. Хотя эти наблюдения дают основание предполагать, что витамин В₆ принимает участие в процессе переноса аминокислот, было найдено, что пиридоксальфосфат менее активен, чем свободный пиридоксаль. Помимо того, оказалось, что 4-нитросалицилальдегид в такой же степени стимулирует поглощение аминокислот, как и пиридоксаль [37].

Кристенсен и его сотрудники [34, 38—42, 696—698] исследовали накопление целого ряда аминокислот клетками мышинной карциномы. Было обнаружено, что в клетках мышинной карциномы концентрируются как L-, так и D-изомеры аминокислот, причем L-изомеры — более активно. Как правило, с удлинением боковой цепи перенос аминокислот затрудняется; аминокислоты, обладающие электроноакцепторными заместителями (например, орнитин, метионин, оксипролин), концентрируются клетками более активно. Присутствие метильной группы в α -положении повышает интенсивность накопления, тогда как наличие в молекуле второй карбоксильной группы обычно ее снижает. Диаминокислоты, например орнитин, лизин, α, γ -диаминоасляная кислота и α, β -диаминопропионовая кислота, концентрируются в клетках легче, чем соответствующие моноаминокислоты. Полученные данные согласуются с представлением, по которому реакции переноса протекают значительно легче, если аминогруппа находится в незаряженной форме, т. е. в той форме, которая легко реагирует с образованием ацильных производных или шиффовых оснований. Кристенсен выдвигает предположение о возможности образования шиффовых оснований как промежуточного этапа в механизме переноса аминокислот. Из участия α -метиламинокислот в таких реакциях можно заключить, что наличие α -водородного атома несущественно для переноса; возможно, что отсутствие α -водородного атома повышает стабильность промежуточного шиффова основания. Быстрое поглощение диаминокислот также свидетельствует в пользу того, что они вступают с пиридоксалем в стабильные промежуточные комплексы типа шиффовых оснований [34]. Было также найдено, что отсутствие свободной карбоксильной группы или ацилирование аминогруппы снижает или полностью подавляет накопление данной аминокислоты клетками.

Поглощение аминокислот бактериальными клетками было исследовано у целого ряда видов. Механизм этого процесса у бактерий существенно отличается от механизма его в клетках млекопитающих; резкие различия наблюдаются также между отдельными видами микроорганизмов. Исследование поглощения аминокислот бактериями осложняется наличием одновременно

протекающих превращений аминокислот в клетках, в том числе реакций распада аминокислот и реакций, ведущих к синтезу белка. Исследования, проведенные Робертсом и его сотрудниками [43] на *Escherichia coli*, показывают, что клеточная мембрана этого микроорганизма легко проницаема для многих соединений. По мнению этих авторов, единственным механизмом, посредством которого у *E. coli* осуществляется поглощение аминокислот и других веществ, является простая диффузия, причем компоненты среды свободно диффундируют в «водное пространство» клетки. Поэтому в «водном пространстве» и в окружающей среде должна устанавливаться одинаковая концентрация веществ. В опытах по измерению объема «водного пространства» путем приведения клеток в равновесие с растворами различных меченных изотопами соединений (в том числе и аминокислот) с последующим анализом отцентрифугированных клеток и надосадочной жидкости были получены приблизительно одни и те же величины. Из этих опытов следует, что концентрации способных диффундировать веществ в клетках *E. coli* и в окружающей среде примерно одинаковы, за исключением тех случаев, когда эти вещества связываются в клетке или используются в процессах обмена.

Наряду с этим имеются противоположные данные, согласно которым *E. coli* и некоторые другие микроорганизмы способны накапливать аминокислоты против градиента концентрации. Так, например, Гейл и Родуэлл [44] обнаружили, что клетки *Streptococcus faecalis*, суспендированные в растворах лизина, накапливают лизин; в этих условиях концентрация лизина внутри клеток достигает значительно более высокого уровня, чем в окружающей жидкости. Эти результаты как будто свидетельствовали о наличии процесса активного поглощения лизина клетками. Однако было найдено, что при определенных экспериментальных условиях лизин может свободно проникать в клетки *Str. faecalis* и выходить из них [45, 46]. Авторы пришли к выводу, что наблюдаемые явления можно объяснить на основе известных физических закономерностей, которым подчиняется распределение вещества по обе стороны полупроницаемой мембраны.

Возможно, что у *E. coli* происходит какой-то процесс фиксации накапливаемых аминокислот, предшествующий их включению в белки [47]. При инкубировании *E. coli* в среде, содержащей C^{14} -валин, концентрация валина в клетках достигала величин, в 1000 раз превышающих концентрацию его в среде. Поглощенный валин удавалось конкурентно вытеснить лейцином или изолейцином. Процесс поглощения был специфичен для L-валина и протекал значительно быстрее, чем включение этой

аминокислоты в белки. Хотя природа процесса фиксации осталась невыясненной, было высказано предположение, что в клетках *E. coli* имеются специфические акцепторы для аминокислот.

Гейлом и его сотрудниками [45, 46, 48, 49] было изучено также накопление глутаминовой кислоты клетками *Streptococcus faecalis* и *Staphylococcus aureus*. Как и в опытах, касающихся поглощения лизина, были получены данные, согласно которым глутаминовая кислота может легко перемещаться между «водным пространством» клеток и окружающей средой. Однако в присутствии глюкозы имеет место накопление глутаминовой кислоты в клетках. Совершенно очевидно, что для выяснения этого вопроса необходимо преодолеть ряд экспериментальных трудностей; некоторые из них были подробно рассмотрены Гейлом [45] и Кристенсенем [34].

ОБМЕН АМИНОГРУППЫ

Общие замечания

Процессы распада аминокислот обычно протекают с отщеплением аминогруппы от углеродного остова аминокислоты. Углеродная цепь аминокислот превращается в продукты, которые образуются также в процессе обмена жиров и углеводов; в дальнейшем эти продукты подвергаются полному окислению. Аминный азот переходит в состав мочевины, мочевой кислоты и аммиака. Эти три соединения являются главными конечными продуктами азотистого обмена; в значительно меньших количествах экскретируются другие азотсодержащие соединения — креатинин, индикан, аллантаин, свободные и связанные аминокислоты и пурины.

Значительный интерес представляют видовые различия, наблюдающиеся в отношении главных конечных продуктов азотистого обмена. У млекопитающих основным конечным продуктом является мочевина; в небольших количествах выделяются также мочевая кислота, креатинин, аллантаин и аммиак. Мочевина образуется и накапливается в организме у некоторых видов водных позвоночных, например у акулых рыб; у некоторых земноводных она представляет главный конечный продукт азотистого обмена. Головастики экскретируют преимущественно аммиак; в процессе метаморфоза этот тип экскреции сменяется образованием мочевины. Птицы и пресмыкающиеся образуют главным образом мочевую кислоту. В процессе развития куриного эмбриона на самых ранних стадиях образуется аммиак, затем следует стадия образования мочевины; у вылупившихся цыплят устанавливается окончательный тип экскреции — образование мочевой кислоты.

У водных беспозвоночных образование аммиака представляет главный путь экскреции азота. Отмечено, что образование и выделение мочевины и особенно мочевой кислоты свойственно наземным формам, а образование аммиака — водным. Из этого можно заключить, что с эволюционной точки зрения обезвреживание аммиака путем превращения его в другие конечные продукты азотистого обмена представляет собой необходимое приспособление, сопровождающее переход от водного обитания к наземному [50—52].

У некоторых морских видов одним из экскреторных азотистых продуктов является окись триметиламина $[(\text{CH}_3)_3\text{N}=\text{O}]$. Это соединение в малых количествах может появляться и в моче млекопитающих, возможно как продукт окисления триметиламина бактериями [53]. У пауков некоторых видов одним из главных конечных продуктов азотистого обмена является гуанин, заменяющий у них, очевидно, мочевую кислоту [54].

Образование аммиака

Различные аминокислоты могут дезаминироваться неодинаковыми путями, и дезаминирование одной определенной аминокислоты может осуществляться при помощи нескольких механизмов. Кроме того, существуют значительные видовые различия в преобладании того или другого механизма дезаминирования. Несмотря на указанные различия, дезаминирование большинства аминокислот осуществляется у самых разнообразных видов в основном двумя общими путями, а именно: путем окислительного дезаминирования (стр. 182), приводящего к образованию соответствующей α -кетокислоты и аммиака, и путем переаминирования (стр. 210), при котором α -кетокислота образуется в результате переноса аминогруппы на другую молекулу.

У млекопитающих реакции переаминирования играют существенную роль в дезаминировании аминокислот. Аминогруппа передается путем переаминирования к глутаминовой кислоте; последняя дезаминируется окислительным путем под действием высокоактивной и широко распространенной глутаматдегидрогеназы. Дезаминирование некоторых аминокислот, например цистеина, серина, треонина, гомоцистеина, гомосерина, аспарагиновой кислоты, гистидина и триптофана, осуществляется особыми ферментами (см. гл. IV).

Образование аммиака может происходить и при других реакциях обмена, помимо дезаминирования аминокислот. В частности, аммиак образуется при гидролитическом дезаминировании гуанина, адениловой кислоты, цитидина и других пуриновых и пиримидиновых производных, а также при окислении аминов аминоксидазами (стр. 192). Образование аммиака проис-

ходит при ферментативном дезамидировании глутамина, аспарагина и ω -амидов соответствующих дикарбоновых α -кетокислот.

В организме млекопитающих к образованию аммиака приводит еще один процесс, а именно — гидролиз мочевины на аммиак и двуокись углерода, катализируемый уреазой бактериальной флоры кишечника. Усвоение мочевины млекопитающими, установленное при некоторых исследованиях в области биохимии питания, а также в опытах с применением изотопного метода, происходит, по-видимому, в результате расщепления мочевины бактериями [55] (стр. 123). Известно, что в крови воротной вены концентрация аммиака относительно высока; при изучении происхождения этого аммиака было найдено, что большая часть его всасывается в кровь из слепой кишки, хотя ощутимые количества аммиака всасываются и из других отделов желудочно-кишечного тракта [56, 57]. Основная масса аммиака, содержащегося в крови воротной вены, образуется, вероятно, в результате действия уреазы бактерий на мочевину, доставляемую к кишечнику с током крови. Кроме того, образование аммиака происходит и при других реакциях, катализируемых ферментами пищеварительного канала и ферментами микроорганизмов кишечной флоры.

В противоположность относительно высокому содержанию аммиака в крови воротной вены содержание его в периферической крови в других жидкостях тела и тканях млекопитающих очень низко. У человека нормальное содержание аммиака в венозной крови крайне низко или равно нулю [58]. Определение количества аммиака в крови затрудняется быстрым приростом аммиака в выпущенной крови, что связано, очевидно, с дезаминированием адениловой кислоты и, возможно, какого-то соединения, содержащего карбамидную группу [59, 60]. В связи с этим интересно отметить, что быстрое образование аммиака в свежес выпущенной крови обусловлено присутствием эритроцитов. Содержание аммиака в крови повышено при некоторых патологических состояниях (см. гл. V). Определение содержания его в тканях и жидкостях тела при различных экспериментальных условиях представляет довольно сложную задачу как ввиду трудностей технического порядка, связанных с измерением очень малых количеств этого соединения, так и вследствие того, что в тканях и жидкостях тела после извлечения их из интактного организма может происходить быстрое образование аммиака. Эти вопросы подробно рассмотрены в обзоре Бесмана [58].

Использование аммиака

Весьма низкие концентрации аммиака в большей части тканей и жидкостей тела млекопитающих указывают на существо-

вание в организме эффективных механизмов его устранения. Известно, что аммиак обладает высокой токсичностью: так, например, в классических исследованиях Самнера [61] было показано, что введение уреазы в организм животных приводит к их гибели вследствие отравления аммиаком. Как указано выше, удаление аммиака из тела некоторых низших водных организмов происходит путем простой диффузии его в окружающую среду. Животных, экскретирующих аммиак в качестве главного конечного продукта азотистого обмена, относят к аммонотелическому типу, а тех, которые выделяют преимущественно мочевую кислоту (птицы, пресмыкающиеся), — к урикотелическому. У млекопитающих большая часть аммиака обезвреживается путем превращения в мочевины (уреотелический тип азотистого обмена); мочевина и другие азотистые продукты, в том числе аммиак, выводятся с мочой. Высшим растениям не свойственны специальные экскреторные механизмы; у некоторых из них аммиак присоединяется к ω -карбоксильным группам аспарагиновой и глутаминовой кислот, причем во многих случаях наблюдается накопление амидов одной или обеих дикарбоновых аминокислот в значительных количествах.

Образование аспарагина и глутамин имеет место и у животных; получены убедительные доказательства важной роли глутамин в качестве резервной и транспортной форм аммиака в интактном организме животных [62]. Глутамин является одним из главных небелковых азотистых веществ крови у млекопитающих; у человека на его долю приходится около 20% аминного азота крови. В жидкостях тела концентрация глутамин, как правило, выше концентрации глутаминовой кислоты; в тканях наблюдаются обратные соотношения. Найдено, что глутамин переходит в клетки значительно легче, чем глутаминовая кислота. Так, например, при внутривенном введении экспериментальным животным глутамин (но не глутаминовая кислота) может проникать в мозг [63]. Установлено также, что глутамин всасывается в желудочно-кишечном тракте как таковой; заметного гидролиза глутамин в процессе всасывания не происходит [18, 64]. Амидный азот глутамин подвергается в печени ряду превращений, в том числе превращениям, в итоге которых образуется мочевина. Амидная группа глутамин служит, кроме того, главным источником аммиака мочи.

Ван-Слайк и его сотрудники [65] в опытах на собаках с введенными под кожу почками показали, что большая часть аммиака мочи образуется за счет амидного азота глутамин. Эти авторы параллельно определяли концентрацию глутамин в крови почечных сосудов и образование аммиака мочи. В ряде опытов было отмечено, что то количество амидного азота

глутамину, которое удалялось из крови, не покрывает всего аммиака мочи; появление остального аммиака может быть отнесено за счет исчезновения из крови небольших количеств α -аминоазота. Мысль о том, что источником части аммиака мочи может служить азот других аминокислот, в дальнейшем нашла подтверждение [66, 67]. Было найдено, что у собак с экспериментальным ацидозом внутривенное введение некоторых аминокислот увеличивает количество аммиака, выводимого с мочой. Этот эффект наблюдался при введении целого ряда аминокислот, например глицина, L-лейцина, L-аспарагина, L-аланина, L-гистидина; введение других аминокислот — L-лизина, L-глутаминовой кислоты и L-аргинина — не оказывало подобного действия.

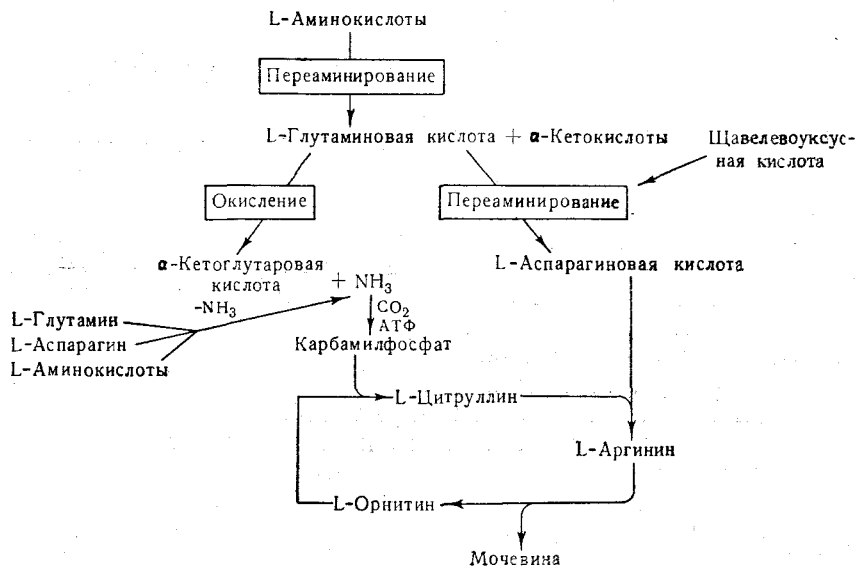
Ферментные препараты из почек крыс с экспериментальным ацидозом активнее образуют аммиак из глутамину, глицину и лейцину, чем аналогичные препараты из почек контрольных крыс [68, 69]. Алкалоз, напротив, приводит к снижению интенсивности дезаминирования этих аминокислот. Видовые различия в активности глутаминазы почек хорошо согласуются с различиями в способности к выведению аммиака с мочой [70].

В опытах на крысах было показано, что внутривенно введенный N^{15} -аммоний может выводиться как таковой [71]; однако в физиологических условиях аммиак крови, по-видимому, не имеет существенного значения как источник аммиака мочи. Главную роль в образовании аммиака играют: а) дезаминирование глутамину и б) действие ферментной системы, состоящей из глутамат-трансаминазы и глутаматдегидрогеназы. Следует учитывать также возможность участия в этом процессе глициноксидазы, поскольку в моче обнаружена глиоксиловая кислота [62]. Однако значение глицинооксидазы в обмене веществ взято под сомнение [72]; возможно, что глиоксиловая кислота мочи представляет продукт других превращений.

После введения глутамину и других аминокислот в организм млекопитающих большая часть введенного азота выводится в виде мочевины. В ранних исследованиях Кребса и Гензелейта было показано, что образование мочевины тесно связано с циклическими превращениями аргинина, орнитина и цитруллина (стр. 338); из этих исследований вытекало, что для превращения орнитина в цитруллин и цитруллина в аргинин необходим аммиак (или донатор аммиака). В настоящее время известно, что непосредственным источником одного из атомов азота амидиновой группы аргинина служит аминокислота аспарагиновой кислоты. Источником атома азота, необходимого для превращения орнитина в цитруллин, служит карбамилфосфат,

который синтезируется из карбаминовой кислоты и аденозинтрифосфата (стр. 341).

Наличие в тканях млекопитающих общей, активной в физиологических условиях, ферментной системы дезаминирования L-аминокислот до сих пор не доказано; в то же время многие экспериментальные факты говорят о существовании активных систем переаминирования. Превращение азота большей части аминокислот в мочевину протекает двумя путями; а) путем реакций переаминирования, приводящих к образованию глутаминовой кислоты, с последующим окислительным дезаминированием последней; освободившийся при этом процессе аммиак используется для синтеза карбамилфосфата; б) путем реакций переаминирования, приводящих к образованию аспарагиновой кислоты. Одна из важных функций глутамат-аспартат-трансаминазы состоит в образовании аспарагиновой кислоты, используемой для синтеза аргинина. Рассмотренные превращения можно схематически изобразить следующим образом:



Хотя эта схема дает весьма упрощенную картину процесса превращения аминных групп в мочевину (см. гл. IV), показанный на схеме путь превращения можно считать доказанным.

Щавелевоуксусная и α-кетоглутаровая кислоты образуются в цикле лимонной кислоты. Аммиак образуется при дезамидировании глутамин и аспарагин, а также при действии специфических дезаминаз на некоторые аминокислоты (гистидин, серин,

треонин, цистеин). Некоторые из приведенных в схеме реакций обратимы. Так, в результате сочетанного действия глутаматдегидрогеназы и соответствующих трансминаз происходит аминирование α -кетокислот с образованием аминокислот.

Деаминирование и реаминирование в тканях млекопитающих может, вероятно, осуществляться и другими путями (стр. 194). Помимо специфических дезаминаз, в деаминировании аминокислот, возможно, принимают некоторое участие и оксидазы L-аминокислот, однако, по данным новейших исследований, этот процесс не играет в количественном отношении значительной роли.

Динамическое состояние аминокислот и белков

Наличие у млекопитающих активных ферментных систем деаминирования и реаминирования было убедительно показано в опытах на крысах, которым вводили N^{15} -аммоний и N^{15} -аминокислоты. В классических работах Шёнхаймера и его сотрудников [73—80] было обнаружено, что введение крысам N^{15} (в виде солей аммония или аминокислот) приводит к появлению изотопной метки почти во всех аминокислотах. Было установлено, что в тканях концентрация изотопа, как правило, наиболее высока в той аминокислоте, которая была введена животному, далее в порядке убывающих концентраций изотопа следуют глутаминовая и аспарагиновая кислоты.

После скармливания N^{15} -аспарагиновой кислоты наивысшая концентрация изотопа обнаруживается в выделенной из тканевых белков глутаминовой кислоте. Высокая концентрация изотопа в дикарбоновых аминокислотах хорошо согласуется с большой скоростью переаминирования этих аминокислот и с данными о включении азота аммиака в глутаминовую кислоту под действием глутаматдегидрогеназы. Тот факт, что после скармливания животным N^{15} -аспарагиновой кислоты наибольшая концентрация изотопа обнаруживается в глутаминовой кислоте, находится в соответствии с широким распространением и высокой активностью глутамат-аспартат-трансминазы. Исследования Шёнхаймера и его сотрудников показали также, что, хотя введенные *per os* N^{15} -аминокислоты могут служить прямыми предшественниками соответствующих аминокислот белка, они разбавляются в организме одноименными присутствующими в нем аминокислотами.

До работ Шёнхаймера Фолин [81] предложил теорию «экзогенного» и «эндогенного» обмена. В этой теории принималось существование двух типов обмена азотистых веществ. В одном из них (экзогенном), зависимом от состава диеты, главным конечным продуктом являлась мочевины. В эндогенном обмене,

который, согласно Фолину, протекает независимо от влияния диеты, одним из характерных конечных азотистых продуктов считался креатинин. Эндогенный обмен Фолин рассматривал как проявление «износа» тканей тела. Данные Шёнхаймера и его сотрудников не согласовались с концепцией Фолина; напротив, они подкрепляли представления Борсука и Кейли [82] о «непрерывном обмене». Изотопные исследования Шёнхаймера показали, что аминокислоты и белки тканей находятся в динамическом состоянии в условиях как положительного, так и отрицательного баланса азота.

В одной из работ крысам вводили тяжелый изотоп азота в виде D-лейцина; количество включенного в белки N^{15} было примерно таким же, как и в случае кормления животных N^{15} -L-лейцином. При введении D-лейцина, меченного дейтерием, некоторое количество дейтерия было найдено в тканевом L-лейцине, что свидетельствует о частичном переходе углеродного остова D-лейцина в L-лейцин; это превращение предполагает инверсию конфигурации α -углеродного атома. Результаты упомянутых опытов представляют интерес в связи с тем, что есть данные, свидетельствующие о невозможности замены L-лейцина D-лейцином в питании (опыты по обеспечению роста молодых крыс). Очевидно, превращение D-лейцина в L-лейцин протекает со скоростью, недостаточной для обеспечения роста животных. По-видимому, D-аминокислоты дезаминируются оксидазой D-аминокислот с образованием соответствующих α -кетокислот и последние подвергаются переаминированию, превращаясь в соответствующие L-аминокислоты.

Две аминокислоты — лизин и треонин — занимают в азотистом обмене особое положение, поскольку в них не включается в заметных количествах N^{15} , введенный животным в виде аммиака или других аминокислот. После кормления животных лизином, меченным дейтерием и N^{15} , изотопный азот был найден в других аминокислотах; однако в лизине, выделенном из тканевых белков, отношение концентраций дейтерия и N^{15} было почти таким же, как и во введенном лизине [83, 84]. Аналогичные результаты были получены и с треонином [85].

Наблюдения Шёнхаймера легли в основу представлений, согласно которым аминокислоты, поступающие в организм с пищей, находятся в равновесии с «метаболическим фондом» (metabolic pool) азотистых соединений. Компоненты общего метаболического фонда используются как для синтеза составных частей тканей, так и для образования конечных продуктов обмена. В общем это положение несомненно подтверждается полученными экспериментальными данными [73—80]; однако имеются существенные различия как в относительных скоростях

обмена, или обновления, отдельных аминокислот, так и в особенности в скоростях включения N^{15} -аминокислот в белки различных тканей. Так, например, Шёнхаймер обнаружил, что после скармливания крысам N^{15} -L-лейцина сыворотка крови, стенки кишечника, почки, селезенка, сердце, печень и семенники воспринимают значительно большие количества изотопа (на единицу веса), чем гемоглобин, мышцы и кожа. Однако наибольшая доля общего количества удержанного в организме изотопа — около 67% — приходится на скелетные мышцы.

Механизм обратимого включения аминокислотных остатков в тканевые белки неизвестен; очевидно, этот процесс тесно связан с процессом биосинтеза белка. Отражает ли динамическое состояние тканей динамическое состояние молекул внутриклеточных белков, также окончательно не установлено. Эти вопросы обсуждаются ниже (см. стр. 272, 274).

Имеются указания на то, что высшим растениям также свойственно динамическое состояние аминокислот и белков [86], однако на растениях проведено по этому вопросу значительно меньше исследований, чем на крысах. При изучении индуцированного синтеза β -галактозидазы у *Escherichia coli* найдено, что этот фермент синтезируется не за счет аминокислот, имеющих источником другие клеточные белки. Этот процесс носит необратимый характер, и, по имеющимся данным, другие клеточные белки *E. coli* не обменивают своих аминокислот с «метаболическим фондом» аминокислот, используемым для биосинтеза β -галактозидазы (стр. 275). Еще один пример необратимого процесса синтеза белка — образование вируса табачной мозаики [87]; хотя вирус синтезируется из продуктов распада белков листьев, между однажды синтезированным вирусом и тканями листа не происходит обмена компонентами.

Гормональные влияния

Азотистый обмен у млекопитающих находится под прямым или косвенным контролем гормональных систем. О существовании регуляторного механизма свидетельствует тот факт, что в нормальных условиях организм млекопитающих находится в состоянии азотистого равновесия. Хорошо известна способность некоторых гормонов изменять общее состояние азотистого обмена. Так, например, обнаружено, что при недостатке инсулина баланс азота становится отрицательным; при введении некоторых других гормонов (в частности, андрогенов) наблюдается ретенция азота.

В литературе описано много наблюдений этого рода, но механизмы, посредством которых гормоны влияют на азотистый

обмен, еще не известны. Изучено влияние некоторых гормонов на содержание свободных аминокислот в плазме крови экспериментальных животных. Найдено, что инсулин, гормон роста и адреналин снижают содержание аминокислот в плазме [88—92]. Согласно предположениям Гриффина и сотрудников [93], одним из последних звеньев в цепи агентов, вызывающих данный эффект, по-видимому, является адреналин. В самом деле, гормон роста и инсулин не влияют на содержание свободных аминокислот в плазме адреналэктомированных животных, тогда как адреналин снижает уровень аминокислот в крови гипофизэктомированных и адреналэктомированных животных. Заслуживает внимания и тот факт, что тиреотропный гормон гипофиза снижает содержание аминокислот в крови как у нормальных, так и у адреналэктомированных и гипопифизэктомированных крыс.

Имеется немало наблюдений о других сторонах влияния гормонов на азотистый обмен; в настоящее время очевидно, что изучение этих гормональных воздействий представляет чрезвычайно сложную проблему. Рассел [94] в одном из последних обзоров по этому вопросу приходит к следующему выводу:

«В настоящее время мы можем, пожалуй, утверждать, что из трех главных гормонов, играющих важную роль в этом отношении [в регуляции азотистого обмена], а именно инсулина, гормонов коры надпочечника и гормона роста, ни один не оказывает действия, направленного преимущественно или исключительно на распад аминокислот как таковой или на гликонеогенез из фрагментов аминокислот; все эти гормоны, очевидно, влияют на те или другие стороны процессов синтеза или распада белков в большинстве тканей или во многих из них. Однако механизм их регуляторного действия пока совершенно не известен».

Исследования, посвященные влиянию гормонов на обмен отдельных аминокислот, сравнительно немногочисленны. Влияние гормональных агентов на триптофанпероксидазную систему [95, 96], возможно, представляет один из тех случаев, где механизм, управляющий синтезом определенного фермента, оказывает специфическое влияние на интенсивность распада одной из аминокислот.

ОБМЕН УГЛЕРОДНЫХ ЦЕПЕЙ АМИНОКИСЛОТ

При дезаминировании многих аминокислот из них образуются соответствующие α -кетокислоты, которые могут вновь подвергаться реаминированию и включению в белки или же вступать на путь распада, приводящий в конечном итоге к образованию углекислоты и воды. В процессе обмена некоторых амино-

кислот, например гистидина, триптофана и метионина, дезаминированию предшествуют изменения углеродного остова, но и эти аминокислоты в конечном итоге окисляются до тех же продуктов, какие образуются при окислении жиров и углеводов.

В определенных экспериментальных условиях удается показать, что в результате обмена некоторых аминокислот образуются углеводы, тогда как углеродные остовы других аминокислот превращаются в ацетоуксусную, уксусную или β -оксимасляную кислоты. Эти наблюдения легли в основу деления аминокислот на две группы: к первой относят аминокислоты, обладающие гликогенетическими свойствами, ко второй — аминокислоты, обладающие кетогенными свойствами. Повышенное образование «избыточной» глюкозы, гликогена или кетоновых тел после скармливания аминокислот наблюдалось в опытах на животных с диабетом, а также животных, получающих флоридзин или голодающих.

При дезаминировании аспарагиновой кислоты, аланина и глутаминовой кислоты образуются α -кетокислоты, принадлежащие к числу промежуточных продуктов обмена углеводов. Введение *per os* этих аминокислот, а также валина [97, 98], серина [99, 100], глицина [99, 101], треонина [102], аргинина [103, 104], гистидина [104—106] и изолейцина [104, 107] вызывает у голодающих животных увеличение содержания гликогена в печени. В определенных условиях пролин [104], цистеин [104] и метионин [108] также могут вызывать добавочное образование углеводов, тогда как в результате обмена тирозина (стр. 417), фенилаланина (стр. 425) и лейцина (стр. 359) образуются кетоновые тела. Недостаток этих экспериментальных приемов состоит в том, что получаемые результаты касаются обмена аминокислот в нефизиологических условиях; не удивительно, что некоторые аминокислоты проявляют при одних условиях гликогенетическое действие, а при других — кетогенное. Для изучения превращения аминокислот в процессах обмена веществ наиболее удобно вводить изотопную метку в углеродный остов аминокислоты и затем выяснить судьбу меченого углерода путем исследования продуктов обмена. Работы этого рода, относящиеся к отдельным аминокислотам, подробно рассмотрены в гл. IV.

Превращением аминокислот в углеводы можно объяснить, что крайней мере частично, явления гликонеогенеза, которые при определенных условиях сопровождаются увеличением количества азота, выводимого с мочой. Возможен и обратный процесс, по крайней мере в отношении синтеза некоторых из аминокислот. Отмечено, что у животных, находящихся в состоянии отрицательного баланса азота, кормление углеводами приводит к уменьшению экскреции азота. Некоторые продукты обмена

углеводов, например пировиноградная, α -кетоглутаровая и щавелевоуксусная кислоты, служат материалом для синтеза аминокислот. В условиях, когда для синтеза «заменяемых» аминокислот используются преимущественно углеводы, а не поступающие с пищей «незаменимые» аминокислоты, можно ожидать более эффективного использования аминокислот для синтеза белка. Эта точка зрения находится в согласии с результатами исследований, показавших наличие «сберегающего» влияния углеводов на белковый обмен.

Миллер и его сотрудники [109] предложили другую трактовку «сберегающего» влияния углеводов на белки. Пользуясь методом перфузии изолированной печени крысы, эти авторы нашли, что глюкоза и фруктоза уменьшают экзогенное образование мочевины из белков крови и печени, тогда как лактат, пируват и α -кетоглутарат не проявляют сберегающего действия по отношению к азоту добавленной полной смеси аминокислот. Миллер с сотрудниками предполагают, что сбережению азота способствует уменьшение отношения окисленной формы дифосфопиридиннуклеотида к восстановленной форме. Все реакции, снижающие это отношение (в результате увеличения количества восстановленной формы кофермента), должны подавлять катализируемое глутаматдегидрогеназой образование аммиака и тем самым, как можно предполагать, уменьшать количество образуемой мочевины. Можно ожидать, что количество восстановленного кофермента будет повышаться в результате распада глюкозы и жирных кислот. Однако следует учитывать, что отношение окисленной формы дифосфопиридиннуклеотида к восстановленной зависит от множества реакций обмена. Отмечено, что величина этого отношения изменяется в различных условиях, однако данные по этому вопросу весьма противоречивы; так, по сообщениям одних авторов, содержание этих нуклеотидов в тканях при голодании повышается, по сообщениям других — понижается или же остается на неизменном уровне (см. [699]).

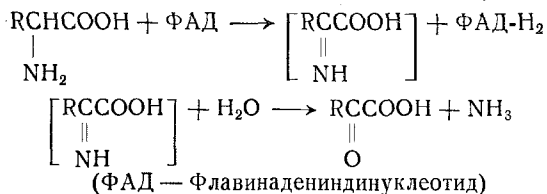
ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ

Введение

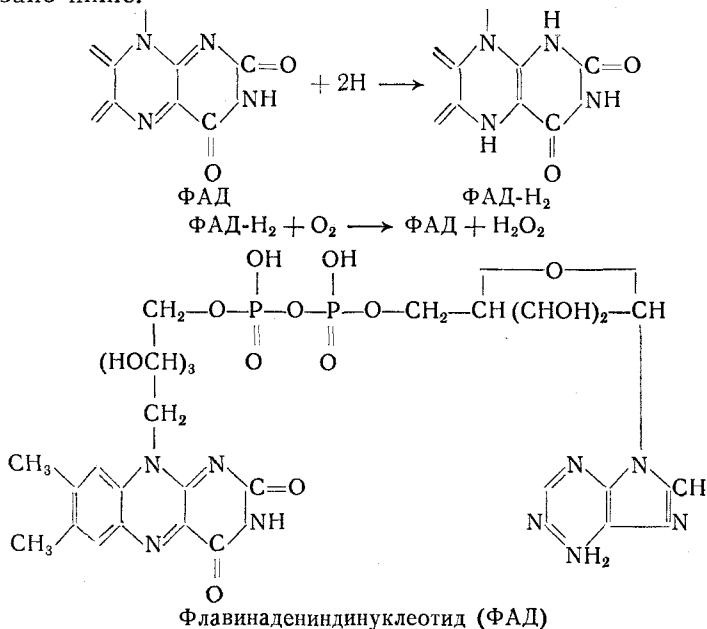
Деаминация аминокислот с образованием соответствующих α -кетокислот было впервые обнаружено Нейбауером [110] и Кнопом [111]. Оно осуществляется посредством двух основных общих механизмов — переаминирования (стр. 208) и окислительного деаминарования. Окислительное деаминарование аминокислот было впервые обстоятельно изучено Кребсом [112—114]. Он установил, что препараты печени и почек катализируют окисление как D-, так и L-изомеров аминокислот.

Фермент, катализирующий окисление D-аминокислот, был отделен от ферментной системы, осуществляющей окисление L-аминокислот. В ряде более поздних исследований присутствие в почках и печени оксидазы D-аминокислот было подтверждено. Окислительное дезаминирование L-аминокислот, о котором сообщал Кребс, объясняется, вероятно, сочетанным действием трансаминаз и дегидрогеназы глутаминовой кислоты (стр. 234). Получен, однако, ряд препаратов оксидаз L-аминокислот, и в существовании подобных ферментов едва ли можно сомневаться.

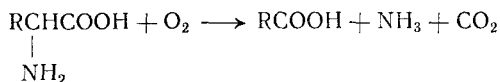
Реакцию окисления L- и D-изомеров аминокислот соответствующими оксидазами можно выразить следующим образом:



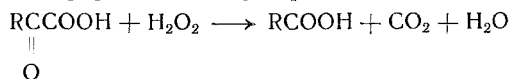
Основные изученные до сих пор D- и L-аминокислотные оксидазы общего действия оказались флавопротеинами [115—119]. При действии этих оксидаз от молекулы аминокислоты отнимается два атома водорода и образуется перекись водорода, как показано ниже:



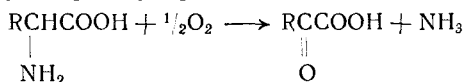
Образование иминокислоты, взятой в квадратные скобки в приведенном выше уравнении, до сих пор не установлено. Принято считать, что гидролиз гипотетической иминокислоты происходит самопроизвольно. В отсутствие каталазы при ферментативном окислении аминокислоты наблюдается образование гомологичной ей нижней карбоновой кислоты и углекислоты:



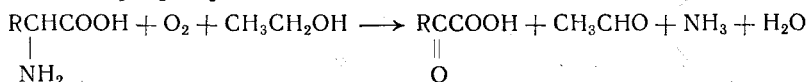
Как известно, перекись водорода вступает с α -кетокислотами в следующую неферментативную реакцию:



В присутствии каталазы перекись водорода разрушается; в этом случае реакция окислительного дезаминирования аминокислоты протекает по суммарному уравнению



При наличии в системе каталазы перекись водорода, возникающая при окислении аминокислот, может также окислять этиловый спирт [120]:



Эта реакция может служить типичным примером разнообразных пероксидазных реакций, катализируемых каталазой.

Оксидаза D-аминокислот

Оксидаза D-аминокислот в организме млекопитающих находится только в тканях печени и почек, причем активность ее в почках значительно выше, чем в печени. Этот фермент получен в высокоочищенном состоянии; его «число оборотов» составляет от 1000 до 2000 в минуту [121, 122]. Фермент окисляет множество различных D-аминокислот и не проявляет поддающейся обнаружению активности по отношению к L-аминокислотам. В связи с этим следует напомнить, что его используют для обнаружения ничтожных количеств D-аминокислот в присутствии высоких концентраций соответствующих L-изомеров (стр. 95). Отмечены определенные видовые различия в субстратной специфичности фермента; так, относительные скорости

окисления разных D-аминокислот препаратами оксидазы, полученными из почек свиньи и барана, несколько различаются. Эти различия следует, по-видимому, отнести за счет различной природы апоферментов.

Почечная оксидаза D-аминокислот не действует на аминокислоты, в молекуле которых замещен α -водородный атом или замещены оба водородных атома аминогруппы. В табл. 18 приведены выборочно данные литературы по ферментативному окислению различных аминокислот.

Таблица 18

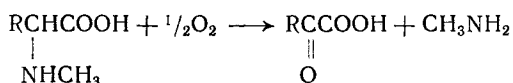
Специфичность некоторых оксидаз аминокислот

Аминокислота	Активность фермента по отношению к соответствующей аминокислоте *				
	L-оксидаза <i>N. crassa</i> [124]	L-оксидаза из яда гремучей змеи [123]	L-оксидаза почек крысы [118]	D-оксидаза почек овец [124]	D-оксидаза печени осьминога [125]
Аланин	53	0,4	—	34	53
α -Аминоадипиновая кислота	78	7	—	0	—
α -Аминомасляная кислота .	82	20	3	16	(100)
Аргинин	—	7	—	—	—
Аспарагиновая кислота . .	6	< 0,1	0	0,5	25
Валин	8	4	28	18	34
Гистидин	47	14	9	3	62
Глутаминовая кислота . .	12	< 0,1	0	0	57
Изолейцин	42	29	71	12	37
Лейцин	(100)	92	(100)	7	53
Лизин	18	0,2	0	0,3	—
Метионин	51	(100)	81	42	70
Орнитин	65	0,1	0	2	—
Пролин	0	0	77	78	46
Серин	10	0	0	22	23
Тирозин	31	76	20	(100)	—
Треонин	3	0	0	1	—
Триптофан	35	82	40	19	16
Фенилаланин	53	76	45	14	—
Цистин	72	26	15	1	—

* Максимальная активность принята за 100%.

Наиболее активно окисляются D-изомеры тирозина, метионина и пролина, тогда как глутаминовая и аспарагиновая

кислоты, цистин, лизин и треонин окисляются очень медленно или не окисляются совсем. С заметной скоростью окисляются ω-N-ацилпроизводные лизина и орнитина [126—128]. D-алло-Треонин окисляется быстрее, чем D-треонин, а D-изолейцин — быстрее, чем D-алло-изолейцин. Стереоизомеры изолейцина окисляются в соответствующие оптически чистые энантиоморфные формы α-кето-β-метилвалерьяновой кислоты; этим наблюдением подтверждается точка зрения, согласно которой в процессе окисления аминокислоты не возникает двойной связи между α- и β-углеродными атомами [129, 130]. Подобное заключение вытекает также из того факта, что оксидаза D-аминокислот окисляет D-α-аминофенилуксусную кислоту, не имеющую α-водородного атома. Этот фермент окисляет также D-изомеры многих не встречающихся в природе аминокислот, в том числе D-формы этионина, циклогексилаланина, β-2-тиенилаланина, S-алкилпроизводных цистеина, алло-треонина, α-аминокапроновой кислоты (норлейцина), n-аминофенилаланина, α-аминовалерьяновой кислоты (норвалина) и некоторых других [131—133]. Оксидаза D-аминокислот окисляет N-монометил-D-аминокислоты; в присутствии каталазы реакция протекает согласно следующему суммарному уравнению [114, 134]:



Играет ли оксидаза D-аминокислот физиологическую роль и какова ее функция, пока не известно. Возможно, что назначение этого фермента состоит в разрушении D-аминокислот, содержащихся в пище или образующихся в теле животного (например, в результате жизнедеятельности бактериальной флоры желудочно-кишечного тракта, ротовой полости и т. п.).

Никаких указаний на то, что в организме животных возможен синтез рацемических аминокислот, опыт не дает; напротив, найдено, что после приема с пищей рацемических аминокислот, меченных N¹⁵, D-компонент выводится с мочой без заметного разведения метки [135]. Активность оксидазы D-аминокислот *in vivo* подтверждается рядом фактов. Например, установлено, что некоторые D-аминокислоты при введении их с пищей вместо соответствующих L-аминокислот обеспечивают рост животных (стр. 135) и что после приема внутрь некоторых рацемических аминокислот с мочой выводятся соответствующие α-кетокислоты [136, 137].

Оксидазы D-аминокислот найдены у ряда плесеней и бактерий; субстратами этих ферментов могут служить встречающиеся в некоторых микроорганизмах D-аминокислоты. Активные пре-

параты оксидазы D-аминокислот были получены из *Neurospora crassa*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium roqueforti*, а также из различных штаммов *Proteus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas* [122, 138—141]. Обнаружено существование особой оксидазы D-аспарагиновой кислоты [142, 143]. Этот фермент найден в печени и почках кролика; в качестве кофермента он содержит флавинадениндинуклеотид (ФАД). Действие его аналогично действию оксидазы D-аминокислот. В неочищенных препаратах оксидазы D-аминокислот, полученных из почек свиньи, может присутствовать оксидаза D-аспарагиновой кислоты; однако этот последний фермент инактивируется значительно легче. Препараты оксидазы D-аспарагиновой кислоты окисляют также D-глутаминовую кислоту, хотя и значительно медленнее, чем аспарагиновую кислоту. Высказывалось мнение о существовании особой оксидазы D-глутаминовой кислоты, однако четкое разделение оксидаз D-аспарагиновой и D-глутаминовой кислот осуществить не удалось.

Оксидаза D-глутаминовой кислоты найдена в печени некоторых головоногих, в том числе у осьминога [125, 144]. Этот фермент отличается от оксидазы, окисляющей другие D-аминокислоты, и также проявляет некоторую активность по отношению к D-аспарагиновой кислоте.

Оксидаза L-аминокислот

Из тканей млекопитающих был получен только один препарат оксидазы L-аминокислот; он был выделен из почек крысы Бланшаром и сотрудниками [118]. Этот фермент, катализирующий окисление 13 L-аминокислот (см. табл. 18), был подвергнут очистке; найдено, что его «число оборотов» равно примерно 6. Он отличается от остальных общих аминокислотных оксидаз тем, что его коферментом служит рибофлавинофосфат. Примечательное свойство этого фермента состоит в том, что он окисляет L- α -оксикислоты несколько быстрее, чем L-аминокислоты. Субстратная специфичность фермента по отношению к аминокислотам сходна со специфичностью оксидазы D-аминокислот; для обоих ферментов характерно очень медленное окисление дикарбоновых аминокислот и диаминокислот. Помимо почек, оксидаза L-аминокислот в других тканях животных не найдена. Представляется маловероятным, чтобы фермент, столь мало распространенный и обладающий такой низкой активностью, мог играть существенную роль в общем процессе дезаминирования L-аминокислот у млекопитающих.

Целлер и сотрудники [145—147] обнаружили оксидазу L-аминокислот (зменную аминокислотную оксидазу) в ядах и тканях

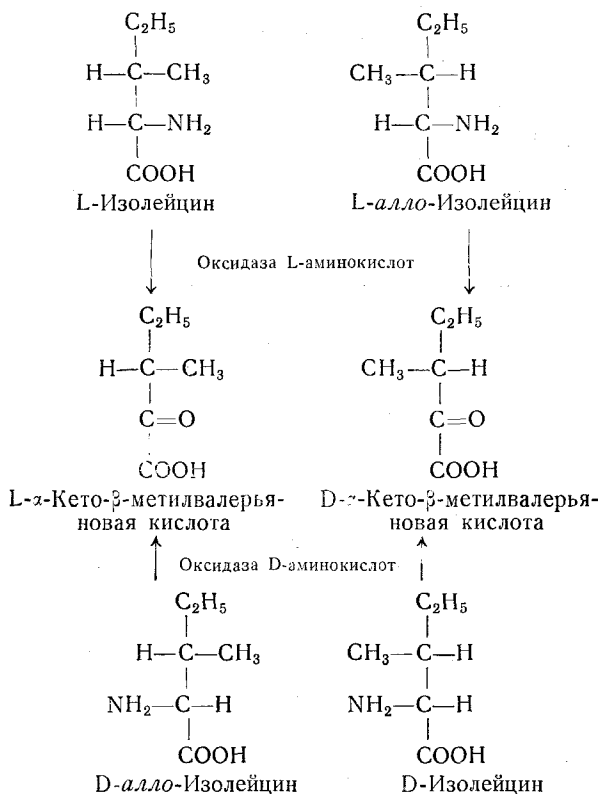
многих змей. Активность многих высушенных змеиных ядов очень высока; Целлер нашел, что наибольшей активностью обладает яд *Vipera aspis*. В очищенной форме фермент был выделен из яда мокасиновой змеи; установлено, что его коферментом является флавинадениндинуклеотид [119]. Субстратная специфичность змеиной L-аминокислотной оксидазы указана в табл. 18; в относительных скоростях окисления отдельных аминокислот отмечены видовые особенности, хотя общие закономерности субстратной специфичности у разных видов сходны. Подобно D-аминокислотной оксидазе почек, этот фермент окисляет лизин и орнитин очень медленно, тогда как ω -N-ацил-производные этих аминокислот окисляются довольно быстро. Точно так же глутамин и аспарагин в отличие от соответствующих дикарбоновых аминокислот относительно быстро окисляются змеиной L-аминокислотной оксидазой. Оксидаза L-аминокислот в противоположность оксидазе D-аминокислот не окисляет пролин, оксипролин и N-монометиламинокислоты. L-Изолейцин и L-алло-изолейцин окисляются ею в L- и D-формы α -кето- β -метилвалерьяновой кислоты без рацемизации в процессе окисления. Найдено, что L-стереоизомеры β -фенилсерина окисляются змеиной L-аминокислотной оксидазой в отсутствие каталазы в соответствующие оптические активные миндальные кислоты [148]. Ферментативное окисление четырех изомеров изолейцина и двух L-стереоизомеров β -фенилсерина в оптически активные продукты лишней раз подтверждает, что β -водородный атом не вовлекается в процесс окисления (см. стр. 189).

Интересные исследования, касающиеся окисления изомеров α , ϵ -диаминопимелиновой кислоты и некоторых ее производных, были проведены Уорк [149]. L-Аминокислотная оксидаза плесени *Neurospora* окисляет LL-диаминопимелиновую кислоту так же активно, как мезо-форму и D-моноамид L-диаминопимелиновой кислоты. Окисление этих субстратов протекает примерно с такой же скоростью, как и окисление L-метионина и L-лизина.

В отличие от окисления LL-формы, при котором потребляется два атома кислорода (в присутствии каталазы), при окислении мезо-формы потребляется только один атом кислорода.

Физиологическое значение змеиной L-аминокислотной оксидазы не выяснено. Токсичность змеиного яда, по-видимому, не связана с присутствием этого фермента.

Активные оксидазы L-аминокислот найдены у многих микроорганизмов, в том числе у *Neurospora crassa*, у которой образование этого фермента стимулируется биотином [150]. Возможно, что биотин не оказывает прямого действия на синтез фермента, поскольку этот витамин необходим для роста самой плесени.



Интересно, что некоторые виды *N. crassa* продуцируют одновременно оксидазы D- и L-аминокислот, тогда как другие виды вырабатывают только одну оксидазу с D- или L-специфическим действием [131, 150, 151]. Оксидазы L-аминокислот найдены у ряда штаммов *Penicillium*, *Aspergillus niger*, *Proteus* и *Aerobacter aerogenes* [124, 131, 150, 152, 153]. Фермент из *Proteus vulgaris* [153] получен в очищенном состоянии; изучена его субстратная специфичность (см. табл. 18). В печени индюка найдена оксидаса L-аминокислот, действующая на диаминокислоты (см. стр. 343).

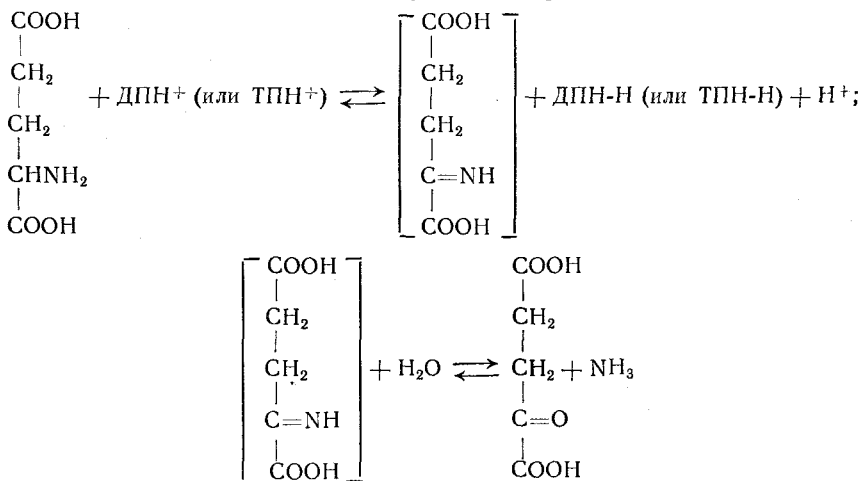
Практическое использование оксидаз аминокислот

Хотя значение L- и D-аминокислотных оксидаз в азотистом обмене еще не выяснено, эти ферменты нашли практическое применение в биохимических и химических исследованиях,

основанное на строгой стереоспецифичности их действия. При помощи соответствующей оксидазы удается обнаружить примесь 1 части чувствительного к ней изомера аминокислоты в 10 000 частей ее оптического антипода. При благоприятных условиях антиподы аминокислот можно открыть при еще более низких концентрациях (стр. 95). Оксидазы аминокислот применяют также для разрушения одного изомера в рацемической аминокислоте с целью получения оптически чистого препарата другого изомера (стр. 94). Оксидазы аминокислот можно использовать для приготовления α -кетокислот (стр. 97) или, если они применяются в отсутствие каталазы, для получения ближайшей низшей в гомологическом ряду карбоновой кислоты [154]. В некоторых случаях эти оксидазы можно использовать для наблюдения за течением ферментативных реакций, в частности за реакциями, катализируемыми пептидазами или рацемазами.

Дегидрогеназа L-глутаминовой кислоты

Обратимое дезаминирование глутаминовой кислоты имеет первостепенное значение в обмене веществ. У млекопитающих и у многих других видов эта реакция служит одним из главных механизмов взаимопревращения азота α -аминогруппы и аммиака. Дегидрогеназа глутаминовой кислоты распространена очень широко: она найдена у растений [155—157], у животных [158, 159] и у микроорганизмов [155, 160, 161]. Фермент обнаружен почти во всех тканях млекопитающих; в тканях печени и почек он наиболее активен. Дегидрирование глутаминовой кислоты можно представить следующим образом:



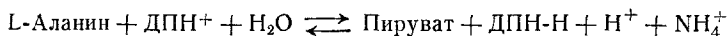
Эта реакция подобна реакциям, катализируемым общими аминокислотными оксидазами; предполагают, что в качестве промежуточного продукта образуется иминокислота. В действии глутаматдегидрогеназы высших растений и большинства животных тканей участвует в качестве кофермента дифосфопиридиннуклеотид (ДПН). Фермент, присутствующий в печени, действует при участии как ди-, так и трифосфопиридиннуклеотида (ТПН), однако реакция с участием ТПН при определенных условиях протекает с меньшей скоростью [162]. Так, например, скорость окисления восстановленного трифосфопиридиннуклеотида в ткани может ограничиваться недостатком ТПН-цитохромредуктазы [163]. Глутаматдегидрогеназы из дрожжей и *Escherichia coli* строго специфичны в отношении ТПН [160, 161].

Глутаматдегидрогеназа бычьей печени получена в кристаллическом виде двумя методами [164, 165]. Фермент содержит цинк [166]. Положение равновесия реакции благоприятствует образованию глутаминовой кислоты, и при надлежащих условиях фермент можно использовать для приготовления N¹⁵-глутаминовой кислоты из α-кетоглутарата и меченого аммония.

Глутаматдегидрогеназа строго специфична в отношении L-глутаминовой кислоты; глутамин, аспарагиновая кислота, α-метилглутаминовая и γ-метилглутаминовая кислоты и другие производные глутаминовой кислоты не дегидрируются этим ферментом.

Аланиндегидрогеназа

Установлено наличие дегидрогеназы L-аланина у *Bacillus subtilis* [700]. Коферментом ее служит дифосфопиридиннуклеотид (трифосфопиридиннуклеотид не активен):

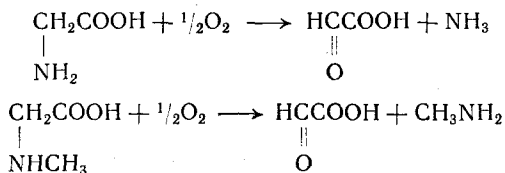


Реакция обратима; глутаминовая и аспарагиновая кислоты, фенилаланин и лейцин не могут служить субстратами в этой ферментной системе.

Глицинооксидаза

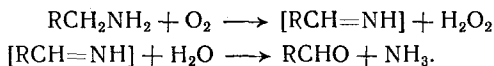
В печени и почках многих млекопитающих обнаружена особая глицинооксидаза [167]. Фермент был получен в очищенном виде из почек свиньи; установлено, что роль кофермента играет флавинадениндинуклеотид. Препараты глицинооксидазы содержат также оксидазу D-аминокислот, однако ряд данных свидетельствуют о том, что это два различных фермента. Очищенные

препараты оксидазы D-аминокислот не окисляют глицина, но получить глицинооксидазу, не содержащую D-аминокислотной оксидазы, пока не удалось. Глицинооксидаза катализирует окисление глицина в глиоксиловую кислоту и аммиак. В препаратах ее присутствует каталаза. Глицинооксидаза окисляет саркозин, но не действует на диметилглицин



Аминоксидазы

Процессы окисления аминов изучали с применением многих биологических объектов и самых различных субстратов. Ряд аминов образуется из аминокислот в результате их декарбоксилирования (стр. 199). Окисление аминов происходит путем следующих реакций:

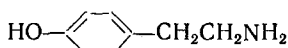


Исследования Целлера [168] и Блажко [169, 170] привели к обнаружению двух типов аминоксидаз, а именно моноаминоксидаз и диаминоксидаз. Природа коферментов, необходимых для действия этих ферментов, до сих пор окончательно не установлена. Получены указания на то, что пиридоксальфосфат является коферментом диаминоксидазы [701].

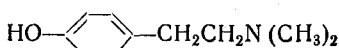
Моноаминоксидаза распространена очень широко; она найдена в различных тканях животных и у растений [171—174]. Печень является наиболее обильным источником моноаминоксидазы, которая связана в этой ткани с цитоплазматическими гранулами [171]. Моноаминоксидаза окисляет первичные амины жирного ряда, однако метиламин и этиламин окисляются медленно или вовсе не окисляются [173—175]. В субстратной специфичности фермента имеются некоторые видовые различия. Первичные амины с разветвленной углеродной цепью окисляются медленнее, чем амины с прямой цепью. Вторичные и третичные амины окисляются, по-видимому, с образованием соответствующих альдегидов и метиламина или соответственно диметил-амина. В частности, моноаминоксидаза окисляет горденин и адреналин. К числу субстратов моноаминоксидазы относятся

нилэтиламин, тирамин, мескалин, окситирамин и артеренол [168]. Моноаминоксидаза окисляет также диамины с 14-, 16- или 18-членной углеродной цепью [176].

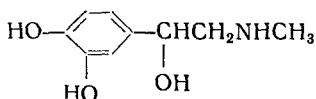
Тейбор и сотрудники [177] получили из бычьей крови аминоксидазу, которую они подвергли 150—200-кратной очистке. Этот фермент окисляет спермин [N, N'-бис(3-аминопропил)-1, 4-бутандиамин], спермидин [N-(3-аминопропил)-1, 4-бутандиамин] и ряд других аминов, но не действует на адреналин; следовательно, он отличен от моноаминоксидазы печени.



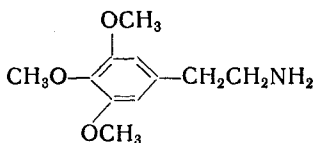
Тирамин



Горденин



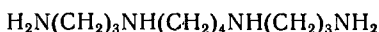
Адреналин



Мескалин



Спермидин

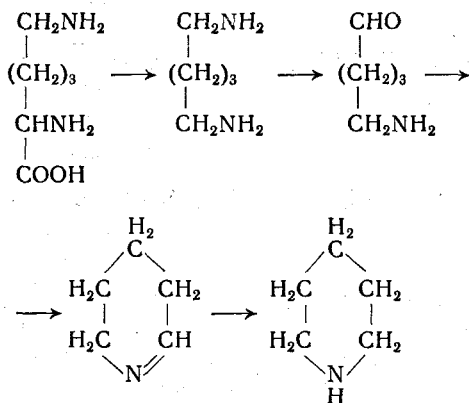


Спермин

Физиологические функции моноаминоксидазы, по-видимому, связаны с обменом прессорных веществ, однако конкретная роль этого фермента еще не известна. Предполагают, что моноаминоксидаза ответственна, по крайней мере частично, за разрушение адреналина, а также за разрушение токсических аминов, всасывающихся из кишечника; известно, что в слизистой кишечника содержится очень активная моноаминоксидаза. О том, что этот фермент проявляет свое действие *in vivo*, свидетельствуют опыты, в которых мышам инъецировали меченый триптамин, — введенный изотоп выводился из организма почти количественно в виде парных соединений индолуксусной кислоты [178].

Диаминоксидаза также широко распространена в природе. Этот фермент был открыт Целлером [179] в свиных почках, а затем обнаружен в других тканях животных, у растений и микроорганизмов [180, 181]. Диаминоксидаза, по-видимому, идентична гистаминазе; к числу ее адекватных субстратов принадлежат: агматин, спермидин, гистамин, спермин, кадаверин, путресцин и этилендиамин. Любопытно, что диамины с прямой углеродной цепью, содержащие от 14 до 18 углеродных атомов в молекуле, окисляются моноаминоксидазой, а не диаминоксидазой.

В исследованиях Тейбора [182] был убедительно обоснован указанный выше механизм осуществляемых диаминооксидазой реакций (стр. 192). Этот автор получил фермент из почек свиньи в очищенном виде и показал, что продуктами окисления гистамина являются имидзолацетальдегид, аммиак и перекись водорода. Было установлено, что альдегид окисляется дальше в имидзолуксусную кислоту альдегидоксидазой в присутствии дифосфопиридиннуклеотида или ксантинооксидазой молока и кислородом. Путресцин, кадаверин и, по-видимому, другие диамины превращаются в соответствующие аминокальдегиды. При циклизации альдегида, полученного из кадаверина, образуется Δ^1 -пиперидин; из этого можно заключить, что лизин может служить предшественником пиперидина [183, 184]:

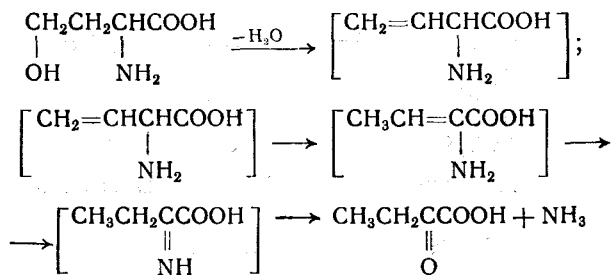


В опытах с меченым путресцином не так давно установлено, что этот амин используется при синтезе спермина и спермидина в предстательной железе крысы и у некоторых микроорганизмов [702].

НЕОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ

Реакции неокислительного дезаминирования аминокислот обнаружены у микроорганизмов и в тканях животных. Ферменты, катализирующие эти реакции, проявляют относительно высокую специфичность — каждый по отношению к одной определенной аминокислоте. При дезаминировании серина, треонина, гомосерина, цистеина и гомоцистеина от молекулы аминокислоты отнимаются элементы воды или сероводород, что приводит

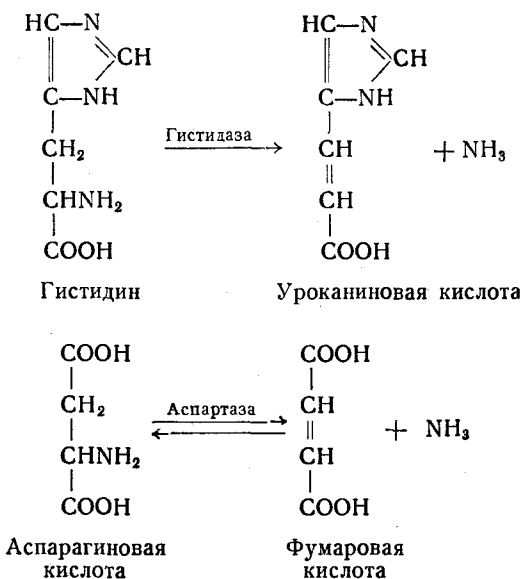
к образованию двойной связи между α - и β - или β - и γ -углеродными атомами. За перегруппировкой промежуточного продукта в соответствующую иминокислоту должен последовать гидролиз с образованием α -кетокислоты и аммиака. Так, например, дезаминирование гомосерина можно изобразить следующим образом:



Аналогичным образом может быть представлено дезаминирование серина, треонина, гомоцистеина и цистеина. Эти реакции рассматриваются в соответствующих разделах гл. IV. Участие пиридоксальфосфата установлено для реакций, катализируемых десульфгидразами L-цистеина и L-гомоцистеина и дегидратазами L- и D-серина. Предполагают, что реакции десульфирования и дегидратации протекают с образованием промежуточного продукта типа шиффова основания, в образовании которого участвует альдегидная группа пиридоксала (стр. 245). Следует отметить, что процесс десульфирования цистеина может протекать и не прямым путем — через реакцию переаминирования. На этом пути образования сероводорода, катализируемом системой ферментов десульфирования, пиридоксальфосфат необходим для осуществления реакции переаминирования. Образование сероводорода из цистеина обсуждается в соответствующем разделе гл. IV.

В процессе распада гистидина с промежуточным образованием уроканиновой (β -имидазолакриловой) кислоты (стр. 393) первое звено состоит в дезаминировании гистидина. Фермент, осуществляющий эту реакцию, различные авторы называли по-разному: гистидиндезаминаза, дезаминогистидаза, гистидин- α -дезаминаза и гистидаза. Последним термином прежде обозначали ферментную систему, вызывающую более глубокое разложение гистидина с расщеплением имидазольного кольца. В дальнейшем было обнаружено, что в препаратах «гистидазы», получение которых описано в старых работах, содержатся уроканаза и, возможно, еще и другие ферменты. Реакция.

катализируемая гистидазой, аналогична той, которую осуществляет аспартаза:

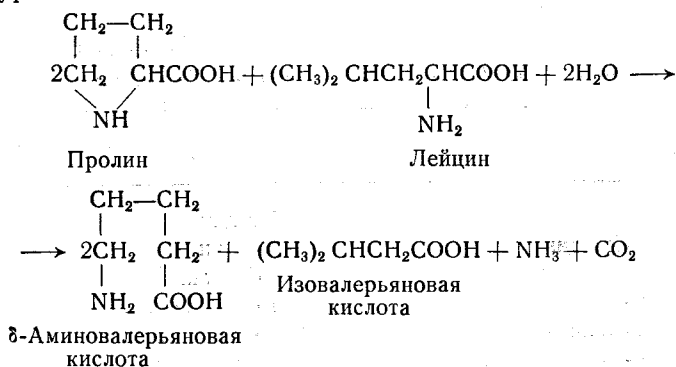


Эти реакции обсуждаются также и в других разделах [стр. 312 (аспартаза) и стр. 390 (гистидаза)].

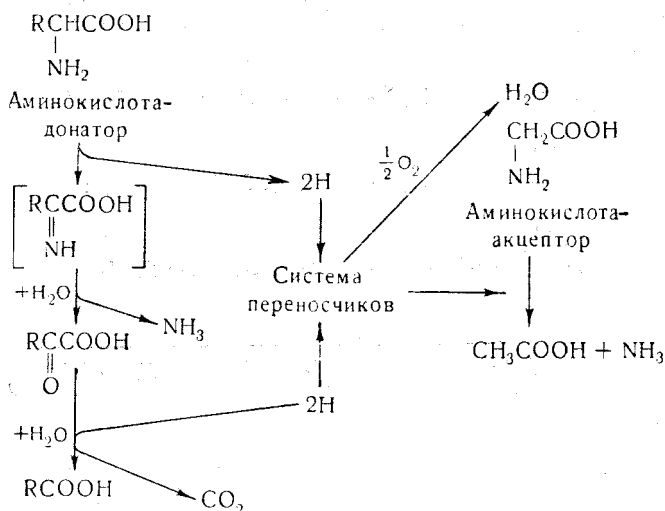
Реакция, катализируемая триптофаназой, представляет еще один пример реакции неокислительного дезаминирования. В этой реакции триптофан распадается без поглощения кислорода на индол, пировиноградную кислоту и аммиак (стр. 408).

У некоторых анаэробных микроорганизмов обнаружены реакции одновременного дезаминирования двух аминокислот в результате их взаимного окисления и восстановления. У *Clostridium sporogenes* и некоторых других бактерий реакции этого типа представляют собой единственный источник энергии. Это явление было впервые описано Стиклендом; в настоящее время оно известно под названием «реакция Стикленда» [185]. Микроорганизмы, которым свойственна реакция Стикленда, в большинстве своем принадлежат к семейству Clostridiaceae, но эта реакция встречается не у всех видов *Clostridium* [185, 186]. Стикленд нашел, что клетки *Cl. sporogenes* катализируют восстановление метиленовой сини и бензилвиологена в присутствии некоторых аминокислот, выступающих в качестве донаторов водорода. Он установил также, что клетки *Cl. sporogenes* при

между пролином и лейцином выражается следующим суммарным уравнением:



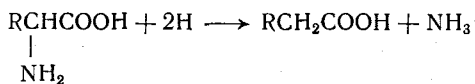
Нисман и Вине [191] обнаружили, что в аэробных условиях аминокислоты, являющиеся донаторами водорода, превращаются преимущественно в соответствующие жирные кислоты; однако наряду с этим появляются небольшие количества соответствующих α -кетокислот. На основании этих наблюдений механизм реакций Стигленда может быть представлен следующей схемой:



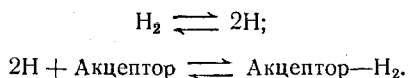
По данным Нисмана, в аэробных условиях аминокислоты-акцепторы и кислород конкурируют за водород, отщепленный от аминокислоты-донатора. Имеются данные, свидетельствующие

о том, что в реакции Стикленда в качестве переносчика водорода участвует дифосфопиридиннуклеотид [187, 188]; так, установлено, что дифосфопиридиннуклеотид может быть восстановлен аланином, а восстановленный кофермент вновь переводится в окисленную форму пролином или глицином. Исследования, проведенные в последние годы, свидетельствуют о том, что процесс сопряженного окислительного и восстановительного дезаминирования, описанный Стиклендом, состоит из сложного ряда промежуточных реакций; некоторые стороны этого процесса, например природа систем, участвующих в переносе водорода, нуждаются в дальнейшем изучении. Те данные, которые известны в настоящее время, совместимы с приведенной выше схемой Нисмана [187].

Некоторые виды *Clostridium* способны разлагать также отдельные аминокислоты, например серин, гистидин, глутаминовую кислоту, метионин, тирозин; к числу продуктов распада относятся аммиак, водород и углекислота. Известно также, что *Cl. sporogenes* может катализировать восстановление некоторых аминокислот в присутствии газообразного водорода, согласно уравнению:



Образование и использование газообразного водорода в указанных реакциях обеспечивается действием гидрогеназы [187]:

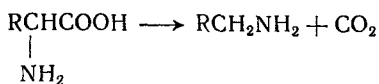


ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

Введение

Много лет назад было установлено, что к числу продуктов, образующихся при росте бактерий, принадлежат некоторые амины. Так, например, из продуктов роста бактерий на средах, содержащих орнитин, лизин, тирозин или глутаминовую кислоту, были выделены соответственно путресцин, кадаверин, тирамин и γ -аминомасляная кислота [192—195]. Дальнейшие исследования показали, что специфические ферменты, присутствующие в некоторых тканях животных и растений, а также

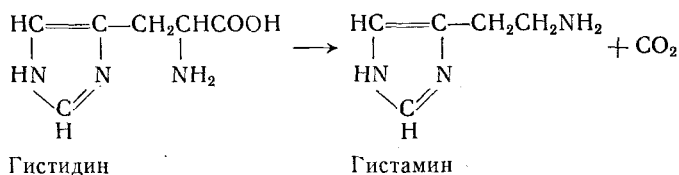
у микроорганизмов, катализируют декарбоксилирование аминокислот по уравнению:



В настоящее время установлено, что ферментативному декарбоксилированию подвергаются многие аминокислоты; некоторые из специфических декарбоксилаз получены в очищенном виде [196—199].

Аминокислотные декарбоксилазы млекопитающих

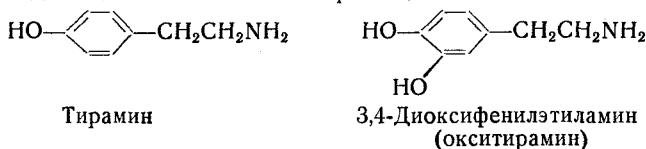
Некоторые L-аминокислоты, в том числе гистидин, цистеиновая кислота, цистеинсульфиновая кислота, 3,4-диоксифенилаланин, глутаминовая кислота и 5-окситриптофан, декарбоксилируются ферментами, обнаруженными в тканях млекопитающих. Реакции декарбоксилирования в общем не играют в количественном отношении существенной роли в превращении аминокислот в организме животных; вместе с тем некоторые реакции декарбоксилирования, например те, которые ведут к образованию серотонина и гистамина, имеют большое биологическое значение. У млекопитающих первая аминокислотная декарбоксилаза была открыта в 1936 г. Верле, который обнаружил, что при инкубировании гистидина с ферментными препаратами из почек кролика образуется вещество, обладающее физиологическими свойствами гистамина [200]. Фермент, в дальнейшем полученный в очищенном виде, катализирует следующую реакцию [201, 202]:



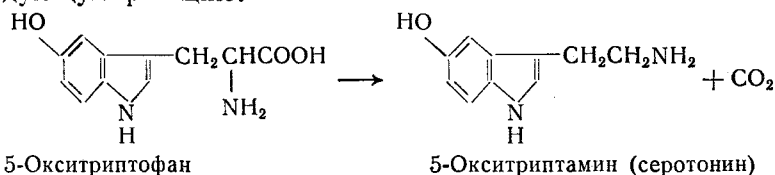
Ферментные препараты почек декарбоксилируют также 3,4-диоксифенилаланин (ДОФА) с образованием 3,4-диоксифенилэтиламина [203—205]. Этот амин был идентифицирован в виде бензоильного производного.

Получены стабильные препараты ДОФА-декарбоксилазы; ее коферментом является пиридоксальфосфат [206—208]. Препараты ДОФА-декарбоксилазы декарбоксилируют и некоторые

другие производные фенилаланина [209]. Тирозин, по-видимому, не декарбоксилируется ферментными препаратами из тканей млекопитающих [209]. В ранних работах приводились данные о декарбоксилировании тирозина с образованием тирамина [203—205], однако в печати больше не появлялось сообщений, подтверждающих наличие этой реакции.



Было описано также декарбоксилирование триптофана ферментными препаратами из почек с образованием амина, обладающего прессорным действием [205], но в последнее время Юденфренд и его сотрудники [210, 211] установили, что триптофан сперва окисляется в 5-окситриптофан, который и является субстратом специфической декарбоксилазы, катализирующей следующую реакцию:



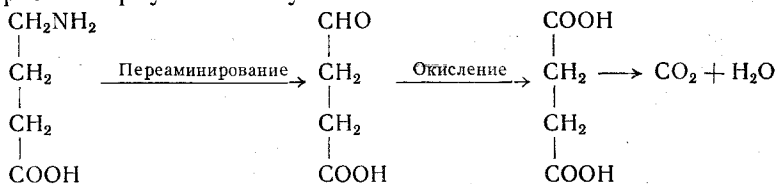
5-Окситриптамин (серотонин) известен как физиологически активное вещество, оказывающее прессорное действие (стр. 406). Декарбоксилаза 5-окситриптофана обнаружена во многих тканях животных; в очищенном состоянии фермент получен из почек свиньи и морской свинки.

Опубликованы данные, согласно которым препараты из печени и почек кролика и морской свинки, а также из надпочечников коровы декарбоксилируют *p*-оксифенилсерин; ДОФА-декарбоксилаза на этот субстрат не действует. Предполагаемый продукт декарбоксилирования *p*-оксифенилсерина — *p*-оксифенилэтаноламин — не был точно идентифицирован [196].

В печени многих животных, в том числе морской свинки, крысы и собаки, происходит декарбоксилирование цистеиновой кислоты с образованием таурина [198, 212, 213]. В печени кролика и кошки декарбоксилаза цистеиновой кислоты, по-видимому, отсутствует. Как указано ниже (стр. 382), декарбоксилирование цистеиновой кислоты, вероятно, представляет лишь один из нескольких возможных механизмов образования таурина. Последний может образоваться, например, путем двустороннего декарбоксилирования цистиндисульфоксида или

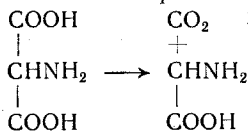
из цистаминдисульфоксида. Более вероятно, что таурин образуется путем окисления 2-аминоэтансульфиновой кислоты (гипотаурина). Гипотаурин был обнаружен и идентифицирован в печени и моче крыс, которым скармливали цистеин; доказано, что этот амин образуется путем ферментативного декарбоксилирования цистеинсульфиновой кислоты (стр. 382).

Вслед за открытием γ -аминомасляной кислоты в ткани мозга в этом органе была обнаружена декарбоксилаза глутаминовой кислоты [214, 215]. Некоторые другие ткани также проявляют слабую глутаматдекарбоксилазную активность, однако в основном образование γ -аминомасляной кислоты происходит в мозге. Значение этой аминокислоты и пути ее превращения в организме окончательно не выяснены. Известно, однако, что γ -аминомасляная кислота вступает в реакцию переаминирования с α -кетоглутаровой кислотой, причем образуются глутаминовая кислота и полуальдегид янтарной кислоты (стр. 227). Поэтому есть основание думать, что обмен этой аминокислоты может протекать путем ее окисления в цикле лимонной кислоты через янтарную кислоту:



Как правило, декарбоксилазы млекопитающих имеют рН-оптимум в нейтральной или слабощелочной зоне. Высокоочищенные препараты аминокислотных декарбоксилаз получить до сих пор не удалось; однако установлено, что для большинства из них в качестве кофермента необходим пиридоксальфосфат (табл. 20).

Вполне вероятно, что в тканях млекопитающих существуют и другие аминокислотные декарбоксилазы. Известно, что серин может превращаться в этих тканях в этаноламин; однако до сих пор эту реакцию декарбоксилирования непосредственно наблюдать не удалось. У бактерий аналогичная реакция обнаружена [216]. Недавно появились сообщения о декарбоксилировании аминмалоновой кислоты препаратами из шелкоотделительной железы шелковичного червя и из печени крыс [703]:



Ферментативное декарбоксилирование аминокислот

Аминокислота	Продукт декарбоксилирования	Источник фермента
L-Аргинин *	Агматин	Бактерии
L-Аспарагиновая кислота	β -Аланин	»
L-Аспарагиновая кислота *	L-Аланин	»
L-Цистеиновая кислота *	Таурин	Ткани млекопитающих
L-Цистеинсульфиновая кислота *	Гипотаурин	» »
<i>мезо</i> - α , ϵ -Диаминопимелиновая кислота *	L-Лизин	Бактерии
3, 4-Докси-L-фенилаланин *	3, 4-Дноксифенилэтиламин	Бактерии, ткани млекопитающих
L-Глутаминовая кислота *	γ -Аминомасляная кислота	Бактерии, ткани млекопитающих, растительные ткани
L-Гистидин *	Гистамин	Бактерии, ткани млекопитающих
<i>алло</i> - β -Оксиглутаминовая кислота **	γ -Амино- β -оксимасляная кислота	Бактерии
γ -Оксиглутаминовая кислота	α -Окси- γ -аминомасляная кислота	»
5-Окси-L-лизин	(Оксикадаверин) ****	»
<i>n</i> -Оксифенилсерин ***	(<i>n</i> -Оксифенилэтанолламин) ****	Ткани млекопитающих
5-Окси-L-триптофан *	5-Окситриптамин	» »
L-Лизин *	Кадаверин	Бактерии
γ -Метилен-L-глутаминовая кислота	γ -Амино- α -метилемасляная кислота	Растительные ткани
L-Орнитин *	Путресцин	Бактерии
L-Фенилаланин *	Фенилэтиламин	»
L-Тирозин *	Тирамин	»

* Реакция активируется пиридоксальфосфатом.

** Реакция активируется пиридоксальфосфатом; исследования проведены на рацемической форме аминокислоты.

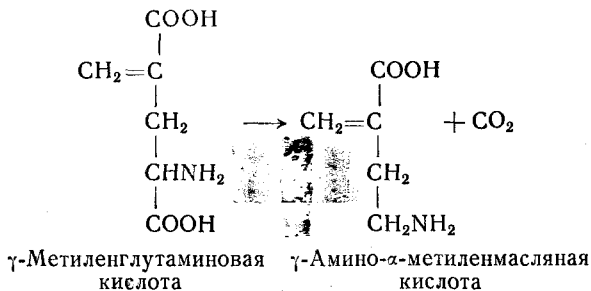
*** Исследования проведены на смеси изомеров аминокислот.

**** Продукт реакции не идентифицирован.

Аминокислотные декарбоксилазы растений

Окунуки [217] в 1937 г. впервые обнаружил декарбоксилазу глутаминовой кислоты у некоторых высших растений; в дальнейшем было выявлено, что этот фермент распространен в растениях весьма широко. Столь же широко распространенной оказалась и γ -аминомасляная кислота. Глутаматдекарбоксилазу растений обстоятельно изучили Шейлс и сотрудники [218, 219]. Фермент был ими получен в частично очищенном состоянии из моркови; его рН-оптимум расположен около рН 6. Для того чтобы декарбоксилирование глутаминовой кислоты следовало кинетике первого порядка, необходимо добавление пиридоксальфосфата [219].

Фауден и Дон [220, 221] недавно открыли в растениях еще одну аминокислотную декарбоксилазу. Несколько ранее эти авторы выделили из земляного ореха γ -метиленглутаминовую и γ -амино- α -метиленмасляную кислоты. Структурные взаимоотношения этих аминокислот давали основание предполагать по аналогии с декарбоксилированием глутаминовой кислоты, что γ -амино- α -метиленмасляная кислота происходит из γ -метиленглутаминовой кислоты. Экспериментально было показано, что экстракты из земляного ореха, красного перца и корней ячменя катализируют следующую реакцию:

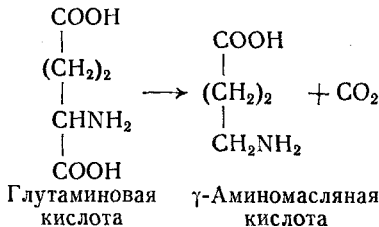
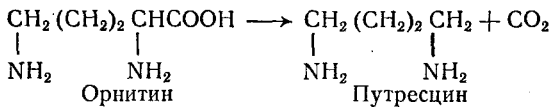
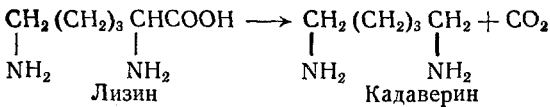
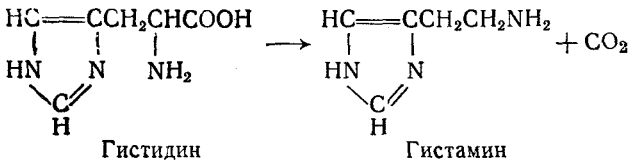
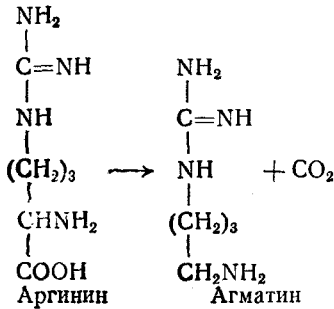
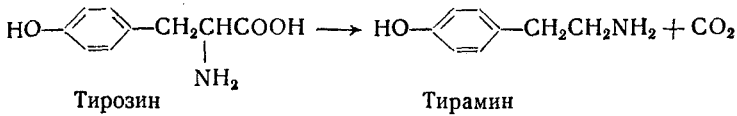


Эта декарбоксилаза пока не была подвергнута очистке; идентична ли она глутаматдекарбоксилазе, в настоящее время неизвестно.

Аминокислотные декарбоксилазы бактерий

Образование аминов из аминокислот у бактерий ранее наблюдали многие авторы, но лишь исследованиями Гейла и его сотрудников было показано, что этот процесс является результатом действия специфических аминокислотных декарбоксилаз. Гейл и его сотрудники [197, 222—227] изучили у бактерий шесть

указанных ниже реакций декарбоксилирования:



Декарбоксилазы бактерий в отличие от аминокислотных декарбоксилаз животных и растительных тканей обычно имеют рН-оптимум в кислой зоне. Гейл исследовал декарбоксилирование аминокислот у целого ряда микроорганизмов. Его работы показали, что многие бактерии декарбоксилируют несколько

аминокислот из числа шести, упомянутых выше, но некоторые микроорганизмы способны декарбоксиллировать лишь одну аминокислоту. Некоторые бактериальные декарбоксилазы были получены в частично очищенном виде; в дальнейшем было установлено, что для каждой из катализируемых этими ферментами реакций необходим пиридоксальфосфат. Многие бактерии, проявляющие декарбоксилазную активность, продуцируют эти ферменты в значительно больших количествах при выращивании на средах, содержащих соответствующие аминокислоты. Было отмечено, что максимальное образование декарбоксилаз наблюдается при выращивании бактерий на кислых средах. Много лет назад Ханке и Кеслер [195] высказали интересное предположение, по которому образование аминов бактериями представляет собой физиологический механизм, направленный на нейтрализацию кислот окружающей среды.

Образование и распространение бактериальных декарбоксилаз лизина, орнитина, тирозина, гистидина, аргинина и глутаминовой кислоты изучены довольно подробно; исследована также кинетика реакций, катализируемых декарбоксилазами, и описана частичная очистка некоторых из них. Эти исследования позволили использовать аминокислотные декарбоксилазы для целей количественного определения аминокислот. Такие определения основаны на измерении количества углекислоты, выделяющейся при действии специфической декарбоксилазы [197], или количества образующегося амина [228]. Поскольку аминокислотные декарбоксилазы обладают строгой стереоспецифичностью, они применяются также для обнаружения примеси следов L-изомеров в препаратах D-аминокислот. Кроме того, эти ферменты применяют и для получения D-аминокислот (например, D-лизина или D-глутаминовой кислоты) путем избирательного разрушения L-изомера в рацемических препаратах аминокислот (стр. 94, 95).

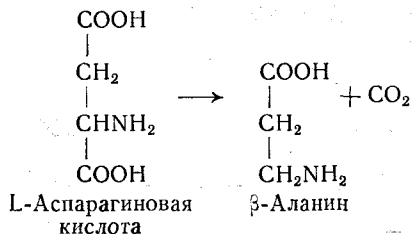
Все же следует отметить, что субстратная специфичность некоторых декарбоксилаз не абсолютна. Так, например, L-тирозиндекарбоксилаза *Streptococcus faecalis* проявляет заметную декарбоксилазную активность в отношении L-фенилаланина [229]; суспензии этих бактерий можно использовать не только для определения тирозина, но и для определения фенилаланина. Последний можно определять в присутствии тирозина, используя специфический метод определения образующегося амина [228]. Тирозиндекарбоксилаза действует также на 3,4-диоксифенилаланин, но не декарбоксилирует производные тирозина с замещенной фенольной группой, например O-метилтирозин.

L-Лизиндекарбоксилаза бактерий образует углекислоту из δ -оксизина [230]. Предполагаемый продукт этой реакции —

оксикадаварин — не был выделен; неизвестно также, подвергаются ли декарбоксилированию оба L-изомера δ-оксилизина (с превращением в соответствующие изомеры оксикадаверина). Лизиндекарбоксилаза не действует на α, ε-диаминопимелиновую кислоту; эту аминокислоту декарбоксилирует особый фермент, присутствующий у некоторых бактерий (см. ниже).

В ранних работах было отмечено, что препараты глутамат-декарбоксилазы образуют CO₂ из β-оксиглутаминовой кислоты. В последние годы найдено, что некоторые микроорганизмы, в том числе многие штаммы *Escherichia coli*, декарбоксилируют только одну из оптических форм алло-β-окси-DL-глутаминовой кислоты [231]; декарбоксилирование β-окси-DL-глутаминовой кислоты протекает значительно медленнее. Показано, что при декарбоксилировании алло-β-оксиглутаминовой кислоты образуется γ-амино-β-оксимасляная кислота; реакция активируется пиридоксальфосфатом. Декарбоксилирование глутаминовой и алло-β-оксиглутаминовой кислот, по-видимому, осуществляется различными ферментами, так как отношение скоростей декарбоксилирования этих аминокислот у разных штаммов бактерий неодинаково. Следует указать, что биологическое значение фермента, декарбоксилирующего алло-β-оксиглутаминовую кислоту, остается под сомнением, поскольку в природе до сих пор не обнаружен ни один из четырех возможных изомеров β-оксиглутаминовой кислоты.

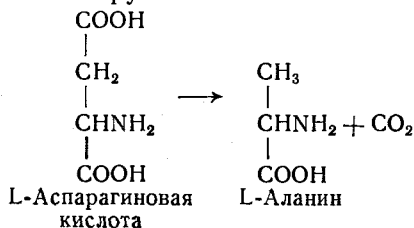
Найден мутантный штамм *E. coli*, который декарбоксилирует γ-оксиглутаминовую кислоту с образованием α-окси-γ-аминомасляной кислоты [232]. Идентичен ли фермент, катализирующий эту реакцию, глутаматдекарбоксилазе, пока не известно. К числу аминокислот, декарбоксилируемых бактериальными декарбоксилазами, принадлежит L-аспарагиновая кислота. По данным Виртанена и сотрудников [233, 234], *Rhizobium leguminosarum* декарбоксилирует аспарагиновую кислоту с образованием β-аланина:



Эта ферментативная реакция свойственна и некоторым другим микроорганизмам; однако скорость ее зачастую так мала, что определение образующейся углекислоты технически

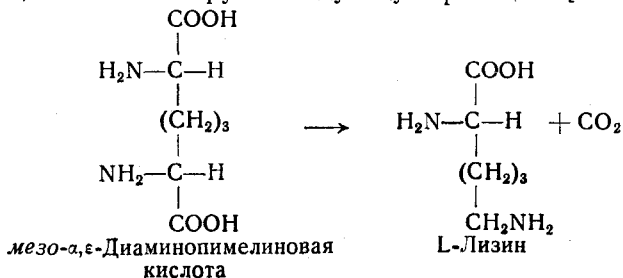
затруднительно. Образование β -аланина при этой реакции было подтверждено при помощи микробиологического метода [235, 236].

Декарбоксилирование L-аспарагиновой кислоты с образованием L-аланина обнаружено у *Clostridium welchii* [237] и у других микроорганизмов [238]. Эта реакция уникальна в том отношении, что при ней происходит отщепление β -карбоксильной, а не α -карбоксильной группы:

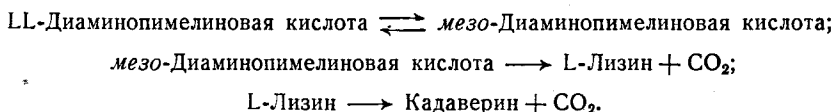


Аспартат- β -декарбоксилаза *Cl. welchii* отличается от других декарбоксилаз еще и тем, что она активируется не только пиридоксальфосфатом, но и очень малыми количествами α -кетокислот. Это явление нельзя отнести за счет декарбоксилирования щавелевоуксусной кислоты, возникающей в результате переаминирования между добавленной α -кетокислотой и аспарагиновой кислотой, поскольку α -аланин, образующийся при ферментативном карбоксилировании аспарагиновой кислоты в присутствии меченой пировиноградной кислоты, не содержит изотопной метки. По всей вероятности, активирующее действие добавленной α -кетокислоты связано с образованием пиридоксальфосфата в результате реакции переаминирования между α -кетокислотой и пиридоксаминфосфатом, присутствующим в ферментном препарате.

Еще одна бактериальная декарбоксилаза, при действии которой образуется α -аминокислота, а именно декарбоксилаза мезо- α , ϵ -диаминопимелиновой кислоты, была открыта Уорк и ее сотрудниками. Этот фермент был найден у ряда микроорганизмов, в том числе у *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* и *Sarcina lutea*; он катализирует следующую реакцию [239—242]:



Неочищенные препараты декарбоксилазы диаминопимелиновой кислоты декарбоксилируют как *мезо*-, так и LL-форму этой аминокислоты с образованием L-лизина. Однако в очищенном виде этот фермент значительно более активно превращает *мезо*-форму, чем LL-форму. Фактически субстратом этой декарбоксилазы является *мезо*- α , ϵ -диаминопимелиновая кислота; декарбоксилирование LL-формы этой аминокислоты неочищенными препаратами фермента объясняется, видимо, предварительным переходом LL-форму в *мезо*-форму. Взаимные превращения LL-формы и *мезо*-формы α , ϵ -диаминопимелиновой кислоты, очевидно, катализируются специфической рацемазой (стр. 244). У некоторых микроорганизмов, содержащих наряду с рацемазой и декарбоксилазой диаминопимелиновой кислоты также декарбоксилазу L-лизина, происходят следующие последовательные превращения:



Декарбоксилаза диаминопимелиновой кислоты в отличие от лизиндекарбоксилазы и большинства других бактериальных аминокислотных декарбоксилаз имеет рН-оптимум в нейтральной зоне. Установлено, что ее коферментом служит пиридоксальфосфат. Роль декарбоксилазы диаминопимелиновой кислоты в процессе биосинтеза лизина рассматривается дальше (стр. 428). Реакция декарбоксилирования диаминопимелиновой кислоты уникальна в том отношении, что отщепляемая карбоксильная группа связана с асимметрическим центром, имеющим D-конфигурацию. Все прочие известные аминокислотные декарбоксилазы действуют на L-аминокислоты. В ранних работах упоминается о декарбоксилировании *d*-лизина [233, 243], но в настоящее время эта аминокислота известна как L-лизин.

Ранее были сделаны попытки показать обратимость реакций декарбоксилирования аминокислот; при этом заметного образования аминокислоты из амина и углекислоты не наблюдалось. Обратимость реакции была доказана позже при помощи изотопного метода [244, 245]. В частности, было показано, что при реакции декарбоксилирования глутаминовой кислоты константа равновесия $K = \frac{[\gamma\text{-Аминобутират}] \cdot [\text{HCO}_3^-]}{[\text{Глутамат}^-]}$ равна 70; таким образом, в точке равновесия значительно преобладает декарбоксилирование глутамата. Константы равновесия других реакций

ферментативного декарбоксилирования аминокислот еще не изучены, и не исключена возможность, что при определенных условиях может иметь место синтез аминокислоты путем присоединения CO_2 к соответствующему амину.

Доказано участие витамина B_6 в форме пиридоксальфосфата в большей части известных реакций декарбоксилирования аминокислот у животных, растений и микроорганизмов (см. табл. 20). Роль пиридоксальфосфата в декарбоксилировании аминокислот обсуждается ниже (стр. 248).

Интересные данные о механизме декарбоксилирования аминокислот получены при помощи D_2O [246]. Обнаружено, что в процессе ферментативного декарбоксилирования лизина, тирозина и глутаминовой кислоты в молекулу амина у углеродного атома, несущего аминную группу, включается только один атом дейтерия. Из этого следует, что в процессе декарбоксилирования не происходит образования на промежуточной стадии иминопроизводного аминокислоты, поскольку при α -углеродном атоме сохраняется один водородный атом (α -водород исходной аминокислоты). Эти наблюдения согласуются с рассмотренным на стр. 257 механизмом декарбоксилирования аминокислот, основанным на образовании шиффова основания в результате конденсации аминогруппы аминокислоты и альдегидной группы пиридоксальфосфата.

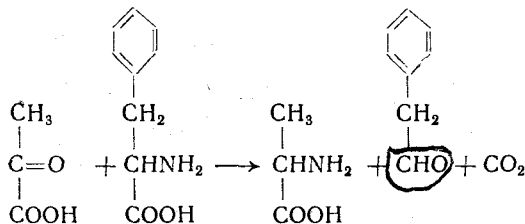
Вполне вероятно, что ферментативному декарбоксилированию подвергаются не только упомянутые выше, но и другие аминокислоты. В природных объектах обнаружен ряд аминов, имеющих строение продуктов декарбоксилирования природных аминокислот (например, триптамин и амины, соответствующие лейцину, изолейцину и валину) [247]. Нерешенным остается вопрос о существовании сериндекарбоксилазы. Опубликовано краткое сообщение о том, что клетки *Proteus vulgaris* декарбоксилируют лейцин и валин [248].

ПЕРЕАМИНИРОВАНИЕ

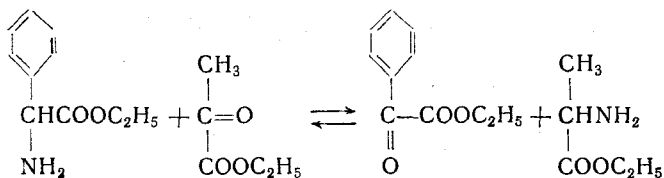
Общие замечания

Переаминированием, или трансаминированием, называют химическую реакцию, при которой происходит перенос аминной группы от одной молекулы к другой без промежуточного образования аммиака. Реакции такого типа впервые были обнаружены в 1934 г. Хербстом и Энгелем [249, 250], наблюдавшими перенос α -аминогрупп аминокислот на α -кетокислоты в кипящем водном растворе. Продуктами реакции между пировиноградной

кислотой и фенилаланином были аланин, фенилуксусный альдегид и CO_2 :



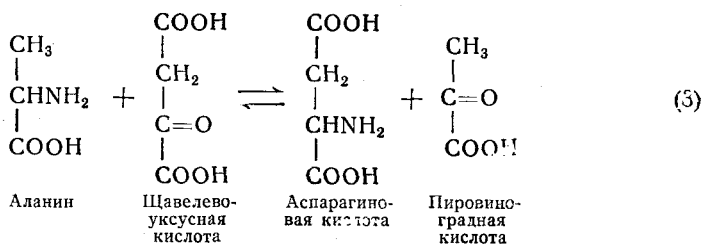
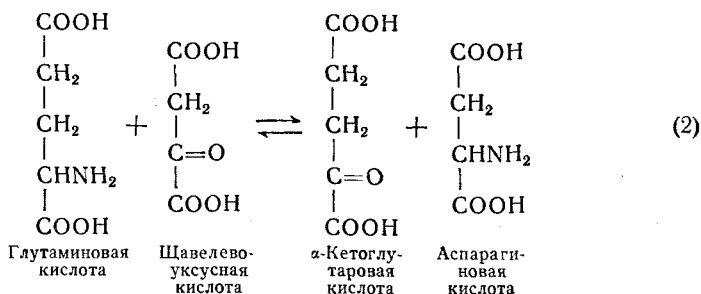
При использовании эфиров amino- и кетокислот наблюдаются реакции следующего типа:



Ферментативное переаминирование было открыто в 1937 г. Браунштейном и Крицман [251], которые наблюдали перенос аминогрупп от α -аминокислот к α -кетокислотам в кашице из грудной мышцы голубя. Этому открытию предшествовали отдельные наблюдения, относящиеся к данному процессу. Нейбауер [110] и Кнооп [111] в начале XX века наблюдали переход аминокислоты в соответствующую кетокислоту и обратное превращение в опытах на животных *in vivo* и на дрожжевых клетках. Д. Нидхэм [252] в 1930 г. обнаружила, что в грудной мышце голубя может происходить дезаминирование глутаминовой и аспарагиновой кислот без выделения аммиака; другие авторы отмечали, что в грудной мышце голубя скорость исчезновения щавелевоуксусной кислоты повышается при добавлении глутаминовой кислоты [253, 254].

Согласно первоначальным данным Браунштейна и Крицман, кетоглутаровая и щавелевоуксусная кислоты могут служить акцепторами α -аминогрупп многих аминокислот. Коэн в своих исследованиях указал на несовершенство использованных в первоначальных работах аналитических приемов. В результате дальнейших исследований Коэна [255, 256] первоначальные представления были пересмотрены и сложилось мнение, что

существенную роль в процессах переаминирования играют только три аминокислоты (см. также у Браунштейна [257]):



Данные более поздних исследований свидетельствуют о том, что реакция (3), по крайней мере в сердечной мышце, представляет собой сумму реакций (1) и (2) и не катализируется особым ферментом [258].

Хотя результаты проведенных ранее работ [255, 257, 260] дали основание предполагать, что в реакциях переаминирования участвуют и другие аминокислоты, помимо трех названных выше, еще недавно господствовало представление об относительно малом значении таких реакций в процессах обмена веществ. Ввиду этого многие наблюдения, касающиеся обратимого аминирования аминокислот, не находили объяснения. Шёнхаймер, важные исследования которого по вопросам обмена аминокислот и динамического состояния белков в организме

уже упоминались (стр. 177), писал в 1941 г.: «Участие в ... [в реакциях переаминирования] установлено только для глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и аланина в отличие от всех других аминокислот. Обнаруженное в наших опытах появление изотопа в других аминокислотах белков крысы нельзя приписать ни действию фермента Эйлера, ни действию [ферментной системы, описанной] Браунштейном. Необходимо исследовать другие механизмы».

Другие относительно давние наблюдения также указывали на большое значение реакции переаминирования в обмене веществ. Было найдено, что α -кетокислота, соответствующая тироксину, обладает физиологическим действием, характерным для тироксина, и в 1935 г. были получены данные, дающие основание отнести физиологическую активность этой кетокислоты за счет ее аминирования с образованием тироксина [261]. В опытах по перфузии изолированных органов и *in vivo* на intactных животных было установлено превращение ряда α -кетокислот (помимо пировиноградной, шавелевоуксусной и α -кетоглутаровой) в соответствующие аминокислоты. В связи с этим представляют интерес данные опытов, в которых удавалось обеспечить рост крыс и размножение микроорганизмов при полной замене некоторых аминокислот пищи соответствующими α -кетокислотами (стр. 137).

В 1950 г. в результате независимых исследований нескольких групп авторов было установлено, что диапазон специфичности реакций ферментативного переаминирования чрезвычайно широк [277, 279, 282]. Эти работы и данные, опубликованные позднее, свидетельствуют о том, что едва ли не все природные аминокислоты доступны ферментативному переаминированию.

Термин «переаминирование» («трансаминирование»), обозначающий процесс переноса аминных групп, стал общепринятым; ферменты, катализирующие эти реакции, обозначаются либо как «трансаминазы», либо как «аминоферазы». Последний термин был предложен русскими авторами [257], которые наряду с другими авторами придерживаются его и в настоящее время. Термин «трансаминазы», предложенный Козном, получил более широкое распространение; этот термин применяется и в настоящей монографии.

Номенклатура трансаминаз осложняется тем, что эти ферменты катализируют обратимые реакции, в которых участвует не менее четырех субстратов (а иногда и больше). В этой книге *реакции переаминирования* обозначены наименованиями реагирующих веществ, соединенными дефисом, например реакции глутамат-пирuvat. Для обозначения обратимых реакций можно пользоваться наименованиями исходной и конечной аминокислот,

опуская участвующие в реакции кетокислоты (например, реакция глутамат-аланин).

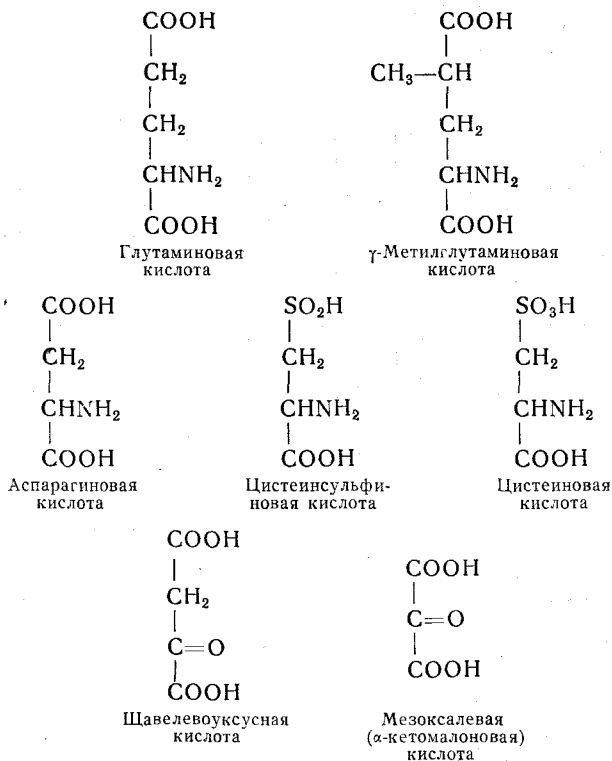
В названиях *трансаминаз*, катализирующих обратимые реакции, также указываются обе аминокислоты, являющиеся субстратами, например глутамат-аланин-трансаминаза. Если в реакцию могут вступать не две, а несколько аминокислот, то применяются такие обозначения, как глутамат-валин, лейцин, изолейцин-трансаминаза. Но если фермент катализирует реакции между любой из аминокислот, входящих в группу субстратов, и аналогичными α -кетокислотами, то наименования всех субстратов следует соединять дефисами, например глутамат-валин-лейцин-изолейцин-трансаминаза. Эта номенклатура в данное время представляется удобной; после того как трансаминазы будут получены в высокоочищенном состоянии, возможно, окажется желательным и даже необходимым пересмотреть терминологию.

Реакции между α -кетоглутаровой кислотой и аминокислотами

Препараты из самых разнообразных биологических объектов осуществляют обратимые реакции переаминирования между α -кетоглутаровой кислотой и аланином и между α -кетоглутаровой и аспарагиновой кислотами. Что эти две реакции катализируются отдельными ферментами, было доказано путем их разделения и частичной очистки; оба фермента были выделены из сердечной мышцы свиньи. На разработку способов очистки глутамат-аспартат-трансаминазы [208, 262—264] и глутамат-аланин-трансаминазы [208, 265] затрачено много усилий, но до недавнего времени эти ферменты не были получены в виде гомогенных препаратов¹. Глутамат-аспартат-трансаминаза сердца свиньи проявляет активность по отношению к мезоксалевой кислоте (вместо щавелевоуксусной кислоты) и к цистеиновой кислоте (вместо аспарагиновой кислоты); однако с этими субстратами скорость реакции значительно понижена. Вместе с тем реакция переаминирования между цистеинсульфиновой кислотой и α -кетоглутаратом протекает в присутствии очищенных препаратов глутамат-аспартат-трансаминазы со значительно большей

¹ Высокоочищенные препараты глутамат-аспартат-трансаминазы из сердечной мышцы свиньи получили в 1957 г. Дженкинс и Сайзер, детально изучившие свойства этого фермента [J. Am. Chem. Soc., 79, 2655 (1957); J. Biol. Chem., 234, 51, 1179 (1959)]. В частности, ими доказано взаимопревращение альдегидной и аминной формы простетической группы этой трансаминазы при взаимодействии с соответствующими субстратами (спектрофотометрические исследования и препаративное выделение пиридоксальфосфата и пиридоксаминфосфата после отщепления их от апофермента). — *Прим. ред.*

скоростью, чем реакция между аспарагиновой и α-кетоглутаровой кислотами [266, 267]. Глутамат-аспартат-трансминаза сердца свиньи осуществляет также реакцию переаминирования между γ-метилглутаминовой (но не β-метилглутаминовой) и щавелевоуксусной кислотами примерно с такой же скоростью, как реакцию между глутаминовой и щавелевоуксусной кислотами [268]. По-видимому, эти реакции катализирует один и тот же фермент. О сходстве между молекулами упомянутых выше субстратов позволяют судить их структурные формулы:



Очищенные препараты глутамат-аланин-трансминазы сердца свиньи проявляют некоторую активность при замене пировиноградной кислоты α-кетомасляной или мезоксалевой кислотой [208, 269]; однако этот фермент не катализирует реакций переаминирования с участием γ-метилглутаминовой или β-метилглутаминовой кислоты [268].

Вопрос о существовании особой аспартат-аланин-трансминазы еще не решен. В сердечной мышце свиньи реакция между

Таблица 21

Реакция переаминирования между α -кетоглутаровой кислотой и аминокислотами

Аминокислота	Сердце свиный ¹⁾ [277]	Печень свиный ¹⁾ [277]	Почки крысы ²⁾ [278]	Предстательная железа крысы ²⁾ [278]	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ³⁾ [279]	<i>Escherichia coli</i> ³⁾ [279]	<i>Lactobacillus arabinosus</i> ⁴⁾ [288]	Люпин ⁵⁾ [280]
Аланин	170	—	98	223	0	12	0 ⁶⁾	287
α -Аминогептановая кислота	—	—	—	—	—	—	7,40 ⁶⁾	—
α -Аминомасляная кислота . .	40	—	—	—	—	—	7,53 ⁶⁾	108
γ -Аминомасляная кислота . .	—	—	—	—	—	—	—	25
Аргинин	29	132	30	12	—	—	0	149
Аспарагиновая кислота	449	265	241	174	25	25	2,21 ⁶⁾	—
Валин	237 ⁷⁾	65 ⁷⁾	122 ⁷⁾	106 ⁷⁾	25	15	7,86 ⁶⁾	22
Гистидин	10 ⁷⁾	-6 ⁷⁾	—	—	10	10	2,32 ⁶⁾	20
Глицин	8	57	18	30	10	10	0	24
Изолейцин	208 ⁷⁾	47 ⁷⁾	122 ⁷⁾	94 ⁷⁾	10	—	8,13 ⁶⁾	38
Лейцин	246 ⁸⁾	99	112	100	20	25	8,32 ⁶⁾	75
Лизин	13 ⁷⁾	4 ⁷⁾	0	0	10	10	0 ⁶⁾	31
Метионин	57 ⁷⁾	55 ⁷⁾	28	9	15	20	8,12 ⁶⁾	26
Норлейцин	75	—	—	—	20	10	8,60 ⁶⁾	—
Норвалин	—	—	—	—	—	—	8,25 ⁶⁾	—
Орнитин	75,7	—	—	—	—	—	0	37
Пиридоксамин	—	—	—	—	—	—	—	49
Серин	13 ⁷⁾	-7 ⁷⁾	—	—	—	—	0 ⁶⁾	—
Тирозин	82	144	—	—	12	12	5,36 ⁶⁾	—
Треонин	2 ⁷⁾	-5 ⁷⁾	25 ⁷⁾	12 ⁷⁾	8	10	0 ⁶⁾	—
Триптофан	49	17	—	—	15	15	4,48 ⁶⁾	—
Фенилаланин	68 ⁸⁾	73	25 ⁷⁾	8 ⁷⁾	15	13	7,03 ⁶⁾	—
Фенилглицин	—	—	—	—	—	—	8,32	—
Цистеиновая кислота	—	—	—	—	—	—	4,11	147
Цистеин	28	46	—	—	—	—	0	39
Цистин	3	-18	—	—	—	—	0	—
Этионин	—	—	—	—	—	—	4,11	—

1) Число микролитров CO_2 , выделяемой глутаматдекарбоксилазой из образовавшейся глутаминовой кислоты.

2) Число микромолей образовавшейся глутаминовой кислоты по данным колориметрических определений.

3) Число микромолей образовавшейся глутаминовой кислоты по данным хроматографии на бумаге с визуальным сопоставлением исследуемых и стандартных пятен; конфигурации аминокислот не указаны.

4) Число микромолей глутамата, найденных при определении при помощи L-глутаматдекарбоксилазы.

5) Активность пятна глутаминовой кислоты на хроматограмме (число импульсов C^{14} в 1 мин.). Препарат цитоплазматических гранул люпина инкубировали с аминокислотой и C^{14} -кетоглутаратом; конфигурация аминокислот не указана. Число импульсов в контроле (без добавления аминокислоты) равнялось 16.

6) D-Изомер не активен.

7) Аминокислота в виде рацемата.

8) Величины для D-лейцина и D-фенилаланина равны соответственно 9 и 7 $\mu\text{л}$ [277].

Таблица 22

Реакции переаминирования, описанные в литературе *

Аминокислота	Распространение			Соответствующая α -кетокислота или альдегидокислота
	живот- ные	расте- ния	микро- орга- низмы	
Аланин	ГМ	ГМ	ГМ(D)	Пировиноградная кислота
β -Аланин	Г		Г	Полуальдегид малоновой кислоты
δ -Амид α -аминоадипи- новой кислоты	М			δ -Амид α -кетoadипиновой кислоты
α -Аминоадипиновая ки- слота	ГМ		ГМ	α -Кетoadипиновая кислота
δ -Аминовалерьяновая кислота	Г		Г	Полуальдегид глутаровой кислоты
α -Аминогептановая ки- слота	М		Г	α -Кетогептановая кислота
Аминомалоновая кисло- та	ГМ			Мезоксалева кислота
α -Аминомасляная кисло- та	ГМ	Г	ГМ	α -Кетомасляная кислота
γ -Аминомасляная кис- лота	Г	Г	Г	Полуальдегид янтарной кислоты
Аргинин	ГМ	Г	ГМ	α -Кето- δ -гуанидиновалерьяновая кислота
Аспарагин	М	Г		β -Амид щавелевоуксусной (α -ке- тоянтарной) кислоты
Аспарагиновая кислота	ГМ	ГМ	ГМ(D)	Щавелевоуксусная кислота
α -N-Ацетилорнитин			Г	γ -Полуальдегид α -N-ацетилглута- миновой кислоты
S-Бензилцистеин	М			S-Бензил- β -меркаптопировино- градная кислота
Валин	ГМ	ГМ	ГМ	α -Кетоизовалерьяновая кислота
Гистидин	ГМ	Г	Г(D)	Имидазолпировиноградная кислота
Гистидинолфосфат			ГМ	Имидазолацетолфосфат
Глицин	ГМ	ГМ	ГМ	Глиоксильная кислота
Глутамин	М	М	М	γ -Амид α -кетоглутаровой кислоты
Гомоцистеиновая кисло- та	М			γ -Сульфонил- α -кетомасляная кис- лота
α, γ -Диаминоглутаровая кислота	Г		Г	α, γ -Дикетоглутаровая кислота, γ -кето- α -аминоглутаровая кис- лота

Продолжение табл. 22

Аминокислота	Распространение			Соответствующая α -кетокислота или альдегидокислота
	живот-ные	расте-ния	микро-орга-низмы	
3, 5-Дийодтирозин	Г			3, 5-Дийод-4-оксифенилпировиноградная кислота
γ -Диметиламид глутаминовой кислоты	М			γ -Диметиламид α -кетоглутаровой кислоты
3, 4-Диоксифенилаланин	Г			3, 4-Диоксифенилпировиноградная кислота
Изолейцин	Г	Г	ГМ	L- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота
<i>алло</i> -Изолейцин	Г		Г	D- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота
ϵ -N-Карбобензоксиллизин	М			α -Кето-N-карбобензокси- ϵ -аминокапроновая кислота
δ -N-Карбобензоксинитин	М			α -Кето-N-карбобензокси- δ -аминовалерьяновая кислота
Кинуренин	ГМ		Г	2-Аминобензоилпировиноградная кислота \rightarrow Кинуреновая кислота
Лейцин	ГМ	Г	ГМ (D)	α -Кетоизокапроновая кислота
<i>трет</i> -Лейцин	Г			Триметилпировиноградная кислота
Лизин	ГМ	Г	Г	α -Кето- ϵ -аминокапроновая кислота \rightarrow Δ^1 -Пиперидин-2-карбоновая кислота; δ -Полуальдегид α -аминоадипиновой кислоты \rightarrow Δ^1 -Пиперидин-6-карбоновая кислота
γ -Метиламид глутаминовой кислоты	М			γ -Метиламид α -кетоглутаровой кислоты
δ -Метиламид α -аминоадипиновой кислоты	М			α -N-Метиламид α -кетoadипиновой кислоты
γ -Метиленглутаминовая кислота		ГМ		α -Кето- γ -метиленглутаровая кислота
γ -Метиленглутамин	М			γ -Амид α -кето- γ -метиленглутаровой кислоты
γ -Метилглутаминовая кислота	М	ГМ		α -Кето- γ -метилглутаровая кислота
γ -Метилглутамин	М			γ -Амид α -кето- γ -метилглутаровой кислоты
Метионин	ГМ	ГМ	Г (D)	α -Кето- γ -метилтиомасляная кислота

Продолжение табл. 22

Аминокислота	Распространение			Соответствующая α -кетокислота или альдегидокислота
	животные	растения	микрорган. низшие	
Нитроаргинин	М			α -Кето- δ -нитрогуанидиновалерьяновая кислота
Норвалин	ГМ	М	ГМ	α -Кетовалерьяновая кислота
Норлейцин	ГМ		ГМ	α -Кетокaproновая кислота
ϵ -Окси- α -аминокапроновая кислота	М		Г	α -Кето- ϵ -оксикапроновая кислота
γ -Оксиглутаминовая кислота			Г	α -Кето- γ -оксиглутаровая кислота
β -Оксикинуруенин	ГМ		Г	2-Амино-3-оксибензоилпировиноградная кислота \rightarrow Ксантуреновая кислота
Орнитин	ГМ	Г	Г	α -Кето- δ -аминовалерьяновая кислота \rightarrow Δ^1 -Пирролин-2-карбоновая кислота; δ -полуальдегид глутаминовой кислоты \rightarrow Δ^1 -пирролин-5-карбоновая кислота
Серин	ГМ		Г (D)	β -Оксипировиноградная кислота
β -2-Тиенилаланин	ГМ		Г	β -2-Тиенилпировиноградная кислота
Тирозин	ГМ	Г	ГМ	<i>l</i> -Оксифенилпировиноградная кислота
Треонин	Г	Г	Г	α -Кето- β -оксимасляная кислота
Триптофан	ГМ	Г	ГМ (D)	Индолпировиноградная кислота
Фенилаланин	ГМ	Г	ГМ (D)	Фенилпировиноградная кислота
Фенилглицин			Г	α -Кетофенилуксусная кислота
Фенилсерин	Г			α -Кето- β -окси- β -фенилпропионовая кислота
ϵ -N-Хлорацетиллизин	М		Г	α -Кето-N-хлорацетил- ϵ -аминокапроновая кислота
δ -N-Хлорацетилорнитин			Г	α -Кето-N-хлорацетил- δ -аминовалерьяновая кислота
Циклогексилаланин	М		Г	α -Кето- β -циклогексилпропионовая кислота
Циклогексилглицин			Г	α -Кетоциклогексилуксусная кислота
Цистеин	ГМ	Г		β -Меркаптопировиноградная кислота

Продолжение табл. 22

Аминокислота	Распространение			Соответствующая α -кетокислота или альдегидокислота
	животные	растения	микроорганизмы	
Цистеиновая кислота	ГМ	Г	Г	β -Сульфонилпировиноградная кислота
Цистеинсульфиновая кислота	ГМ		ГМ	β -Сульфинилпировиноградная кислота
Цитруллин	ГМ	Г		α -Кето- δ -карбамидовалерьяновая кислота
Этионин	М		Г	α -Кето- γ -этилтиомасляная кислота

* Г — реакции, протекающие с участием L-глутаминовой или α -кетоглутаровой кислот; М — реакции, протекающие с участием монокарбоновых α -амино- или α -кетокислот. Все аминокислоты L-конфигурации, за исключением особо указанных; у ряда микроорганизмов в реакцию переаминирования может вступать и D-изомер некоторых аминокислот (указано в скобках).

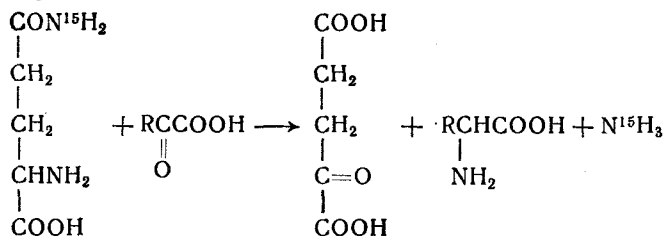
аспаратом и аланином, по-видимому, представляет собой результат сопряжения реакций между аланином и глутаминовой кислотой, с одной стороны, и глутаминовой и аспарагиновой кислотами — с другой [258]. Было описано выделение аспарат-аланин-трансаминазы из печени голубя [270], но эти наблюдения не были подтверждены в другой лаборатории [271]. В том, что многие препараты из животных и растительных тканей, а также микроорганизмы способны осуществлять реакцию переаминирования между аспарагиновой кислотой и аланином, нет никаких сомнений. Однако почти во всех этих препаратах присутствуют также глутамат-аланин- и глутамат-аспарат-трансаминазы. Вполне возможно существование единой глутамат-аспарат-аланин-трансаминазы, т. е. фермента, катализирующего реакции между любой из этих трех аминокислот и каждой из соответствующих α -кетокислот. Ферментные системы такого рода обнаружены у *Escherichia coli* [272] и *Neurospora crassa* [273].

Обратимые реакции переаминирования между многими аминокислотами и α -кетоглутаровой кислотой были осуществлены в опытах с ферментными препаратами из тканей животных и растений и из микроорганизмов. Еще в ранних исследованиях приводились данные о реакциях переаминирования с участием валина [256], α -аминоадипиновой кислоты [257, 274], α -аминомалоновой кислоты [257, 274], цистеиновой [257, 274] и гомоцистеиновой кислот [257, 274], лейцина [275, 276] и изолейцина [275]. Однако эти реакции, как правило, отличались малой интенсивностью по сравнению с реакциями переаминирования

глутаминовой и аспарагиновой кислот и аланина. В более поздних работах, проведенных с использованием более совершенных методов идентификации и количественного определения аминокислот и с применением очищенных препаратов ферментов, доказано существование реакций переаминирования между α -кетоглутаратом и самыми разнообразными аминокислотами. Некоторые описанные в литературе реакции этого рода приведены в табл. 21, а сводный перечень субстратов, участвующих в реакциях ферментативного переаминирования, дан в табл. 22.

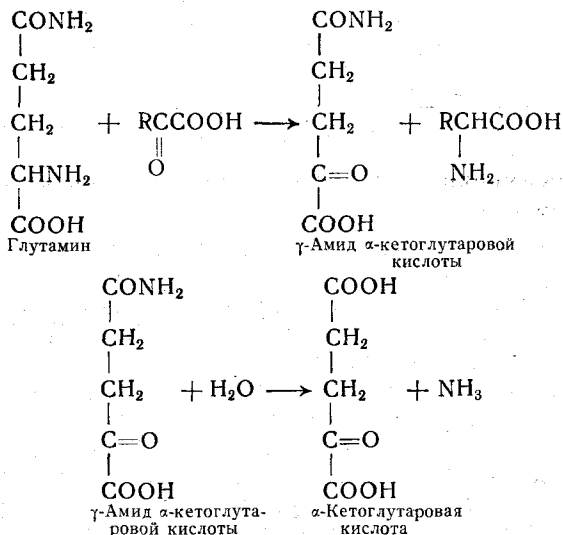
Реакции переаминирования между амидами аминокислот и α -кетокислотами

Первоначально сложилось убеждение, что глутамин и аспарагин могут участвовать в реакциях переаминирования лишь после предварительного дезамидирования с образованием соответствующих дикарбоновых аминокислот [257, 281]. Не вызывает сомнений, что распад глутамин и аспарагина в организме может начинаться с дезамидирования, после чего образующиеся аспарагиновая и глутаминовая кислоты подвергаются тем или иным дальнейшим превращениям, включая и реакции переаминирования, однако получены данные, свидетельствующие о том, что глутамин и аспарагин могут как таковые непосредственно вступать в реакции переаминирования. Ферменты, катализирующие такие реакции, найдены в печени и почках млекопитающих. Переаминирование глутамин впервые было обнаружено в опытах с ферментами из печени крысы, которые катализируют следующую реакцию [282]:

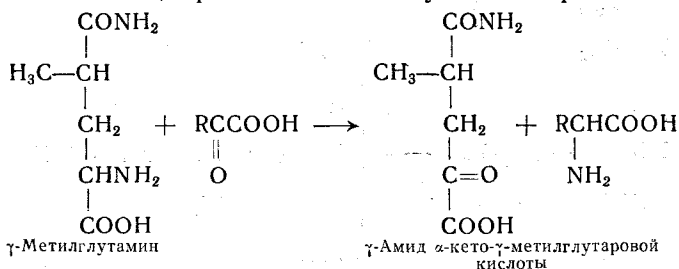


Переаминирование глутамин сопровождается реакцией дезамидирования; опыты с применением глутамин, меченного N^{15} по амидной группе, показали, что аммиак образуется из амидной группы глутамин. В отсутствие α -кетокислоты образование аммиака не имело места; при замене глутамин глутаминовой кислотой скорость реакции переаминирования с различными α -кетокислотами значительно снижалась или реакция не происходила вовсе [283]. При замене глутамин γ -метилглутамином или γ -метилглютамин переаминирование происходит, но

в отличие от реакции с глутамином аммиак в этом случае не образуется. Эти данные указывают на следующие этапы в ферментативной реакции между глутамином и α -кетокислотой [284, 285]:



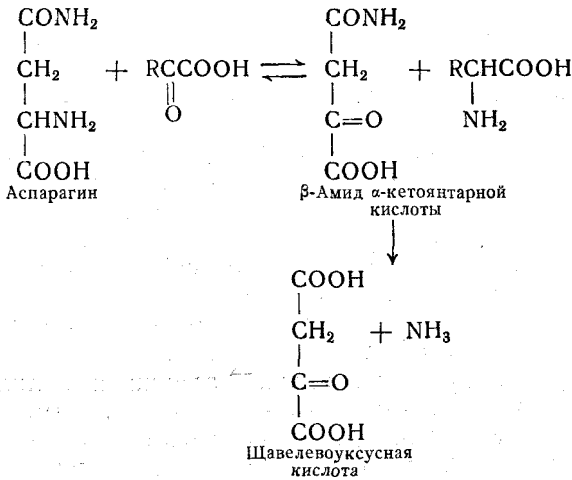
Такой порядок реакций подтверждают данные, полученные при изучении аналогичной реакции между γ -метилглутамином и α -кетокислотами, протекающей следующим образом:



Образование γ -амида α -кето- γ -метилглутаровой кислоты доказано; установлено, что эта α -кетокислота не гидролизуется ферментными препаратами из печени. Предполагаемый промежуточный продукт, образующийся при переаминировании глутаминна с α -кетокислотами, — γ -амид α -кетоглутаровой кислоты — был синтезирован; оказалось, что этот амид гидролизуется с образованием α -кетоглутаровой кислоты и аммиака ферментными препаратами, катализирующими реакцию сочетанного переаминирования и дезамидирования глутаминна, а также препаратами

из ряда других тканей [286]. Фермент, катализирующий дезамидирование γ -амида α -кетоглутаровой кислоты, был получен из печени крысы в очищенном виде и отделен от трансаминазы [287]. Трансаминаза глутамина проявляет активность в реакциях с участием многочисленных α -кетокислот, в том числе α -кетокислотных аналогов аланина, глицина, серина, α -аминомасляной кислоты, норвалина, норлейцина, лейцина, фенилаланина, тирозина, метионина, глутаминовой кислоты, триптофана, аспарагина, цистеина, аргинина и цистеиновой кислоты [127, 283, 285, 288—290]. Этот фермент может, кроме того, аминировать за счет глутамина такие α -кетокислоты, которые соответствуют аминокислотам, неспособным заменить глутамин как донатор аминогруппы, например аспарагину, γ -диметиламиду глутаминовой кислоты, δ -амиду и δ -метиламиду α -аминоадипиновой кислоты. Помимо этого, удалось осуществить реакции переаминирования между глутамином и N- β -оксалацетилпроизводными глицина и аланина с образованием соответствующих β -аспартилпептидов — β -аспартилглицина и β -аспартилаланина [154].

В опытах с ферментными препаратами из печени была обнаружена также аналогичная реакция сочетанного переаминирования и дезамидирования аспарагина, причем установлено, что трансаминаза аспарагина не идентична трансаминазе глутамина [289]. Последовательность реакций оказалась той же, что и в системе трансаминазы глутамина. Поскольку сродство ω -амидазы к β -амиду α -кетоянтарной кислоты невелико, удается наблюдать реакцию переаминирования, идущую в обратном направлении, а именно — образование аспарагина из β -амида α -кетоянтарной кислоты и различных L-аминокислот [290]:



Эта реакция могла бы играть роль не только при распаде аспарагина, но и в процессе его биосинтеза; однако до сих пор не известно других путей образования β -амида α -кетоянтарной кислоты, кроме переаминирования или окислительного дезаминирования самого аспарагина.

Заслуживает внимания, что в реакциях как неферментативного [291], так и ферментативного переаминирования с глиоксиловой кислотой [289, 292] глутамин и аспарагин более активны, чем глутаминовая и аспарагиновая кислоты. При неферментативном переаминировании между аспарагином и пиридоксалем образуется β -амид α -кетоянтарной (щавелевоуксусной) кислоты [290]. Амнирование фенилпировиноградной и *n*-оксифенилпировиноградной кислот ферментными препаратами из почек теленка также протекает значительно быстрее за счет глутамин или аспарагина, чем за счет соответствующих дикарбоновых аминокислот [293]. В исследованиях, выполненных в последние годы, реакции переаминирования между глутамином и α -кетокислотами обнаружены у некоторых растений [294] и у насекомых [704].

Реакции переаминирования между монокарбоновыми аминокислотами

Еще не так давно принято было считать, что при всех реакциях переаминирования обязательно участие глутаминовой или α -кетоглутаровой кислот. Данные, противоречащие этим представлениям, были получены впервые при обнаружении реакции переаминирования между глутамином и α -кетокислотами. Точка зрения, согласно которой при всех реакциях переаминирования должна участвовать глутаминовая кислота, не имеет теоретических оснований. Однако вследствие широкого распространения в природе реакций переаминирования с участием глутаминовой кислоты доказать существование реакций переаминирования между монокарбоновыми аминокислотами и монокарбоновыми кетокислотами нелегко. Так, например, реакция переноса NH_2 -группы валина на пируват может осуществляться как прямым путем, так и в результате сопряжения реакций между валином и кетоглутаратом и между глутаминовой кислотой и пируватом.

При изучении трансаминаз *Escherichia coli* был обнаружен и получен в очищенном виде фермент, катализирующий обратимую реакцию переаминирования между аланином и α -кетовалерьяновой кислотой [272]. Эта трансаминаза, катализирующая реакции переаминирования валин \rightleftharpoons аланин и валин \rightleftharpoons α -аминомасляная кислота, была отделена от глутамат-трансаминаз *E. coli*. Обнаружение указанной реакции у мутанта *E. coli*, лишённого глутамат-валин-трансаминазы, наряду с наблюде-

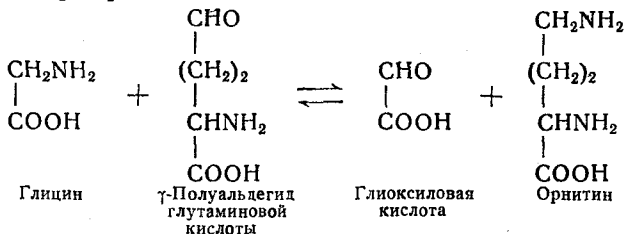
ниями, показавшими, что полученный из *E. coli* ферментный препарат не катализирует реакцию переаминирования между глутаминовой кислотой и аланином, подтверждает существование прямого переноса аминогрупп между монокарбоновыми амино- и α -кетокислотами. У *E. coli*, кроме того, обнаружены и другие трансминазы, осуществляющие реакции между различными монокарбоновыми амино- и α -кетокислотами (стр. 231). Экстракты из клеток *Brucella abortus* катализируют несколько реакций переаминирования между пируватом и аминокислотами, причем приводятся данные о частичном разделении лейцин-глутамат- и лейцин-аланин-трансминаз [295].

Реакции переаминирования между пируватом и аминокислотами обнаружены также в печени, однако относительные скорости реакций переаминирования с участием глутаминовой кислоты и других аминокислот не были определены [296]. В печени и почках некоторых животных найден фермент, катализирующий переаминирование между серином и пируватом [297]; удалось наблюдать и обратную реакцию между аланином и β -окси-пируватом. При замене аланина глутаминовой, аспарагиновой или другими аминокислотами этот фермент неактивен.

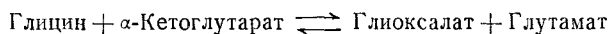
Ниже приводятся некоторые другие реакции переаминирования с участием монокарбоновых амино- и α -кетокислот (см. стр. 228). Данные последних лет позволяют предполагать, что существует множество таких реакций. В исследованиях, относящихся к более раннему периоду, подобные реакции, вероятно, не были обнаружены отчасти из-за отсутствия подходящих методов для определения соответствующих амино- и кетокислот, а может быть, и потому, что α -кетокислотные аналоги многих аминокислот не были доступны.

Реакция переаминирования с участием ω -аминокислот и альдегидокислот

В настоящее время известен ряд реакций переаминирования с участием ω -аминокислот и альдегидокислот. Реакция переаминирования глицин-орнитин уникальна в том отношении, что один из субстратов этой реакции и один из ее продуктов являются альдегидами [288]:

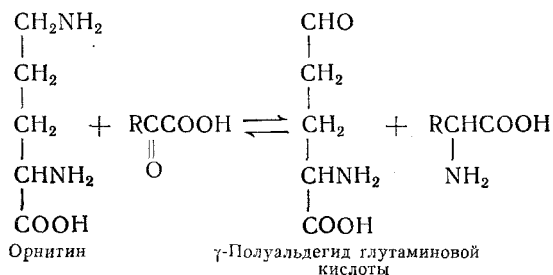


Глицин интересен также тем, что он представляет собой одновременно α -аминокислоту и ω -аминокислоту. Обратимое превращение глиоксиловой кислоты в глицин обнаружено в опытах на животных *in vivo* (стр. 319). В опытах *in vitro* было показано, что глутамин, аспарагин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты могут служить донаторами аминогрупп в реакциях переаминирования с глиоксиловой кислотой, причем аминокислоты менее активны, чем их амиды [289, 298]. Имеются данные об образовании глутаминовой кислоты из глицина и α -кетоглутаровой кислоты [277, 280], но реакция в данном направлении протекает с трудом; появление глиоксиловой кислоты в качестве продукта этой реакции не было установлено. Заслуживает внимания, что и при неферментативной реакции переаминирования



положение равновесия благоприятствует образованию глицина; изменение свободной энергии для этой реакции составляет примерно $+2000$ кал. Эта величина значительно больше величин, найденных для реакций аланин- α -кетоглутарат и аспартат- α -кетоглутарат [299].

Реакции переаминирования между орнитином и пируватом и между орнитином и α -кетоглутаратом обнаружены в печени [277, 288, 300] и у *Neurospora crassa* [301]. С наибольшей скоростью протекают реакции между орнитином и пировиноградной, α -кетоглутаровой, α -кетомасляной или глиоксиловой кислотами, согласно следующему общему уравнению:

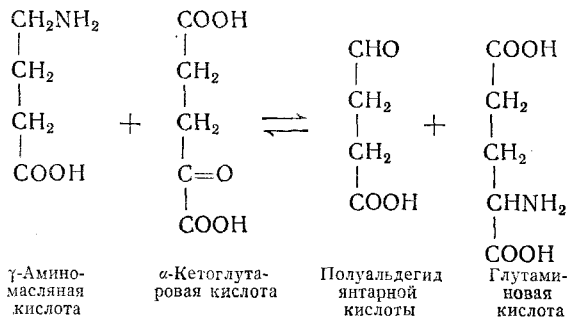


При взаимопревращениях пролина, орнитина и глутаминовой кислоты общим промежуточным продуктом является γ -полуальдегид глутаминовой кислоты. Это соединение впервые получили Фогель и Дэвис [302], обнаружившие, что оно служит предшественником пролина. Реакция переаминирования между орнитином и кетокислотами доходит почти до конца как в печени, так и у *Neurospora*. Равновесие реакции смещено

в сторону образования γ -полуальдегида глутаминовой кислоты — возможно, потому, что реакция осложнена превращением альдегида в другие продукты.

Другая реакция переаминирования с участием орнитина была обнаружена у *Escherichia coli* при изучении биосинтеза этой аминокислоты (стр. 344). Фогель получил данные, свидетельствующие о превращении N-ацетилглутаминовой кислоты в соответствующий γ -полуальдегид. Последнее соединение в результате переаминирования превращается в α -N-ацетилорнитин; реакцию переаминирования удалось продемонстрировать в опытах с бесклеточными экстрактами *E. coli* в присутствии глутаминовой кислоты и пиридоксальфосфата [303, 304]. Переаминирование α -аминогруппы орнитина происходит в том случае, когда δ -аминогруппа замещена [128, 288].

Переаминирование между γ -аминомасляной кислотой и α -кетоглутаратом, впервые описанное Бесманом и сотрудниками [305], служит еще одним примером переноса ω -аминогруппы. Помимо γ -аминомасляной кислоты [306], в реакции переаминирования вступают также β -аланин [305, 307], δ -аминовалерьяновая кислота [308, 309] и α , γ -диаминоглутаровая кислота [308]. Реакция между γ -аминомасляной и α -кетоглутаровой кислотами изучена обстоятельно. Найдено, что продуктом этой реакции является полуальдегид янтарной кислоты; реакция обратима:



Вещества, образующиеся в результате реакции переаминирования α , γ -диаминоглутаровой кислоты (пока не найденной в природных объектах), β -аланина и δ -аминовалерьяновой кислоты, не были идентифицированы. Имеются указания на то, что δ -аминовалерьяновая кислота, представляющая собой продукт декарбоксилирования α -кето- ϵ -аминокапроновой кислоты, может возникать в процессе распада лизина [309]. Для полуальдегида глутаровой кислоты — предполагаемого продукта реакций переаминирования δ -аминовалерьяновой кислоты — возможно окисление в глутаровую кислоту и далее в α -кетоглутаровую кислоту (стр. 434).

Переаминирование D-аминокислот

Исследование реакций переаминирования D-аминокислот еще недавно было затруднительным ввиду отсутствия достаточно чистых препаратов D-изомеров аминокислот. В некоторых исследованиях раннего периода приводились наблюдения, свидетельствующие об участии D-аминокислот в реакциях переаминирования; однако эти данные встречали критическое отношение, поскольку в использованных препаратах D-аминокислот могли присутствовать примеси L-аминокислот [256, 257, 310]. В настоящее время трудно оценить результаты, так как в работах не приведены доказательства оптической чистоты использованных изомеров аминокислот.

В исследованиях Торна и его сотрудников [311—314], проведенных относительно недавно, было убедительно доказано участие D-аминокислот в реакциях ферментативного переаминирования у некоторых бактерий, синтезирующих внеклеточные полиглутаминовые кислоты с преобладанием D-конфигурации. Торн обнаружил, что бесклеточные препараты из *Bacillus subtilis* катализируют образование D-глутаминовой кислоты, D-аспарагиновой кислоты и некоторых других D-аминокислот (например, D-метионина, D-серина) из D-аланина и соответствующих α -кетокислот. Свежеприготовленные ферментные экстракты осуществляли также реакцию переаминирования между L-аспарагиновой и α -кетоглутаровой кислотами; в этом случае образующаяся глутаминовая кислота имела L-конфигурацию. Если экстракты хранить в течение некоторого времени и затем подвергнуть их диализу, то активность D-трансаминазы (при добавлении пиридоксальфосфата в качестве кофермента) значительно превышает активность L-трансаминазы.

В результате фракционирования экстрактов сульфатом аммония были получены препараты, содержащие только D-трансаминазу. Образование D-аланина путем переаминирования между пировиноградной кислотой и D-изомерами фенилаланина, триптофана, метионина, гистидина и лейцина было обнаружено в опытах с ферментными препаратами из *Bacillus anthracis*. В этой ферментной системе пировиноградная кислота не может быть заменена α -кетоглутаровой кислотой. Из D-аминокислот, испытанных в эксперименте, с α -кетоглутаратом реагировал только D-аланин. Из L-аминокислот с пируватом взаимодействовала только L-глутаминовая кислота.

В исследованиях Торна убедительно доказано участие D-аминокислот в реакциях ферментативного переаминирования. Очевидно, в клетках *B. subtilis* и *B. anthracis* имеются L- и D-трансаминазы, отличающиеся высокой стереоспецифичностью.

У этих микроорганизмов пока найдена только одна аминокислотная рацемеза, а именно аланинрацемеза (стр. 241). Вполне вероятно, что D-трансаминазы имеются и у других микроорганизмов, особенно у тех, клетки которых содержат D-аминокислоты. Однозначных данных, подтверждающих участие D-аминокислот в реакциях переаминирования в тканях животных, не получено, хотя в литературе попадаются сообщения, в которых описывались такие реакции. Возможность существования подобных реакций в организме животных нельзя считать исключенной.

При проведении неферментативных модельных реакций переаминирования с использованием D-аминокислот образующаяся в результате реакции аминокислота может в определенных условиях содержать некоторый избыток D-изомера; аналогичные результаты были получены в модельных реакциях с L-изомерами аминокислот. Так, при неферментативном переаминировании между D-аланином и α -кетоглутаровой кислотой (в присутствии ионов Cu^{++} и пиридоксаля) была получена глутаминовая кислота, содержащая небольшой избыток D-изомера [705].

Доказательства существования различных трансаминаз

После того как было установлено, что в реакции ферментативного переаминирования вступают очень многие аминокислоты, стало очевидным, что в природе существует множество различных трансаминаз. Однако исследования по разделению и очистке этих ферментов не успевают за открытием новых реакций переаминирования. Это объясняется, очевидно, тем, что разработка способов очистки ферментов вообще представляет сложную задачу, а может быть, и тем, что внимание исследователей распыляется в связи с большим разнообразием субстратов переаминирования, существование которых установлено или предполагается.

Описаны способы разделения и частичной очистки аспартат-глутамат- и аланин-глутамат-трансаминаз из сердечной мышцы [208, 262—265]. Доказано, что в печени реакции переаминирования между глутамином и α -кетокислотами [282], между аспарагином и α -кетокислотами [289] и между серином и аланином [297] катализируются различными ферментами. Трансаминазы, катализирующие реакции переаминирования ароматических аминокислот с α -кетоглутаратом, в клетках печени крысы локализованы в цитоплазматических гранулах [315].

Экстракты из клеток *Escherichia coli* были подвергнуты фракционированию посредством избирательной адсорбции на геле

трифосфата кальция и последующей дробной элюции. Этим способом удалось разделить фракции с трансаминазной активностью по отношению к трем разным группам субстратов [272].

Вся свойственная исходному экстракту активность в реакциях переаминирования между α -кетоглутаровой кислотой и различными аминокислотами оказалась сосредоточенной в двух фракциях (табл. 23). Одна из них, а именно фракция А, была неактивна по отношению к изолейцину и валину и очень слабо активна в реакции с лейцином. В отличие от фракции А во фракции Б отсутствовала трансаминазная активность по отношению к триптофану и аспарагиновой кислоте. Далее был изучен мутантный штамм *E. coli*, проявляющий абсолютную потребность в изолейцине и относительную — в валине как факторах роста; этот штамм не может расти на средах, содержащих вместо изолейцина и валина соответствующие α -кетокислоты. Оказалось, что у данного мутанта *E. coli* диапазон специфичности реакций переаминирования с участием α -кетоглутаровой кислоты очень близок к диапазону специфичности фракции А; иначе говоря, у этого организма отсутствует трансаминазная активность в реакциях, свойственных фракции Б. Эти результаты находятся в соответствии с присущей данному мутанту абсолютной потребностью в изолейцине и с тем, что его рост не может быть обеспечен аналогичной изолейцину α -кетокислотой.

Таблица 23

Реакции переаминирования между α -кетоглутаровой кислотой и различными аминокислотами у *Escherichia coli* [272]

Аминокислота	Трансаминазная активность по отношению к соответствующей аминокислоте *			
	экстракт из клеток дикого типа	фракция А	фракция Б	экстракт из клеток мутантного штамма
Аспарагиновая кислота . . .	100	100	0	100
Валин	37	0	58	0
Изолейцин	40	0	84	0
Лейцин	41	3	100	3
Метионин	31	10	32	19
Тирозин	25	25	6	18
Триптофан	73	59	0	72
Фенилаланин	37	44	26	29

* Максимальная активность принята за 100%.

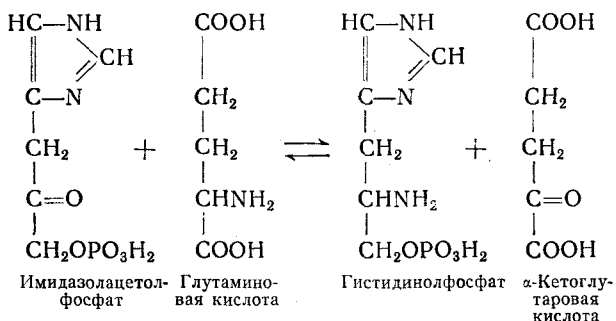
Как видно из табл. 23, спектры трансминазной активности фракций А и Б частично перекрываются. Но если принять, что у мутанта генетические изменения состоят в утрате одного-единственного фермента, то можно заключить, что фракция Б содержит в основном лишь один фермент. Во фракции А, по-видимому, присутствуют несколько трансминаз, но разделить их при дальнейшем фракционировании не удалось. Как отмечено ниже (стр. 353), этот мутантный штамм *E. coli*, способный к медленному росту на среде, не содержащей валина, синтезирует валин путем реакции переаминирования между аланином или α -аминомасляной кислотой и α -кетозовальерьяновой кислотой.

Фракции А и Б, выделенные из экстракта *E. coli*, по-видимому, могут катализировать и другие реакции переноса аминокруппы, помимо тех, в которых участвуют глутаминовая или α -кетоглутаровая кислоты. Оказалось, что смесь фракций А и Б (а также диализованный исходный бесклеточный экстракт) катализирует следующие реакции, протекающие со скоростями одинакового порядка:

- 1) Тирозин + α -Кетоглутаровая кислота \rightleftharpoons *n*-Оксифенилпировиноградная кислота + Глутаминовая кислота
- 2) Глутаминовая кислота + α -Кето- β -метилвальерьяновая кислота \rightleftharpoons α -Кетоглутаровая кислота + Изолейцин
- 3) Лейцин + α -Кетоглутаровая кислота \rightleftharpoons Глутаминовая кислота + α -Кетозокапроновая кислота
- 4) Лейцин + α -Кето- β -метилвальерьяновая кислота \rightleftharpoons Изолейцин + α -Кетозокапроновая кислота

Между тем реакция тирозин \rightleftharpoons изолейцин в тех же условиях не происходила. Можно полагать, что эта реакция должна была бы протекать с заметной скоростью, если бы реакционная смесь содержала глутаминовую или α -кетоглутаровую кислоту в количествах, достаточных для осуществления сопряженных реакций переаминирования. Реакция (4) может представлять прямое превращение или же (если в реакционной смеси присутствуют α -кетоглутарат или глутамат) результат сопряжения реакций (2) и (3). Отсутствие реакции тирозин \rightleftharpoons изолейцин свидетельствует о том, что система не содержит α -кетоглутаровой и глутаминовой кислот в тех концентрациях, при которых возможны подобные сопряженные реакции. Найдено, что фракция А катализирует реакции переаминирования между всеми аминокислотами, входящими в число ее субстратов, и соответствующими α -кетокислотами; аналогичным свойством обладает и фракция Б. Эти факты позволяют предполагать, что одна индивидуальная трансминаза может катализировать реакции между

любой из аминокислот, принадлежащих указанной группе, и соответствующими им α -кетоаналогами. Этот вывод, основанный на результатах изучения ферментов *E. coli*, подтверждается данными, полученными позднее при исследовании трансаминазы, выделенной из мицелия *Neurospora* [273, 316, 317] и катализирующей следующую реакцию:



Фермент, осуществляющий эту реакцию, получен в очищенном виде; найдено, что в приведенной выше реакции глутаминовую кислоту можно заменить L- α -аминоадипиновой кислотой, L-аргинином или L-гистидином; гистидинолфосфат может быть заменен α -кетоадипиновой кислотой или α -кето- δ -гуанидиновалерьяновой кислотой. Упомянутый ферментный препарат катализирует следующие реакции переаминирования: α -аминоадипиновая кислота-глутаминовая кислота, глутамат-аргинин, глутамат-гистидин, α -аминоадипиновая кислота-аргинин и α -аминоадипиновая кислота-гистидин. Весьма вероятно, что все эти реакции осуществляются одним и тем же ферментом; ферментный препарат, по-видимому, не содержит глутаминовой и α -кетоглутаровой кислот, что исключает возможность сопряженных реакций переаминирования с глутаминовой кислотой в качестве переносчика NH_2 -групп.

Реакция между гистидинолфосфатом и α -кетоглутаровой кислотой интересна как пример реакции переаминирования с участием сложного эфира фосфорной кислоты. Некоторую аналогию с этой реакцией представляет взаимопревращение пиридоксальфосфата и пиридоксаминфосфата, связанных с апоферментами трансаминаз (стр. 251 и примечание на стр. 214). Описанные несколькими авторами реакции, предположительно состоящие в переаминировании между пиридоксаминфосфатом и α -кетокислотами [237, 318], дают еще один пример реакций с участием соединения, в молекуле которого вместо карбоксиль-

ной группы имеется фосфатный остаток¹. Возможно, что в реакциях переаминирования могут принимать участие и другие фосфорные эфиры (например, этаноламинфосфат, фосфо- β -оксипируват).

Образование некоторых трансаминаз, по-видимому, носит приспособительный характер. У *E. coli* активность валин-аланин-трансаминазы значительно возрастает при выращивании культуры на среде, не содержащей валина [319]. У *N. crassa* активность трансаминаз, осуществляющих реакции аланин-глутамат и аспартат-глутамат (в противоположность орнитин-глутамат-трансаминазе и некоторым другим), не зависит от содержания экзогенных аминокислот в питательной среде [320].

Значение реакций переаминирования в обмене аминокислот

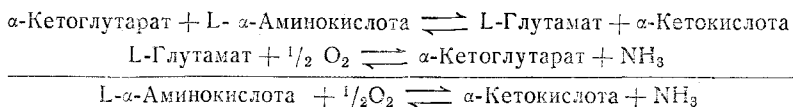
Широкое распространение реакций переаминирования и участие в них многочисленных аминокислот свидетельствуют о существенном значении этих реакций в обмене веществ. Роль реакций переаминирования в процессах окислительного дезаминирования L-аминокислот и мочевинообразования у млекопитающих рассмотрена выше (стр. 171). Возможность замещения незаменимых α -аминокислот в пищевом рационе растущих животных соответствующими кетокислотами определяется наличием в организме активных трансаминаз (стр. 137). Сравнительно недавно было показано, что молодые крысы растут примерно с одинаковой скоростью при кормлении синтетической диетой, содержащей 10 незаменимых аминокислот и глутаминовую кислоту, и рационом, в котором 5 незаменимых аминокислот (лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин и метионин) заменены соответствующими кетокислотами и эквивалентным источником азота [321]. Эти данные свидетельствуют о том, что общая активность трансаминаз в организме крысы очень велика; поскольку для синтеза белков необходимо одновременное присутствие всех аминокислот, приведенные выше факты говорят о том, что указанные пять α -кетокислот быстро подвергаются переаминированию.

¹ Существование таких реакций остается недоказанным. В экстрактах «пиридоксаминфосфат-трансаминазы» из *E. coli* [R. В. Веечеу а. Ф. С. Нарроld, Biochem. J., **66**, 520 (1957)] превращение пиридоксаминфосфата в пиридоксальфосфат происходит путем окислительного дезаминирования, а не переаминирования, а реакция, ошибочно принятая авторами за переаминирование пиридоксальфосфата, состоит в действительности в ферментативном дефосфорилировании пиридоксальфосфата (J. Тиггер, личное сообщение, 1959). По новейшим данным Сенеза (1960), в бактериальных экстрактах наблюдается неферментативное переаминирование между пиридоксаминфосфатом и α -кетокислотами; этим объясняется активирование некоторых аминокислотных декарбоксилаз бактерией кетокислотами. — Прим. ред.

Попытки установить наличие прямой связи между реакциями переаминирования и такими процессами, как синтез белка, рост и развитие, не увенчались успехом [255, 257, 322—326]. В опытах на крысах получены интересные данные о влиянии гормонов передней доли гипофиза и гипофизэктомии на реакции переаминирования в тканях. Введение гормона передней доли гипофиза вызывает повышение активности аспартат-глутамат-трансаминазы в печени (но не в почках) у гипофизэктомированных крыс и у крыс, находящихся на ограниченном пищевом рационе, но не влияет на активность этого фермента в печени и почках у взрослых здоровых самок [327]. Этот же гормон вызывает увеличение активности аланин-глутамат-трансаминазы (но не аспартат-глутамат-трансаминазы) в печени молодых крыс и снижение активности этого фермента у взрослых самцов [328]. При введении кортизона увеличивается активность аспартат-глутамат-трансаминазы в почках и сердечной мышце мыши и уменьшается активность этого фермента в печени [329]. Снижение активности аспартат-глутамат- и особенно аланин-глутамат-трансаминазы наблюдается у крыс, находящихся на мало-белковой диете [330]. Истолкование упомянутых эффектов в настоящее время затруднительно; во всяком случае, такие наблюдения дают представление о некоторых вопросах, которые еще предстоит решить.

Активность аспартат-глутамат-трансаминазы кровяной сыворотки в норме очень низка; она значительно увеличивается при некоторых заболеваниях, в частности при инфаркте миокарда. Это явление, имеющее диагностическое значение, рассматривается в гл. V.

Браунштейн и Бычков [331] в 1939 г. выдвинули предположение, что окислительное дезаминирование некоторых L-аминокислот [332] можно объяснить сочетанным действием трансаминаз, катализирующих переаминирование между α -аминокислотами и α -кетоглутаровой кислотой, и глутаматдегидрогеназы (стр. 175).



Поскольку эти реакции обратимы, следует ожидать, что при помощи данного механизма может происходить и аминирование α -кетокислот. Вопрос о существовании ферментов обратимого аминирования для других аминокислот, помимо глутаминовой кислоты, нуждается в изучении. Мнения о существовании подобных механизмов придерживается Чедранголо [333], который получил данные, указывающие на прямое окисление аланина

ферментными препаратами из печени и почек. Ферментные препараты, полученные из печени и почек V_6 -авитаминозных крыс, проявляют пониженную способность к дезаминированию и переаминированию L-аспарагиновой кислоты и L-аланина, тогда как активность глутаматдегидрогеназы в этих препаратах находится на нормальном уровне [334]. В связи с этим представляют интерес наблюдения Финчема [335], показавшие, что мутантный штамм *Neurospora crassa*, у которого отсутствует глутаматдегидрогеназа, лишен способности ассимилировать аммиак, тогда как из большой группы аминокислот любая обеспечивала рост плесени при добавлении к питательной среде вместо глутаминовой кислоты.

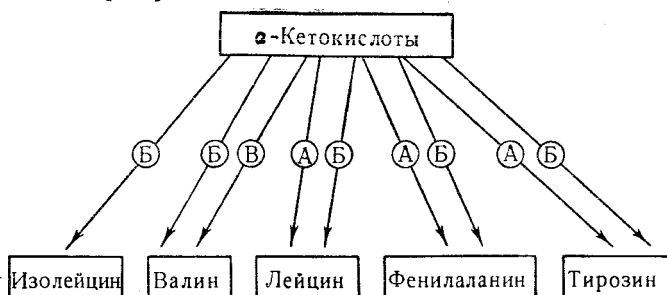
Вместе с тем имеются данные, свидетельствующие о наличии у некоторых организмов иных путей аминирования и дезаминирования аминокислот (см., например, [336—339]). Так, например, было найдено, что у *Brucella abortus* при определенных условиях 75% аланина образуется в результате переаминирования, а остальное количество — посредством других механизмов. У этого микроорганизма имеет место прямое аминирование пирувата, однако оно не является единственным путем синтеза аланина. Имеются сообщения о прямом ферментативном аминировании пирувата у *Bacillus subtilis* (стр. 191).¹

В последние годы стало очевидным, что процессы биосинтеза и распада многих аминокислот протекают с участием реакций переаминирования. Промежуточные реакции обмена отдельных аминокислот рассматриваются в гл. IV; здесь мы ограничимся кратким обсуждением общих функций процессов переаминирования в промежуточном обмене.

Путем переаминирования происходит обратимое образование аланина, глутаминовой и аспарагиновой кислот из соответствующих им α -кетокислот, возникающих в цикле лимонной кислоты. Реакции переаминирования фигурируют в качестве промежуточных звеньев в процессах биосинтеза ряда других аминокислот (например, изолейцина, валина, лейцина, фенилаланина, тирозина и др.) у микроорганизмов. У *Escherichia coli*

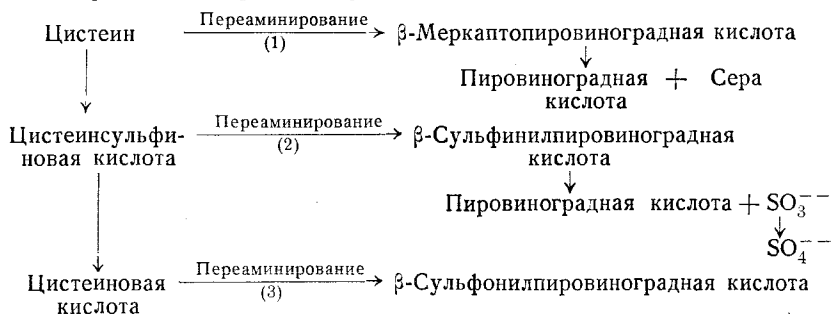
¹ Клетки *Bacillus subtilis* и многих других спороносных аэробов (бацилл) не содержат глутаматдегидрогеназы: у этих микроорганизмов и отчасти у других грамположительных бактерий, обладающих обратимо действующей L-аланиндегидрогеназой, ассимиляция аммиака происходит путем восстановительного аминирования пировиноградной кислоты и последующего переаминирования между аланином и кетоглутаровой кислотой [Шень, Сан-Чун, Хунь Мун-мин и А. Е. Браунштейн, Биохимия, 24, 929, 957 (1959)]; предполагаемое некоторыми авторами наличие аланиндегидрогеназы у грамотрицательных бактерий, высших растений и животных нельзя считать доказанным. — Прим. ред.

в биосинтезе аминокислот участвуют по меньшей мере три трансаминазы [272]:



В биосинтезе фенилаланина, тирозина и лейцина принимают участие трансаминазы А и Б; ферментный препарат А более активен в отношении ароматических аминокислот, однако активность фермента по отношению к лейцину также достаточно высока. Образование валина катализируется ферментами Б и В; изолейцин синтезируется только при участии фермента Б. Следовательно, образование каждой из перечисленных аминокислот, за исключением изолейцина, обеспечивается двумя трансаминазами. Не удивительно, что единственный мутантный штамм *E. coli*, у которого обнаружен дефект на стадии переаминирования, оказался неспособным синтезировать именно изолейцин.

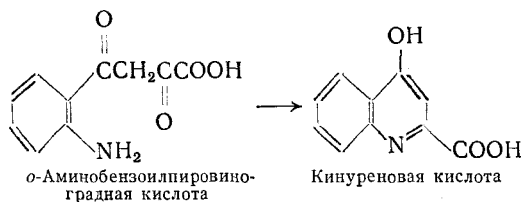
С реакциями переаминирования связаны процессы распада тирозина в организме (стр. 418), биосинтез орнитина (стр. 344) и гистидина (стр. 388) и процессы обмена глутамина и аспарагина (стр. 215). В процессе диссимиляции цистеина реакции переаминирования встречаются на трех этапах:



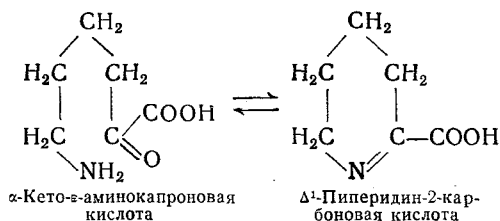
Реакция (1) представляет промежуточное звено одного из механизмов ферментативного десульфирования цистеина; в присутствии редуцирующих веществ вместо элементарной серы обра-

зуется сероводород. В реакции (2) акцепторами аминокруппы могут служить α -кетоглутаровая, щавелевоуксусная и пировиноградная кислоты. Реакция между цистеинсульфиновой кислотой и α -кетоглутаратом, вероятно, катализируется аспартат-глутамат-трансминазой. По некоторым данным, реакция (3) катализируется особым ферментом [340], хотя известно, что очищенные препараты аспартат-глутамат-трансминазы сердца свиньи [269, 274] способны осуществлять реакции с участием цистеиновой кислоты.

Реакции переаминирования кинуренина и 3-окскинуренина приводят к образованию кинуреновой и соответственно ксантуреновой кислот [341—344]. При изучении кинурениназы свинной печени было найдено, что при наличии в опытных пробах пирувата или кетоглутарата наблюдается образование кинуреновой кислоты из кинуренина [344, 345]. Позднее в опытах с одним из штаммов *Pseudomonas* была изучена реакция переаминирования между кинуренином и α -кетоглутаратом с образованием кинуреновой и глутаминовой кислот. Образование кинуреновой кислоты объясняется, очевидно, спонтанной циклизацией предполагаемого промежуточного продукта этой реакции — *o*-аминобензоилпировиноградной кислоты:



Эта реакция близка к реакции циклизации α -кето- ϵ -аминокапроновой кислоты [288]:



В отличие от этой последней реакции образование кинуреновой кислоты протекает необратимо вследствие образования стабильного ароматического кольца. Реакция переаминирования кинуренина конкурирует с реакцией его расщепления кинурениназой; для обеих реакций в качестве кофермента необходим пири-

доксальфосфат. В опытах с экстрактами печени крысы осуществлено разделение этих ферментных систем [346]; при рН 6,3 активность кинурениназы печени крысы значительно снижается по сравнению с активностью кинуренин-трансаминазы [347]. Кинуренин-трансаминаза обнаружена также в почках крысы [347]. Физиологическая функция кинуренин-трансаминазы в почках не совсем понятна, поскольку в ткани почек не происходит заметного превращения триптофана в кинуренин или кинуреновую кислоту, а в крови при нормальных условиях содержание кинуренина ничтожно [344, 348]. Образование ксантуреновой кислоты из 3-оксикинуренина также происходит путем переаминирования ([344, 349] и стр. 405). Препараты кинуренин-трансаминазы действуют и на 5-оксикинуренин; конечным продуктом реакции переаминирования в этом случае является 6-оксикинуреновая кислота [349, 350].

Число прямых доказательств участия лизина в реакциях переаминирования невелико; однако при исследовании обмена этой аминокислоты получены данные, указывающие на ее превращение в соответствующее α -кетопроизводное путем переаминирования [351] (см. стр. 431); описаны реакции переаминирования с участием δ -аминовалерьяновой кислоты — возможного продукта обмена лизина [308, 309]. Реакции переаминирования играют роль и в обмене γ -аминомасляной кислоты, β -аланина и 3,5-дйодтирозина [352]. У *Bacillus subtilis*, *B. anthracis* и, возможно, у других микроорганизмов этой группы D-трансаминаза, по-видимому, играет роль в образовании D-глутаминовой кислоты, необходимой для синтеза внеклеточной D-полиглутаминовой кислоты (см. стр. 265).

В обмене некоторых растений значительную роль, по-видимому, играют реакции переаминирования между γ -метилглютаминовой кислотой и щавелевоуксусной, α -кетоглутаровой или пировиноградной кислотами [357], что подтверждается наличием в растительных тканях γ -метилглютаминовой кислоты [353, 354] и α -кето- γ -метилглютаровой кислоты [355, 356].

Сравнительно недавно описано образование оксиаспарагиновой кислоты в результате реакции переаминирования между щавелевогликолевой (диоксифумаровой) и глутаминовой кислотами. Эта ферментативная реакция обнаружена в различных тканях животных, в том числе в тканях мозга, печени и почек [259].

В литературе имеются сообщения об образовании аминокислот путем ферментативного переноса аминогрупп аденина, гуанина, цитозина и пиридоксамина на α -кетоглутаровую кислоту в ферментных препаратах *E. coli* [358, 359], а также аминогрупп гуанина, аденозина, гуанозина и адениловой кислоты на гли-

оксиловую или гликолевую кислоту в срезах печени [360]¹. Продукты превращения пуриновых и пиримидиновых производных при этом не исследовались. Маловероятно, чтобы в этих случаях имели место типичные реакции переаминирования; природа описанных превращений остается неясной.

Нужно считаться с тем, что в реакциях переаминирования, возможно, участвуют соединения, не являющиеся аминокислотами, например глюкозамин, фосфорные эфиры некоторых углеводов, глутатион и другие пептиды. Хербст и Шимин [361] наблюдали ферментативное превращение пирувоил-аланина в аланилаланин; эти данные говорят о возможном существовании аналогичных ферментативных реакций. В литературе были сообщения о ферментативном переаминировании пептидов [322], но эти работы подверглись критике в связи с ненадежностью применявшихся аналитических методов [255, 257, 260, 277]. Описано переаминирование β -оксалацетиламинокислот с образованием β -аспартилпептидов [154] (стр. 223).

Хотя переаминирование играет существенную роль в образовании и распаде многих аминокислот, обнаружилось, что превращение некоторых аминокислот, способных вступать в реакции переаминирования (например, триптофана, метионина, фенилаланина), по-видимому, протекает преимущественно иными путями. Нужно помнить, что наши нынешние представления о «главных» путях обмена не окончательны и могут измениться; к тому же превращения, второстепенные в количественном отношении, могут играть существенную физиологическую роль. Превращения α -кетоаналога валина в пантотиновую кислоту у *Escherichia coli* [362] представляет пример «второстепенного» превращения, приводящего к образованию незаменимого метаболита. Присутствие фенилацетилглутамина в моче здоровых людей позволяет заключить, что фенилаланин частично превращается в организме в фенилпировиноградную кислоту (стр. 421). О механизме ферментативного переаминирования см. стр. 247.

РАЦЕМИЗАЦИЯ АМИНОКИСЛОТ

Общие замечания

D-аминокислоты были получены впервые в 1886 г. Шульце и Босхардом, которые использовали явление стереоспецифического усвоения рацемических аминокислот плесенью *Penicillium*

¹ При тщательной экспериментальной проверке наблюдения относительно реакций переаминирования с участием аминопуринов и аминопиримидинов не были подтверждены (A. Schein and E. Brown, *Biochem. J.* 67, 594, 1957). -- *Прим. ред.*

glaucom (стр. 80). В природных объектах D-аминокислоты были найдены значительно позднее. К настоящему времени в материалах биологического происхождения обнаружен ряд D-аминокислот (стр. 67). Установлено, что некоторые из них могут подвергаться ферментативным превращениям; ведутся работы по выяснению происхождения D-аминокислот и путей их обмена.

Некоторые D-аминокислоты при включении их в рацион взамен соответствующих L-изомеров могут поддерживать рост животных и размножение микроорганизмов. В большинстве случаев эти D-изомеры, очевидно, превращаются в L-аминокислоты путем окислительного дезаминирования с образованием α -кетокислот и последующего реаминирования в результате переаминирования. Следует подчеркнуть, что такой механизм инверсии D-аминокислот в организме нельзя считать полностью доказанным; однако эти представления находятся в согласии с данными, свидетельствующими о возможности обеспечения роста животных и микроорганизмов при помощи α -кетоаналогов некоторых аминокислот, а также с существованием и широким распространением оксидазы D-аминокислот и различных трансаминаз. Наблюдения над ростом молодых крыс показали, что вместо D-аминокислот, которые заменяют соответствующие L-аминокислоты, можно вводить в организм и соответствующие α -кетопроизводные. Вместе с тем в некоторых случаях α -кетокислоты (например, α -кетоаналоги лейцина и изолейцина) обеспечивают рост молодых животных, тогда как соответствующие им D-аминокислоты не используются растущим организмом; эти данные позволяют предполагать, что скорость окислительного дезаминирования D-аминокислот не всегда достаточно высока, чтобы обеспечить рост животных.

Рацемизация аланина

В противовес данным, полученным в опытах на животных, установлено, что для микроорганизма *Streptococcus faecalis* D-изомер аланина в определенных условиях является специфическим фактором роста; ни L-аланин, ни пировиноградная кислота не могут заменить D-аланин [363—365]. Этот факт в свое время стоял особняком как единственный случай, когда D-аминокислота оказалась необходимой для роста организма. Позднее было установлено, что небольшие количества витамина B₆ заменяют D-аланин, причем было показано, что клетки *S. faecalis* при росте на среде, содержащей D-аланин, не синтезируют витамин B₆. Эти данные позволили установить, что витамин B₆ необходим для образования D-аланина, а не наоборот.

Вуд и Ганселус [366], изучая пути биосинтеза D-аланина в клетках *S. faecalis*, обнаружили у этого микроорганизма наличие ферментной системы, катализирующей образование рацемического аланина как из D-, так и из L-изомера. Этот фермент, названный аланинрацемазой, был найден затем в клетках других микроорганизмов, в том числе у *Leuconostoc mesenteroides*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas fluorescens*. Частично очищенный препарат аланинрацемазы был получен из экстрактов *S. faecalis*. Установлено, что добавление пиридоксальфосфата значительно активизирует очищенный фермент, тогда как пиридоксаминфосфат подобного действия не оказывает. Пировиноградная кислота в ходе реакции рацемизации не образуется. Скорость ферментативного превращения каждого из оптических изомеров аланина в рацемат одинакова. Фермент строго специфически катализирует реакцию рацемизации аланина; другие аминокислоты, например α -аминомасляная кислота, цистеин, серин, лейцин, треонин, пролин, оксипролин, лизин, аргинин, гистидин, тирозин, триптофан, аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота, не подвергаются рацемизации. Все данные говорят о том, что рацемизация аланина осуществляется посредством прямой реакции, без промежуточного образования α -кетокислоты (пировиноградной кислоты). Участие витамина B₆ в действии рацемазы послужило поводом к изучению неферментативных реакций рацемизации с участием пиридоксаля. Эти исследования привели к выводу, что механизм реакции рацемизации заключается в образовании шиффова основания из пиридоксаля и аминокислоты; при обратимых таутомерных превращениях этого промежуточного комплекса временно возникает двойная связь между α -углеродным атомом и азотом аминогруппы (стр. 256).

Аланинрацемазы, присутствующая в спорах *Bacillus terminalis*, интересна в том отношении, что этот фермент отличается значительной термостабильностью [367]. Аланинрацемазы вегетативных клеток этого микроорганизма полностью разрушается при нагревании в течение 15 мин. до 80°, тогда как в спорах одноименный фермент после 2-часового нагревания при той же температуре теряет лишь 10% активности. В экстрактах из спор, разрушенных ультразвуком, аланинрацемазы также термостабильна. Только после перевода фермента в растворимое состояние при помощи дальнейшего озвучивания он утрачивает свою устойчивость к нагреванию. Из этих наблюдений следует, что в спорах рацемазы стабилизирована в результате связывания с нерастворимыми структурами; возможно, что и другие ферменты стабилизируются подобным же образом. Изучение этого явления представляет интерес не только для понимания

устойчивости спор к действию высокой температуры, но и в связи с проблемой термотолерантных бактерий.

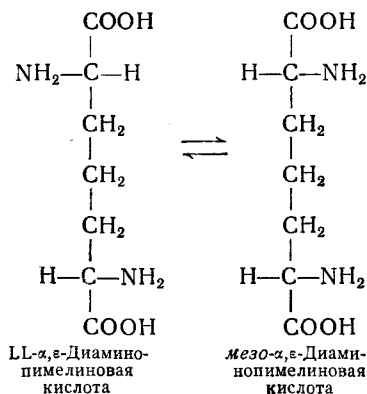
В результате осуществляемого аланинрацемазой взаимопревращения D- и L-аланина клетка располагает обоими этими изомерами. Хотя основное внимание привлекала роль рацемазы в образовании D-аланина, возможны ситуации, при которых рацемаза катализирует образование необходимого для роста L-аланина. В клетках *Bacillus subtilis* и некоторых других организмов, синтезирующих внеклеточную полиглутаминовую кислоту преимущественно D-конфигурации, D-аминокислоты образуются исключительно под действием аланинрацемазы. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в клетках этих бактерий из L-аланина под действием аланинрацемазы образуется D-аланин. Далее путем переаминирований между D-аланином и α -кетоглутаровой кислотой образуется D-глутаминовая кислота (стр. 228), которая превращается затем в полиглутаминовую кислоту (стр. 265). Весьма любопытно, что эти бактерии, столь нуждающиеся в D-глутаминовой кислоте, не располагают рацемазой глутаминовой кислоты.

Культуры *Streptococcus faecalis* удается выращивать в таких условиях, при которых единственным фактором, лимитирующим скорость роста, служит наличие в питательной среде либо витамина B₆, либо D-аланина. Можно с полным основанием принять, что в данных условиях функция витамина B₆ сводится исключительно к его участию в синтезе D-аланина [368]. В этой системе активность ω -метилпиридоксаля, добавленного к среде в качестве фактора роста, составляет 3—6% ростовой активности пиридоксаля. В соответствии с этими фактами было найдено, что ω -метилпиридоксальфосфат может функционировать в роли кофермента в опытах с препаратом частично очищенной аланинрацемазы, полученной из клеток *S. faecalis*. Однако сродство фермента к пиридоксальфосфату в 10 раз выше, чем к ω -метилпиридоксальфосфату. Предварительное инкубирование фермента с 4-дезоксипиридоксинфосфатом препятствует его последующей активации при добавлении пиридоксальфосфата. Если же аланинрацемазу сначала инкубировать с пиридоксальфосфатом в концентрации, достаточной для насыщения апофермента, то последующее добавление 4-дезоксипиридоксинфосфата не угнетает действия рацемазы. Аналогичные наблюдения имеются также в отношении тирозиндекарбоксилазы *S. faecalis* [369] и аспартат-глутамат-трансаминазы сердца свиньи (стр. 252). По-видимому, коферменты, содержащие витамин B₆, как правило, прочно связаны с апоферментом. Возможно, что эти связи являются ковалентными; природа их подлежит изучению.

в питательную среду одного D-метионина не стимулирует рост этих микроорганизмов; однако в присутствии L-метионина D-метионин утилизируется в постлогарифмической фазе роста. Таким образом, клетки *S. faecalis* способны усваивать L-метионин или DL-метионин, но не D-метионин. Обнаружено, что значительная часть L-метионина, добавленного к среде, превращается в процессе роста культуры в D-метионин или в D-метионинсульфоксид. Окисление метионина в метионинсульфоксид происходит, по-видимому, неферментативным путем.

Рацемизация α, ϵ -диаминопимелиновой кислоты

Вскоре после открытия в клетках ряда бактерий *мезо*- α, ϵ -диаминопимелиновой кислоты [379—381] и LL- α, ϵ -диаминопимелиновой кислоты [382] в некоторых из них была обнаружена бактериальная декарбоксилаза, превращающая *мезо*-форму диаминопимелиновой кислоты в L-лизин и углекислоту [240]. Сперва было отмечено, что LL- α, ϵ -диаминопимелиновая кислота доступна декарбоксилированию. Однако в дальнейшем оказалось, что кажущееся декарбоксилирование LL-изомера обусловлено превращением этого изомера в *мезо*-форму, представляющую истинный субстрат специфической декарбоксилазы. Фермент, осуществляющий взаимопревращение *мезо*- и LL-форм α, ϵ -диаминопимелиновой кислоты, был выделен из клеток мутантного штамма *Escherichia coli*, для роста которого необходим лизин. Фермент интересен в том отношении, что он катализирует реакцию рацемизации одного асимметрического центра в молекуле аминокислоты, имеющей два центра асимметрии:

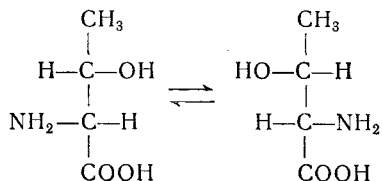


DD-изомер не рацемизуется этим ферментом. Изучение данной ферментной системы не завершено; в частности, до сих пор не

установлено, участвует ли в этой реакции пиридоксальфосфат. Фермент инактивируется при диализе; тиоловые соединения восстанавливают активность диализованных препаратов.

Рацемизация треонина

Получены данные, свидетельствующие о взаимопревращении L- и D-изомеров треонина в клетках *Escherichia coli* [384]. При инкубировании D-треонина с экстрактом *E. coli*, аденозинтрифосфатом (или адениловой кислотой), фосфатным буфером и препаратом L-треониндезаминазы (из *Clostridium welchii*) образуется аммиак. В отсутствие деаминазы происходит образование L-треонина, который определяют микробиологически при помощи нуждающегося в нем мутантного штамма *E. coli*. В этой же системе наблюдается исчезновение L-треонина при внесении его в экстракт вместо D-изомера. Эта реакция нуждается в более обстоятельном изучении. Механизм ее, по-видимому, сложен, поскольку в ней участвуют необычные кофакторы, а также потому, что для взаимопревращения L- и D-треонина необходима инверсия обоих центров асимметрии в молекуле этой аминокислоты:



ФУНКЦИЙ ВИТАМИНА В₆ В ОБМЕНЕ АМИНОКИСЛОТ

Между отдельными аминокислотами и витаминами существуют важные метаболические взаимоотношения. Роль рибофлавина в виде рибофлавинфосфата и флавинадениндинуклеотида отмечена выше (стр. 183). Аскорбиновая кислота участвует в окислении *n*-оксифенилпировиноградной кислоты в гомогентизиновую, но механизм ее действия остается пока не выясненным (стр. 419). Взаимоотношения между триптофаном и никотиновой кислотой будут обсуждены детально в одном из последующих разделов (стр. 399). Биотин, по-видимому, принимает участие во включении CO₂ (через щавелевоуксусную кислоту) в молекулу аспарагиновой кислоты (стр. 312). Наличие ε-биотиниллизина в биологических объектах указывает на наличие связи между биотином и обменом лизина. Установлено

также значение кофермента А в различных реакциях обмена веществ. (В образовании самой молекулы кофермента А участвуют несколько аминокислот (стр. 365).) Кофермент А принимает участие в диссимиляции углеродной цепи лейцина, изолейцина и валина, в синтезе некоторых ацилпроизводных аминокислот (например, гиппуровой кислоты) и, вероятно, в некоторых других превращениях аминокислот. Значение фолевой кислоты в обмене одноуглеродных остатков будет рассмотрено в гл. IV.

Витамин В₆ в виде пиридоксальфосфата или пиридоксаминфосфата участвует во многих реакциях обмена аминокислот (табл. 24) и играет в них исключительно важную и многообразную роль.

Таблица 24

Реакции, протекающие с участием витамина В₆

Переаминирование

Декарбоксилирование

Рацемизация

Серин \rightarrow Пировиноградная кислота + NH₃

Треонин \rightarrow α -Кетомасляная кислота + NH₃

Цистеин \rightarrow Пировиноградная кислота + H₂S + NH₃

Гомоцистеин \rightarrow α -Кетомасляная кислота + H₂S + NH₃

Гомосерин \rightarrow α -Кетомасляная кислота + NH₃

Триптофан \rightarrow Индол + Пировиноградная кислота + NH₃

Индол + Серин \rightarrow Триптофан

Кинуренин \rightarrow Антралиловая кислота + Аланин

3-Оксикинуренин \rightarrow 3-Оксиантралиловая кислота + Аланин

Цистатионин \rightarrow Цистеин + α -Кетомасляная кислота + NH₃

Гомоцистеин + Серин \rightarrow Цистатионин

Треонин \rightleftharpoons Глицин + Ацетальдегид

Серин \rightleftharpoons Глицин + Формальдегид

Аллиин \rightarrow Аллицин + Пировиноградная кислота + NH₃

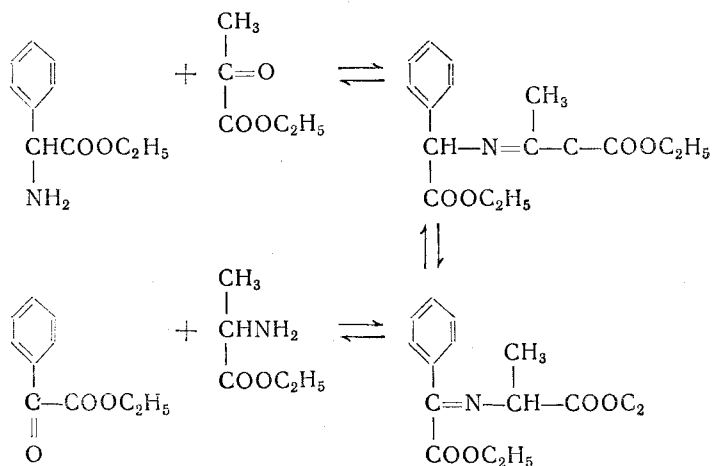
Метионин \rightarrow CH₃SH + NH₃ + α -Кетомасляная кислота

Сведения о существовании витамина В₆ были впервые получены в 1934 г. [385], когда было показано, что этот витамин является необходимым пищевым фактором для крыс; однако его функции в обмене веществ выяснены лишь недавно. Несмотря на большое количество накопленных о витамине В₆ сведений, совокупность симптомов, наблюдаемых при его недостаточности, до сих пор полностью не объяснена. Осуществление химического синтеза витамина В₆ и обнаружение трех природных форм этого витамина создали предпосылку для дальнейших открытий; в первую очередь было установлено его участие

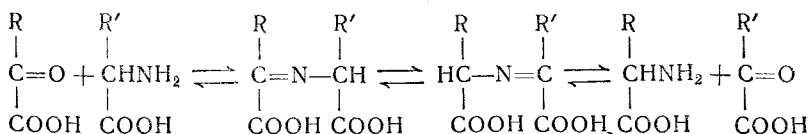
в ферментативном переаминировании и декарбоксилировании аминокислот.



Теперь общепризнано, что механизм ферментативного переаминирования заключается в обратимом образовании шиффовых оснований из amino (или keto) кислоты и фосфорного эфира пиридоксаля (или пиридоксамина). За несколько лет до открытия Браунштейном и Крицман [251] ферментативного переаминирования Хербст [249, 250] выдвинул предположение о наличии подобного механизма для объяснения неферментативного переаминирования между этиловыми эфирами α -аминофенилуксусной кислоты и пировиноградной кислоты:



Сходная схема была предложена Браунштейном [257] для объяснения ферментативного переаминирования:



Обнаружение в природных объектах альдегидной и аминной форм витамина В₆ привело Снелла [386] к предположению, что взаимопревращение этих форм витамина В₆ происходит путем переаминирования и что витамин В₆ может выполнять функцию кофермента при ферментативном переаминировании. Позже Снелл [387] доказал обратимое взаимопревращение пиридоксаля и пиридоксамина в результате реакций неферментативного переаминирования с amino- и кетокислотами. Экспериментальные данные, подтверждающие участие витамина В₆ в ферментативном переаминировании, были получены при исследовании крыс и микроорганизмов в условиях недостаточности витамина В₆. Недостаточность витамина В₆ сопровождалась снижением уровня активности трансаминазы, добавление же пиридоксальфосфата к препаратам тканей или клеток восстанавливало активность фермента [388—390].

Аналогичные результаты были получены при исследовании процессов декарбоксилирования аминокислот. Было найдено, что активность тирозиндекарбоксилазы в клетках *Streptococcus faecalis* зависит от наличия пиридоксина в среде [383, 391]. Позднее установили, что добавление пиридоксаля вместе с аденозинтрифосфатом или же пиридоксальфосфата к клеткам *S. faecalis*, выросшим на среде с недостаточным содержанием витамина В₆, повышает активность этой декарбоксилазы. Препарат кофермента декарбоксилазы, выделенный из дрожжей [392], по условиям стабильности и по способности активировать декарбоксилазу оказался сходным с препаратом синтетического пиридоксальфосфата [393—396]. Был обнаружен термостабильный кофактор трансаминазы, который также оказался сходным с пиридоксальфосфатом и мог быть заменен им [208, 257, 397]. Существуют убедительные данные, показывающие, что пиридоксальфосфат участвует в декарбоксилировании аминокислот и что в трансаминировании могут принимать участие как пиридоксальфосфат, так и пиридоксаминфосфат. Эти данные получены при исследовании различных В₆-авитаминозных организмов, а также в опытах, касающихся влияния добавленных синтетических коферментов на ферментные системы *in vitro*.

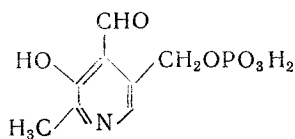
Интересный опыт был поставлен Снеллом и его сотрудниками [398]. Они выращивали различные микроорганизмы на среде, недостаточной по витамину В₆, но содержащей необходимые аминокислоты. При этом оказалось, что *Streptococcus faecalis* может расти на среде с недостаточным содержанием витамина В₆ при наличии в ней незаменимых аминокислот, но прекращает рост при замене этих аминокислот соответствующими α -кетокислотами. Рост на средах с α -кетокислотами наблюдается лишь при добавлении к среде достаточного количе-

ства витамина В₆. Следовательно, в этих условиях роль витамина В₆ сводится к обеспечению трансаминаз коферментом. Аналогичные исследования были проведены в отношении D-аланина: были найдены условия, при которых добавляемый к среде витамин В₆ необходим лишь для обеспечения аланинрацемазы коферментом (см. стр. 241).

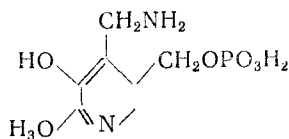
Сродство к витамину В₆ у различных ферментных препаратов неодинаково. Об этом свидетельствуют данные исследований, в которых изучалось активирование изолированных апоферментов, и опыты по определению влияния недостаточности витамина В₆ на активность ферментов в тканях. Так, например, при недостаточности витамина В₆ у крыс снижается активность глутамат-аспартат-трансаминазы [388, 390, 399, 400] и глутамат-аланин-трансаминазы [401, 403] в ткани, тогда как активность глутамин- α -кетокислотной трансаминазы остается без изменений [402]¹. Зависимость последней от витамина В₆ была подтверждена путем получения частично отделенного от кофермента экстракта апофермента из печени крыс после введения им изоникотинилгидразида [404]. Ряд исследований показывает, что изоникотинилгидразид действует как антагонист витамина В₆ [404—408]. Так, больные, получающие изоникотинилгидразид, выделяют с мочой большие количества витамина В₆, по-видимому, в виде соответствующего гидразона. Эти данные свидетельствуют о том, что действие гидразида объясняется его способностью соединяться с альдегидной группой пиридоксаля. При определенном уровне недостаточности витамина В₆ у крыс активность цистеинсульфинат-пируват-трансаминазы в печени снижается по сравнению с контролем, тогда как активность цистеинсульфинат- α -кетоглутарат- и глутамат-пируват-трансаминазы не уменьшается [409]. При диализе препаратов из печени крысы цистеиндесульфгидраза печени легко диссоциирует на апо- и кофермент; активность этой ферментной системы снижается уже при умеренной недостаточности витамина В₆ [400, 402].

Хотя пиридоксальфосфат уже в 1944 г. рассматривали как кофермент трансаминаз и декарбоксилаз, это соединение, а также пиридоксаминфосфат были получены в чистом виде лишь в 1952 г. Положение фосфатной группы в коферменте было точно установлено также в 1952 г., хотя из данных более ранних исследований были сделаны правильные выводы относительно строения его молекулы.

¹ По данным Оленичевой [294], у крыс при алиментарном В₆-авитаминозе легко удается наблюдать глубокое подавление активности трансаминазы глутамина и трансаминазы аспарагина. — *Прим. ред.*

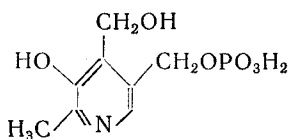


Пиридоксаль-5-фосфат

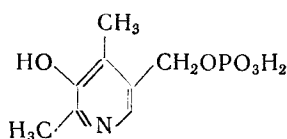


Пиридоксамин-5-фосфат

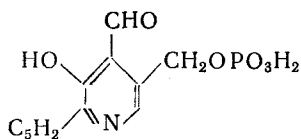
Пиридоксаль-3-фосфат, однозначный синтез которого был осуществлен Каррером и Висконтини [410], оказался не идентичным биологически активному продукту [411]. Другие исследования давали основание полагать, что фосфатная группа присоединена в положении 5 [412, 413]; наконец, однозначный синтез пиридоксаль-5-фосфата, осуществленный Бэддили и Мэтиасом [414], окончательно выяснил этот вопрос. Несомненно, что и при более ранних синтезах также были получены пиридоксаль-5-фосфат и пиридоксамин-5-фосфат, однако лишь последующие работы Каррера и сотрудников [415, 416] и Питерсона и Собера [417, 418] позволили получить чистые препараты этих соединений. Питерсон и Собер приготовили, кроме того, пиридоксин-5-фосфат, действуя на пиридоксамин-5-фосфат азотистой кислотой. Получены также 4-дезоксипиридоксин-5-фосфат, ω-метилпиридоксамин-5-фосфат и ω-метилпиридоксаль-5-фосфат [417, 419, 420].



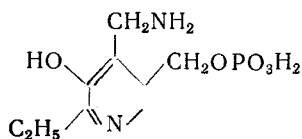
Пиридоксин-5-фосфат



4-Дезоксипиридоксин-5-фосфат



ω-Метилпиридоксаль-5-фосфат



ω-Метилпиридоксамин-5-фосфат

Трансаминазы в отличие от прочих ферментов, содержащих витамин В₆, характеризуются тем, что роль кофермента может выполнять как пиридоксаминфосфат, так и пиридоксальфосфат, тогда как в реакциях декарбоксилирования, рацемизации и в других реакциях, катализируемых В₆-ферментами, витамин В₆ проявляет каталитическое действие только в форме пиридоксальфосфата. Ранние исследования давали некоторое основание считать, что глутамат-аспартат-трансаминаза сердца свиньи акти-

вируется лишь пиридоксальфосфатом (но не пиридоксаминфосфатом) [263, 421]. Однако позднее было показано, что в данной системе активны оба кофермента [422]; в последующих работах найдено, что оба кофермента могут активировать и другие системы трансминирования. Весьма интересно, что для проявления максимальной активности необходимо предварительное инкубирование фермента с коферментом до добавления субстрата (очевидно, требуется некоторое время для присоединения кофермента к ферменту). Для максимального активирования фермента пиридоксаминофосфатом необходима более длительная предварительная инкубация, чем при применении пиридоксальфосфата; это указывает на то, что аминная форма соединяется с белком фермента медленнее. Имеющиеся данные позволяют исключить возможность предварительного превращения пиридоксаминфосфата в пиридоксальфосфат в условиях данного эксперимента. Кофермент, очевидно, вступает с ферментом в прочную связь. Даже при многодневном диализе трансминазы, реконструированной с помощью пиридоксальфосфата или пиридоксаминфосфата, активность фермента не уменьшалась [422].

Механизм ферментативного переаминирования может быть выражен следующими уравнениями (ПЛФ и ПМФ обозначают соответственно пиридоксальфосфат и пиридоксаминфосфат):

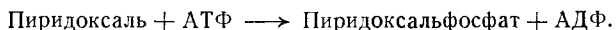
- 1) ПЛФ (или ПМФ) + Фермент \longrightarrow Фермент-ПЛФ (или фермент-ПМФ);
- 2) Фермент-ПЛФ + (Аминокислота)^I \rightleftharpoons Фермент-ПМФ + (Кетокислота) ^I;
- 3) Фермент-ПМФ + (Кетокислота)^{II} \rightleftharpoons Фермент-ПЛФ + (Аминокислота) ^{II}.

Попытки непосредственно показать взаимопревращение пиридоксаминфосфат-фермента и пиридоксальфосфат-фермента до сих пор были безуспешными¹, по-видимому, вследствие ряда экспериментальных трудностей, обусловленных тем, что в соединении с ферментом вступает лишь очень небольшое количество кофермента и при этом отсутствует достаточно хороший метод количественного отщепления и определения связанного с ферментом кофермента. Задача осложняется еще и тем, что добавленный синтетический кофермент может присоединяться к белковой молекуле фермента не только там, где он необходим для проявления ферментативной активности, но и в других ее участках. Исследования с применением кофермента, меченного радиоактивным фосфором, позволили обнаружить неспецифическое

¹ Это взаимопревращение убедительно доказано в опытах с высокоочищенным препаратом глутамат-аспартат-трансминазы [W. T. Jenkins, J. W. Sizer, J. Am. Chem. Soc., 79, 2655 (1957); J. Biol. Chem., 235, 620 (1960)]. — Прим. ред.

связывание значительного количества кофермента, обусловленное (по крайней мере отчасти) образованием шиффовых оснований из кофермента и свободных аминогрупп белка.

Образование пиридоксальфосфата из пиридоксаля и аденозинтрифосфата впервые исследовали Ганселус и сотрудники [393, 396] с применением тирозиндекарбоксилазной системы *Streptococcus faecalis*. Пиридоксалькиназа недавно выделена из дрожжей [423]; найдено, что она катализирует следующую реакцию:



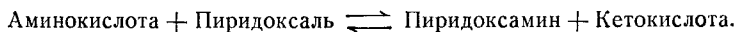
Этот фермент, для действия которого необходимо присутствие ионов металла (например, Co^{++} , Mg^{++} , Fe^{++}), широко распространен; помимо дрожжей, он найден также у *Escherichia coli* [423], в мозге [424] и в печени [425]. Система фосфорилирует пиридоксаль, пиридоксамин, пиридоксин, 4-дезоксипиридоксин и ряд других аналогов витамина В₆. Найдено, что 4-дезоксипиридоксин тормозит тирозиндекарбоксилазу *Streptococcus faecalis*; торможение, по-видимому, обусловлено конкуренцией указанного аналога витамина В₆ с фосфопиридоксалем за аподекарбоксилазу [426—428]. Инкубирование глутамат-аспартат-трансаминазы сердца свиньи с 4-дезоксипиридоксинфосфатом препятствует активированию фермента при последующем инкубировании с пиридоксаминфосфатом или пиридоксальфосфатом [422]. Однако после полного реактивирования апотрансаминазы путем инкубирования с одним из двух коферментов 4-дезоксипиридоксин уже не оказывает тормозящего действия. Аналогичные результаты были получены с пиридоксинфосфатом, который не проявляет активности в качестве кофермента трансаминазы, но оказывает тормозящее действие примерно того же характера и той же степени, что и 4-дезоксипиридоксинфосфат. Тормозящее действие пиридоксинфосфата указывает на возможность торможения трансаминазы в тканях в результате восстановления формильной группы пиридоксальфосфата, входящего в состав молекулы фермента; к инактивированию может приводить также окисление связанного кофермента в фосфорный эфир пиридоксильной кислоты.

ω -Метилпиридоксаль и ω -метилпиридоксамин могут обеспечивать рост *S. faecalis* взамен витамина В₆ в условиях, когда аминокислоты синтезируются из соответствующих α -кетокислот; это дало основание предположить, что фосфорилированные ω -метилпроизводные витамина В₆ могут проявлять активность в качестве коферментов трансаминаз. Позднее было показано, что ω -метилпиридоксальфосфат активирует трансаминазы *S. faecalis*, однако средство апоферментов к аналогу ниже, чем

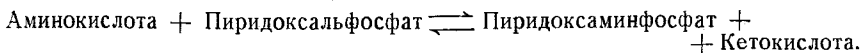
к естественному коферменту [429]. Весьма интересно, что замещение метильной группы пиридоксаль этильной группой не сопровождается полной потерей активности. В системе аланина-ацетамазы активность ω -метилпиридоксальфосфата значительно ниже, чем пиридоксальфосфата, а в системе цистеиндисульфгидразы он, по-видимому, совсем лишен активности.

ω -Метилпроизводные витамина B_6 в отличие от множества других аналогов витамина B_6 [430—433] оказывают некоторое стимулирующее действие на рост в отсутствие витамина B_6 . Так, ω -метилпиридоксаль, ω -метилпиридоксин и ω -метилпиридоксамин не только действуют как факторы роста для бактерий [429], но и способствуют росту крыс, получающих рацион с недостаточным содержанием витамина B_6 . Однако через несколько недель скорость роста снижается до величин, близких к скорости роста контрольных (авитаминозных) животных или даже более низких. Результаты этих исследований можно объяснить тем, что ω -метилпиридоксальфосфат способен действовать как антагонист в одних ферментных системах и как активатор — в других [434].

Представление о том, что механизм ферментативного переаминирования включает обратимое образование шиффовых оснований с участием альдегидной и аминной формы витамина B_6 , сложилось на основании изучения неферментативных реакций переаминирования между amino- и кетокислотами [249, 250] и дальнейшего развития этих исследований в опытах с пиридоксалем и пиридоксамином. Было найдено, что многие аминокислоты вступают в реакции неферментативного переаминирования с пиридоксалем в присутствии ионов меди, железа или алюминия при 100° , причем эта реакция оказалась обратимой [387, 435—437]:



Реакция между пиридоксалем и аланином была изучена довольно подробно, и спектрофотометрическим методом установлено образование двух шиффовых оснований в качестве промежуточных продуктов [438]. При помощи хроматографии на бумаге осуществлено разделение этих промежуточных соединений [439]. Менее успешными были попытки обнаружить действие ионов металла при следующей реакции [436]:



Согласно некоторым данным, эта реакция в известной мере активируется солями алюминия и железа. Потребность в ионе металла при неферментативном переаминировании была установлена для нескольких систем, однако для реакции между

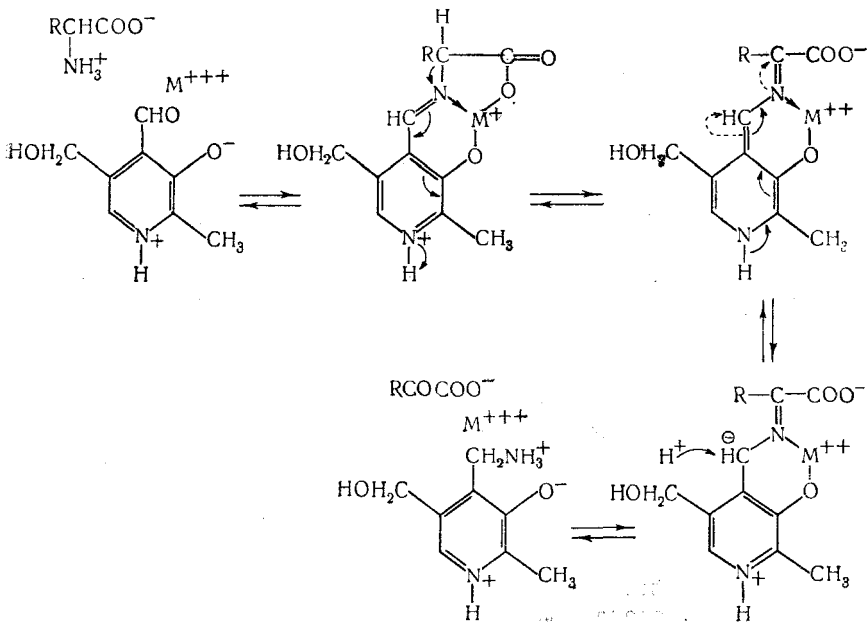
глиоксильной кислотой и аминокислотами, легко протекающей при 25°, ионы металлов, по-видимому, не нужны [291]. Участие металлов в ферментативном переаминировании не установлено.

Представление об образовании шиффовых оснований при реакциях переаминирования согласуется с данными об обмене дейтерия при этих реакциях [257, 260, 440—443]. В молекуле глутаминовой кислоты, образующейся при ферментативном переаминировании между α -кетоглутаровой и аспарагиновой кислотами в присутствии D₂O, содержится около одного атома дейтерия [440, 444]. Водород аспарагиновой кислоты также замещается дейтерием в процессе ферментативного переаминирования. Обмен α -водородного атома аминокислот при переаминировании связан, как видно, с действием фермента; если из системы исключить α -кетоглутаровую кислоту, то обменивается менее 6% α -водорода аспарагиновой кислоты. Различными путями установлено, что β -водородный атом аминокислот не участвует в реакциях переаминирования. В лейцине, выделенном из тканей крыс после скормливания им лейцина, меченного дейтерием в α -, β - и γ -положениях, разведение метки водородных атомов в положениях β и γ было почти одинаковым, что указывает на отсутствие заметного обратимого α , β -дегидрирования [445]. Другое наблюдение, согласующееся с этим выводом, заключается в том, что при обратимом ферментативном трансаминировании между L-изолейцином и α -кетоглутаровой кислотой образуется чистая L- α -кето- β -метилвалерьяновая кислота; в тех же условиях из L-алло-изолейцина образуется D- α -кето- β -метилвалерьяновая кислота [129, 130]. Если бы в процессе переаминирования происходило обратимое дегидрирование в α - и β -положении, то должна была бы образоваться рацемическая α -кетокислота. Далее, найдено, что ферментативное переаминирование между β -дейтеро- α -кетоглутаровой кислотой и аланином не сопровождается заметной потерей дейтерия, т. е. количество дейтерия в образующейся глутаминовой кислоте почти равно количеству его в исходной α -кетоглутаровой кислоте [446].

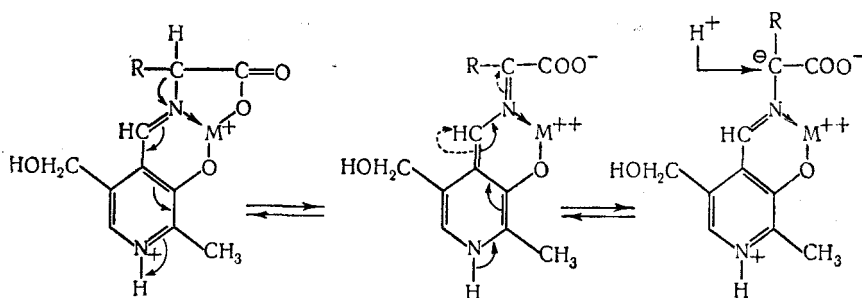
Изотопными методами установлено переаминирование между аминокислотой и соответствующей ей α -кетокислотой [444, 447]. Обнаружено, в частности, переаминирование между аланином и C¹⁴-пировиноградной кислотой и между C¹³-глутаминовой кислотой и α -кетоглутаровой кислотой. Из этих данных следует, что в системе, включающей две α -кетокислоты и аналогичные им аминокислоты, происходят реакции переаминирования между молекулами с идентичной углеродной цепью; за счет этого должны снижаться количества вновь образующихся амино- или кетокислот. Такой эффект снижения скорости переаминирования был установлен экспериментально [448].

Исследования с применением субстратов, меченных N^{15} , показали, что аммиак не является промежуточным продуктом при ферментативном переаминировании [318], и тем самым окончательно подтвердили первоначальное представление о природе этой реакции [251]. Было найдено, что в среде, содержащей немеченый ион аммония, аминокислоты, меченные N^{15} , непосредственно передают свою аминогруппу α -кетоглутаровой кислоте [318].

Близкое сходство между реакциями ферментативного и неферментативного переаминирования и обнаружение роли пиридоксальфосфата в качестве кофермента во многих других ферментных системах привели к разработке представлений об общности механизма реакций, катализируемых витамином B_6 . Мецлер и сотрудники [435] и Браунштейн и Шемякин [449] независимо друг от друга выдвинули одну и ту же, в основных чертах, теорию. Согласно представлениям этих авторов, из пиридоксала, аминокислоты (и иона металла) образуется шиффово основание; реакции, катализируемые витамином B_6 , интерпретируются как результат различных последовательных перемещений электронов в молекулах промежуточных соединений. Например, Мецлер и сотрудники [435] сформулировали для реакций переаминирования следующий механизм:

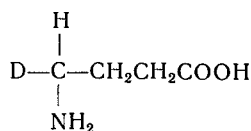


Далее, предложена указанная ниже схема реакции рацемизации аминокислот:

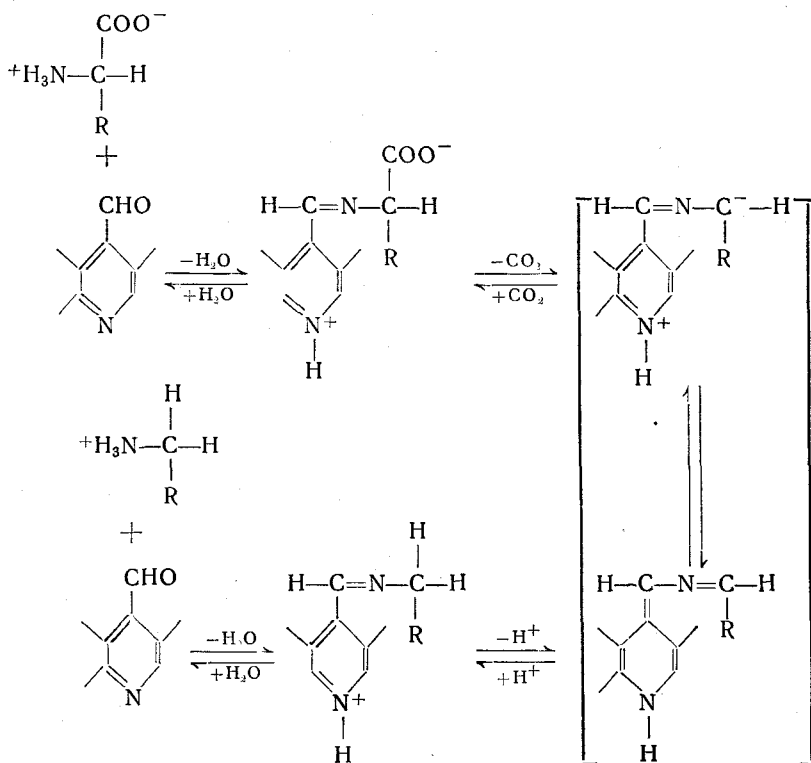


Разработаны также схемы механизма декарбоксилирования, отщепления заместителей в β -положении (дегидратазы серина и треонина, триптофаназа, аллииназа, цистатионаза), присоединения β -заместителей (синтез триптофана, образование цистатионина), расщепления γ -замещенных аминокислот (десульфгидраза гомоцистеина, дегидратаза гомосерина), синтеза и расщепления треонина (на глицин и ацетальдегид) и серина (на глицин и формальдегид) [435, 449]. Постулировано образование клешневидного комплекса металла с пиридоксалем и аминокислотой в качестве общего промежуточного продукта при целом ряде реакций [435]. Эти механизмы обсуждаются в соответствующих разделах гл. IV. Манделес и сотрудники [246] показали, что при ферментативном декарбоксилировании аминокислот один водородный атом остается связанным с α -углеродным атомом. Они нашли, что в аминах, образуемых при ферментативном декарбоксилировании лизина, глутаминовой кислоты и тирозина в среде, содержащей 99,8% D_2O , на молекулу приходится лишь один атом дейтерия, причем он расположен исключительно у того углеродного атома, который являлся α -углеродом исходной аминокислоты. Обращение реакции декарбоксилирования также сопровождается включением дейтерия [244, 245]. Согласно данным упомянутых авторов, при этом происходит асимметрическое включение дейтерия, приводящее к образованию одного оптического изомера дейтерированного амина. Ханке и сотрудники [450, 451] путем воздействия глутамат-рацемазы на глутаминовую кислоту приготовили α -дейтеро-DL-глутаминовую кислоту. Этот продукт был декарбоксилирован ферментативно в среде H_2O с образованием одного из изомеров

дейтеро- γ -аминоасляной кислоты:



Этот изомер не теряет своего дейтерия при обработке глутамат-декарбоксилазой в водном растворе. Другой изомер дейтеро- γ -аминоасляной кислоты был получен при декарбоксилировании L-глутаминовой кислоты в среде D_2O ; этот изомер в присутствии декарбоксилазы обменивает свой дейтерий на водород воды. Данные, полученные Ханке и его сотрудниками, находятся в согласии с механизмом декарбоксилирования, включающим следующие промежуточные фазы:



Витамин B_6 участвует, по-видимому, во всех реакциях переамирирования. То обстоятельство, что некоторые трансминазы не

требуют добавления этого кофермента для обеспечения максимальной активности, объясняется тем, что он в этих случаях прочно связан с ферментом. Не исключена возможность, что реакции переаминирования, в которых участвуют альдегиды (например, глиоксильная кислота), могут протекать без витамина В₆; такие реакции были осуществлены в неферментативных системах, однако до настоящего времени не получено бесспорных данных, подтверждающих существование трансминаз, не содержащих витамина В₆. Все аминокислотные декарбоксилазы, которые явились предметом тщательного изучения, также действуют при участии пиридоксальфосфата. Сперва предполагали, что для действия гистидиндекарбоксилазы витамин В₆ не нужен [452], но затем было установлено, что и у этого фермента коферментом является пиридоксальфосфат [453]. Аспартат- β -декарбоксилазу *Clostridium welchii* удается активировать пиридоксальфосфатом или α -кетокислотами. Активирующее действие α -кетокислот было отнесено за счет реакции переаминирования между этими кислотами и содержащимся в ферментном препарате пиридоксаминфосфатом с образованием пиридоксальфосфата (стр. 208).

Многообразие реакций, для которых необходим витамин В₆, свидетельствует о первостепенном значении этого витамина в процессах обмена аминокислот и дает основание полагать, что при В₆-авитаминозе должны возникать различные нарушения обмена. Опубликована обширная серия исследований над В₆-авитаминозными крысами [454—459]. Помимо ожидаемого изменения активности тканевых трансминаз, при недостаточности витамина В₆ было отмечено повышенное содержание мочевины в крови и пониженное содержание глутамина в кровяной плазме. Введение L-глутаминовой кислоты и L-лизина приводит к стойкому повышению содержания мочевины в крови.

Истолкование этих фактов затруднительно не только из-за множественности функций витамина В₆, но также ввиду неодинаковой степени сроства различных пиридоксальных ферментов к коферменту. Интересно отметить, что при определенных условиях возможен рост бактерий в отсутствие добавленного витамина В₆; однако не исключена возможность синтеза небольших количеств витамина микроорганизмами.

Витамин В₆, вероятно, участвует и в действии других ферментных систем, помимо описанных выше. Так, например, недавно найдено, что пиридоксальфосфат принимает участие в синтезе гема [460, 706]; это открытие проливает свет на развитие анемии у животных при недостаточности витамина В₆. Вопрос о возможном участии витамина В₆ в процессах переноса аминокислот рассмотрен в первом разделе этой главы.

СИНТЕЗ ПЕПТИДНЫХ СВЯЗЕЙ

«Одним из наиболее поразительных свойств живых существ является та безошибочная точность, с которой они вырабатывают из циркулирующей в крови изменчивой смеси аминокислот специфические компоненты тканей». Роуз (1938).

Общие замечания

Реакцию, в результате которой из аминокислот образуются белки, можно, вероятно, считать наиболее важной из всех обменных реакций, в которых участвуют аминокислоты. Об этом свидетельствует присутствие в белке большинства природных аминокислот, а также огромное число данных о биологической роли самого белка. Между тем о механизме синтеза белков, осуществляемого почти всеми живыми клетками, известно очень мало. Опыты на животных различных видов с применением искусственных рационов ясно показали, что для осуществления синтеза белка должны быть налицо все необходимые аминокислоты. Это обстоятельство, а также недостаток сведений о последовательности размещения последних в пептидных цепях и о пространственном размещении последних в белках серьезно затрудняют дальнейшее продвижение. Тем не менее целый ряд искусных и остроумных подходов к этой проблеме позволил расширить наши познания в области синтеза пептидных связей; некоторые из этих подходов обсуждаются ниже.

Реакции, катализируемые гидролитическими ферментами

При рассмотрении процессов, связанных с синтезом белка, прежде всего следует указать, что мы располагаем значительным запасом сведений о расщеплении белков на менее крупные пептиды и на свободные аминокислоты. Выделены и изучены различные протеазы, число которых очень велико. В результате исследований Бергмана и Фрутона [461—463], проведенных на синтетических пептидах, выявлены различия между двумя типами ферментов — экзопептидазами, активность которых проявляется лишь при наличии в молекуле субстрата одной или нескольких концевых групп, и эндопептидазами, расщепляющими пептидные связи, расположенные (часто во внутренних участках белковой молекулы) по соседству с определенными группами боковых цепей аминокислот.

Детально изучены протеолитические ферменты желудочно-кишечного тракта животных; главными эндопептидазами этой

группы являются пепсин, трипсин и химо tripsин. В желудочно-кишечном тракте присутствуют также экзопептидазы, например карбоксипептидазы и аминопептидазы. В тканях животных имеются внутриклеточные протеолитические ферменты (катепсины), сходные по свойствам с протеолитическими ферментами пищеварительного тракта. Протеолитические ферменты найдены и в растениях; среди них заслуживают внимания папаин из плодов дынного дерева *Carica papaya*, бромелин из ананаса и фицин из млечного сока инжира. Микроорганизмы также обладают протеолитическими системами, но они в общем изучены менее детально, чем протеазы высших растений и животных. Следует отметить, что ферментные системы, расщепляющие пептиды и белки, распространены в природе очень широко. Многие протеолитические ферменты получены в кристаллическом виде и тщательно изучены в отношении специфичности, кинетики и механизма их действия. Эти вопросы детально освещены в обобщающих работах Бергмана и Фрутона [461], Нортропа и его сотрудников [464], Нейрата и Шверта [465], Фрутона и Бергмана [463], Смита [466, 467], Грина и Нейрата [468].

Физиологическая роль протеолитических систем желудочно-кишечного тракта ясна; с помощью этих ферментов принятые с пищей белки подвергаются гидролизу, в основном, вероятно, до составляющих их аминокислот. Протеолитические ферменты некоторых микроорганизмов обеспечивают способность последних к инвазии животной ткани. Такова, например, функция коллагеназы у некоторых спороносных анаэробов (*Clostridia*). Установлено, что превращение фибриногена в фибрин в крови млекопитающих катализируется протеолитическим ферментом, отщепляющим от фибриногена пептид (стр. 79). Внутриклеточные протеолитические системы, вероятно, катализируют распад белков в клетке. Ряд исследований посвящен вопросу о возможном участии этих ферментов также и в синтезе пептидных связей; реакции, представляющие обращение гидролиза таких связей, осуществлены при помощи различных ферментных препаратов.

Гидролиз пептидной связи протеолитическими ферментными системами доходит обычно почти до конца. Поэтому значения констант равновесия этих реакций велики, и связанные с реакцией изменения свободной энергии отрицательны. Расчет изменений свободной энергии при образовании некоторых пептидов (табл. 25) показывает, что при той концентрации свободных аминокислот, какая существует в большинстве тканей (вероятно, менее $0,01 M$), синтез пептидных связей путем обращения гидролиза возможен лишь в крайне незначительном масштабе [469—471]. Синтезу пептидных связей в таких системах могли бы,

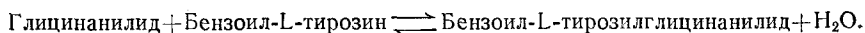
Свободная энергия и показатели равновесия синтеза некоторых олигопептидов [469]

Реакция	— ΔF , кал	Константа равновесия K	Концентрация продукта синтеза (в %) в точке равновесия при указанных начальных концентрациях реагирующих веществ		
			0,1 M	0,01 M	0,001 M
DL-Аланин + Глицин \rightarrow DL-Аланилглицин + H ₂ O	—4130 при 37,5°	0,00125	$1,6 \cdot 10^{-2}$	$8 \cdot 10^{-4}$	$< 10^{-5}$
2 Глицин \rightarrow Глицилглицин + H ₂ O	—3590 при 37,5°	0,00299	$2,5 \cdot 10^{-2}$	$3,4 \cdot 10^{-3}$	$< 10^{-3}$
DL-Лейцин + Глицин \rightarrow DL-Лейцилглицин + H ₂ O	—3315 при 37,5°	0,00467	$4,3 \cdot 10^{-2}$	$5,3 \cdot 10^{-3}$	$< 10^{-3}$
Бензойная кислота + Глицин \rightarrow Гиппуровая кислота + H ₂ O	—2630 при 37,5°	0,0142	$1,4 \cdot 10^{-1}$	$1,4 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$
Бензойная кислота + Глицилглицин \rightarrow Бензоилглицилглицин + H ₂ O	—1100 при 25°	0,1564	1,5	$1,6 \cdot 10^{-1}$	$9,5 \cdot 10^{-3}$
N-Бензоилтирозин + Глицинамид \rightarrow N-Бензоилтирозилглицинамид + H ₂ O	—361 при 37,5°	0,5582	4,5	$5,5 \cdot 10^{-1}$	$5,8 \cdot 10^{-2}$

однако, способствовать а) более высокие начальные концентрации аминокислот и б) удаление из системы вновь образующихся пептидов.

Изменение свободной энергии, связанное с образованием глицилглицина из глицина, составляет примерно 4000 кал/моль. Аналогичные величины получены для реакций образования DL-аланилглицина и DL-лейцилглицина. Изменение свободной энергии при образовании гиппуровой кислоты меньше, чем при образовании дипептидов глицина. Образование же тетрапептида триглицилглицина из глицилглицина требует вдвое меньше энергии, чем образование глицилглицина из глицина [472]. Эти данные позволяют сделать вывод об уменьшении изменений свободной энергии по мере увеличения расстояния между группами, несущими электрический заряд. Далее, образование бензоилглицина из бензоата и глицина требует меньшей затраты энергии, чем образование глицилглицина из двух молекул глицина; при образовании бензоилглицилглицина из бензоата и глицилглицина затрата свободной энергии еще меньше. Наконец, в тех случаях, когда ни одно из реагирующих соединений не является амфотерным ионом, например при образовании N-бензоилтирозилглицинамида, изменение свободной энергии совсем мало. Однако на свободную энергию образования пептидов может влиять и сама природа аминокислотных остатков (см. значения $-\Delta F$ для DL-лейцилглицина и DL-аланилглицина в табл. 25). Эти соображения привели к предположению, что при образовании небольших пептидов из аминокислот затрата свободной энергии больше, чем при дальнейшей конденсации этих пептидов с образованием более крупных молекул.

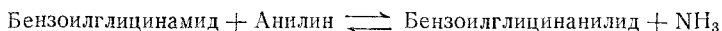
Образование пептидных связей, катализируемое гидролитическими ферментами, наблюдали в таких системах, где продукт реакции нерастворим и, тем самым, удаляется из сферы реакции. Например, при приведенной ниже реакции, катализируемой химотрипсином, бензоил-L-тирозилглицинанилид выпадает в осадок и может быть получен с довольно значительным выходом:



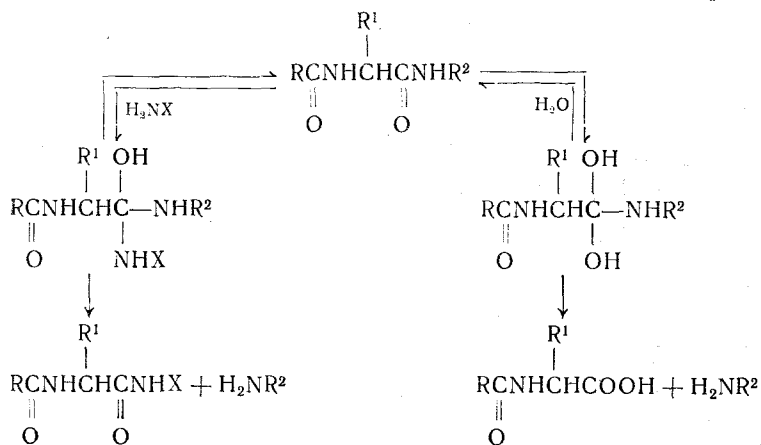
Описан ряд аналогичных реакций [473—477]. К ним относится, например, образование пластеинов [478—482] — нерастворимых высокомолекулярных пептидов с молекулярным весом 2000—400 000. Пластеины образуются в известных условиях при действии некоторых гидролитических ферментов (например, пепсина, папаина, химотрипсина) на частично гидролизованные белки. Природа пластеинов и их роль требуют дальнейшего изучения. По-видимому, при синтезе пластеинов возникают новые

пептидные связи, и сами продукты представляют собой смеси пептидов.

Гидролитические ферменты катализируют и другие реакции, в результате которых образуются новые пептидные связи. К ним относятся превращения, названные трансамидированием и транс-пептидированием. Бергман и Френкель-Конрат [477] установили, что катализируемая папаином реакция



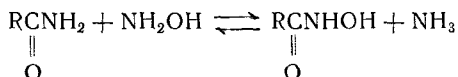
осуществляется путем прямого замещения без предварительного гидролиза бензоилглицинамида на бензоилглицин и аммиак. Это следует из того, что образование бензоилглицинанилида из бензоилглицина и анилина протекает значительно медленнее, чем синтез из бензоилглицинамида и анилина. Фрутон и сотрудники [483—488] обстоятельно исследовали это явление и открыли ряд аналогичных реакций. Фрутон предположил, что механизм этих реакций связан с образованием активированного фермент-субстратного комплекса, который может реагировать либо с водой (что приводит к гидролизу), либо с замещающим соединением (что приводит к реакции переноса):



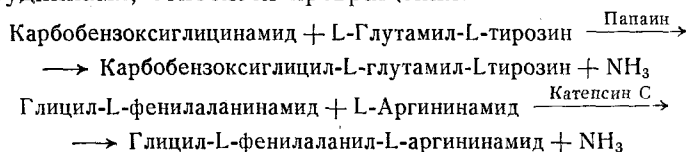
Поэтому вода и замещающие реагенты конкурируют за активированный субстрат. О том, что это не простая конкуренция, свидетельствует чрезвычайно высокая концентрация воды по сравнению с замещающим агентом. Наличие реакций переноса, сопутствующих ферментному гидролизу, — явление общего порядка, наблюдаемое, например, при действии гликозидаз, амидаз и фосфатаз [489—491].

В реакциях, в которых участвуют амиды, замещающим агентом может служить аммиак. Так, например, при инкубировании

бензоилглицинамида с папаином в присутствии $N^{15}H_3$ в амидной группе бензоилглицинамида на различных этапах гидролитического процесса был обнаружен изотопный азот. Фрутон и его сотрудники [483—488] наблюдали и другие реакции замещения. Например, при инкубировании бензоилтирозилглицинамида с глицинамидом, меченным N^{15} в аминогруппе глицина, и с химотрипсином образуется бензоилтирозилглицинамид, содержащий N^{15} -глицин. Оказалось, что гидроксиланом может служить заместителем в реакциях следующего рода:

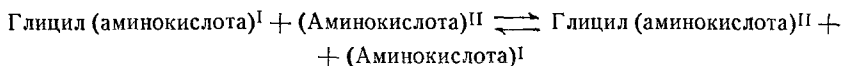


Такие реакции были проведены с рядом субстратов (бензоил-аргининамид, карбобензоксизоаспарагин) и с различными ферментами (папаин, катепсин С). Наблюдались также реакции транспептидирования, приводящие к удлинению пептидной цепи. Так, например, было найдено, что катепсин С (из селезенки быка) катализирует полимеризацию глицил-L-фенилаланинамида с образованием нерастворимого продукта, содержащего окта- и декапептиды. Глицил-L-тирозинамид и другие субстраты также подвергаются полимеризации под действием катепсина С. К числу реакций транспептидирования, описанных Фрутоном и сотрудниками, относятся превращения:



Обычно такие реакции переноса протекают с наибольшей скоростью при рН 7—8, а гидролиз — при рН около 5. В связи с этим высказано предположение, что основная функция внутриклеточных протеиназ в физиологической зоне рН состоит в катализе реакций переноса.

Хейнс и сотрудники [492] описали систему транспептидирования в листьях капусты, катализирующую превращение:

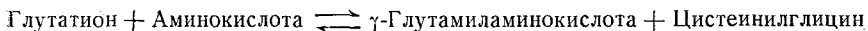


Эта ферментная система катализирует также гидролиз глицил-аминокислот. Было найдено, что трипсин и химотрипсин также катализируют реакции транспептидирования [493, 494].

Бреннер и сотрудники [499, 500] нашли, что химотрипсин, который, как известно, обладает эстеразной активностью

[495—498], катализирует образование пептидов из эфиров аминокислот. Инкубирование химотрипсина с эфирами аминокислот ведет как к гидролизу, так и к образованию растворимых и нерастворимых пептидов соответствующих аминокислот. Эти реакции явно аналогичны системе транспептидирования (трансамидирования).

Хейнс и сотрудники [492] сообщили, что препараты из некоторых животных тканей способны катализировать образование γ -глутамилпептидов из глутатиона и свободных аминокислот согласно уравнению:



Эти ферментные препараты, кроме того, катализируют медленный гидролиз глутатиона и образующихся γ -глутамиламинокислот. Глутатион можно было заменить рядом γ -глутамиламинокислот, а также некоторыми аминокислотами. Реакцию эту катализируют экстракты из почек и поджелудочной железы, но не из печени. Первоначально было найдено, что аргинин не проявляет активности в качестве замещающего агента, но в дальнейших работах [501, 502] установлено образование γ -глутамиларгинина из аргинина и глутатиона. Херд и Спрингелл [502] пришли к выводу, что реакции гидролиза и переноса катализируются одним и тем же ферментом. Возможно, что образование γ -глутамиламинокислот играет роль в синтезе белка, либо стабилизируя те или иные α -пептидные связи и обеспечивая тем самым потенциальный источник α -пептидов, либо осуществляя перестройку γ -глутамилпептида в α -глутамилпептид. Подобную перестройку наблюдали в неферментативных системах [503, 504]. Сравнение величин включения глицина и γ -глутамилглицина в различные препараты животных тканей показало, что глицин включается более активно, чем γ -глутамилглицин, включение же других аминокислот при добавлении глутаминовой кислоты или γ -глутамилпроизводных повышается лишь незначительно [505]. Эти исследования не исключают существенной роли γ -транспептидирования в обмене веществ, однако природа функций этого процесса остается пока неразгаданной.

В то время как роль переноса γ -глутамильных остатков в тканях животных еще не ясна, получены данные, свидетельствующие о том, что с переносом этих групп связан синтез полиглутаминовых кислот, вырабатываемых некоторыми бактериями, например *Bacillus subtilis*. Уильямс и Торн [506—508] выделили из культуральных фильтратов *B. subtilis* фермент, который катализирует реакцию переноса γ -глутамильной группы глутамина к D-глутаминовой кислоте или к α -D-глутамил-D-глутаминовой кислоте. При этом образуются ди- и трипептиды,

содержащие глутаминовую кислоту. Фермент, по-видимому, использует как D-, так и L-изомеры глутаминовой кислоты. При реакции L-глутаминна с D-глутаминовой кислотой реакция переноса происходила более активно, чем гидролитическое расщепление глутаминна, причем в качестве продуктов реакции накапливались пептиды, содержащие до шести аминокислотных остатков. Тот же ферментный препарат катализирует гидролиз природного полипептида и перенос γ -глутамильных групп от этого полипептида к D-глутаминовой кислоте с образованием γ -глутамилглутаминовой кислоты. Последовательные этапы биосинтеза указанного полипептида в клетках *B. subtilis* требуют дальнейшего изучения, однако имеющиеся данные подтверждают участие в этом процессе реакции переноса γ -глутамильных остатков.

Ацилирование аминокислот

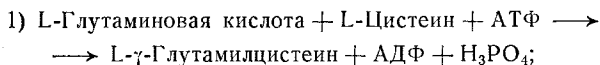
Давно известно, что гиппуровая кислота (бензоилглицин) является нормальной составной частью мочи у ряда животных (например, у лошади, собаки, кролика) и у человека и что введенная в организм бензойная кислота выделяется в основном в виде гиппуровой кислоты. Выделение гиппуровой кислоты после приема определенной дозы натриевой соли бензойной кислоты используется как показатель функционального состояния печени у человека. У птиц (куры) «обезвреживание» бензойной кислоты приводит к выделению орнитуровой кислоты; фенилуксусная кислота у кур также вступает в сочетание с орнитинном. У человека после введения фенилуксусной кислоты выделяется фенилацетилглутамин.

Процессы биосинтеза ациламиноакилот привлекли интерес не только в связи с их ролью в обмене веществ, но и в связи с тем, что исследование их может дать ценные сведения о биосинтезе пептидной связи. Синтез гиппуровой кислоты был показан сперва в опытах со срезами печени и почек [509]. В тех же срезах осуществляется и аналогичная реакция — синтез *n*-аминогиппуровой кислоты [510]. Эти реакции были затем изучены и в ферментных системах гомогенатов [510—513]. Участвующие в них ферменты печени локализованы, по-видимому, во фракции митохондрий [511, 514]. Ни бензоилфосфат, ни N-фосфоглицин не используются в этой реакции. Вместе с тем оказалось, что для этой реакции необходим кофермент А [515], и недавно [516] было доказано существование следующих реакций:

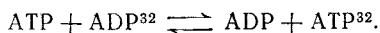
- 1) АТФ + Кофермент А + Бензойная кислота \longrightarrow
 \longrightarrow Бензоил-кофермент А + АМФ + Пирофосфат,
- 2) Бензоил-кофермент А + Глицин \longrightarrow Бензоилглицин + Кофермент А.

Синтез глутатиона

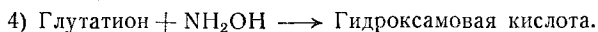
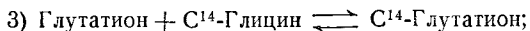
Браунштейн и сотрудники [529] описали синтез глутатиона из глицина, цистеина и глутаминовой кислоты в срезах печени крысы; они наблюдали реальный прирост количества этого трипептида в пробах в результате синтеза. Блох и сотрудники [530—536] обстоятельно изучили реакции, приводящие к синтезу глутатиона. В их ранних исследованиях критерием служило включение меченого глицина и глутаминовой кислоты в глутатион. Позднее было установлено наличие реального синтеза в опытах с очищенными ферментными препаратами и показано, что реакция протекает в два этапа:



Применяя очищенную ферментную фракцию из печени голубя, указанные авторы нашли, что реакция (2) требует присутствия ионов магния и АТФ и что эту реакцию ускоряют ионы калия. Из дрожжей также был выделен и обогащен примерно в 5500 раз фермент, катализирующий реакцию (2). Опыты с этим ферментом, как и с ферментом из препаратов печени, не дали никаких указаний на участие в этой реакции других кофакторов или на образование не связанного с ферментом промежуточного продукта. Кроме реакции (2), очищенный фермент катализирует также обмен остатков фосфата между аденозиндифосфатом (ADP) и аденозинтрифосфатом (ATP):



Очищенный дрожжевой фермент катализирует также обмен глицинового остатка глутатиона на свободный глицин и на гидроксилламин:



Найдено, что для реакций (3) и (4) требуется присутствие аденозиндифосфата и либо арсената, либо фосфата. Таким образом, синтез глутатиона из глутамилцистеина и глицина сходен в некоторых отношениях с синтезом глутамина (стр. 269); обе реакции обратимы. В то время как гидроксилламин может замещать глицин в реакции (2), что приводит к образованию гидроксамовой кислоты, другие аминокислоты и аммиак не активны в этой системе. Механизм синтеза глутатиона из глицина, γ -глутамилцистеина и аденозинтрифосфата остается пока

неясным. Реакция эта осуществляется печенью различных видов животных [529—532], дрожжами [534], а также *Escherichia coli* [537] и высшими растениями [538].

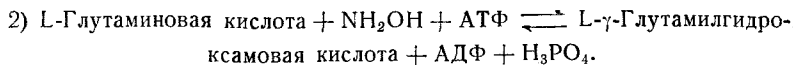
Первую ступень синтеза глутатиона, а именно образование γ -глутамилцистеина из цистеина и глутаминовой кислоты [реакция (1), см. выше], наблюдали в опытах с ферментными препаратами из зародышей пшеницы [539] и из печени свиньи [536]. Фермент из зародышей пшеницы был подвергнут 50-кратной очистке; показано, что для его действия обязательно присутствие аденозинтрифосфата и ионов магния и калия. Фермент катализирует также включение S^{35} -цистеина в γ -глутамилцистеин путем обмена в присутствии аденозинтрифосфата и ионов магния и калия. Сходный фермент получен из печени свиньи; для этой системы не требуется наличия ионов калия, однако ионы магния оказались необходимыми. Ферменты из зародышей пшеницы и из печени свиньи не идентичны ферменту, синтезирующему глутамин. В опытах с ферментом из зародышей пшеницы наблюдали обмен между неорганическим фосфатом и аденозинтрифосфатом в присутствии глутамата, а также обмен фосфатной группой между АДФ и АТФ в отсутствие добавленных аминокислот. Интерпретация этих данных пока затруднительна.

Синтез глутамина

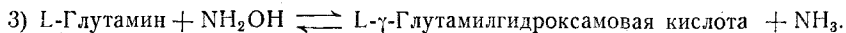
В 1935 г. Кребс впервые наблюдал синтез глутамина в опытах со срезами тканей [540]. Образующийся глутамин был выделен в виде хлоргидрата [541]. Кребс отметил, что синтез глутамина в препаратах из тканей морской свинки тормозится в условиях анаэробнозиса и при добавлении цианида; он пришел к заключению, что этот синтез зависит от реакций, доставляющих энергию [540]. В более поздних работах с бесклеточными системами Бюжар и Лейтгардт [542], Спек [543, 544] и Эллиотт [545—547] нашли, что источником энергии для синтеза глутамина может служить аденозинтрифосфат. Ферментная система синтеза глутамина найдена в печени, мозге и некоторых других тканях различных видов животных, у бактерий и растений [62, 542—556]; она катализирует следующую реакцию:



а также аналогичную реакцию, в которой аммиак замещен гидроксиламином:



Как для реакции (1), так и для реакции (2) необходимо присутствие ионов магния или марганца; в реакциях используются стехиометрические количества АТФ. Ферментная система синтеза глутамина катализирует, кроме того, следующую реакцию переноса:



Для этой реакции необходимо наличие ионов магния или марганца и каталитических количеств аденозинтрифосфата и неорганического фосфата (аденозинтрифосфат действует слабее, чем смесь аденозиндифосфата и неорганического фосфата).

L-Глутаминовую кислоту можно заменить D-глутаминовой кислотой [557] и некоторыми рацемическими производными глутаминовой кислоты (например, α -метилглутаминовой кислотой [558—560] или β -метилглутаминовой кислотой [560]); обычно реакция (1) с этими производными протекает медленнее, чем реакция (2). Реакция переноса (3) может осуществляться в какой-то мере в системе с α -метилглутамином, тогда как другие аналоги глутамина не проявляют заметной активности. Помимо аммиака и гидросиламина, в реакции синтеза могут вступать гидразин, метиламин и этиловый эфир глицина, причем образуются соответствующие γ -глутамилпроизводные.

Установлено, что реакция синтеза глутамина обратима. На основании константы равновесия реакции (1) вычислено [561], что при стандартных условиях разность между величинами свободной энергии гидролиза глутамина и гидролиза АТФ составляет 4300 кал. Если принять, что свободная энергия гидролиза глутамина составляет —3500 кал (т. е. примерно столько же, сколько для гидролиза аспарагина), то величина стандартной свободной энергии АТФ должна быть близка к —7800 кал. Это значение несколько ниже величины, полученной в прежних определениях, т. е. —10 500 [562, 563], но согласуется с величинами, полученными позже при помощи самых различных методов [535, 564—566].

Хотя синтез глутамина представляет собой обратимую реакцию, исследования с применением C^{14} -глутаминовой кислоты показали, что свободная глутаминовая кислота не является обязательным промежуточным продуктом при реакции переноса (3). Иными словами, превращение глутамина в γ -глутамилгидроксамовую кислоту не связано с образованием глутаминовой кислоты путем обращения синтеза, а протекает, вероятно, через образование промежуточного соединения, вступающего в реакцию с гидросиламином [560]. Ферментные препараты, осуществляющие синтез глутамина, катализируют еще одну реакцию — арсенализ глутамина, т. е. превращение глутамина

в глутамат и аммиак в присутствии арсената, Mg^{++} (или Mn^{++}) и аденозиндифосфата [561]. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что реакции синтеза переноса и арсенолата катализируются одним и тем же ферментом. С этим выводом согласуется тот факт, что в ходе очистки фермента наблюдается параллельное повышение его активности в указанных трех реакциях и что при ультрацентрифугировании препаратов эти реакции оказываются связанными с одной и той же монодисперсной фракцией. Кроме того, оказалось, что эти реакции нуждаются примерно в одних и тех же нуклеотидах и ионах металлов. Описаны некоторые различия в действии ионов металлов, активаторов (например, β -меркаптоэтанола, цистеина) и ингибиторов (например, фторида) на реакции синтеза и переноса, но это не может служить доказательством различия ферментов.

Других кофакторов и свободных промежуточных соединений не обнаружено. Ни γ -глутамилфосфат, ни амидофосфорная кислота ($O=P(OH)_2NH_2$) не проявляют активности [544, 567]. По данным ряда работ, ферментные препараты, катализирующие синтез глутамина, осуществляют обмен P^{32} -фосфата между АТФ, АДФ и неорганическим фосфатом [561, 568, 569]. Интересно отметить, что для реакции обмена фосфата необходимо наличие L-глутамата и аммиака [707]. Имеются сообщения о том, что подобные же реакции катализируются ферментами, участвующими в синтезе глутатиона (стр. 268). Было показано также, что синтез глутамина [реакция (1)] связан с переносом ω -кислородного атома (меченного O^{18}) от глутаминовой кислоты к неорганическому фосфату [570—572, 708]. Хотя эти данные указывают на образование γ -глутамилфосфатной связи, не исключена возможность и других объяснений. Если действительно реакция синтеза и переноса осуществляются одним и тем же ферментом, то любой предполагаемый механизм должен, очевидно, объяснять тот факт, что для реакции переноса необходимы АДФ и фосфат. Такой механизм должен также находиться в согласии с более узкой специфичностью реакции переноса по сравнению с реакцией синтеза.

Синтез других соединений, содержащих —CONH—связи

Биосинтезу некоторых других низкомолекулярных соединений, обладающих —CONH—связями (например, карнозина, аспарагина, пенициллина, пантотеновой кислоты), посвящен ряд работ, но в общем об этих ферментных системах известно меньше, чем о ферментах, осуществляющих синтез глутатиона

и глутамин. Найдено, что ферментная система, активирующая синтез глутамин, не катализирует синтез аспарагина из L-аспарагиновой кислоты, аммиака и аденозинтрифосфата. Описано образование аспарагина путем реакций переаминирования, т. е. путем переноса аминогруппы на β -амид щавелевоуксусной кислоты (β -амид кетоянтарной кислоты) ([290]; стр. 223), а также путем переноса амидной группы от глутамин к аспарагиновой кислоте [573]¹. Обсуждалась также возможность образования аспарагина из аспарагиновой кислоты, аммиака и аденозинтрифосфата при участии ферментной системы, отличающейся от той, которая синтезирует глутамин [574]. Найдено, что препараты из зародышей пшеницы катализируют образование β -аспартилгидроксамовой кислоты из L-аспарагиновой кислоты и гидроксилamina в присутствии ионов магния и аденозинтрифосфата. Еще не ясно, катализирует ли система, участвующая в образовании β -аспартилгидроксамовой кислоты, также образование аспарагина. В дрожжах путем аналогичной реакции катализируется образование β -аспартилфосфата; последний, по-видимому, не служит предшественником аспарагина, но вместе с тем установлено, что он является промежуточным продуктом при образовании гомосерина из аспарагиновой кислоты (стр. 333). Для действия ферментной системы зародышей пшеницы, синтезирующей β -аспартилгидроксамовую кислоту (в отличие от системы, синтезирующей глутамин), необходимы высокие концентрации аспарагиновой кислоты и гидроксилamina. Имеются данные о том, что система из зародышей пшеницы катализирует включение C^{14} -аспарагиновой кислоты в аспарагин в присутствии аденозинтрифосфата, аммиака и ионов магния, однако остается неясным, происходит ли при этом реальный синтез аспарагина. Детальное рассмотрение механизма синтеза аспарагина следует отложить впредь до получения дополнительных сведений.

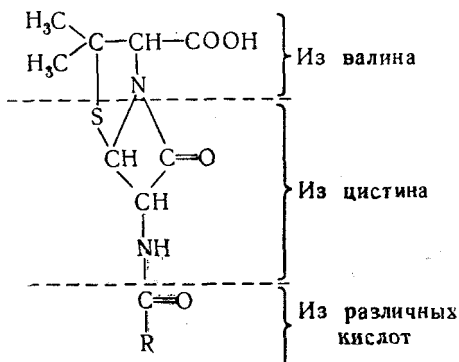
Образование карнозина из β -аланина и гистидина было установлено в опытах со срезами печени. Для обнаружения синтеза карнозина был применен микробиологический способ определения гистидина; определения производили до и после гидролиза кислотой [575]. Данные, полученные при использовании меченого β -аланина, подтвердили образование карнозина из β -аланина и гистидина [576].

Много внимания было уделено изучению синтеза пантотеновой кислоты из β -аланина и пантоиновой кислоты. Реакция, по-видимому, не требует наличия кофермента А; для нее необхо-

¹ Существование такой реакции переаминирования не нашло подтверждения [С ю й Т и н - с е н ь, Биохимия, 24, 528 (1959)]. — *Прим. ред.*

димо присутствие аденозинтрифосфата, ионов магния (или марганца) и калия (или аммония). Обсуждение реакции см. на стр. 311.

Синтез пенициллина штаммами *Penicillium* изучали при помощи меченых аминокислот. При добавлении меченого DL-валина к ферментационной смеси Стивенс и сотрудники [577] нашли, что карбоксильная группа пенициллина могла иметь источником валин; эта аминокислота, меченая в метильных группах, включается в пеницилламиновую часть молекулы антибиотика [578]. L-Валин включается, по-видимому, быстрее, чем D-валин [709]. Предшественниками ацильной группы могут служить самые различные кислоты [579], а источником β -лактамного кольца является, по-видимому, L-цистин [578—581, 709, 710]. L-Цистин более эффективен как предшественник пенициллина, чем D-цистин [578].



Выяснение механизма образования пенициллина из указанных предшественников остается задачей будущих исследований (см. [710]).

Включение аминокислот в белки

Первые доказательства включения аминокислот в белки были получены Шёнхаймером и его сотрудниками [73—80]. Эти авторы показали, что меченые аминокислоты при введении их крысам с пищей в течение нескольких дней включаются в белки различных тканей. Шёнхаймер учитывал, что наблюдаемое им включение могло являться результатом либо синтеза белка *de novo*, либо реакции замещения, либо обоих этих процессов. Хотя аналогичные эксперименты проведены и многими другими исследователями, природа реакций, с которыми связано

включение, остается еще неясной. Последующие работы показали, что вопрос действительно весьма сложен и что исследуемый процесс связан с множеством факторов. Найдено, что ряд тканей (например, слизистая кишечника, печень, почки, селезенка) включают аминокислоты очень быстро, тогда как в некоторых других (например, в ткани кожи, мышц, мозга) наблюдается лишь медленное включение. Кроме того, степень включения в данную ткань нередко меняется в зависимости от периода времени, истекшего после введения изотопа. На включение метки влияет, естественно, как количество введенных аминокислот, так и степень их разведения свободными аминокислотами тканей.

В многочисленных опытах этого рода не было сделано попыток выделить индивидуальные белки. Однако разные белки одной и той же ткани, несомненно, воспринимают различные количества меченой аминокислоты. Появилось множество исследований об обновлении белков. обстоятельные обзоры этих данных опубликованы Тарвером [582, 583]. У крыс мышечные белки, по-видимому, обновляются значительно медленнее, чем белки внутренних органов; установлено также, что отдельные белки мышечной ткани обновляются с различной скоростью [584]. Скорость оборота коллагена крайне низка у взрослых особей и несколько более высока у молодых животных [585—589]. У различных белков сыворотки крови эта величина также неодинакова [582]. Альбумин обновляется относительно медленно по сравнению с глобулинами и фибриногеном.

Имеются данные о том, что белки плазмы находятся в равновесии с белками тканей; иначе говоря, тканевые белки могут быть использованы для образования белков плазмы, и наоборот [590, 591]. Вероятно, это использование в том и другом случае связано с распадом исходного белка и ресинтезом нового белка [592—594]. Согласно этим представлениям, белки плазмы могут служить источником аминокислот для синтеза белков тканей. Не исключена возможность использования при этом пептидных фрагментов. Белки плазмы используются тканями весьма эффективно; это можно объяснить, по крайней мере отчасти, тем, что эти белки легко проникают через клеточные мембраны. Альбумин, фибриноген и значительная часть фракции глобулинов, вероятно, синтезируются в печени. Опыты с введением меченых аминокислот лактирующим животным показали, что белки плазмы не являются прямыми предшественниками белков молока [595, 596], поскольку степень включения метки в белки молока значительно превышает степень ее включения в белки плазмы. Подобное же заключение можно сделать относительно синтеза яичного альбумина у кур [597, 598]. Найдено также, что

включение меченых аминокислот в антитела имеет место у активно иммунизированных животных, тогда как при введении меченых аминокислот в организме пассивно иммунизированных животных включение метки в антитела отсутствует [599].

Очевидно, что обновление белков отражает совокупность процессов синтеза и распада; до сих пор исследования процессов обновления не дали однозначного ответа на вопрос о том, могут ли аминокислоты включаться в белки при отсутствии реального синтеза *de novo*. Эти исследования мало чем обогатили наши познания о механизме процессов анаболизма и катаболизма белков.

Часто высказывалось предположение, что все внутриклеточные и внеклеточные белки животных тканей подвергаются непрерывному распаду и синтезу. Однако фактически не получено однозначных данных, показывающих, что все внутриклеточные белки обновляются. Описанные явления включения меченых аминокислот и обновления белка можно истолковать и как результат распада клеток и секреции белков клетками. Опыты с применением меченых аминокислот показали, что, как правило, в тканях, у которых скорость смены клеток и скорость секреции белков невелики (например, в мышцах), оборот белка происходит относительно медленно, тогда как ткани, которым свойственны быстрая смена клеток и активная секреция белка (например, ткани печени и слизистой кишечника), характеризуются высокой скоростью обновления. Возможно, что молекулы внутриклеточных белков остаются стабильными до тех пор, пока они не секретированы клеткой или пока клетка не разрушается. Включение изотопа во внутриклеточный блок, согласно этой концепции, происходит лишь в связи с синтезом молекулы белка. Такой синтез может происходить во время активного роста ткани или представлять функцию процесса «изнашивания» ткани.

Представление о стабильности внутриклеточных молекул белка, противопоставляемое идее о том, что эти молекулы пребывают в состоянии динамического равновесия, находит подтверждение в исследованиях, проведенных на некоторых бактериальных системах. Моно и сотрудники [600, 601] исследовали индуцированный синтез β -галактозидазы в растущих клетках *Escherichia coli*. При выращивании на сравнительно простой среде, содержащей соли и янтарную кислоту, эти микроорганизмы не синтезируют заметных количеств β -галактозидазы. Если же добавить к растущей культуре соответствующее индуцирующее соединение (например, галактозид, который не обязательно является субстратом β -галактозидазы), то клетки начинают синтезировать β -галактозидазу в таком количестве, что

ее можно выделить в очищенном виде. Клетки метили, выращивая их в среде, содержащей S^{35} -сульфат и не содержащей индуцирующих соединений. Затем меченые клетки отмывали от среды и суспендировали в немеченой среде, содержавшей индуцирующее соединение. Выделенная в этих условиях β -галактозидаза не обладала сколько-нибудь заметной радиоактивностью.

В других опытах было показано, что после предварительного накопления меченой β -галактозидазы в клетках *E. coli* распад меченого фермента не превышал 0,4% в условиях, при которых масса бактерий увеличилась на 900%. Эти данные отчетливо показывают стабильность молекулы фермента, а также других белков в растущих клетках *E. coli*. Ротман и Шпильгельман [602] провели аналогичные опыты с C^{14} и также не получили данных, подтверждающих наличие оборота белков. Кох и Леви [603], работая с *E. coli*, тоже нашли, что скорость распада белка в растущих культурах очень невелика. Таким образом, работы, проведенные различными методами, показывают, что оборот белка в клетках *E. coli* во время роста чрезвычайно мал. Совершенно очевидно, что между бактериями и животными объектами имеются значительные различия. Сложность строения животных тканей, в которых содержатся клетки различных типов, затрудняет выполнение исследований, подобных тем, которые были проведены на бактериях. Без сомнения, скорость синтеза белка в растущих клетках *E. coli* намного выше, а скорость расщепления белка — значительно ниже, чем в тканях животных. Уместно, однако, напомнить, об исследованиях Шимины и Риттенберга, в которых было найдено, что в эритроцитах человека гемоглобин не подвергается обновлению в течение всей жизни этих клеток; меченые клетки не теряли изотопную метку до тех пор, пока не наступал их распад [604, 605]. Подобные результаты получены и другими авторами [606, 607].

Найдено, что скорости включения меченых аминокислот в различные белки мышц кролика не одинаковы [608]. Эти данные можно объяснить либо различиями в скорости оборота белков, либо различной скоростью их синтеза. Поэтому такие опыты не позволяют решить вопрос о наличии внутриклеточного оборота белков. Результаты недавних исследований на животных объектах подтверждают гипотезу о динамическом состоянии внутриклеточных белков. Так, например, при инкубировании клеток асцитного рака Эрлиха, меченных *in vivo* C^{14} -аланином, лизином или глицином, наблюдался выход аминокислот из клеток без сопутствующей общей убыли белка [711, 712].

Для решения вопроса о включении аминокислот в белки были проведены многочисленные исследования *in vitro* с при-

менением меченных изотопом C^{14} -аминокислот и препаратов различных тканей [609, 613]. Обычно препараты тканей инкубировали в течение короткого периода времени с мечеными аминокислотами, после чего белки осаждали и промывали раствором трихлоруксусной кислоты для удаления аминокислот и других низкомолекулярных соединений. Появление свободных меченых аминокислот при действии протеолитических ферментов на меченый белок и отсутствие образования меченой углекислоты при действии нингидрина на белок (в тех случаях, когда были использованы аминокислоты, меченные по карбоксилу) свидетельствует о включении аминокислот в пептидную связь [614—617]. Описано также выделение радиоактивных пептидов из продуктов частичного гидролиза меченого белка [618]. Однако возникают связи и другого рода. Например, цистин может включаться в белок путем образования дисульфидных связей [619], а меченный по тиометильной группе метионин может превращаться в метилмеркаптан, который связывается с белком [620]. К числу трудностей, возникающих при толковании этих исследований, относится тормозящее действие D-компонента рацемических аминокислот, использованных в ряде опытов [621], а также превращение аминокислот в другие аминокислоты или иные соединения. Большие затруднения при такого рода исследованиях связаны и с тем, что исследуемые меченые продукты представляют собой обычно неопределенную смесь белков и, вероятно, других соединений.

В одном из исследований было найдено, что включение аминокислот в дезоксирибонуклеогистоны зависит от продолжительности инкубирования, pH и концентрации аминокислот [622]. Включенные аминокислоты были прочно связаны, и карбоксил аминокислот не освобождался при действии нингидрина. Это включение, которое, возможно, не было обусловлено образованием пептидных связей, усиливалось при повышении температуры до 100° . Другой необычный тип включения наблюдали в опытах с лизином [623, 624, 714], который, по-видимому, образует связи с белком через ϵ -аминогруппы.

В большинстве исследований включение аминокислот продолжалось в течение нескольких часов и затем прекращалось. Количество включенной аминокислоты составляло от 0,5 до 10 μ молей на 1 г белка. По-видимому, включались лишь L-аминокислоты; в тех случаях, когда исследования проводили с D-изомерами, последние оказывались неактивными. За исключением, быть может, этионина [625, 626] и *n*-фторфенилаланина [627], включались лишь аминокислоты, свойственные белкам (стр. 139). Различия в скорости поглощения аминокислот могут зависеть как от самой ткани, так и от метода ее обработки.

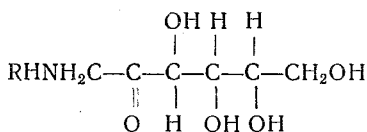
Заслуживает внимания, что фактически все исследованные ткани в той или иной мере проявляли способность включать аминокислоты. В нескольких случаях отмечено, что ингибиторы фосфорилирования и дыхания тормозят включение. Диализ бесклеточных препаратов также вызывает инактивирование [615, 628]; реактивирование таких систем достигается добавлением аминокислот и адениннуклеотидов [628—630]. Недавно было отмечено, что в асцитной опухоли Эрлиха включение аминокислот подавляется в анаэробных условиях [631]. Однако такого подавления при анаэробнозе не наблюдали, если в системе поддерживался активный гликолиз. Торможение включения динитрофенолом объясняется, очевидно, его влиянием на процессы, доставляющие энергию [632]. Опыты с бесклеточным препаратом из печени крыс, содержащим большое количество микросом, показали, что для включения аминокислот необходимо наличие микросом, системы, образующей АТФ, и растворимого фактора из печени (термостабильного и недиализуемого) [618]. Дальнейшее исследование этой системы позволило установить, что для включения меченых аминокислот необходим гуанозинди- или гуанозинтрифосфат. Гуанозинтрифосфат не заменяет аденозинтрифосфата; пробы должны содержать АТФ и систему, образующую его [713]. Присутствие других аминокислот повышает включение не во всех системах. В некоторых опытах отмечали возможность одновременного включения нескольких аминокислот, причем величины их включения были аддитивны [623, 632].

Стимулирующее действие аденозинтрифосфата на включение аминокислот согласуется с данными об участии АТФ в процессе активирования аминокислот. Было найдено, что растворимая фракция, полученная из печени крысы, катализирует включение меченого пироглютата в аденозинтрифосфат, зависящее в значительной мере от присутствия L-аминокислот [633, 634]. Та же белковая фракция катализирует образование гидроксаматов аминокислот в присутствии аденозинтрифосфата, смеси L-аминокислот и гидроксилamina в высокой концентрации. Аналогичная ферментная система обнаружена у некоторых бактерий [635].

Из результатов этих исследований сделан вывод о наличии процесса активирования аминокислот, при котором образуются соединения аминоацилов с адениловой кислотой, связанные с ферментом. Эти данные показали также, что для каждой из изученных аминокислот имеется отдельный фермент или участок фермента. Согласно этой гипотезе, соединения аминокислот с адениловой кислотой могут включаться в белки или превращаться в присутствии гидроксилamina в соответствующие гидроксамовые кислоты (см. также [715, 716]).

В тех случаях, когда животным вводили меченые аминокислоты и получали затем различные фракции из клеток печени путем дифференциального центрифугирования, наиболее активное включение аминокислот обнаруживали в микросомах [636]. К такому же результату привели опыты *in vitro* [637, 638]. Было отмечено, что из тканевых фракций наибольшее количество рибонуклеиновой кислоты содержат микросомы; этот факт имеет существенное значение в свете возможного участия нуклеиновой кислоты в синтезе белка. Кроме микросом, для включения аминокислот необходима еще растворимая белковая фракция [618, 637]. В недавних работах было найдено, что в мышце включение аминокислот происходит интенсивнее в митохондриях, чем в микросомах [639, 717].

Опубликованы также данные о наличии в некоторых клетках соединений, активирующих включение аминокислот. Например, включение аминокислот в белки ретикулоцитов кролика *in vitro* повышается при добавлении кипяченого водного экстракта из высушенной печени или фильтрата кипяченой плазмы крови. Активирующими соединениями являются, по-видимому, фруктозоаминокислоты, имеющие следующую структуру:



Фруктозоаминокислоты, например фруктозо-L-аланин и фруктозо-L-глутаминовая кислота, были выделены Борсуком и сотрудниками [640] из ткани печени. Отмеченное авторами активирование включения аминокислот в ретикулоциты, по-видимому, обуславливалось в основном соединениями этого типа в сочетании с железом; но не исключено существование и других активирующих факторов.

Роль нуклеиновых кислот в синтезе белка изучали многие исследователи, но, несмотря на большое количество экспериментов, она остается еще не выясненной. В ряде работ подчеркивалось, что синтез рибонуклеиновой кислоты и белка, как и включение аминокислот, связан с фракцией микросом [582, 637]. Исследование процессов включения в ядерных и безъядерных фрагментах ацетабулярии показало, что лишенные ядра фрагменты способны включать аминокислоты [641]. В общем данные, доказывающие участие дезоксирибонуклеиновой кислоты в синтезе белка, немногочисленны. Роль рибонуклеиновой кислоты не установлена, хотя высказан ряд предположений о том, что рибонуклеиновая кислота может участвовать каким-то образом

в образовании «матрицы» для синтеза белка. Согласно этой гипотезе, нуклеиновая кислота необходима для синтеза белка. Взаимосвязь между белком и нуклеиновой кислотой проявляется также и в том, что некоторые белки необходимы для синтеза нуклеиновой кислоты [642].

Гейл [643], обстоятельно изучавший процессы включения аминокислот и синтез белка у бактерий, сообщил, что включение аминокислот в фрагменты разрушенных клеток стафилококка ускоряется рибонуклеиновой кислотой. Далее он установил, что некоторые продукты ферментативного расщепления рибонуклеиновой кислоты также стимулируют включение аминокислот. По-видимому, в таких продуктах гидролиза содержится ряд активирующих веществ, химическая природа которых еще не установлена¹.

Относительно механизма биосинтеза белка сложились две основные гипотезы. Ввиду сложности структуры белков и необходимости для их биосинтеза одновременного наличия всех аминокислот, входящих в состав белка, возникло представление о существовании особых «матриц», на которых все участвующие в синтезе белка аминокислоты размещаются в порядке, соответствующем их последовательности в молекуле белка. Эта идея связана и с данными о том, что биосинтез белка осуществляется по принципу «все или ничего». Согласно другой точке зрения, синтез белка протекает в результате ступенчатого процесса, с промежуточным образованием пептидов или других производных аминокислот. Предложены различные варианты как «матричной», так и «пептидной» теории синтеза белка. Мы не имеем возможности подробно обсудить все теоретические и экспериментальные исследования в этой области, однако некоторые интересные подходы к данной проблеме заслуживают упоминания.

Теория «матрицы» подкрепляется множеством исследований, показавших, что для синтеза белка обязательно одновременное наличие всех необходимых аминокислот. Исследования по кормлению животных были уже рассмотрены выше (стр. 126). Шпигельман и сотрудники [644, 645], обстоятельно изучавшие адаптивное образование ферментов у бактерий, пришли к выводу, что а) «образование фермента неразрывно связано с ис-

¹ В свете новейших исследований стало очевидным, что в опытах Гейла с фрагментами бактериальных клеток, как и во многих других изотопных опытах с микроорганизмами, меченые аминокислоты использовались для ферментативного синтеза мукопептидов клеточной стенки бактерий, т. е. «включение» их не имело отношения к процессам синтеза или обновления белка; активный «фактор включения», содержащийся в гидролизатах нуклеиновых кислот, был отождествлен с глицерином. — *Прим. ред.*

пользованием свободных аминокислот» и б) «первый устойчивый промежуточный продукт на пути образования фермента настолько сложен, что для его образования необходимо одновременное использование всех аминокислот». Изучение образования β -галактозидазы у *Escherichia coli* и синтеза амилазы в срезах поджелудочной железы [646] вновь подтвердило, что для синтеза требуется присутствие всего набора аминокислот. При синтезе ферритина положение аналогично: экспериментальные данные говорят о том, что синтез ферритина происходит за счет свободных аминокислот [647].

Хотя представление о матрицах совместимо с некоторыми фактическими данными, эту теорию, вероятно, нелегко будет доказать. По словам одного из авторов, поддерживающих ее, «одно из основных преимуществ матричной гипотезы состоит в том, что ее можно применять к любой из стадий процесса синтеза, с тем чтобы заполнить или обойти пробелы в наших знаниях, — до тех пор, пока новые данные не позволят ее отбросить (или подтвердить)» ([582]; см. также [648—650]).

В самом деле, весьма соблазнительно признать гипотезу, позволяющую относительно просто объяснить синтез чрезвычайно сложных молекул. Между тем имеются также данные, свидетельствующие в пользу ступенчатого характера процесса синтеза белка. Образование промежуточных пептидов не установлено, однако возможно, что их существование весьма мимолетно. В связи с этим нелишне отметить, что, например, синтез жирных кислот представляет собой ступенчатый процесс, хотя в течение многих лет промежуточные продукты этого синтеза обнаружить не удавалось. Отсутствие в тканях свободных жирных кислот с углеродной цепью промежуточной длины могло бы послужить доводом в пользу «матричного» механизма синтеза жирных кислот. Такая идея действительно одно время выдвигалась [651]. Следует отметить, что наши сведения о природных пептидах весьма неполны; кроме того, подлежит изучению распространение других типов аминокислотных соединений (например, нуклеотидов, содержащих аминокислоты).

Данные ряда исследований о стимулирующем влиянии пептидов на рост говорят о том, что использованию пептидов предшествует их гидролиз, однако возможно, что это верно не для всех случаев [128, 652—657]. В этом отношении значительный интерес представляют исследования пептидов типа стрепогенина [658—663] (см. также стр. 75). Отметим, что образование одного из природных пептидов — глутатиона — происходит путем ступенчатого синтеза (стр. 268).

В ряде лабораторий пытались получить экспериментальные данные, позволяющие отличить «ступенчатый» механизм

синтеза от «матричного». Сюда относятся исследования Анфинсена и сотрудников [597, 598, 664], посвященные образованию яичного белка в яйцевоме курицы. Синтезированный в организме из $C^{14}O_2$ яичный альбумин расщепляли при помощи субтилизина на пластинчатый альбумин (плакальбумин) и пептиды. Было найдено, что метка аспарагиновой кислоты в пептидах выше метки аспарагиновой кислоты плакальбумина. В аналогичных опытах с мечеными аминокислотами было отмечено неравномерное распределение метки в остатках глутаминовой кислоты, глицина, аланина и серина. Хотя эти данные можно истолковать в пользу ступенчатого механизма синтеза белка, предложены и другие объяснения [582]. Кроме того, в аналогичных опытах с другими биологическими системами были получены противоположные результаты. Так, например, после инъекции крысам меченого валина степень включения метки в концевые и неконцевые остатки валина в молекуле гемоглобина оказалась одинаковой [665]. В исследованиях Уорка и сотрудников, вводивших меченые аминокислоты в организм лактирующей козы, удельная активность аминокислотных остатков, выделенных из различных участков пептидной цепи казеина, была в общем эквивалентной [666]. Стайнберг указал на то, что в опытах с биосинтезом овальбумина неравномерная метка аминокислот наблюдается лишь при сравнительно кратковременных опытах; если инкубирование продолжается в течение 10 час. или более, то аминокислоты метаются равномерно [667].

Изысканный опыт, посвященный этому вопросу, поставили Симпсон и Велик [608]. Они выделили альдолазу и дегидрогеназу глицеральдегид-3-фосфата из мышц кролика после однократной инъекции пяти радиоактивных аминокислот. Удельная активность каждой из аминокислот в альдолазе была в 1,8 раз выше, чем в триозофосфатдегидрогеназе. Это свидетельствует о том, что оба фермента синтезируются за счет одного и того же «котла» аминокислот. Такие же результаты получены при исследовании синтеза альдолазы и фосфорилазы у животных, которых забивали через различные промежутки времени (от 2 до 24 час.) после инъекции меченых аминокислот [668]. Совокупность опубликованных данных едва ли позволяет однозначно решить вопрос о наличии ступенчатого или матричного механизма синтеза белка. Даже данные тех исследований, в которых была обнаружена неравномерная метка аминокислот, объясняются с позиции матричной теории тем, что некоторые части матрицы могли оказаться более доступными для «экзогенных», чем для «эндогенных», аминокислот. Вместе с тем результаты опытов, согласно которым аминокислоты метаются равномерно, можно объяснить тем, что белки выделяли из биологической

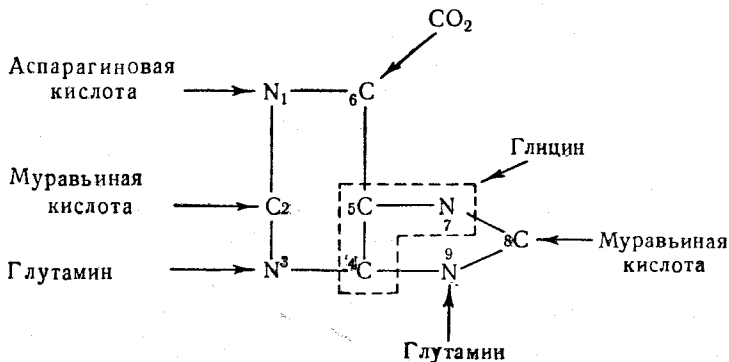
системы спустя слишком долгий промежуток времени после введения в нее меченых аминокислот.

В заключение следует сказать, что многие основные вопросы, касающиеся включения аминокислот в белок, остаются пока без ответа. Природа этого процесса еще не ясна. Существует ли у животных внутриклеточный оборот белка? Каковы промежуточные продукты синтеза белка? Проведенные до сих пор исследования выявляют сложность всей этой проблемы и указывают на необходимость новых подходов к ее решению. Замечательно уже то, что в этой трудной области достигнуты некоторые успехи вопреки тому, что сама проблема структуры белка еще далеко не разрешена.

БИОСИНТЕЗ ПУРИНОВ

Возможную роль аминокислот в качестве предшественников в биосинтезе пуринового ядра изучали уже давно. В опытах с применением меченых соединений было найдено, что гистидин и аргинин, несмотря на их структурное сходство с пуринами, не являются непосредственными источниками азота для синтеза пуринов [669, 670]. Вместе с тем было показано, что срезы печени голубя синтезируют гипоксантин и что добавление глутамина или щавелевоуксусной кислоты к таким тканевым препаратам повышает количество синтезируемого гипоксантина [671—673].

Успешному изучению биосинтеза пуринов в значительной мере способствовали изотопные исследования, пролившие свет на происхождение атомов азота и углерода в пуриновом ядре. Было установлено, что глицин является предшественником атомов С-4, С-5 и N-7 [674, 675], CO_2 — предшественником атома С-6 [674—676], муравьиная кислота — предшественником атомов С-2 и С-8 [676], глутамин — предшественником атомов N-3 и N-9 [677] и аспарагиновая кислота — предшественником атома N-1 [677, 723]. Эти данные иллюстрирует следующая схема:

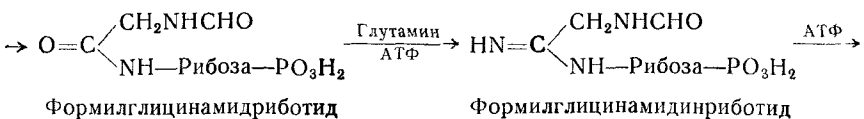
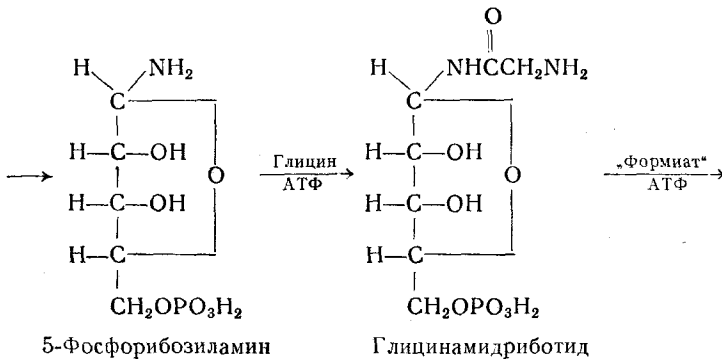
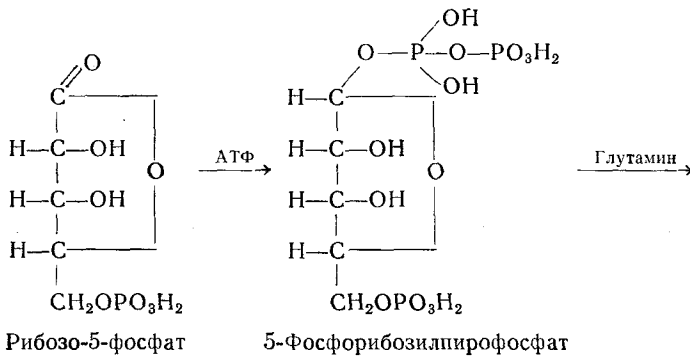


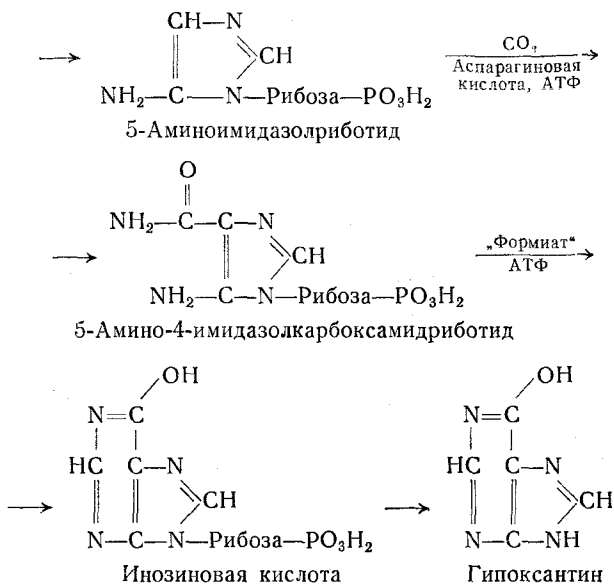
В опытах с экстрактами из печени голубя было найдено, что для образования одного моля гипоксантина используются 2 моля муравьиной кислоты, 1 моль CO_2 и 1 моль глицина [678]; позднее установили, что на каждый моль включенного в гипоксантин глицина приходится два атома азота, имеющих источником амидную группу глутамина. Половина включенного в пурин амидного азота была найдена в атоме N-9, а другая половина — в смешанном азоте атомов N-1 и N-3. При использовании N^{15} -аспарагиновой или N^{15} -глутаминовой кислоты изотопом метилась только суммарная фракция N-1 + N-3 [677]. Эти данные свидетельствовали о возможной роли амидной группы глутамина как источника атома N-1 (или N-3) и о происхождении второго из этих атомов из α -аминогруппы. Дальнейшие работы показали, что источником атома N-1 является аспарагиновая кислота [723].

При исследовании синтеза инозиновой кислоты в препаратах печени голубя (в присутствии глицина, формиата, бикарбоната, рибозо-5-фосфата, 3-фосфоглицериновой кислоты и цитроворумфактора) было найдено, что добавление L-аспарагина или L-глутамина стимулирует синтез этой кислоты [678]. Меньшее влияние оказывают глутаминовая и аспарагиновая кислоты, а ряд других аминокислот вообще не дает никакого эффекта. Добавление глутаминовой кислоты к глутамину или аспарагиновой кислоты к аспарагину не приводило к существенному усилению синтеза инозиновой кислоты по сравнению с синтезом ее в присутствии одних амидов. Вместе с тем добавление аспарагиновой кислоты к глутамину и в несколько меньшей степени добавление глутаминовой кислоты к аспарагину значительно повышало количество образующейся инозиновой кислоты. Эти данные указывают на то, что требуется одновременное наличие производных C_4 - и C_5 -аминодикарбоновых кислот, из которых одно должно иметь амидную группу в ω -положении. Такие результаты можно объяснить образованием глутамина из глутаминовой кислоты и аммиака, отщепляющегося от аспарагина при его ферментативном гидролизе.

То обстоятельство, что в ферментных препаратах из печени голубя инозиновая кислота служит предшественником гипоксантина, давало основание предполагать образование рибонуклеотидов на ранних этапах процесса биосинтеза пуринового ядра [679]. Дальнейшие исследования, выполненные в лабораториях Гринберга [679—683, 718—720] и Бьюкенена [684—690, 721—723], способствовали расшифровке механизма синтеза пуринов. Было найдено, что в присутствии глутамина, аденозинтрифосфата, глицина и 5-фосфорилпирофосфата одна из белковых фракций печени голубя синтезирует глицинамидриботид. Первой

ступенью в цепи реакций является, по-видимому, образование 5-фосфорилрибозиламина из глутамина и 5-фосфорилрибозилпирофосфата [683, 718]. Глицинамидриботид, присоединяя формильную группу, превращается в формилглицинамидриботид. Последний реагирует с глутамином, образуя формилглицинамидинриботид, который, вероятно, превращается путем замыкания кольца в аминокимидазолриботид. Из этого соединения в присутствии CO_2 и аспарагиновой кислоты образуется 5-амино-4-имидазолкарбоксамидриботид, который затем акцептирует формильную группу и циклизуется с образованием инозиновой кислоты. Эти реакции можно представить следующим образом:





Большое значение имели данные о накоплении 4-амино-5-имидазолкарбоксамидрибозида и соответствующего рибонуклеотида в культурах *Escherichia coli* при торможении их роста сульфамидными препаратами [691—694]. Эти наблюдения послужили поводом к изложенным выше исследованиям об образовании ациклических рибонуклеотидов. Ранее из культур *E. coli*, выращенных в присутствии сульфамидов, был выделен свободный 4-амино-5-имидазолкарбоксамид [691—692]. Вероятно, торможение роста бактерий и синтеза пуринов под действием сульфамидов связано с нарушением синтеза кофакторов, образующихся из *n*-аминобензойной кислоты. Описано также конкурентное торможение превращения формилглицинамидриботида в формилглицинамидинриботид под влиянием азасерина. В присутствии этого антибиотика, который, по-видимому, способен тормозить рост опухолей (стр. 46), накапливается глицинамидриботид [687]. Азасерин вызывает также конкурентное торможение реакции между глутамином и 5-фосфорибозилпирофосфатом, приводящей к образованию 5-фосфорибозиламина [721].

Найдено, что цитроворум-фактор (стр. 327) или родственное ему производное фолевой кислоты участвует во включении формиата в пуриновое ядро в положениях 2 и 8, а также в реакции обмена между формиатом и атомом С-2 инозиновой кислоты [695].

Ряд деталей реакций, с которыми связан биосинтез пуринов, еще не выяснен. Однако, судя по тому, как успешно продвигается изучение этого процесса в настоящее время, можно ожидать, что многие относящиеся к нему вопросы будут решены в ближайшем будущем¹.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bonsnes R. W., J. Biol. Chem., **168**, 345 (1947).
2. Stein W. H., Moore S., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., **14**, 179 (1950); J. Biol. Chem., **211**, 915 (1954).
3. Van Slyke D. D., Meyer G. M., J. Biol. Chem., **16**, 197 (1913—1914).
4. Alexander H. L., Shirley K., Allen D., J. Clin. Invest., **15**, 163 (1936).
5. Fisher R. B., Protein Metabolism. Wiley, New York, 1954.
6. Luck J. M., J. Biol. Chem., **77**, 13 (1928).
7. Seth T. M., Luck J. M., Biochem. J., **19**, 366 (1925).
8. Bolton C., Wright G. P., J. Physiol. (London), **89**, 269 (1937).
9. Kratzer F. H., J. Biol. Chem., **153**, 237 (1944).
10. Chase B. W., Lewis H. B., J. Biol. Chem., **106**, 315 (1944).
11. Höber R., Höber J., J. Cellular Comp. Physiol., **10**, 401 (1937).
12. Gibson Q. H., Wiseman G., Biochem. J., **48**, 426 (1951).
13. Matthews D. M., Smyth D. H., J. Physiol. (London), **126**, 96 (1954).
14. Clarke E. W., Gibson Q. H., Smyth D. H., Wiseman G., J. Physiol. (London), **112**, 46P (1951).
15. Matthews D. M., Smyth D. H., J. Physiol. (London), **116**, 20P (1952).
16. Schofield F. A., Lewis H. B., J. Biol. Chem., **168**, 439 (1947).
17. Wiseman G., J. Physiol. (London), **120**, 63 (1953).
18. Fridhandler L., Quastel J. H., Arch. Biochem. and Biophys., **56**, 424 (1955).
19. Agar W. T., Hird F. J. R., Sidhu G. S., J. Physiol. (London), **121**, 255 (1953).
20. Agar W. T., Hird F. J. R., Sidhu G. S., Biochim. et Biophys. Acta, **14**, 80 (1954).
21. Fisher R. B., Parsons D. S., J. Physiol. (London), **110**, 36 (1949).
22. Wilson R. H., J. Biol. Chem., **97**, 497 (1932).
23. Darlington W. A., Guastel J. H., Arch. Biochem. and Biophys., **43**, 194 (1953).
24. Stern J. R., Eggleston L. V., Hems R., Krebs H. A., Biochem. J., **44**, 410 (1949).
25. Christensen H. N., Riggs T. R., Ray N. E., J. Biol. Chem., **194**, 41 (1952).
26. Riggs T. R., Christensen H. N., Palatine I. M., J. Biol. Chem., **194**, 53 (1952).
27. Christensen H. N., Streicher J. A., Arch. Biochem., **23**, 97 (1949).
28. Christensen H. N., Cushing M. K., Streicher J. A., Arch. Biochem., **23**, 106 (1949).

¹ Сводка более новых данных о механизме биосинтеза пуринов дана в обзорной статье J. M. Buchanan and S. C. Hartman, Advances Enzymol. **21**, 199 (1959); о пути биосинтеза пиримидинов см. обзор P. Reichard, Advances Enzymol., **21**, 263 (1959). — Прим. ред.

29. Christensen H. N., Streicher J. A., Elbinger R. L., *J. Biol. Chem.*, **172**, 515 (1948).
30. Christensen H. N., Streicher J. A., *J. Biol. Chem.*, **175**, 95 (1948).
31. Christensen H. N., Lynch E. L., *J. Biol. Chem.*, **172**, 107 (1948).
32. Christensen H. N., Riggs T. R., *J. Biol. Chem.*, **194**, 57 (1952).
33. Christensen H. N., Henderson M. E., *Cancer Research*, **12**, 229 (1952).
34. Christensen H. N., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 63. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
35. Heinz E., *J. Biol. Chem.*, **211**, 781 (1954).
36. Riggs T. R., Coyne B., Christensen H. N., *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 303 (1953).
37. Christensen H. N., Riggs T. R., Coyne B. A., *J. Biol. Chem.*, **209**, 413 (1954).
38. Christensen H. N., Riggs T. R., Fischer H., Palatine I. M., *J. Biol. Chem.*, **198**, 1 (1952).
39. Christensen H. N., Riggs T. R., Fischer H., Palatine I. M., *J. Biol. Chem.*, **198**, 15 (1952).
40. Riggs T. R., Christensen H. N., Coyne B. A., *J. Biol. Chem.*, **209**, 395 (1954).
41. Christensen H. N., Hess B., Riggs T. R., *Cancer Research*, **14**, 124 (1954).
42. Christensen H. N., Rafn M. L., *Cancer Research*, **12**, 495 (1952).
43. Roberts R. B., Abelson P. H., Cowie D. B., Bolton E. T., Britten R. J., *Studies of Biosynthesis in Escherichia coli*. Publ. by Carnegie Institution of Washington, Washington D. C. (1955).
44. Gale E. F., Rodwell A. W., *J. Gen. Microbiol.*, **3**, 127 (1949).
45. Gale E. F., *Advances in Protein Chem.*, **8**, 287 (1953).
46. Gale E. F., *J. Gen. Microbiol.*, **1**, 53 (1947).
47. Cohen G. N., Rickenberg H. V., *Compt. rend.*, **240**, 2086 (1955).
48. Gale E. F., *J. Gen. Microbiol.*, **3**, 369 (1949).
49. Gale E. F., Van Halteren M. B., *Biochem. J.*, **50**, 34 (1951).
50. Baldwin E., *An Introduction to Comparative Biochemistry*. Cambridge U. P., New York, 1948.
51. Needham J., *Biol. Revs.*, **5**, 142 (1930).
52. Baldwin E., *Dynamic Aspects of Biochemistry*. Cambridge U. P., New York, 1953.
53. Castell C. H., Snow J. M., *J. Fisheries Research Board Can.*, **8**, 195 (1951).
54. Schmidt G., Liss M., Thannhauser S. J., *Biochim. et Biophys. Acta*, **16**, 533 (1955).
55. Kornberg H. L., Davies R. E., *Physiol. Revs.*, **35**, 169 (1955).
56. Folin O., Denis W., *J. Biol. Chem.*, **11**, 161 (1912).
57. Parnas J. K., Klisiecki A., *Biochem. Z.*, **173**, 224 (1926).
58. Bessman S. P., *Symposium on Inorganic Nitrogen Metabolism* (McElroy and Glass, eds.) page 408. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1956.
59. Conway E. J., Cooke R., *Biochem. J.*, **33**, 479 (1937).
60. Parnas J. K., *Biochem. Z.*, **239**, 18 (1931).
61. Kirk J. S., Sumner J. B., *J. Biol. Chem.*, **94**, 21 (1931); *J. Immunol.*, **26**, 495 (1934).
62. Meister A., *Physiol. Revs.*, **36**, 103 (1956).
63. Schwerin P., Bessman S. P., Waelsch H., *J. Biol. Chem.*, **184**, 37 (1950).
64. Bessman S. P., Magnes J., Schwerin P., Waelsch H., *J. Biol. Chem.*, **175**, 817 (1948).

65. Van Slyke D. D., Phillips R. A., Hamilton P. B., Archibald R. M., Futcher P. H., Hiller A., *J. Biol. Chem.*, **150**, 481 (1943).
66. Lotspeich W. D., Pitts R. F., *J. Biol. Chem.*, **168**, 611 (1947).
67. Kamin H., Handler P., *J. Biol. Chem.*, **193**, 783 (1951).
68. Davies B. M. A., Yudkin J., *Nature*, **167**, 117 (1951).
69. Davies B. M. A., Yudkin J., *Biochem. J.*, **52**, 407 (1952).
70. White H. L., Rolf D., *Am. J. Physiol.*, **169**, 174 (1952).
71. Berenbom M., White J., *J. Biol. Chem.*, **182**, 5 (1950).
72. Arnstein H. R. V., *Advances in Protein Chem.*, **9**, 2 (1954).
73. Schoenheimer R., *The Dynamic State of Body Constituents*. Harvard U. P., Cambridge, Massachusetts, 1949.
74. Ratner S., Rittenberg D., Keston A. S., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **134**, 665 (1940).
75. Shemin D., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **153**, 401 (1944).
76. Wu H., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **179**, 847 (1949).
77. Foster G. L., Schoenheimer R., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **127**, 319 (1939).
78. Rittenberg D., Schoenheimer R., Keston A. S., *J. Biol. Chem.*, **128**, 603 (1939).
79. Schoenheimer R., Ratner S., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **127**, 333 (1939).
80. Schoenheimer R., Ratner S., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **130**, 703 (1939).
81. Folin O., *Am. J. Physiol.*, **13**, 66, 117 (1905).
82. Borsook H., Keighley G., *Proc. Roy. Soc.*, **B118**, 488 (1935).
83. Weissmann N., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **140**, 779 (1941).
84. Ratner S., Weissmann N., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **147**, 549 (1943).
85. Elliott D. F., Neuberger A., *Biochem. J.*, **46**, 207 (1950).
86. Vickery H. B., Pucher G. W., Schoenheimer R., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **135**, 531 (1940).
87. Meneghini M., Delwiche C. C., *J. Biol. Chem.*, **189**, 177 (1951).
88. Luck J. M., Morrison G., Wilbur L. F., *J. Biol. Chem.*, **77**, 151 (1928).
89. Crismon C. A., Harvey R. V., Luck J. M., *Am. J. Physiol.*, **130**, 171 (1940).
90. Li C. H., Geschwind I., Evans H. M., *J. Biol. Chem.*, **177**, 91 (1949).
91. Luck J. M., Griffin A. C., Baer G., Wilson M., *J. Biol. Chem.*, **206**, 767 (1954).
92. Davis B. L., jr., Luck J. M., *Am. J. Physiol.*, **117**, 542 (1936).
93. Griffin C., Luck J. M., Kulakoff V., Mills M., *J. Biol. Chem.*, **209**, 387 (1954).
94. Russell J. A., *Federation Proc.*, **14**, 696 (1955).
95. Кнох В. Е., Аuerbach V. H., *J. Biol. Chem.*, **214**, 307 (1955).
96. Ефимочкина Е. Ф., *Биохимия*, **19** (1), 68 (1954).
97. Rose W. C., Johnson J. E., Haines W. J., *J. Biol. Chem.*, **145**, 679 (1942).
98. Butts J. S., Sinnhuber R. O., *J. Biol. Chem.*, **139**, 963 (1941).
99. Schofield F. A., Lewis H. B., *J. Biol. Chem.*, **169**, 373 (1947).
100. Butts J. S., Blunden H., Dunn M. S., *J. Biol. Chem.*, **124**, 709 (1938).
101. Ringer A. I., Lusk G., *Z. physiol. Chem.*, **66**, 106 (1910).
102. Hall W. K., Doty J. R., Eaton A. G., *Am. J. Physiol.*, **131**, 252 (1940); **129**, 572 (1940).
103. Butts J. S., Sinnhuber R. O., *J. Biol. Chem.*, **140**, 597 (1941).
104. Dakin H. D., *J. Biol. Chem.*, **13**, 513 (1912); **14**, 321 (1913).

105. Remmert L. F., Butts J. S., *J. Biol. Chem.*, **144**, 41 (1942).
106. Featherstone R. M., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **146**, 131 (1942).
107. Butts J. S., Blunden H., Dunn M. S., *J. Biol. Chem.*, **120**, 289 (1937).
108. Vars H. M., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **31**, 129 (1933).
109. Miller L. L., Burke W. T., Haft D. E., *Federation Proc.*, **14**, 707 (1955).
110. Neubauer O., *Deut. Arch. klin. Med.*, **95**, 211 (1909).
111. Knoop F., *Z. physiol. Chem.*, **67**, 489 (1910).
112. Krebs H. A., *Klin. Wochschr.*, **11**, 1744 (1932).
113. Krebs H. A., *Z. physiol. Chem.*, **217**, 191 (1933).
114. Krebs H. A., *Biochem. J.*, **29**, 1620 (1935).
115. Warburg O., Christian W., *Biochem. Z.*, **296**, 294 (1938); **298**, 150 (1938).
116. Straub F. B., *Nature*, **141**, 603 (1938); **143**, 76 (1938).
117. Straub F. B., *Biochem. J.*, **33**, 787 (1939).
118. Blanchard M., Green D. E., Nocito V., Ratner S., *J. Biol. Chem.*, **155**, 421 (1944); **161**, 583 (1945).
119. Singer T. P., Kearney E. B., *Arch. Biochem.*, **27**, 348 (1950); **29**, 190 (1950).
120. Keilin D., Hartree E. F., *Proc. Roy. Soc.*, **B119**, 114 (1936).
121. Negelein E., Brömel H., *Biochem. Z.*, **300**, 225 (1939).
122. Krebs H. A., *Biochem. Soc. Symposia, Cambridge, Engl. No. 1* (1948).
123. Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Otey M. C., *J. Biol. Chem.*, **204**, 307 (1953).
124. Bender A. E., Krebs H. A., *Biochem. J.*, **46**, 210 (1950).
125. Blaschko H., Hawkins J., *Biochem. J.*, **52**, 306 (1952).
126. Neuberger A., Sanger F., *Biochem. J.*, **38**, 119 (1944).
127. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **206**, 577 (1954).
128. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **195**, 813 (1952).
129. Meister A., *Nature*, **168**, 1119 (1951).
130. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **190**, 269 (1951).
131. Bender A. E., Krebs H. A., Horowitz N. H., *Biochem. J.*, **45**, xxi (1949).
132. Frieden E., Hsu L. T., Dittmer K., *J. Biol. Chem.*, **192**, 425 (1950).
133. Brabanca B. M., Quastel J. H., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **40**, 130 (1952).
134. Handler P., Bernheim F., Klein J. R., *J. Biol. Chem.*, **138**, 203 (1941).
135. Shemin D., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **151**, 507 (1943).
136. Waelsch H., Miller H. K., *J. Biol. Chem.*, **145**, 1 (1942).
137. Gaudry R., Martel F., *Compt. rend.*, **148**, 472 (1954).
138. Horowitz N. H., *J. Biol. Chem.*, **154**, 141 (1944).
139. Emerson R. L., Puziss M., Knight S. G., *Arch. Biochem.*, **25**, 299 (1950).
140. Bernheim F., Bernheim M. L. C., Webster M. D., *J. Biol. Chem.*, **110**, 165 (1935).
141. Webster M. D., Bernheim F., *J. Biol. Chem.*, **114**, 265 (1936).
142. Still J. L., Buell M. V., Knox W. E., Green D. E., *J. Biol. Chem.*, **179**, 831 (1949).
143. Still J. L., Sperling E., *J. Biol. Chem.*, **182**, 585 (1950).
144. Blaschko H., Himms J. M., *J. Physiol. (London)*, **128**, 7P (1955).
145. Zeller E. A., Maritz A., *Helv. Chim. Acta*, **27**, 1888 (1944); **28**, 365 (1945).
146. Zeller E. A., Maritz A., Iselin B., *Helv. Chim. Acta*, **28**, 1615 (1945).

147. Zeller E. A., *Advances in Enzymol.*, **8**, 459 (1948).
148. Fones W. S., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **136**, 486 (1952).
149. Work E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 410 (1955).
150. Thayer P. S., Horowitz N. H., *J. Biol. Chem.*, **192**, 755 (1951).
151. Burton K., *Biochem. J.*, **50**, 258 (1951).
152. Knight S. G., *J. Bacteriol.*, **55**, 401 (1948).
153. Stumpf P. K., Green D. E., *J. Biol. Chem.*, **153**, 387 (1944).
154. Otani T. T., Meister A., *J. Biol. Chem.*, **224**, 137 (1957).
155. Euler H., von Adler E., Steennoff-Erickson T., *Z. physiol. Chem.*, **248**, 227 (1937).
156. Damodaran M., Nair K. R., *Biochem. J.*, **32**, 1064 (1938).
157. Berger J., Avery G. S., jr., *Am. J. Botany*, **30**, 290 (1943); **31**, 11 (1944).
158. Euler H., von Adler E., Günther G., Das N. B., *Z. physiol. Chem.*, **254**, 61 (1938).
159. Dewan J. G., *Biochem. J.*, **32**, 1378 (1938); **33**, 549 (1939).
160. Adler E., Hellström V., Günther G., Euler H., von, *Z. physiol. Chem.*, **255**, 14 (1938).
161. Adler E., Günther G., Everett J. E., *Z. physiol. Chem.*, **255**, 27 (1938).
162. Mehler A. H., Kornberg A., Grisolia S., Ochoa S., *J. Biol. Chem.*, **174**, 961 (1948).
163. Copenhagen J. H., jr., McShan W. H., Meyer R. K., *J. Biol. Chem.*, **183**, 73 (1950).
164. Strecker H. J., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **32**, 448 (1951); **46**, 128 (1953).
165. Olson J. A., Anfinsen C. B., *J. Biol. Chem.*, **197**, 67 (1952); **202**, 841 (1953).
166. Vallee B. L., Adelstein S. J., Olson J. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 5196 (1955).
167. Ratner S., Nocito V., Green D. E., *J. Biol. Chem.*, **152**, 119 (1944).
168. Zeller E. A., "The Enzymes" (Sumner and Myrbäck, eds.), vol. I, pt. 1, p. 536. Academic Press, New York, 1951.
169. Blaschko H., *Pharmacol. Revs.*, **4**, 415 (1952).
170. Blaschko H., *Brit. Med. Bull.*, **9**, 146 (1953).
171. Hawkins J., *Biochem. J.*, **50**, 577 (1952).
172. Kohn J. I., *Biochem. J.*, **31**, 1693 (1937).
173. Blaschko H., Richter D., Schlossman H., *J. Physiol. (London)*, **90**, 1 (1937).
174. Pugh C. E. M., Quastel J. H., *Biochem. J.*, **31**, 2306 (1937).
175. Alles G. A., Hugaard E. V., *J. Biol. Chem.*, **147**, 487 (1943).
176. Blaschko H., Duthie R., *Biochem. J.*, **39**, 478 (1945).
177. Tabor C. W., Tabor H., Rosenthal S. M., *J. Biol. Chem.*, **208**, 654 (1954).
178. Schayer R. W., Wu K. Y. T., Smiley R. L., Kobayashi Y., *J. Biol. Chem.*, **210**, 259 (1954).
179. Zeller E. A., *Helv. Chim. Acta*, **21**, 880 (1938).
180. Zeller E. A., *Advances in Enzymol.*, **2**, 93 (1942).
181. Cotzias G. C., Dole V. P., *J. Biol. Chem.*, **196**, 235 (1952).
182. Tabor H., *J. Biol. Chem.*, **188**, 125 (1951).
183. Suzuki T., Hagihara F., *J. Pharm. Soc. Japan*, **74** (5), 546 (1954).
184. Mann P. J. G., Smithies W. R., *Biochem. J.*, **61**, 89 (1955).
185. Stickland L. H., *Biochem. J.*, **28**, 1746 (1934); **29**, 288, 889, 896 (1935).
186. Woods D. D., Trim A. R., *Biochem. J.*, **30**, 1934 (1936).
187. Nisman B., *Bacteriol. Revs.*, **18**, 16 (1954).

188. Mamelak R., Quastel J. H., *Biochim. et Biophys. Acta*, **12**, 103 (1953).
189. Hoogerheide J. C., Kocholaty W., *Biochem. J.*, **32**, 949 (1938).
190. Clifton C. E., *J. Bacteriol.*, **39**, 485 (1940).
191. Nisman B., Vinet G., *Ann. Inst. Pasteur*, **77**, 277 (1949).
192. Ellinger A., *Ber.*, **31**, 3183 (1808); *Z. physiol. Chem.*, **29**, 334 (1900).
193. Barger W., Walpole G. S., *J. Physiol. (London)*, **38**, 343 (1909).
194. Ackermann D., *Z. physiol. Chem.*, **56**, 305 (1908); **65**, 273 (1910).
195. Hanke M. T., Koessler K. K., *J. Biol. Chem.*, **39**, 539 (1919); **50**, 131 (1922); **59**, 835, 855, 867 (1924).
196. Werle E., *Z. Vitamin-Hormon- u. Fermentforsch.*, **1**, 504 (1947—1948).
197. Gale E. F., *Advances in Enzymol.*, **6**, 1 (1946).
198. Blaschko H., *Advances in Enzymol.*, **5**, 67 (1945).
199. Schales O., in "The Enzymes" (Sumner and Myrbäck, eds.), vol. II, pt. 1, p. 216. Academic Press, New York, 1951.
200. Werle E., *Biochem. Z.*, **288**, 292 (1936).
201. Werle E., Heitzer K., *Biochem. Z.*, **299**, 420 (1938).
202. Werle E., *Biochem. Z.*, **304**, 201 (1940).
203. Holtz P., Janisch H., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exptl. Pathol. Pharmacol.*, **186**, 684 (1937).
204. Holtz P., *Z. physiol. Chem.*, **251**, 226 (1938).
205. Werle E., Menniken G., *Biochem. Z.*, **291**, 325 (1937).
206. Holtz P., Heise R., Lüdtke K., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exptl. Pathol. Pharmacol.*, **191**, 87 (1938).
207. Holtz P., Credner K., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exptl. Pathol. Pharmacol.*, **199**, 145 (1942).
208. Green D. E., Leloir L. F., Nocito V., *J. Biol. Chem.*, **161**, 559 (1945).
209. Blaschko H., *Biochim. et Biophys. Acta*, **4**, 130 (1950).
210. Udenfriend S., Clark C. T., Titus E., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 501 (1953).
211. Clark C. T., Weissbach H., Udenfriend S., *J. Biol. Chem.*, **210**, 139 (1954).
212. Blaschko H., *Biochem. J.*, **36**, 571 (1942).
213. Bernheim F., Bernheim M. L. G., *J. Biol. Chem.*, **127**, 695 (1939).
214. Wingo W. J., Awapara J., *J. Biol. Chem.*, **187**, 267 (1950).
215. Roberts E., Frankel S., *J. Biol. Chem.*, **188**, 789 (1951); **190**, 505 (1951).
216. Nord F. F., *Biochem. Z.*, **95**, 281 (1919).
217. Okunuki K., *Botan. Mag. (Tokyo)*, **51**, 270 (1937).
218. Schales O., Mimms V., Schales S. S., *Arch. Biochem.*, **10**, 455 (1946).
219. Schales O., Schales S. S., *Arch. Biochem.*, **11**, 155 (1946).
220. Fowden L., Done J., *Biochem. J.*, **55**, 548 (1953).
221. Fowden L., *J. Exptl. Botany*, **5**, 28 (1954).
222. Gale E. F., *Biochem. J.*, **34**, 392 (1940).
223. Epps H. M. R., *Biochem. J.*, **38**, 242 (1944).
224. Gale E. F., *Biochem. J.*, **34**, 846, 853 (1940).
225. Taylor E. S., Gale E. F., *Biochem. J.*, **39**, 52 (1945).
226. Gale E. F., Epps H. M. R., *Biochem. J.*, **38**, 232 (1944).
227. Gale E. F., *Biochem. J.*, **35**, 66 (1941).
228. Udenfriend S., Cooper J., *J. Biol. Chem.*, **203**, 953 (1953).
229. McGilvery R. W., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **174**, 813 (1948).
230. Linstedt S., *Acta Chem. Scand.*, **5**, 486 (1951).
231. Umbreit W. W., Heneage P., *J. Biol. Chem.*, **201**, 15 (1953).
232. Virtanen A. I., Hiitala P. K., *Acta Chem. Scand.*, **9**, 549 (1955).

233. Virtanen A. I., Laine T., *Enzymologia*, **3**, 266 (1937).
234. Virtanen A. I., Rintola P., Laine T., *Nature*, **142**, 674 (1938).
235. Billen D., Lichstein H. C., *J. Bacteriol.*, **58**, 215 (1949).
236. Davis W. E., Lichstein H. C., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **73**, 216 (1950).
237. Meister A., Sober H. A., Tice S. V., *J. Biol. Chem.*, **189**, 577, 591 (1951).
238. Мардашев С. Р., Семина Л. А., Этинггоф Р. Н., Балясная А. И., *Биохимия*, **14** (1), 44 (1949).
239. Dewey D. L., Work E., *Nature*, **169**, 533 (1952).
240. Hoare D. S., Work E., 3rd Intern. Congr. Biochem. Brussels, p. 4—65, 1955.
241. Denman R. F., Hoare D. S., Work E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **16**, 442 (1955).
242. Dewey D. L., Hoare D. S., Work E., *Biochem. J.*, **58**, 523 (1954).
243. Hirai K., *J. Biochem. (Japan)*, **29**, 435 (1939).
244. Hanke M. E., Siddiqi M. S. H., *Federation Proc.*, **9**, 181 (1950).
245. Koppelman R., Mandeles S., Hanke M. E., *Federation Proc.*, **11**, 242 (1952).
246. Mandeles S., Koppelman R., Hanke M. E., *J. Biol. Chem.*, **209**, 327 (1954).
247. Guggenheim M., "Die Biogenen Amine." Karger, Basel, Switzerland, 1951.
248. King H. K., *Biochem. J.*, **54**, xi (1953).
249. Herbst R. M., *Advances in Enzymol.*, **4**, 75 (1946).
250. Herbst R. M., Engel L. L., *J. Biol. Chem.*, **107**, 505 (1934).
251. Браунштейн А. Е., Крицман М. Г., *Энзимология*, **2**, 129 (1937).
252. Needham D. M., *Biochem. J.*, **24**, 208 (1930).
253. Banga I., Szent-Györgyi A., *Z. physiol. Chem.*, **245**, 118 (1937).
254. Annau E., Banga I., Blazso A., Bruckner V., Laki K., Straub F. B., Szent-Györgyi A., *Z. physiol. Chem.*, **244**, 105 (1936).
255. Cohen P. P., in "Symposium on Respiratory Enzymes", p. 210. Univ. Wisconsin Press, Madison, Wisconsin, 1942.
256. Cohen P. P., *Biochem. J.*, **33**, 1478 (1939).
257. Браунштейн А. Е., *Advances in Protein Chem.*, **3**, 1 (1947).
258. O'Kane D. O., Gunsalus I. C., *J. Biol. Chem.*, **170**, 433 (1947).
259. Sallach H. J., *Federation Proc.*, **15**, 344 (1956).
260. Cohen P. P., in "The Enzymes" (Sumner and Myrbäck, eds.), vol. I, pt. 1, p. 1040. Academic Press, New York, 1951.
261. Canzanelli A., Guild R., Harington C. R., *Biochem. J.*, **29**, 1617 (1935).
262. Sammarata P. S., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **193**, 53 (1951).
263. O'Kane D. O., Gunsalus I. C., *J. Biol. Chem.*, **170**, 425 (1947).
264. Schlenk F., Fisher A., *Arch. Biochem.*, **12**, 60 (1947).
265. Lenard P., Straub F. B., *Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged*, **2**, 59 (1942).
266. Kearney E. B., Singer T. P., *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 276 (1953).
267. Singer T. P., Kearney E. B., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 558. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
268. Meister A., *Advances in Enzymol.*, **16**, 185 (1955).
269. Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **136**, 565 (1940).
270. Крицман М. Г., Самарина О. П., *ДПН СССР*, **63**, 171 (1948).
271. Sammarata P. S., Cohen P. P., *Biochim. et Biophys. Acta*, **10**, 117 (1953).
272. Rudman D., Meister A., *J. Biol. Chem.*, **200**, 591 (1953).

273. Ames B. N., Horecker V. L., *J. Biol. Chem.*, **220**, 113 (1956).
274. Браунштейн А. Е., *Энзимология*, **7**, 25 (1939).
275. Roine P., *Ann. Acad. Sci. Fennicae Ser., A, II*, No. **26** (1947).
276. Rautanen N., *Ann. Acad. Sci. Fennicae Ser., A, II*, No. **33** (1948).
277. Sammarata P. S., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **187**, 439 (1950).
278. Awapara J., Seale B., *J. Biol. Chem.*, **194**, 497 (1952).
279. Feldman L. I., Gunsalus I. C., *J. Biol. Chem.*, **187**, 821 (1950).
280. Wilson D. G., King K. W., Burris R. H., *J. Biol. Chem.*, **208**, 863 (1954).
281. Virtanen A. I., Laine T., *Biochem. Z.*, **308**, 213 (1941).
282. Meister A., Tice S. V., *J. Biol. Chem.*, **187**, 173 (1950).
283. Meister A., Fraser P. E., Tice S. V., *J. Biol. Chem.*, **206**, 561 (1954).
284. Meister A., *Science*, **120**, 43 (1954).
285. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **210**, 17 (1954).
286. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **200**, 571 (1953).
287. Meister A., Levintow L., Greenfield R. E., Abendschein P. A., *J. Biol. Chem.*, **215**, 441 (1955).
288. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **206**, 587 (1954).
289. Meister A., Sober H. A., Tice S. V., Fraser P. E., *J. Biol. Chem.*, **197**, 319 (1952).
290. Meister A., Fraser P. E., *J. Biol. Chem.*, **210**, 37 (1954).
291. Nakada H. I., Weinhouse S., *J. Biol. Chem.*, **204**, 831 (1953).
292. Campbell L. L., jr., *J. Bacteriol.*, **71**, 81 (1956).
293. Cavallini D., DeMarco C., *Atti Acad. natl. Lincei Rend. Classe Sci. fis. mat. e nat.* [8], **9** (6), 374 (1950).
294. Оленичева Л. С., *Биохимия*, **20**, 165 (1955).
295. Altenberg R. A., Housewright R. D., *J. Biol. Chem.*, **204**, 159 (1953).
296. Rowsell E. V., *Nature*, **168**, 104 (1951).
297. Sallach H. J., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 782. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
298. Мардашев С. Р., Семина Л. А., *ДАН СССР*, **74**, 537 (1950).
299. Metzler D. E., Olivard J., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 644 (1954).
300. Quastel J. H., Witty R., *Nature*, **167**, 556 (1951).
301. Fincham J. R. S., *Biochem. J.*, **53**, 313 (1953).
302. Vogel H. J., Davis B. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 109 (1952).
303. Vogel H. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **39**, 578 (1953).
304. Vogel H. J., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 335. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
305. Bessman S. P., Rossen J., Layne E. C., *J. Biol. Chem.*, **201**, 385 (1953).
306. Miettinen J. K., Virtanen A. I., *Acta Chem. Scand.*, **7**, 1243 (1953).
307. Roberts E., Bregoff H. M., *J. Biol. Chem.*, **201**, 393 (1953).
308. Roberts E., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **48**, 395 (1954).
309. Suda M., Kamahora T., Hagihira H., *Med. J. Osaka Univ.* **5**, 119 (1954).
310. Meister A., *Ann. Rev. Biochem.*, **25**, 29 (1956).
311. Thorne C. B., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 41. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
312. Molnar D. M., Thorne C. B., *Bacteriol. Proc.* p. 123 (1955).
313. Thorne C. B., Gomez C. B., Housewright R. D., *J. Bacteriol.*, **69**, 357 (1955).
314. Thorne C. B., Molnar D. M., *J. Bacteriol.*, **70**, 420 (1955).
315. Hird F. J. R., Rowsell E. V., *Nature*, **166**, 517 (1950).

316. Ames B. N., Mitchell H. K., *J. Biol. Chem.*, **212**, 687 (1955).
317. Ames B. N., Mitchell H. K., Mitchell M. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1015 (1953).
318. Tanenbaum S. W., *J. Biol. Chem.*, **218**, 733 (1956).
319. Adelberg E. A., Umbarger H. E., *J. Biol. Chem.*, **205**, 475 (1953).
320. Fincham J. R. S., Boulter A. B., *Biochem. J.*, **62**, 72 (1956).
321. Wood J. L., Cooley S. L., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **85**, 409 (1954).
322. Agren G., *Acta Physiol. Scand.*, **1**, 233 (1940).
323. Albaum H. G., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **149**, 19 (1943).
324. Cohen P. P., Hekhuis G. L., *Cancer Research*, **1**, 620 (1941).
325. Linderstt ϕ m-Lang K., *Ann. Rev. Biochem.*, **8**, 37 (1939).
326. Smith V. B., Williams H. H., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **31**, 366 (1951).
327. Bartlett P. D., Glynn M., *J. Biol. Chem.*, **187**, 253 (1950).
328. Beaton G. H., Ozawa G., Beaton J. R., McHenry E. W., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **83**, 781 (1953).
329. Eischeid A. M., Kochakian C. D., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **85**, 339 (1954).
330. Awapara J., *J. Biol. Chem.*, **200**, 537 (1953).
331. Браунштейн А. Е., Бычков С. М., *Nature*, **144**, 751 (1939).
332. Браунштейн А. Е., Азарх Р. М., *J. Biol. Chem.*, **157**, 421 (1945).
333. Cedrangolo F., *Atti Giorn. Biochem. Italo-Franco-Elvetiche* p. 3, April 21—24, 1954.
334. Синицына А. Л., *БИОХИМИЯ*, **19**, 80 (1954).
335. Fincham J. R. S., *J. Gen. Microbiol.*, **11**, 236 (1954).
336. Fowler E. B., Werkman C. H., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **41**, 42 (1952).
337. Wiss O., *Helv. Chim. Acta*, **31**, 1189 (1948).
338. Kritsmann M. G., *J. Biol. Chem.*, **167**, 77 (1947).
339. Marr A. G., Olsen C. B., Unger H. S., Wilson J. B., *J. Bacteriol.*, **66**, 606 (1953).
340. Darling S., *Nature*, **170**, 749 (1952).
341. Miller I. L., Tsuchida M., Adelberg E. A., *J. Biol. Chem.*, **203**, 205 (1953).
342. Dalgliesh C. E., Knox W. E., Neuberger A., *Nature*, **168**, 20 (1951).
343. Mason M., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **195**, 515 (1952).
344. Wiss O., *Z. Naturforsch.*, **7b**, 133 (1952).
345. Ohashi I., Nakai T., Matsuda K., Uchida M., *Symposia on Enzyme Chem. (Japan)*, **9**, 84 (1954), *Chem. Abstr.*, **49**, 13316 (1955).
346. Wiss O., *Z. physiol. Chem.*, **293**, 106 (1953).
347. Mason M., *J. Biol. Chem.*, **211**, 839 (1954).
348. Mason M., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **188**, 783 (1951).
349. Hayaishi O., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 914. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
350. Makino K., Takahashi H., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 6193 (1954).
351. Rothstein M., Miller L. L., *J. Biol. Chem.*, **211**, 851 (1954).
352. Tong W., Taurog A., Chaikoff I. L., *J. Biol. Chem.*, **207**, 59 (1954).
353. Done J., Fowden L., *Biochem. J.*, **51**, 451 (1952).
354. Zacharius R. M., Pollard J. K., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1961 (1954).
355. Towers G. H. N., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1959 (1954).
356. Webb J. A., Fowden L., *Biochem. J.*, **61**, 1 (1955).
357. Fowden L., Done J., *Nature*, **171**, 1068 (1953).
358. Gunsalus C. F., Tonzetich J., *Nature*, **170**, 162 (1952).
359. Schein A. H., Brown E. M., *Federation Proc.*, **14**, 276 (1955).

360. Мардашев С. Р., Павлова Н. А., ДАН СССР, **101**, 135 (1955); Chem. Abstr., **49**, 11039h (1955).
361. Herbst R. M., Shemin D., J. Biol. Chem., **147**, 541 (1943).
362. Maas W. K., Vogel H. J., J. Bacteriol., **65**, 388 (1953).
363. Holden J. T., Furman C., Snell E. E., J. Biol. Chem., **178**, 789 (1949).
364. Holden J. T., Snell E. E., J. Biol. Chem., **178**, 799 (1949).
365. Snell E. E., J. Biol. Chem., **158**, 497 (1945).
366. Wood W. A., Gunsalus I. C., J. Biol. Chem., **190**, 403 (1951).
367. Stewart B. T., Halvorson H. O., Arch. Biochem. and Biophys., **49**, 168 (1954).
368. Olivard J., Snell E. E., J. Biol. Chem., **213**, 203 (1955).
369. Umbreit W. W., Waddell J. W., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **70**, 293 (1949).
370. Ayengar P., Roberts E., J. Biol. Chem., **197**, 453 (1952).
371. Narrod S. A., Wood W. A., Arch. Biochem. and Biophys., **35**, 462 (1952).
372. Dunn M. S., Camien M. N., Shankman S., Block H., J. Biol. Chem., **168**, 43 (1947).
373. Camien M. N., Dunn M. S., J. Biol. Chem., **179**, 935 (1949).
374. Ayengar P., Roberts E., Ramasarma G. B., J. Biol. Chem., **193**, 781 (1951).
375. Kallio R. E., Larson A. D., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 616. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
376. Shockman G. D., Toennies G., Arch. Biochem. and Biophys., **50**, 9 (1954).
377. Shockman G. D., Toennies G., Arch. Biochem. and Biophys., **50**, 1 (1954).
378. Toennies G., Shockman G. D., Arch. Biochem. and Biophys., **45**, 447 (1953).
379. Work E., Biochem. J., **49**, 17 (1951).
380. Work E., Dewey D. L., J. Gen. Microbiol., **9**, 394 (1953).
381. Powell J. F., Strange R. E., Biochem. J., **54**, 205 (1953).
382. Hoare D. S., Work E., Biochem. J., **60**, ii (1955).
383. Bellamy W. D., Gunsalus I. C., J. Bacteriol., **50**, 95 (1945).
384. Amos H., J. Am. Chem. Soc., **76**, 3858 (1954).
385. György P., Nature, **133**, 498 (1934).
386. Snell E. E., J. Biol. Chem., **154**, 313 (1944).
387. Snell E. E., J. Am. Chem. Soc., **67**, 194 (1945).
388. Ames S. R., Sarma P. S., Elvehjem C. A., J. Biol. Chem., **167**, 135 (1947).
389. Lichstein H. C., Gunsalus I. C., Umbreit W. W., J. Biol. Chem., **161**, 311 (1945).
390. Schlenk F., Snell E. E., J. Biol. Chem., **157**, 425 (1945).
391. Bellamy W. D., Gunsalus I. C., J. Bacteriol., **46**, 573 (1943); **48**, 191 (1944).
392. Gale E. F., Epps H. M. R., Biochem. J., **38**, 250 (1944).
393. Gunsalus I. C., Bellamy W. D., Umbreit W. W., J. Biol. Chem., **155**, 685 (1944).
394. Gunsalus I. C., Bellamy W. D., J. Bacteriol., **47**, 413 (1944).
395. Gunsalus I. C., Bellamy W. D., J. Biol. Chem., **155**, 35, 557 (1944).
396. Umbreit W. W., Bellamy W. D., Gunsalus I. C., Arch. Biochem., **7**, 185 (1945).
397. Schlenk F., Fisher A., Arch. Biochem., **8**, 337 (1945).
398. Holden J. T., Wildman R. B., Snell E. E., J. Biol. Chem., **191**, 559 (1951).

399. Brin M., Olson R. E., Stare F. J., *J. Biol. Chem.*, **210**, 435 (1954).
400. Dietrich L. S., Shapiro D. M., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **84**, 555 (1953).
401. Beaton J. R., Beare J. L., White J. M., McHenry E. W., *J. Biol. Chem.*, **200**, 715 (1953).
402. Meister A., Morris H. P., Tice S. V., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **82**, 301 (1953).
403. Schwartzman G., Hitt H., *J. Nutrition*, **10**, 575 (1956).
404. Meister A., Downey P. F., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **91**, 49 (1956).
405. Lichstein H. C., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **88**, 519 (1955).
406. Yoneda M., Asano N., *Science*, **117**, 277 (1953).
407. Yoneda M., Kato N., Okajuna M., *Nature*, **170**, 803 (1952).
408. Biehl J. P., Vilter R. W., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **85**, 389 (1954).
409. Chatagner F., Bergeret B., Fromageot C., *Ann. Acad. Sci. Fennicae Ser. A. II*, No. **60**, 393 (1955).
410. Karrer P., Viscontini M., *Helv. Chim. Acta*, **30**, 52 (1947).
411. Umbreit W. W., Gunsalus I. C., *J. Biol. Chem.*, **179**, 279 (1949).
412. Heyl D., Luz E., Harris S. A., Folkers K., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 3430, 3436 (1951).
413. Wilson A. N., Harris S. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 4693 (1951).
414. Baddiley J., Mathias A. P., *J. Chem. Soc.*, p. 2583 (1952).
415. Viscontini M., Ebnöther C., Karrer P., *Helv. Chim. Acta*, **34**, 1834, 2199 (1951).
416. Viscontini M., Karrer P., *Helv. Chim. Acta*, **35**, 1924 (1952).
417. Peterson E. A., Sober H. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 169 (1954).
418. Peterson E. A., Sober H. A., Meister A., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 570 (1952); in "Biochemical Preparations" (Snell, ed.), vol. III, p. 29, 34. Wiley, New York, 1953.
419. Ikawa M., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 637 (1954).
420. Ikawa M., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 653 (1954).
421. Umbreit W. W., O'Kane D. J., Gunsalus I. C., *J. Biol. Chem.*, **176**, 629 (1948).
422. Meister A., Sober H. A., Peterson E. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2385 (1952); *J. Biol. Chem.*, **206**, 89 (1954).
423. Hurwitz J., *J. Biol. Chem.*, **205**, 935 (1953).
424. Roberts E., Frankel S., *J. Biol. Chem.*, **190**, 505 (1951).
425. Binkley F., Christensen G. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 3535 (1951).
426. Umbreit W. W., Waddell J. W., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **70**, 293 (1949).
427. Hurwitz J., *Biochim. et Biophys. Acta*, **9**, 496 (1952).
428. Hurwitz J., *J. Biol. Chem.*, **217**, 513 (1955).
429. Olivard J., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **213**, 215 (1955).
430. Rabinowitz J. C., Snell E. E., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **43**, 399, 408 (1953).
431. Rabinowitz J. C., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 998 (1953).
432. Snell E. E., Rabinowitz J. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 3432 (1948).
433. Snell E. E., Rannefeld A. N., *J. Biol. Chem.*, **157**, 475 (1945).
434. Sandman R., Snell E. E., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **90**, 63 (1955).
435. Metzler D. E., Ikawa M., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 648 (1954).
436. Metzler D. E., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 979 (1952).
437. Snell E. E., *Physiol. Revs.*, **33**, 509 (1953).
438. Eichhorn G. L., Dawes J. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5663 (1954).

439. Fasella P., Siliprandi N., Baglioni C., 3rd Intern. Congr. Biochem. Brussels, p. 5—41, 1955.
440. Hilton M. A., Barnes F. W., jr., Henry S. S., Enns T., J. Biol. Chem., **209**, 743 (1954).
441. Коникова А. С., Добберт Н. Н., Браунштейн А. Е., Nature, **159**, 67 (1947).
442. Осипенко Г. Д., ДАН СССР, **75** (1), 91 (1950).
443. Sprinsohn D. B., Rittenberg D., Nature, **167**, 484 (1951).
444. Peyser P., Ph. D. Dissertation, Columbia University, New York, 1954.
445. Sprinsohn D. B., Rittenberg D., J. Biol. Chem., **184**, 405 (1950).
446. Grisolia S., Burris R. H., J. Biol. Chem., **210**, 109 (1954).
447. Nisonoff A., Barnes F. W., jr., Enns T., Von Schuching S., Bull. Johns Hopkins Hosp., **94**, 117 (1954).
448. Nisonoff A., Barnes F. W., jr., Enns T., J. Biol. Chem., **204**, 957 (1953).
449. Браунштейн А. Е., Шемякин М. М., Биохимия, **18**, 393 (1953).
450. Hanke M. E., Summaria L. J., Mandeles S., Abstracts, American Chemical Society, 124th Meeting, Chicago, Illinois, p. 55C, 1953.
451. Mandeles S., Hanke M. E., Abstracts, American Chemical Society 124th Meeting, Chicago, Illinois, p. 55C, 1953.
452. Rodwell A. W., J. Gen. Microbiol., **8**, 223 (1953).
453. Guirard B. M., Snell E. E., J. Am. Chem. Soc., **76**, 4745 (1954).
454. Beare J. L., Beaton J. R., McHenry E. W., J. Biol. Chem., **202**, 589 (1953).
455. Beaton J. R., Beare J. L., Beaton G. H., McHenry E. W., J. Biol. Chem., **204**, 715 (1953).
456. Beaton J. R., Smith F. I., McHenry E. W., J. Biol. Chem., **201**, 587 (1953).
457. Caldwell E. F., McHenry E. W., Arch. Biochem. and Biophys., **45**, 97 (1953).
458. Beaton J. R., Goodwin M. E., J. Biol. Chem., **212**, 195 (1955).
459. Beaton J. R., Ozawa G., J. Biol. Chem., **214**, 685 (1955).
460. Schulman M. P., Richert D. A., J. Am. Chem. Soc., **77**, 6402 (1955).
461. Bergmann M., Fruton J. S., Advances in Enzymol., **1**, 63 (1941).
462. Bergmann M., Advances in Enzymol., **2**, 49 (1942).
463. Fruton J. S., Bergmann M., J. Biol. Chem., **127**, 627 (1939).
464. Northrop J. H., Kunitz M., Herriott R. M., in "Crystalline Enzymes" (Northrop, ed.), Columbia U. P., New York, 1948.
465. Neurath H., Schwert G. W., Chem. Revs., **46**, 69 (1950).
466. Smith E. L., Advances in Enzymol., **12**, 191 (1951).
467. Smith E. L., in "The Enzymes" (Sumner and Myrbäck, eds.), vol. 1, pt. 2, p. 793. Academic Press, New York, 1951.
468. Green N. M., Neurath H., in "The Proteins" (Neurath and Bailey, eds.), vol. II, pt. B., p. 1057. Academic Press, New York, 1954.
469. Borsook H., in "Chemical Pathways of Metabolism" (Greenberg, ed.), vol. II, p. 173. Academic Press, New York, 1954.
470. Borsook H., Dubnoff J. W., J. Biol. Chem., **132**, 307 (1940).
471. Dobry A., Fruton J. S., Sturtevant J. M., J. Biol. Chem., **195**, 149 (1952).
472. Linderström-Lang K., Stanford Univ. Publ. Univ. Ser. Med. Sci., **6**, 93 (1953).
473. Bergmann M., Fraenkel-Conrat H., J. Biol. Chem., **124**, 1 (1938).
474. Bergmann M., Fruton J. S., J. Biol. Chem., **124**, 321 (1938).
475. Bergmann M., Behrens O. K., J. Biol. Chem., **124**, 7 (1938).
476. Waldschmidt-Leitz E., Kuhn K., Z. physiol. Chem., **285**, 22 (1950).

477. Bergmann M., Fraenkel-Conrat H., *J. Biol. Chem.*, **119**, 707 (1937).
478. Wasteneys J., Borsook H., *Physiol. Revs.*, **10**, 110 (1930).
479. Borsook H., *Physiol. Revs.*, **30**, 206 (1950).
480. Salter W. T., Pearson C. M., *J. Biol. Chem.*, **112**, 579 (1936).
481. Virtanen A. I., Kerkkonen H. K., *Acta Chem. Scand.*, **1**, 40 (1947); **3**, 520 (1949).
482. Tauber H. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2952 (1949); **73**, 1288, 4965 (1951).
483. Fruton J. S., *Yale J. Biol. and Med.*, **22**, 263 (1950).
484. Johnston R. B., Mycek M. J., Fruton J. S., *J. Biol. Chem.*, **185**, 629 (1950).
485. Johnston R. B., Mycek M. J., Fruton J. S., *J. Biol. Chem.*, **187**, 205 (1950).
486. Fruton J. S., Johnston R. B., Fried M., *J. Biol. Chem.*, **190**, 39 (1951).
487. Durell J., Fruton J. S., *J. Biol. Chem.*, **207**, 487 (1954).
488. Jones M. E., Hearn W. R., Fried M., Fruton J. S., *J. Biol. Chem.*, **195**, 645 (1952).
489. Axelrod B., *J. Biol. Chem.*, **172**, 1 (1948).
490. Hehre E. J., *J. Biol. Chem.*, **177**, 267 (1949).
491. Waelsch H., *Advances in Enzymol.*, **13**, 237 (1952).
492. Hanes C. S., Hird F. J. R., Isherwood F. A., *Nature*, **166**, 288 (1950); *Biochem. J.*, **51**, 25 (1952).
493. Blau K., Waley S. G., *Biochem. J.*, **57**, 538 (1954).
494. Waley S. G., Watson J., *Biochem. J.*, **57**, 529 (1954).
495. Kaufman S., Neurath H., *Arch. Biochem.*, **21**, 245 (1949).
496. Kaufman S., Neurath H., *Arch. Biochem.*, **21**, 437 (1949).
497. Kaufman S., Neurath H., Schwert G. W., *J. Biol. Chem.*, **177**, 793 (1949).
498. Schwert G. W., Neurath H., Kaufman S., Snoke J. E., *J. Biol. Chem.*, **172**, 221 (1948).
499. Brenner M., Müller H. R., Pfister R. W., *Helv. Chim. Acta*, **33**, 568 (1950).
500. Brenner M., Sailer E., Rufenacht K., *Helv. Chim. Acta*, **34**, 2096 (1951).
501. Kinoshita J. H., Ball E. G., *J. Biol. Chem.*, **200**, 609 (1953).
502. Hird F. J. R., Springell P. H., *Biochem. J.*, **56**, 417 (1954); *Biochim. et Biophys. Acta*, **15**, 31 (1954).
503. Sachs H., Brand E., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1815 (1954).
504. Kovacs J., Medzihradsky K., Bruckner V., *Naturwissenschaften*, **41**, 450 (1954).
505. Hendler R. W., Greenberg D. M., *Biochem. J.*, **57**, 641 (1954).
506. Williams W. J., Thorne C. B., *J. Biol. Chem.*, **210**, 203 (1954).
507. Williams W. J., Thorne C. B., *J. Biol. Chem.*, **211**, 631 (1954).
508. Williams W. J., Litwin J., Thorne C. B., *J. Biol. Chem.*, **212**, 427 (1955).
509. Borsook H., Dubnoff J. W., *J. Biol. Chem.*, **132**, 307 (1940).
510. Cohen P. P., McGilvery R. W., *J. Biol. Chem.*, **166**, 261 (1946).
511. Cohen P. P., McGilvery R. W., *Biol. Chem.*, **169**, 119 (1947); **171**, 121 (1947).
512. Leuthardt F., Nielsen H., *Helv. Chim. Acta*, **34**, 1618 (1951).
513. Borsook H., Dubnoff J. W., *J. Biol. Chem.*, **163**, 397 (1947).
514. Kielley R. K., Schneider W. C., *J. Biol. Chem.*, **185**, 869 (1950).
515. Chantrenne H., *J. Biol. Chem.*, **189**, 227 (1951).
516. Schachter D., Taggart J. V., *J. Biol. Chem.*, **203**, 925 (1953); **208**, 263; **211**, 271 (1954).

517. McGilvery R. W., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **183**, 179 (1952).
518. Jaffe M., *Ber.*, **12**, 1092 (1879).
519. Baumann E., Schmitz P., *Z. physiol. Chem.*, **20**, 586 (1895).
520. Stekol J. A., *J. Biol. Chem.*, **122**, 333 (1938).
521. Stekol J. A., *J. Biol. Chem.*, **124**, 129 (1938).
522. Stekol J. A., *J. Biol. Chem.*, **138**, 225 (1941).
523. Sherwin C. P., *J. Biol. Chem.*, **31**, 307 (1917).
524. Sherwin C. P., Wolf M., Wolf W., *J. Biol. Chem.*, **37**, 113 (1919).
525. Shiple G. J., Sherwin C. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **44**, 618 (1922); **53**, 463 (1922).
526. Thierfelder H., Sherwin C. P., *Ber.*, **47**, 2630 (1914).
527. Stadtman E. R., Katz J., Barker H. A., *J. Biol. Chem.*, **195**, 779 (1952).
528. Katz J., Lieberman I., Barker H. A., *J. Biol. Chem.*, **200**, 431 (1953).
529. Браунштейн А. Е., Шамшикова Г. А., Иоффе А. Л., *Биохимия*, **13**, 95 (1948).
530. Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **179**, 1245 (1949).
531. Johnston R. B., Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **188**, 221 (1951).
532. Yanari S., Snoko J. E., Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **201**, 561 (1953).
533. Snoko J. E., Bloch K., in "Glutathione. A Symposium" (Colowick et al., eds.), p. 129. Academic Press, New York, 1954.
534. Snoko J. E., *J. Biol. Chem.*, **213**, 813 (1955).
535. Snoko J. E., Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **213**, 825 (1955).
536. Mandeles S., Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **214**, 639 (1955).
537. Samuels P. J., *Biochem. J.*, **55**, 441 (1953).
538. Webster G. C., Varner J. E., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **55**, 22 (1955).
539. Webster G. C., Varner J. E., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **52**, 22 (1954).
540. Krebs H. A., *Biochem. J.*, **29**, 1951 (1935).
541. Örstrom A., Örstrom M., Krebs H. A., Eggleston L. V., *Biochem. J.*, **33**, 995 (1939).
542. Bujard E., Leuthardt F., *Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta*, **5**, C39 (1947).
543. Speck J. F., *J. Biol. Chem.*, **168**, 403 (1947).
544. Speck J. F., *J. Biol. Chem.*, **179**, 1387, 1405 (1949).
545. Elliott W. H., *Nature*, **161**, 128 (1948).
546. Elliott W. H., *Biochem. J.*, **49**, 106 (1951).
547. Elliott W. H., *J. Biol. Chem.*, **201**, 661 (1953).
548. Fry B. A., *Biochem. J.*, **59**, 579 (1955).
549. Levintow L., *J. Natl. Cancer Inst.*, **15**, 347 (1954).
550. Reiner J. M., Hudson P. B., *J. Urol.*, **70**, 627 (1953).
551. Rudnick D., Mela P., Waelsch H., *J. Exptl. Zool.*, **126**, 297 (1954).
552. Denes G., *Experienta*, **9**, 24 (1953).
553. Denes G., *Biochim. et Biophys. Acta*, **15**, 296 (1954).
554. Denes G., *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **6**, 201 (1954).
555. Denes G., Gazka Z., *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **4**, 1 (1953); *Chem. Abstr.*, **47**, 6994a (1953).
556. Webster G. C., *Plant Physiol.*, **28**, 724 (1953).
557. Levintow L., Meister A., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 3039 (1953).
558. Braganca B. M., Quastel J. H., Schucher R., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **41**, 478 (1952).
559. Lichtenstein N., Ross H. E., Cohen P. P., *Nature*, **171**, 45 (1953); *J. Biol. Chem.*, **201**, 117 (1953).

560. Levintow L., Meister A., Kuff E. L., Hogeboom G. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 5304 (1955).
561. Levintow L., Meister A., *J. Biol. Chem.*, **209**, 265 (1954).
562. Lipmann F., *Advances in Enzymol.*, **1**, 99 (1941).
563. Oesper P., in "Phosphorus Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), vol. I, p. 523. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1951.
564. Burton K., Krebs H. A., *Biochem. J.*, **54**, 94 (1953); *Biochem. J.*, **59**, 44 (1955).
565. Podolsky R. G., Morales M. F., *J. Biol. Chem.*, **218**, 945 (1956).
566. Wurmser R., *Ann. Rev. Biochem.*, **20**, 1 (1951).
567. Levintow L., Meister A., *Federation Proc.*, **15**, 299 (1956).
568. Webster G. C., Varner J. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 633 (1954).
569. Staehelin M., Leuthardt F., *Helv. Chim. Acta*, **38**, 184 (1955).
570. Boyer P. D., Abstracts, American Chemical Society Meeting, Cincinnati, Ohio, 1955.
571. Kowalsky A., Wyttenbach C., Langer L., Koshland D. E., jr., Abstracts, American Chemical Society Meeting, Cincinnati, Ohio, 1955.
572. Boyer P. D., Каеппе O. J., Luchsinger W. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 356 (1956).
573. Мардашев С. Р., Лестровая Н. Н., *ДАН СССР*, **78**, 547 (1951).
574. Webster G. C., Varner J. E., *J. Biol. Chem.*, **215**, 91 (1955).
575. Williams H. M., Krehl W. A., *J. Biol. Chem.*, **196**, 443 (1952).
576. Martignoni P., Winnick T., *J. Biol. Chem.*, **208**, 251 (1954).
577. Stevens C. M., Vohra P., DeLong C. W., *J. Biol. Chem.*, **211**, 297 (1954).
578. Arnstein H. R. V., Grant P. T., *Biochem. J.*, **57**, 353, 360 (1954).
579. Behrens O. K., in "Chemistry of Penicillin" (Clarke, ed.), p. 657. Princeton U. P., Princeton, New Jersey, 1949.
580. Stevens C. M., Vohra P., Inamine E., Roholt O. A., jr., *J. Biol. Chem.*, **205**, 1001 (1953).
581. Stevens C. M., Vohra P., Moore J. E., DeLong C. W., *J. Biol. Chem.*, **210**, 713 (1954).
582. Tarver H., in "The Proteins" (Neurath and Bailey, eds.), vol. II, pt. B, p. 1199. Academic Press, New York, 1954.
583. Tarver H., in "Amino Acids and Proteins" (Greenberg, ed.), p. 769. C. C. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.
584. Bidinost L. E., *J. Biol. Chem.*, **190**, 423 (1951).
585. Neuberger A., Perrone J. C., Slack H. G. B., *Biochem. J.*, **49**, 199 (1951).
586. Neuberger A., Slack H. G. B., *Biochem. J.*, **53**, 47 (1953).
587. Robertson W. V. B., *J. Biol. Chem.*, **197**, 495 (1952).
588. Dziejwiatkowski D., *J. Biol. Chem.*, **189**, 187, 717 (1951).
589. Boström H., *J. Biol. Chem.*, **196**, 477, 483 (1952).
590. Madden S. C., Whipple G. H., *Physiol. Revs.*, **20**, 194, (1940).
591. Whipple G. H., Madden S. C., *Medicine*, **23**, 215 (1944).
592. Abdou I. A., Tarver H., *J. Biol. Chem.*, **190**, 769, 781 (1951).
593. Solomon G., Tarver H., *J. Biol. Chem.*, **195**, 447 (1952).
594. Steinbock H. L., Tarver H., *J. Biol. Chem.*, **209**, 127 (1954).
595. Campbell P. N., Work T. S., *Biochem. J.*, **52**, 217 (1952).
596. Barry J. M., *J. Biol. Chem.*, **195**, 795 (1952).
597. Anfinsen C. B., Steinberg D., *J. Biol. Chem.*, **189**, 739 (1951).
598. Steinberg D., Anfinsen C. B., *J. Biol. Chem.*, **199**, 25 (1952).
599. Schoenheimer R., Ratner S., Rittenberg D., Heidelberger M., *J. Biol. Chem.*, **144**, 545, 555 (1942).
600. Cohn M., Monod J., 5th Intern. Congr. Microbiol. Rept. Proc. 5th Congr. Rome, 1953.

601. Hogness D. S., Cohn M., Monod J., *Biochim. et Biophys. Acta*, **16**, 99 (1955).
602. Rotman B., Spiegelman S., *J. Bacteriol.*, **68**, 419 (1954).
603. Koch A. L., Levy R. H., *J. Biol. Chem.*, **217**, 947 (1955).
604. Shemin D., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **166**, 621 (1946).
605. Shemin D., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **166**, 627 (1946).
606. Bale W. F., Yiule C. L., de la Vergne L., Miller L. L., Whipple G. H., *J. Exptl. Med.*, **90**, 315 (1949).
607. Hawkins W. B., Whipple G. H., *Am. J. Physiol.*, **122**, 418 (1938).
608. Simpson M. V., Velick S. F., *J. Biol. Chem.*, **208**, 61 (1954).
609. Zamecnik P. C., Frantz I. D., jr., *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **14**, 199 (1949).
610. Borsook H., *Physiol. Revs.*, **30**, 206 (1950).
611. Borsook H., *Advances in Protein Chem.*, **8**, 128 (1953).
612. Greenberg D. M., Friedberg F., Schulman M. P., Winnick T., *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **13**, 113 (1948).
613. Tarver H., *Ann. Rev. Biochem.*, **21**, 301 (1952).
614. Peterson E. A., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **194**, 359 (1952).
615. Winnick T., *Arch. Biochem.*, **28**, 338 (1950).
616. Winnick T., Peterson E. A., Greenberg D. M., *Arch. Biochem.*, **21**, 235 (1949).
617. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **196**, 669 (1952).
618. Zamecnik P. C., Keller E. B., *J. Biol. Chem.*, **209**, 337 (1954).
619. Melchior J. B., Tarver H., *Arch. Biochem.*, **12**, 301 (1947).
620. Canellakis E. S., Tarver H., *Arch. Biochem.*, **42**, 387 (1953).
621. Simpson M. V., Tarver H., *Arch. Biochem.*, **25**, 384 (1950).
622. Brunish R., Luck J. M., *J. Biol. Chem.*, **197**, 869 (1952).
623. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **179**, 689 (1949); **184**, 529 (1950).
624. Schweet R., Borsook H., *Federation Proc.*, **12**, 266 (1953); **14**, 277 (1955).
625. Gross D., Tarver H., *J. Biol. Chem.*, **217**, 169 (1955).
626. Rabinovitz M., Olson M. E., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **210**, 837 (1954).
627. Baker R. S., Johnson J. E., Fox S. W., *Federation Proc.*, **13**, 178 (1954).
628. Winnick T., *Arch. Biochem.*, **27**, 65 (1950).
629. Peterson E. A., Winnick T., Greenberg D. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 503 (1951).
630. Kit S., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **194**, 377 (1952).
631. Rabinovitz M., Olson M. E., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **213**, 1 (1955).
632. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **186**, 297 (1950); **196**, 669 (1952).
633. Hoagland M. B., *Biochim. et Biophys. Acta*, **16**, 288 (1955).
634. Hoagland M. B., Keller E. B., Zamecnik P. C., *J. Biol. Chem.*, **218**, 345 (1956).
635. De Moss J. A., Novelli G. D., *Biochim. et Biophys. Acta*, **18**, 592 (1955).
636. Hultin T., *Exptl. Cell Research*, **1**, 376 (1950).
637. Siekevitz P., *J. Biol. Chem.*, **195**, 549 (1952).
638. Ziegler D. M., Melchior J. B., *J. Biol. Chem.*, **217**, 569 (1955).
639. Simpson M. V., McLean J. R., *Biochim. et Biophys. Acta*, **18**, 573 (1955).

640. Borsook H., Abrams A., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **215**, 111 (1955).
641. Brachet J., Chantrenne H., *Nature*, **168**, 950 (1951).
642. Grunberg-Manago M., Ortiz P. J., Ochoa S., *Science*, **122**, 907 (1955).
643. Gale E. F., 3rd Intern. Congr. Biochem. Brussels, 1955.
644. Halvorson H. O., Fry W., Schwemmin D., *J. Gen. Physiol.*, **38**, 549 (1955).
645. Spiegelman S., Halvorson H. O., Ben-Ishai R., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 124. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
646. Hokin L. E., *Biochem. J.*, **48**, 320 (1951); **50**, 216 (1951).
647. Lofffield R. B., *Federation Proc.*, **14**, 246 (1955).
648. Dounce A. L., *Enzymologia*, **15**, 251 (1952).
649. Campbell P. N., Work T. S., *Nature*, **171**, 997 (1953).
650. Dalglish C. E., *Nature*, **171**, 1027 (1953).
651. Lardy H. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **38**, 1006 (1952).
652. Kihara H., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **212**, 83 (1955).
653. Hirsch M. L., Cohen G. N., *Biochem. J.*, **53**, 25 (1953).
654. Klungsøyr M., Sirny R. J., Elvehjem C. A., *J. Biol. Chem.*, **189**, 577 (1951).
655. Gale E. F., *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **26**, 225 (1945).
656. Miller H. K., Waelsch H., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **35**, 184 (1952).
657. Peters V. J., Snell E. E., *J. Bacteriol.*, **67**, 69 (1954).
658. Wright L. D., Skeggs H. R., *J. Bacteriol.*, **48**, 117 (1944).
659. Roine P., Gyllenberg H., Salakini V., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 161 (1954).
660. Krehl W. A., Fruton J. S., *J. Biol. Chem.*, **173**, 479 (1948).
661. Stokes J. L., Koditschek L. K., Rickes E. L., Wood T. R., *J. Biol. Chem.*, **178**, 93 (1949).
662. Kodicek E., Mistry S. P., *Biochem. J.*, **51**, 108 (1952).
663. Wright L. D., Fruton J. S., Valentik K. A., Skeggs H. R., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **74**, 687 (1950).
664. Anfinsen C. B., Flavin M., *Federation Proc.*, **12**, 170 (1953).
665. Muir H. M., Neuberger A., Perrone J. C., *Biochem. J.*, **52**, 87 (1952).
666. Askonas B. A., Campbell P. N., Work T. S., *Biochem. J.*, **58**, 326 (1954); **56**, iv (1954).
667. Steinberg D., Abstracts, American Chemical Society Meeting, New York, 1954.
668. Heimberg M., Velick S. F., *J. Biol. Chem.*, **208**, 725 (1954).
669. Tesar C., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **170**, 35 (1947).
670. Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **165**, 477 (1946).
671. Edson N. L., *Austral. J. of Sci.*, **9**, 102 (1946).
672. Edson N. L., Krebs H. A., Model A., *Biochem. J.*, **30**, 1380 (1936).
673. Örström A., Örström M., Krebs H. A., *Biochem. J.*, **33**, 990 (1939).
674. Buchanan J. M., Sonne J. C., Delluva A. M., *J. Biol. Chem.*, **173**, 81 (1948).
675. Shemin D., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **167**, 875 (1947).
676. Sonne J. C., Buchanan J. M., Delluva A. M., *J. Biol. Chem.*, **173**, 69 (1948).
677. Sonne J. C., Lin I., Buchanan J. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1516 (1953).
678. Schulman M. P., Sonne J. C., Buchanan J. M., *J. Biol. Chem.*, **196**, 499 (1952).

679. Greenberg G. R., *J. Biol. Chem.*, **190**, 611 (1951).
680. Goldthwait D. A., Peabody R. A., Greenberg G. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5258 (1954).
681. Greenberg G. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1458 (1954).
682. Greenberg G. R., *Federation Proc.*, **13**, 221 (1954).
683. Goldthwait D. A., Greenberg G. R., Peabody R. A., *Biochim. et Biophys. Acta*, **18**, 148 (1955).
684. Buchanan J. M., Schulman M. P., *J. Biol. Chem.*, **202**, 241 (1953).
685. Flaks J. G., Buchanan J. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2275 (1954).
686. Schulman M. P., Buchanan J. M., *Federation Proc.*, **10**, 244 (1951).
687. Hartman S. C., Levenberg B., Buchanan J. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 501 (1955).
688. Levenberg B., Hartman S. C., Buchanan J. M., *Federation Proc.*, **14**, 243 (1955).
689. Korn E. D., Remy C. N., Wasilejko H. C., Buchanan J. M., *J. Biol. Chem.*, **217**, 875 (1955).
690. Remy C. N., Remy W. T., Buchanan J. M., *J. Biol. Chem.*, **217**, 885 (1955).
691. Stetten M. R., Fox C. L., jr., *J. Biol. Chem.*, **161**, 333 (1945).
692. Shive W., Ackermann W. W., Gordon M., Getzendaner M. E., Eakin R. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 725 (1947).
693. Greenberg G. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 6307 (1952).
694. Greenberg G. R., *Federation Proc.*, **12**, 651 (1953).
695. Goldthwait D. A., Peabody R. A., Greenberg G. R., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 765. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
696. Christensen H. N., Riggs T. R., *J. Biol. Chem.*, **220**, 265 (1956).
697. Christensen H. N., Collins S., *J. Biol. Chem.*, **220**, 279 (1956).
698. Christensen H. N., Aspen A. J., Rice E. G., *J. Biol. Chem.*, **220**, 287 (1956).
699. Jedeikin L. A., Weinhouse S., *J. Biol. Chem.*, **213**, 271 (1955).
700. Wiame J. M., Piérard A., *Nature*, **176**, 1073 (1955).
701. Davison A. N., *Biochem. J.*, **63**, 25P (1956).
702. Tabor H., Rosenthal S. M., Tabor C. W., *Federation Proc.*, **15**, 367 (1956).
703. Shimura K., Nagayama H., Kikuchi A., *Nature*, **177**, 935 (1956).
704. Kilby B. A., Neville E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **19**, 389 (1956).
705. Longenecker J. B., Snell E. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **42**, 221 (1956).
706. Schulman M. P., Richert D. A., *Federation Proc.*, **15**, 349 (1956).
707. Varner J. E., Webster G. C., *Plant Physiol.*, **30**, 393 (1955).
708. Kowalsky A., Wyttenbach C., Langer L., Koshland D. E., jr., *J. Biol. Chem.*, **219**, 719 (1956).
709. Stevens C. M., DeLong C. W., Vohra P., Inamine E., *Federation Proc.*, **15**, 364 (1956).
710. Arnstein H. R. V., Grant P. T., *Bact. Rev.*, **20**, 133 (1956).
711. Moldave K., *J. Biol. Chem.*, **221**, 543 (1956).
712. Steinberg D., Vaughan M., *Federation Proc.*, **15**, 362 (1956).
713. Keller E. B., Zamecnik P. C., *J. Biol. Chem.*, **221**, 45 (1956).
714. Schweet R., *Federation Proc.*, **15**, 350 (1956).
715. Berg P., Newton G., *Federation Proc.*, **15**, 219 (1956).
716. Berg P., *J. Biol. Chem.*, **222**, 1025 (1956).
717. McLean J. R., Cohen G. L., Simpson M. V., *Federation Proc.*, **15**, 312 (1956).

718. Goldthwait D. A., Peabody R. A., Greenberg G. R., J. Biol. Chem., **221**, 555 (1956).
719. Goldthwait D. A., Peabody R. A., Greenberg G. R., J. Biol. Chem., **221**, 569 (1956).
720. Peabody R. A., Goldthwait D. A., Greenberg G. R., J. Biol. Chem., **221**, 1071 (1956).
721. Goldthwait D. A., J. Biol. Chem., **222**, 1051 (1956).
722. Sonne J. C., Lin I., Buchanan J. M., J. Biol. Chem., **220**, 369 (1956).
723. Levenberg B., Hartman S. C., Buchanan J. M., J. Biol. Chem., **220**, 379 (1956).

Глава IV

ПРОМЕЖУТОЧНЫЙ ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ

ВВЕДЕНИЕ

Познание процессов промежуточного обмена аминокислот явилось результатом множества разнообразных экспериментальных исследований и наблюдений. Работы в области физиологии и биохимии питания позволили получить важные данные, которые в конечном счете привели к выяснению ряда реакций обмена, а в двух случаях — к открытию и идентификации новых аминокислот (метионин и треонин). Применение мутантных штаммов микроорганизмов оказалось весьма эффективным способом исследования процессов обмена, и в частности тех процессов, с которыми связан биосинтез аминокислот. В культуре мутантов, у которых блокированы различные звенья биосинтеза, накапливаются промежуточные продукты, которые нередко удается обнаружить по их способности обеспечивать рост других мутантных штаммов. Наблюдения на людях, страдающих наследственными пороками обмена веществ, наряду с исследованиями обмена у микроорганизмов сыграли большую роль в выяснении нормальных путей обмена аминокислот. Ряд интересных сведений дали исследования с перфузией изолированных органов, со срезами тканей, гомогенатами и экстрактами тканей и очищенными ферментами. Широкое применение в изучении промежуточного обмена находят меченые соединения. Этот метод, часто используемый в сочетании с другими подходами, оказался путеводной нитью к отысканию и расшифровке многих реакций обмена.

Не приходится сомневаться в существовании видовых различий в обмене аминокислот; достаточно напомнить, что млекопитающие в отличие от многих микроорганизмов не синтезируют некоторые аминокислоты. Однако многие пути обмена почти идентичны у самых различных видов. Ввиду этого, например, данные, полученные в опытах с *Neurospora*, способствовали выяснению аналогичных явлений у животных; известны случаи, когда исследования шли в обратном порядке.

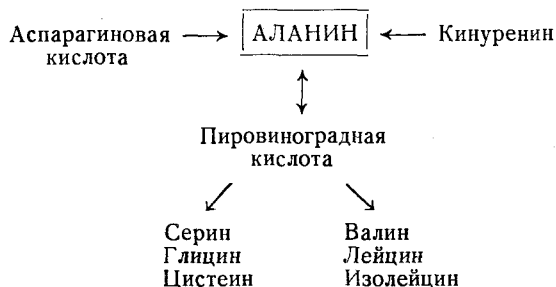
Пути синтеза и распада аминокислот бывают часто, но не всегда различными. В ряде случаев противопоставление «синтеза» и «катаболизма» носит произвольный характер, например при рассмотрении обмена аргинина, орнитина и цитруллина или глицина и серина. В нижеследующих разделах этой главы при рассмотрении обмена каждой аминокислоты реакции «синтеза» и «катаболизма» обсуждаются вместе. Такой порядок изложения представляет некоторые удобства, однако совершенно очевидно, что многие реакции обмена служат связующими звеньями между аминокислотами, обмену которых посвящены отдельные разделы.

Следует отметить, что усилия биохимиков были направлены прежде всего на изучение «главных в количественном отношении» путей превращения аминокислот. Это являлось естественным следствием ограниченной чувствительности применяемых методов. Такое положение дела приводит иногда к тому, что превращения, стоящие на первом месте в количественном отношении, отождествляются с превращениями, имеющими наибольшее значение в обмене веществ. Между тем, хотя внимание нередко привлекают те пути обмена, которые преобладают количественно, вполне очевидно, что некоторые превращения, второстепенные в количественном отношении, могут иметь большое и даже решающее физиологическое значение.

Количество данных, касающихся биосинтеза аминокислот, очень велико, но о ранних стадиях биосинтеза известно меньше, чем о более поздних. Современные представления о механизмах превращения газообразного азота в аммиак у растений изложены в специальной монографии [1]. Миллер [2] сделал очень интересную попытку подойти к решению проблемы первичного образования органических веществ на земле: он показал образование аминокислот (глицин, саркозин, DL-аланин, β -аланин, DL- α -аминомасляная кислота и α -аминоизомасляная кислота), а также других соединений (молочная, муравьиная и уксусная кислоты) в системе, содержащей метан, аммиак, водород и воду. Эту смесь, близкую к предполагаемому составу земной атмосферы на ранних стадиях ее образования, подвергали в течение недели и дольше воздействию электрических разрядов. Было найдено, что аминокислоты образуются путем гидролиза нитрилов; последние в свою очередь возникают в результате реакции между альдегидами и синильной кислотой, образующимися под действием электрических разрядов. Миллер высказал любопытное предположение о возможном синтезе первых живых организмов из аминокислот и других соединений, образовавшихся в результате взаимодействия между альдегидами, синильной кислотой и аммиаком в первичном океане.

АЛАНИН (фиг. 6)

Процессы обмена L-аланина обсуждаются во многих других разделах этой книги. Так, выше были рассмотрены обратимое образование L- и D-аланина из пирувата путем переаминирования (стр. 210) и процесс рацемизации аланина (стр. 240). Аланин может также образовываться из аспарагиновой кислоты путем β -декарбоксилирования (стр. 208) и из кинуренина под действием кинурениназы (стр. 401).



Фиг. 6. Сводная схема превращений аланина.

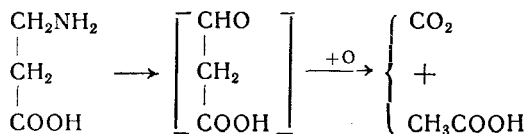
Оптические изомеры аланина дезаминируются соответствующими аминокислотными оксидазами (стр. 183). Образование аланина при ферментативном расщеплении цистеинсульфиновой кислоты (стр. 381) и при триптофаназной реакции (стр. 408) должно быть, вероятно, отнесено за счет реакции переаминирования с участием пировиноградной кислоты. Вместе с тем у некоторых организмов возможно образование аланина из пировиноградной кислоты путем прямого аминирования (стр. 191).

 β -АЛАНИН (фиг. 7)

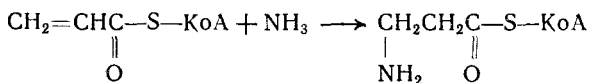
β -Аланин известен как продукт декарбоксилирования аспарагиновой кислоты (стр. 208) и как составная часть карнозина, ансерина (стр. 70), кофермента А и пантотеновой кислоты (стр. 79).

β -Аланин быстро дезаминируется *in vivo* и в препаратах различных тканей [3, 4]¹. Описано и переаминирование β -аланина

(стр. 227), но предполагаемый продукт реакции — полуальдегид малоновой кислоты — еще не идентифицирован. Имеется сообщение о том, что N-фосфопроизводное β-аланина подвергается быстрому обмену [4]. Пил и Фрицсон [5] приводят данные, согласно которым у крыс за дезаминированием β-аланина следует декарбоксилирование и образование ацетата:



Стедтмен [6] описал ферментативный синтез β-аланилкофермента А в препаратах *Clostridium propionicum* из акрилилкофермента А и аммиака:

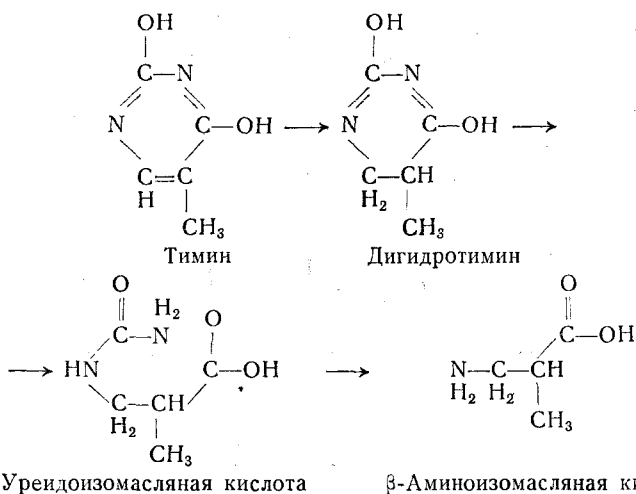


β-Аланилкофермент А является единственным известным в настоящее время тиоэфиром кофермента А и аминокислоты. Стедтмен предполагает, что это производное может играть роль в синтезе карнозина и ансерина.

β-Аминопропионитрил — аналог β-аланина — выделен из токсичного компонента семян *Lathyrus odoratus* (стр. 77). Другое соединение, близкое по структуре к β-аланину, — β-нитропропионовая кислота — вырабатывается одним из штаммов *Aspergillus flavus* [7].

Финк и сотрудники [8, 1073] нашли, что крысы после введения им дезоксирибонуклеиновой кислоты, дигидротимина или тимина выделяют с мочой β-аминоизомасляную кислоту. В дальнейшем было показано, что срезы печени крысы катализируют образование β-аминоизомасляной кислоты из дигидротимина, а также образование β-аланина из дигидроурацила. Последний выделен из селезенки быка [9].

¹ По данным С. Е. Северина и У Вэй-миня (Бюлл. эксп. биол. мед., 11, 4851 (1958)), диссимилиация β-аланина в печени и почках млекопитающих начинается с реакций переаминирования, в которых первичными акцепторами аминогрупп служат пировиноградная и, возможно, кетоглутаровая кислоты. — Прим. ред.

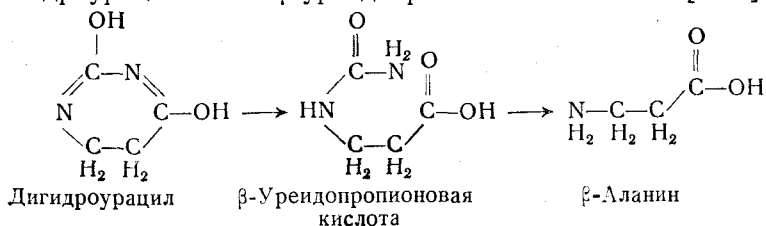


Методом хроматографии показано, что при инкубировании меченого тимина со срезами печени крысы образуются дигидротимин Кофермент А

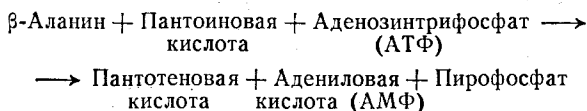


Фиг. 7. Сводная схема превращений β -аланина.

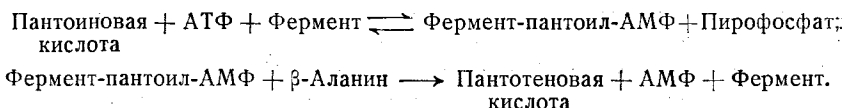
и β -уреидоизомасляная кислота. Полученный из печени крысы ферментный препарат катализирует образование β -аланина из дигидроурацила и из β -уреидопропионовой кислоты [1073]:



У *Escherichia coli* изучали синтез пантотеновой кислоты из пантоиновой кислоты и β -аланина. Реакция происходит следующим путем:



Предполагают, что в промежуточной реакции возникает связь между пантоильным остатком и адениловой кислотой ([445, 446, 1074]; см. также стр. 278):



Наличие промежуточной реакции с образованием смешанного ангидрида адениловой и пантоиновой кислот подтверждается наблюдениями, показывающими, что в процессе синтеза пантотеновой кислоты из O^{18} -пантоиновой кислоты меченый кислород переходит в фосфатную группу адениловой кислоты.

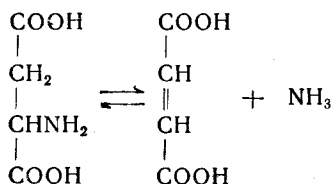
АСПАРАГИНОВАЯ КИСЛОТА И АСПАРАГИН (фиг. 8)

Обратимое превращение аспарагиновой кислоты в щавелевоуксусную было рассмотрено в гл. III. Процессу окисления углеродного остова аспарагиновой кислоты, наблюдаемому в опытах с тканевыми препаратами крысы [10], вероятно, предшествует переаминирование. Аспарагиновая кислота декарбоксилируется различными специфическими декарбоксилазами с образованием либо α -аланина, либо β -аланина (стр. 208). Были рассмотрены также роль аспарагиновой кислоты в образовании аргининоянтарной кислоты в процессе синтеза мочевины (стр. 339) и использование α -аминогруппы аспарагиновой кислоты в биосинтезе пуринов (стр. 283 и [11]). L- и D-изомеры аспарагиновой кислоты не дезаминируются со сколько-нибудь заметной скоростью под действием общих аминокислотных оксидаз. Однако L-аспарагин окисляется оксидазой змеиных ядов, а относительно специфичные оксидазы, найденные в почках животных различных видов, катализируют окисление D-аспарагиновой кислоты (стр. 187). Биосинтез аспарагина был рассмотрен в гл. III; этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении [12]. В организме животных, по-видимому, возможен синтез аспарагина. Имеются

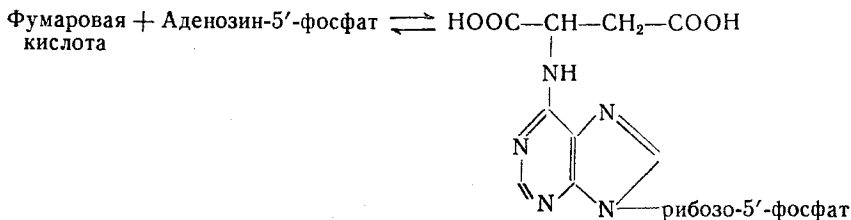
данные, показывающие, что в процессе всасывания из кишечника аспарагин гидролизуется (стр. 167). Ткани некоторых животных [13—21] и растений [22], а также микроорганизмы [23—26] обладают аспарагиназной активностью. Деаминация аспарагина в присутствии α -кетокислот («аспарагиназа II») происходит в результате переаминирования аспарагина с образованием амида α -кетоянтарной (щавелевоуксусной) кислоты, который гидролизуется специфической амидазой (стр. 223).

Синтез аспарагиновой кислоты у микроорганизмов, возможно, происходит в результате аминирования щавелевоуксусной кислоты (или в некоторых случаях в результате превращения фумаровой кислоты в аспарагиновую путем аспартазной реакции; см. ниже). Функция биотина в синтезе аспарагиновой кислоты связана, по-видимому, с процессом фиксации CO_2 при образовании щавелевоуксусной кислоты [27—33].

У некоторых микроорганизмов и высших растений [34—40] аспарагиновая кислота обратимо деаминируется ферментом аспартазой с образованием фумаровой кислоты:

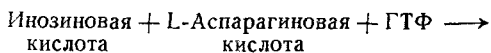


Аспартаза бактерий была очищена и обстоятельно изучена [39, 40]. Фермент содержит магний и одну тиоловую группу [40]. Любопытно, что в ранних исследованиях, посвященных аспартазе, Гейл [38] нашел, что она нуждается в адениловой кислоте в качестве кофермента. Недавно Картер и Коэн [41, 1075] выделили из дрожжей аденилоянтарную кислоту; препараты дрожжей катализируют обратимое образование этого соединения из фумаровой и адениловой кислот:



В дальнейшем Либерман [42] нашел у *Escherichia coli* ферментную систему, катализирующую образование аденилоянтарной

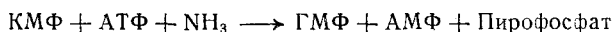
кислоты из инозиновой и аспарагиновой кислот; в реакции принимает участие гуанозинтрифосфат (ГТФ):



→ Аденилоянтарная кислота + ГДФ + Неорганический фосфат.

Эти исследования показали, что механизм введения азота α -аминогруппы аспарагиновой кислоты в положение 6 инозиновой кислоты связан с использованием гуанозинтрифосфата как источника энергии.

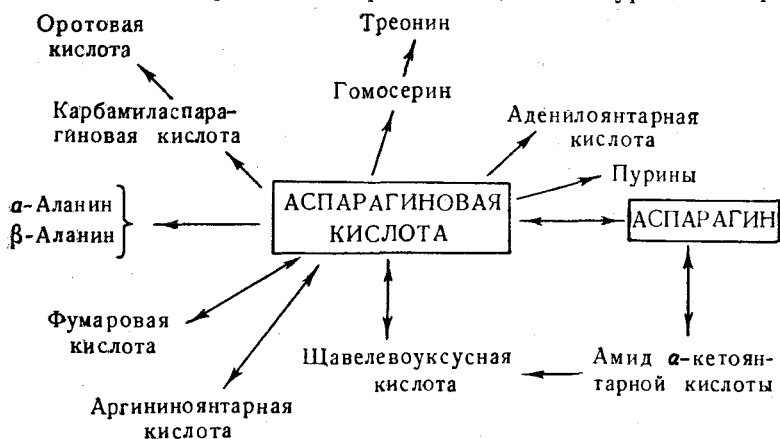
Абрамс и Бентли [43] доказали превращение инозиновой кислоты в тканях животных в ксантозин-5'-фосфат путем окисления при участии дифосфопиридиннуклеотида, а также аминирование ксантозин-5'-фосфата в гуанозин-5'-фосфат в присутствии L-глутаминовой кислоты или глутамина. Эти исследователи нашли также, что для аминирования инозиновой кислоты в адениловую кислоту необходимы аспарагиновая кислота и источник энергии; как теперь полагают, этим источником является гуанозинтрифосфат [42]. Мойэд и Магазаник [1076] описали ферментативное превращение ксантозин-5'-фосфата (КМФ) в гуанозин-5'-фосфат (ГМФ) под действием препаратов из *Aerobacter aerogenes*. В реакции участвуют аденозинтрифосфат (АТФ) и аммиак; продуктами ее являются адениловая кислота (АМФ) и неорганический пирофосфат.



В свежих неочищенных ферментных препаратах активными донаторами аммиака могут служить глутамин и глутаминовая кислота, тогда как препараты, подвергшиеся старению, утилизируют аммиак лучше, чем глутамин или глутаминовую кислоту. Между тем Бентли и Абрамс нашли, что в костном мозге кролика [1077] специфическим предшественником аминогруппы гуанозин-5'-фосфата является амидная группа глутамина. Аналогичная реакция катализируется экстрактами печени голубя [1078]. Судя по имеющимся данным, можно предполагать, что животные ткани утилизируют для образования гуанозин-5'-фосфата глутамин, тогда как у единственного изученного до сего времени бактериального вида *A. aerogenes* в этой реакции используется аммиак.

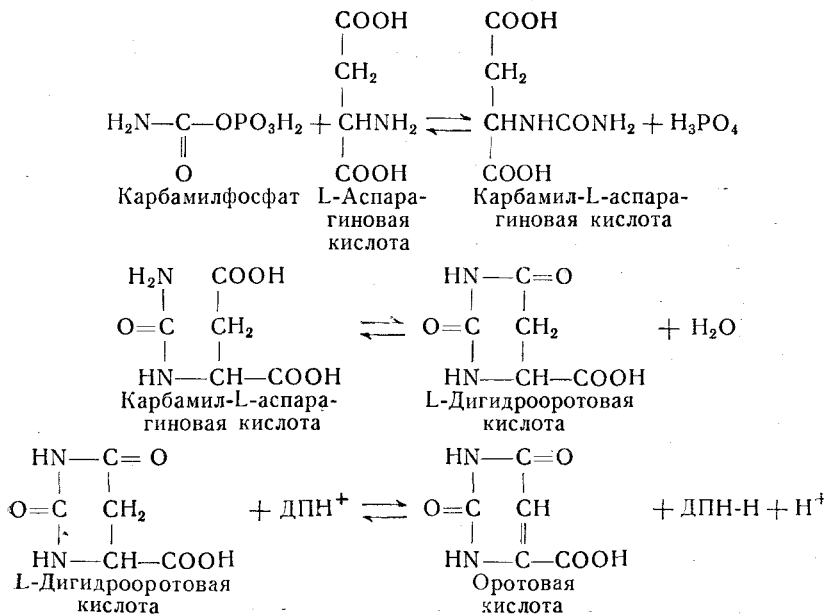
Аспарагиновая кислота является предшественником оротовой кислоты, а последняя — предшественником пиримидинов. При исследовании питания микроорганизмов установлена взаимосвязь между процессами обмена аспарагиновой кислоты и пиримидинов. Так, например, пиримидиновые основания могут проявлять сберегающее действие по отношению к аспарагиновой

кислоте [44]. Углерод аспарагиновой кислоты переходит в печени крысы в углерод пиримидинов [45]. Можно считать доказанным, что карбамиласпарагиновая, или уреидоантарная, кислота



Фиг. 8. Сводная схема превращений аспарагиновой кислоты и аспарагина.

кислота служит предшественником оротовой кислоты, образование которой можно представить следующим образом [46—50]:



Биосинтез пиримидинов могут обеспечивать также некоторые другие аминокислоты. Так, было найдено, что некоторые мутанты *Neurospora*, нуждающиеся в пиримидине, растут на средах, содержащих α -аминомасляную кислоту или треонин, в отсутствие аспарагиновой кислоты или других аминокислот [51].

ГЛУТАМИНОВАЯ КИСЛОТА И ГЛУТАМИН (фиг. 9)

Многие реакции обмена глутаминовой кислоты и глутамина рассматриваются в других разделах этой книги. К ним относятся: реакция с участием глутаматдегидрогеназы (стр. 190), окисление D-глутаминовой кислоты (стр. 187) и L-глутамина (стр. 188), декарбоксилирование L-глутаминовой кислоты (стр. 200), переаминирование D- и L-изомеров глутаминовой кислоты (стр. 215) и L-глутамина (стр. 217), реакции переноса γ -глутамильного остатка (стр. 176 и 268), взаимоотношения между глутаминовой кислотой, пролином, орнитином и аргинином (стр. 343), функции глутамина в синтезе пуринового ядра (стр. 283), синтез глутамина (стр. 269), реакция глутамина с фенилуксусной кислотой (стр. 421), роль глутамина в переносе и резервировании аммиака, а также в образовании аммиака мочи (стр. 174), значение глутамина как незаменимой аминокислоты для роста клеток млекопитающих в тканевой культуре (стр. 131). Глутаминовая кислота входит в состав витаминов группы фолевой кислоты, глутатиона и пептидов типа стрепогенина. Глутамин и глутаминовая кислота присутствуют в значительных количествах в различных белках (табл. 1). Количество глутамина в крови млекопитающих по сравнению с другими аминокислотами весьма значительно (табл. 3).

Недавно получены данные о роли глутамина в синтезе гиалуроновой кислоты у стрептококков [1079]. Найдено, что амидный азот глутамина может служить предшественником азота гистидина (стр. 390). Известно, далее, что некоторые растения накапливают наряду с аспарагином очень большие количества глутамина [52—59].

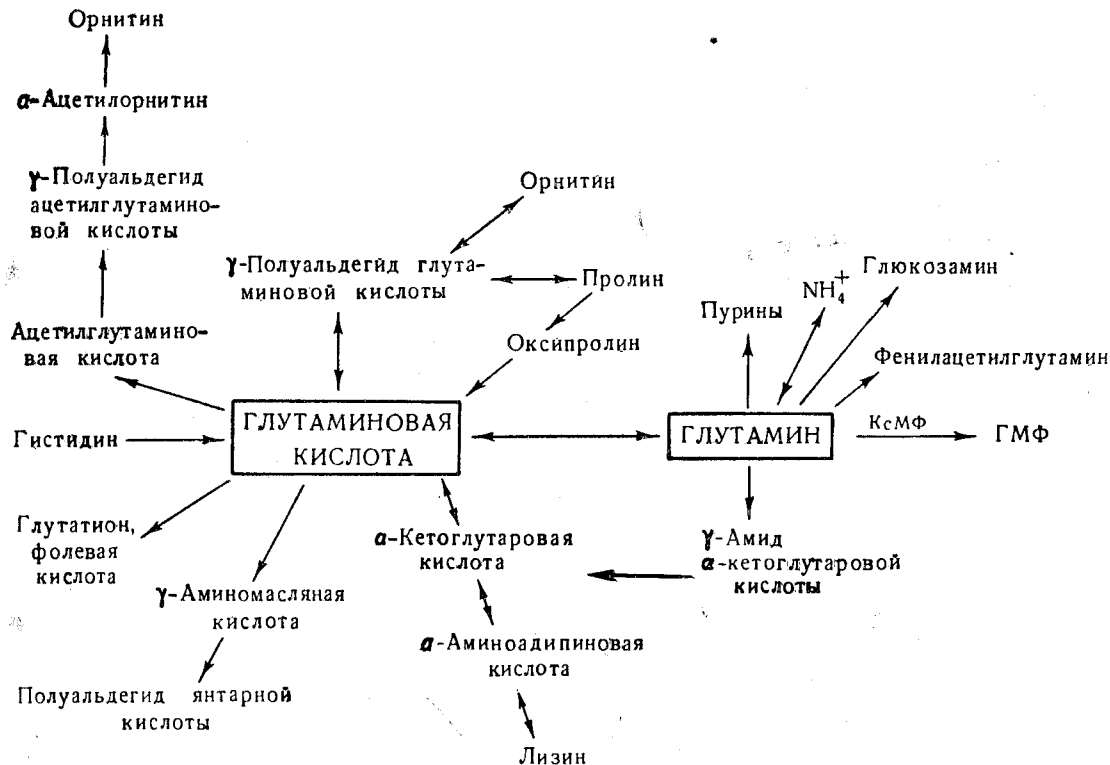
Синтез глутатиона обсуждался ранее (стр. 268). Глутатион может синтезироваться из глицина, цистеина и глутаминовой кислоты с участием аденозинтрифосфата, а также путем реакции переноса [60]. Глутатион является коферментом глиоксалазы [61] и участвует в превращении 3-фосфоглицеринового альдегида в 3-фосфоглицериновую кислоту [62, 67]. Недавно установлено, что глутатион играет роль активного регулятора в реакции захватывания пищи у гидры [63].

У микроорганизмов синтез глутаминовой кислоты происходит путем аминирования α -кетоглутаровой кислоты [64, 65, 68, 69]. Однако у *Clostridium kluyverii*, как установлено путем изотопных исследований, образование глутаминовой кислоты происходит другим путем, возможно — из пролина [66, 70].

Известно, что дезамидирование глутамината происходит при действии нескольких ферментных систем. В 1904 г. Ланг [71] наблюдал, что препараты некоторых животных тканей катализируют это превращение. Как сообщил позднее Кребс [72], экстракты мозга, сетчатки, печени и почек млекопитающих отщепляют амидную группу глутамината. Гринстайн и сотрудники [18, 73—77] открыли в животных тканях два типа процессов дезамидирования глутамината. Один из этих процессов ускоряется в присутствии фосфата и в меньшей степени арсената или сульфата («глутаминатаза I»), второй процесс катализируется α -кетокислотами («глутаминатаза II»). Последняя система связана с реакцией переаминирования (стр. 221). Механизм реакции, осуществляемой глутаминатозой I, неизвестен, хотя фосфат, бикарбонат и арсенат могут катализировать аналогичные ферментативные реакции с образованием пирролидонкарбоновой кислоты [78]. δ -Амид α -аминоадипиновой кислоты, α -метилглутамин и γ -метилглутамин дезамидируются ферментативным путем с такой же скоростью, как и глутамин, или несколько быстрее [79]. Однако очищенные препараты глутаминатазы на эти соединения [80] почти не действуют.

Глутаминатозной активностью обладают также растительные ткани [22, 81] и некоторые микроорганизмы [82—88]. Некоторые препараты глутаминатаз могут также осуществлять реакции переноса с участием гидроксилamina, приводящие к образованию γ -глутамилгидроксамовой кислоты и аммиака. Эти реакции протекают без добавления катионов и нуклеотидов и в этом отношении отличаются от реакций переноса γ -глутамила, протекающих при участии ферментов, синтезирующих глутамин (стр. 271). Вэлш и сотрудники [89, 90] нашли, что экстракты *Proteus vulgaris* катализируют обмен N^{15} -аммиака с амидными группами глутамината и аспарагина, а также образование γ -глутамилгидроксамовой и β -аспартилгидроксамовой кислот из гидроксилamina и ω -амидов α -аминокислот. Очевидно, гидроксилamin может заменять природный субстрат. Предполагают также, что реакции « ω -переноса» с участием глутамината могут играть роль при образовании α -пептидов [90, 91]; необходимо дальнейшее изучение этой проблемы.

О роли глутамината как незаменимого фактора роста для животных клеток в культурах ткани уже говорилось (стр. 131). Мак-Илвен и сотрудники [92, 93] впервые наблюдали, что глут-



Фиг. 9. Сводная схема превращений глутаминовой кислоты и глутамин.

амин необходим для оптимального роста различных микроорганизмов. Эти авторы отмечали, что рост *Streptococcus hemolyticus* значительно усиливается при добавлении к питательной среде экстракта из сердечной мышцы. Ростовой фактор был выделен и идентифицирован как глутамин [92]. В последующих работах было найдено, что другие микроорганизмы проявляют аналогичную потребность в глутамине для своего роста (см., например, [94, 105]).

Имеются данные, указывающие на участие глутамина в синтезе аргинина у *Lactobacillus arabinosus* [106]. В тканях млекопитающих глутамин, по-видимому, не используется непосредственно в синтезе аргинина (стр. 338), хотя можно считать установленным, что амидный азот глутамина в некоторых тканевых препаратах используется как предшественник азота мочевины [107, 1080]. Известно, что глутамин может, подобно содержащим его пептидам, повышать токсинообразование у *Clostridium tetani* [100]. Роль глутамина в стимулировании роста не ясна. В дополнение к перечню обменных и физиологических реакций глутамина, приведенному выше, можно добавить, что он стимулирует процесс гликолиза [108—110] и служит донатором азота при образовании глюкозамин-6-фосфата из гексозо-6-фосфата [111]. Учитывая многочисленные функции глутамина и его значение как составной части белка, можно себе представить, что в клетке, в которой отсутствует система, синтезирующая глутамин, последний может служить лимитирующим фактором для синтеза белка, подобно другим незаменимым аминокислотам.

Некоторые растения содержат значительные количества γ -метилленпроизводных глутаминовой кислоты и глутамина (стр. 47). Описаны процессы переаминирования γ -метилленглутаминовой кислоты и γ -метилленглутамина (стр. 238), а также декарбоксилирования γ -метилленглутаминовой кислоты с образованием α -метиллен- γ -аминомасляной кислоты (стр. 204). Фауден [112] нашел, что экстракты из тканей ростков арахиса дезамидируют γ -метилленглутамин. Глутамин дезамидируется этими тканевыми препаратами значительно медленнее. Обзор данных, касающихся обмена производных глутаминовой кислоты (включая описанную недавно γ -окси- γ -метилглутаминовую кислоту) у растений, опубликован Стюардом и Поллардом [113].

Установлено, что у крыс введение глутамина *per os* снижает добровольное потребление растворов спирта. Другие аминокислоты, исследованные в этом отношении, оказались неактивными. Механизм этого эффекта глутамина не ясен [1081].

ГЛИЦИН, СЕРИН И САРКОЗИН (фиг. 10)

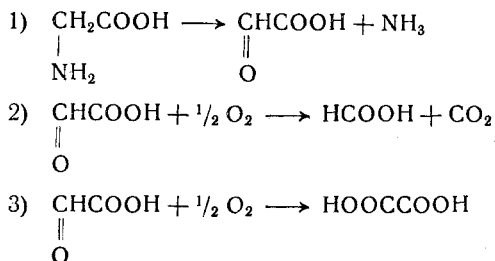
Эти аминокислоты рассматриваются вместе, поскольку они близки по химической структуре и взаимосвязаны в процессах обмена. В ходе своего обмена глицин подвергается превращению в другие аминокислоты, в компоненты нуклеиновых кислот, порфиринов, липидов и углеводов. Хотя глицин по своему строению является простейшей аминокислотой, его промежуточный обмен представляет крайне сложную картину.

Глицин

Известно, что глицин относительно легко синтезируется в теле млекопитающих, а также у микроорганизмов и в растениях. Однако при определенных условиях цыплятам необходимо поступление глицина с пищей (стр. 122). К образованию глицина приводят различные реакции — расщепление серина (стр. 325), распад треонина на глицин и ацетальдегид (стр. 336), деметилирование саркозина (стр. 330), аминирование глиоксильной кислоты (см. стр. 225). Эти реакции обнаружены в тканях животных. В процессе фотосинтеза меченая CO_2 быстро входит в состав гликолевой кислоты и глицина; эти данные указывают на образование глицина из глиоксильной кислоты [114]. Пути образования глицина у микроорганизмов детально не изучены. Однако имеются данные о взаимопревращении глицина и серина у ряда микробов [115, 116]. У *Escherichia coli* глиоксильная кислота, по-видимому, не превращается в глицин [117], тогда как образование глицина из серина, вероятно, имеет место [118—120].

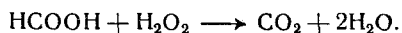
Вайнхауз и сотрудники [121—124] доказали, что в организме крыс происходит взаимопревращение глицина и глиоксильной кислоты. Глицин, глиоксильная и гликолевая кислоты быстро окисляются срезами печени крысы с образованием CO_2 , щавелевой кислоты и гиппуровой кислоты (последняя появляется в присутствии бензойной кислоты). При помощи метода «изотопной ловушки» было доказано превращение глицина в глиоксильную кислоту в гомогенате печени крысы. Найдено, что щавелевая кислота образуется не прямо из глицина, а из глиоксильной кислоты, в условиях, когда последняя присутствует в относительно больших концентрациях. Дальнейшими исследованиями выяснено, что в обычных условиях щавелевая кислота, вероятно, не образуется и что α -углеродные атомы глицина, гликолевой кислоты и глиоксильной кислоты переходят в муравьиную кислоту.

Эти данные можно резюмировать следующим образом:



Реакция (3) может протекать при участии ксантиндегидрогеназы [125], а также другого фермента, найденного в печени голубя [123]. Реакция (2) может осуществляться неферментативным путем с участием перекиси водорода, а также под влиянием ферментной системы, детально еще не изученной. Превращение глицина в глиоксильную кислоту происходит путем окислительного дезаминирования или переаминирования (стр. 226).

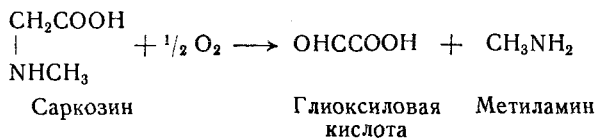
Доказано, что муравьиная кислота быстро окисляется в CO_2 :



Эта реакция, наблюдаемая в растительных и животных тканях [126], может протекать за счет пероксидазной активности каталазы, с использованием перекиси водорода, образующейся в ходе других реакций [123].

Другие пути образования глиоксильной кислоты (не из глицина) еще не вполне ясны. У некоторых бактерий глиоксильная кислота образуется в результате расщепления изолимонной кислоты [127, 128]. В экстрактах из листьев шпината наблюдали образование глицина из рибозо-5-фосфата. При этом процессе в качестве промежуточных продуктов, по-видимому, образуются гликолевый альдегид, гликолевая и глиоксильная кислоты [129—131].

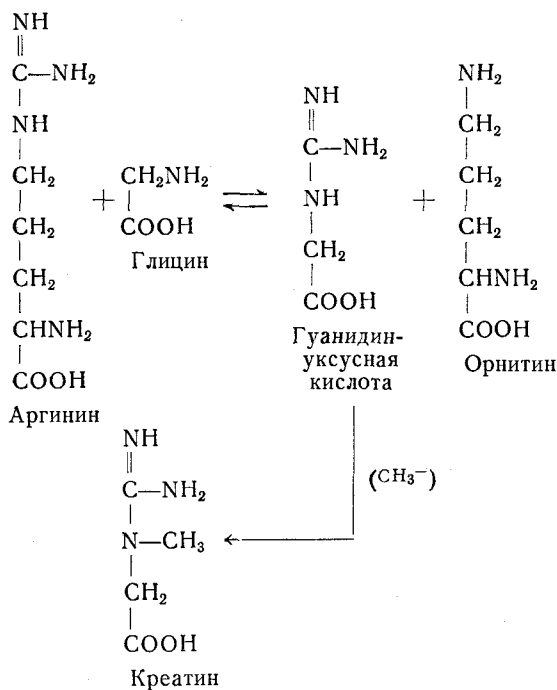
Глиоксильная кислота образуется также при действии глициноксидазы (стр. 192) на саркозин, согласно следующему уравнению:



Физиологическое значение этой реакции и аналогичного превра-

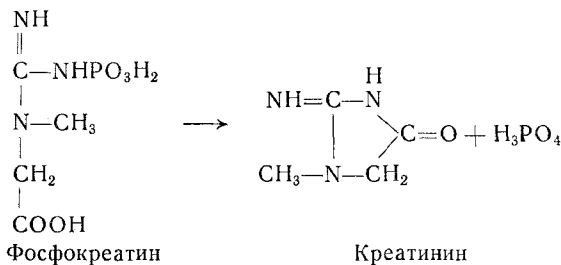
щения глицина подвергалось сомнению [132], так как эта оксидная система действует, по-видимому, только при очень высокой концентрации субстрата. Глиоксиловая кислота образуется также при окислении этаноламина [123, 133] путем дезаминирования его с образованием гликолевого альдегида и дальнейшего окисления последнего.

Углеродные атомы глицина переходят в состав пуринов (стр. 283), порфирина (стр. 322), глутатиона [134] (стр. 268), гликохолевой кислоты, гиппуровой кислоты [135] (стр. 266) и креатина. Как установлено посредством изотопных опытов, синтез креатина происходит путем реакции трансамидинирования между аргинином и глицином и последующего метилирования гуанидинуксусной кислоты (гликоциамина) [136, 137] (стр. 372):



Недавно показано, что реакция трансамидинирования обратима [138]. Эта реакция происходит в почках, тогда как реакция переноса метильной группы протекает преимущественно в печени. Для больных прогрессирующей мышечной дистрофией характерно выделение с мочой больших количеств креатина, обусловленное неспособностью мышц использовать креатин; выделяю-

щийся с мочой креатин синтезируется не в мышцах, а в печени [139]. Фосфокреатин, образующийся в мышцах, по-видимому, является источником креатинина мочи; последний образуется путем циклизации с отщеплением фосфатной группы фосфокреатина [140]:



Синтез креатина, по-видимому, не обратим; так, например, метильная группа, вошедшая в состав креатина, уже не является подвижной. У человека потребление с пищей метионина и глицина не оказывает влияния на выделение креатинина с мочой. Интересно, что у цыпленка потребность в пищевом глицине (стр. 122) может быть снижена за счет креатина [141].

У *Diplococcus glycinophilus* наблюдали анаэробное превращение глицина в уксусную кислоту. На основании опытов с изотопами полагают, что при этом происходит конденсация двух молекул глицина с последующим отщеплением карбоксильных групп [142]. Один из штаммов *Achromobacter* окислял глицин с образованием аммиака и перекиси водорода [143]. Этот путь превращения глицина, по-видимому, аналогичен процессу его окисления в тканях млекопитающих с образованием глиоксиловой и муравьиной кислот в качестве промежуточных продуктов (см. также [144]).

Синтез порфиринов

Несколько лет назад было найдено, что глицин является источником азота гемина [145]. Дальнейшие исследования показали, что α -углеродный атом глицина (но не карбоксильный углерод) также используется при синтезе гемина [146, 147]. Исследование продуктов разложения молекулы протопорфирина позволило в значительной мере раскрыть происхождение частей этой молекулы [148—150]. Было выяснено, что четыре атома углерода метиновых мостиков и четыре атома углерода в пиррольных кольцах имеют источником α -углеродные атомы глицина. Было также изучено распределение изотопной метки

в протопорфирине, образуемом из меченых промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты [150, 151].

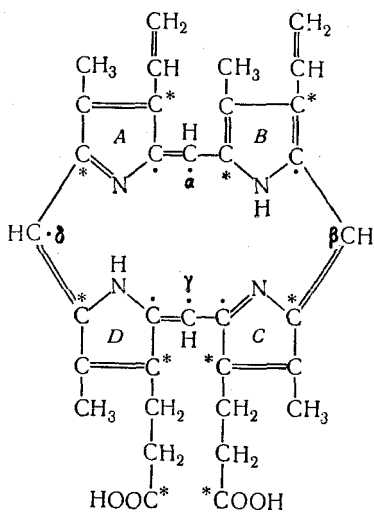
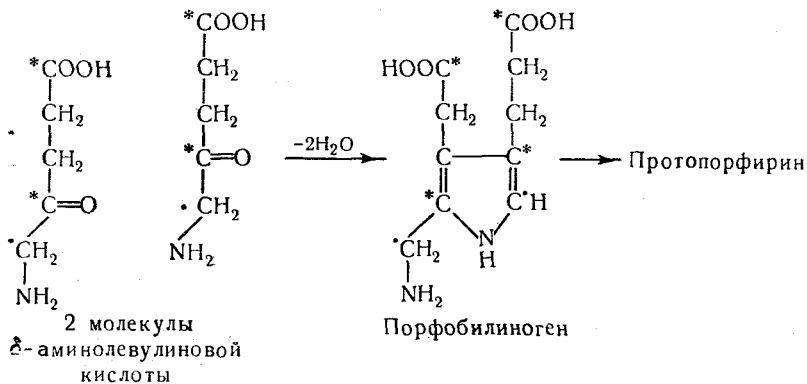
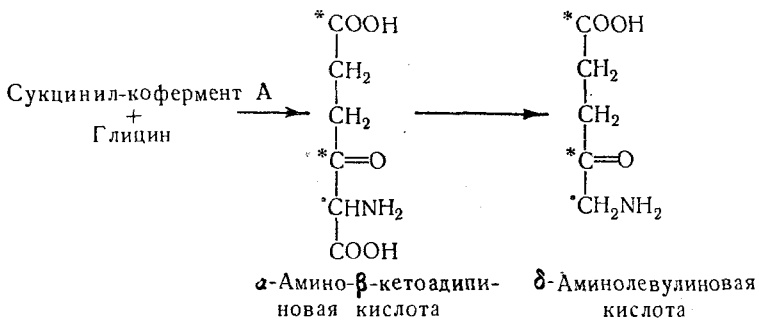
Шимин и сотрудники [152—155] нашли, что α -углеродные атомы глицина используются в равной степени для синтеза пиррольных колец и для образования метиновых мостиков. Они пришли к выводу, что эти углеродные атомы молекулы протопорфирина возникают за счет одного и того же производного глицина. Согласно схеме Шимина, «активный сукцинат»¹ конденсируется с α -углеродным атомом глицина, причем образуется α -амино- β -кетoadипиновая кислота, которая декарбоксилируется и переходит в δ -аминолевулиновую кислоту. Последняя может служить предшественником порфирина или подвергаться дезаминированию с образованием альдегида α -кетоглутаровой кислоты, который в свою очередь может превращаться в янтарную кислоту и одноуглеродное соединение, используемое для синтеза пуринов, серина и метильной группы метионина. При введении 5-C^{14} - δ -аминолевулиновой кислоты уткам метка была найдена в уреидных группах пуринов, в β -углеродном атоме серина и в метильной группе метионина.

При синтезе порфирина в эритроцитах утки δ -аминолевулиновая кислота [155—157] замещает «активный сукцинат» и глицин [152]. Кроме того, найдено, что при добавлении немеченой δ -аминолевулиновой кислоты в систему, синтезирующую гемин из радиоактивного глицина и янтарной кислоты, радиоактивность образующегося гемина снижается. В опытах с применением δ -аминолевулиновой кислоты, меченной N^{15} или C^{14} в δ -положении, наблюдали интенсивное включение изотопов в гемин. Шимин и Рассел [152] высказали предположение, что при этом две молекулы δ -аминолевулиновой кислоты конденсируются с образованием соединения, являющегося предшественником пиррольных ядер порфирина (см. схему на стр. 324).

Позднее было найдено, что бесклеточные экстракты эритроцитов утки катализируют образование протопорфирина из δ -аминолевулиновой кислоты, но не образуют его из глицина и янтарной кислоты [153]. Таким образом, система, участвующая в процессе конденсации янтарной кислоты и глицина, нарушается при разрушении клеток. Наблюдения Шимина и сотрудников подтверждены другими исследователями [156, 158].

Предполагаемый продукт конденсации двух молекул δ -аминолевулиновой кислоты идентичен молекуле порфобилиногена

¹ В настоящее время известно, что активным производным янтарной кислоты, участвующим в синтезе порфиринов, является сукцинил-кофермент А. — *Прим. ред.*

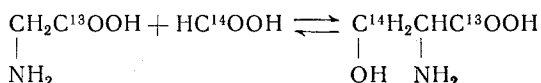


(Звездочками помечены углеродные атомы карбоксильных групп янтарной кислоты, точками — α -углеродные атомы глицина.)

[158—162], который выделяется с мочой у больных, страдающих острой порфирией [159]. Дальнейшие стадии превращения порфобилиногена в порфирины еще полностью не выяснены [163, 164]¹.

Взаимопревращение глицина и серина

В тканевом обмене млекопитающих и у микроорганизмов большое значение имеет процесс взаимопревращения глицина и серина. Шимин [165] впервые показал превращение серина в глицин при введении крысам и морским свинкам вместе с бензойной кислотой N¹⁵-серина, меченного C¹³ в карбоксильной группе; в выделенной из мочи животных гиппуровой кислоте содержание C¹³ в карбоксильной группе глицина было почти таким же, как и в исходном серине. Установлено также превращение глицина в серин [163]. Имеются многочисленные данные [166—170] об обратимом взаимопревращении глицина и серина, в котором участвует одноуглеродный остаток, представленный в следующей схеме в виде муравьиной кислоты:



Эту реакцию наблюдали в срезах печени и в целом организме крысы. В опытах на голубях было показано, что β-углеродный атом серина может служить предшественником углерода уреидных групп мочевого кислоты [171]; известно, что эти углеродные атомы мочевого кислоты образуются из муравьиной кислоты. β-Углеродный атом серина является также предшественником β-углеродного атома этаноламина в липидной фракции печени [172]. Показано, что молочнокислые бактерии для синтеза серина из глицина и муравьиной кислоты нуждаются в пиридоксале [173]. Потребность в витамине В₆ для этого процесса установлена также у цыплят. В опытах с препаратами печени В₆-авитаминозных цыплят или цыплят, получавших предварительно дезоксипиридоксин, наблюдали снижение синтеза серина из глицина по сравнению с контрольными цыплятами [174, 175]. При добавлении к таким препаратам пиридоксальфосфата отмечали частичное восстановление активности.

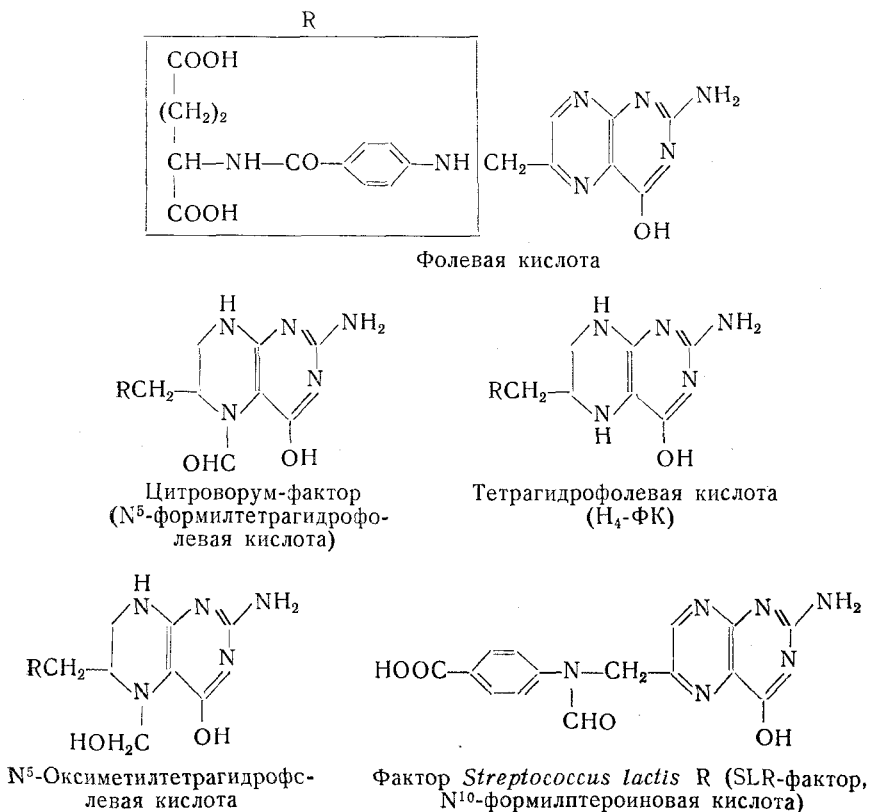
В ряде лабораторий [132, 174, 176—178] исследовали природу биологически активного одноуглеродного остатка, образующегося из муравьиной кислоты. Имеются данные о том, что при определенных условиях формальдегид используется для

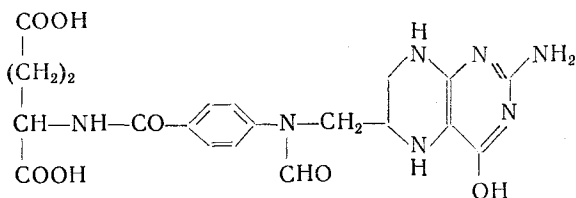
¹ Это превращение протекает через уропорфириноген III, который далее окисляется в уропорфирин III — общий предшественник порфириновых ядер гемина и хлорофилла. — *Прим. ред.*

синтеза серина более активно, чем муравьиная кислота. Известно, что формальдегид является продуктом окисления саркозина и других N-метиламинокислот [179]; саркозин в свою очередь может служить источником одноуглеродных остатков для синтеза серина [178]. Между тем при добавлении немеченого формальдегида к полученной из печени крысы системе, образующей серин из меченой муравьиной кислоты, снижения радиоактивности в образующемся серине не наблюдали [176]. Эти, а также другие данные [180, 181, 1082] свидетельствуют о том, что активный одноуглеродный остаток не является ни муравьиной кислотой, ни формальдегидом. Это активное соединение, возможно, представляет собой промежуточный продукт обмена, общий для муравьиной кислоты и формальдегида [182]. Из различных исследований стало ясно, что в синтезе серина принимает участие фолевая кислота. Так, например, у крыс с недостаточностью фолевой кислоты оказалась пониженной скорость включения муравьиной кислоты в серин [183]. У различных животных при недостаточности фолевой кислоты затруднено также взаимопревращение глицина и серина [171, 184—187]. Данные, полученные при изучении микроорганизмов [173, 188, 189], также подтверждают участие производных фолевой кислоты в процессе взаимопревращения глицина и серина. Дальнейшим подтверждением служат данные, показавшие, что по крайней мере два производных фолевой кислоты («фактор *Streptococcus lactis* R» и «цитроворум-фактор») содержат формильные остатки и, таким образом, могут участвовать в переносе формильных групп [182, 190—200].

Это предположение было подтверждено в опытах с препаратом печени голубя, катализирующим процесс взаимопревращения серина и глицина. Обработка препарата печени голубя анионом Дауэкс-1 в хлоридной форме с последующим диализом вела к инактивированию процесса включения C^{14} -глицина в серин; при добавлении к таким препаратам тетрагидрофолевой кислоты отмечали восстановление активности [201]. Аналогичные результаты получены с ферментными препаратами из печени крысы [174, 202]. Тетрагидрофолевая кислота стимулировала также образование серина из глицина и формальдегида. Однако одна тетрагидрофолевая кислота не восстанавливает в инактивированных препаратах печени голубя способность к синтезу серина из глицина и муравьиной кислоты. В этой системе восстановление активности наблюдается при добавлении тетрагидрофолевой кислоты, аденозинтрифосфата, дифосфопиридиннуклеотида, глюкозо-6-фосфата и ионов магния [201, 202]. Из этих результатов можно заключить, что муравьиная кислота в присутствии АТФ переходит в производное цитроворум-фак-

тора, которое при наличии в системе дифосфопиридиннуклеотида восстанавливается до оксиметилтетрагидрофолевой кислоты. Фолевая кислота проявляет некоторую активность в ферментной системе, использующей муравьиную кислоту для синтеза серина, но активность ее меньше, чем у тетрагидрофолевой кислоты. При синтезе серина из формальдегида и глицина дигидрофолевая кислота активирует ферментную систему в меньшей степени, чем тетрагидрофолевая кислота; если одновременно с дигидрофолевой кислотой добавляют АТФ, дифосфопиридиннуклеотид, глюкозо-6-фосфат и ионы магния, то процесс синтеза активируется в такой же мере, как и в пробах с тетрагидрофолевой кислотой. Эти данные показали, что в реакции превращения формальдегида в глицин и во включении глицина в серин участвует тетрагидрофолевая кислота. Для использования муравьиной кислоты в образовании серина из глицина необходимы дополнительные реакции.



N¹⁰-Формилтетрагидрофолевая кислота

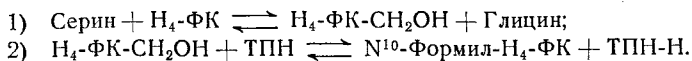
Включение глицина в серин может происходить путем реакции обмена с участием тетрагидрофолевой кислоты в качестве кофермента, без увеличения общего количества серина. Роль витамина B₆ в этой реакции состоит в активировании α-углеродного атома глицина (стр. 246), реагирующего с оксиметилтетрагидрофолевой кислотой; при расщеплении продукта реакции образуется серин. Саками [174] предложил для превращений одноуглеродных остатков следующую схему (см. также [203, 204]):



β-Углеродный атом серина может переходить в метильные группы тимина и холина вместе со стоящими при нем водородными атомами [210—214] и может служить предшественником метильной группы метионина.

Енике [205] показал, что при переносе β-углеродного атома серина в качестве первоначального продукта образуется N¹⁰-замещенное производное тетрагидрофолевой кислоты [206]. Этот автор доказал ферментативное образование N¹⁰-формилтетрагидрофолевой кислоты и установил, что это соединение может служить донатором одноуглеродного остатка при синтезе серина, пуринов и гистидина. Согласно этой точке зрения, N⁵-формилтетрагидрофолевая кислота рассматривается как продукт побочной реакции. Гринберг и сотрудники [207] показали, что N¹⁰-формилтетрагидрофолевая кислота участвует непосредственно в синтезе пуринов путем переноса формильного остатка на 5-амино-4-имидазолкарбоксамид-5-фосфорибозид. Результаты

исследований, проведенные с системой из печени голубя, могут быть выражены следующими уравнениями [1083]:



Для реакции (1) необходимы фосфопиридоксаль и ионы марганца; реакция (2) протекает медленнее с ДПН, чем с ТПН.

Опубликованы данные, согласно которым превращение серина в глицин в экстрактах одного из видов *Clostridium* происходит в присутствии дифосфопиридиннуклеотида, ионов марганца, пиридоксальфосфата, ортофосфата и нового фактора, обозначенного как кофермент С. Этот фактор отличается от упомянутых выше производных фолевой кислоты. Из *C. cylindrosporum* были выделены 5 групп птеридиновых соединений, обладающих активностью кофермента С; оказалось, что некоторые из них содержат глутаминовую кислоту, глицин, серин и аланин [208, 209]. Имеются указания на то, что в обмене одноуглеродных соединений может участвовать витамин Е [215]. Так, например, при введении кроликам с недостаточностью витамина Е C^{14} -муравьиной кислоты последняя включалась в нуклеиновые кислоты и белки значительно более активно, чем у контрольных животных; если вводили 1- C^{14} -глицин, то у животных с недостаточностью витамина Е включение изотопа было понижено.

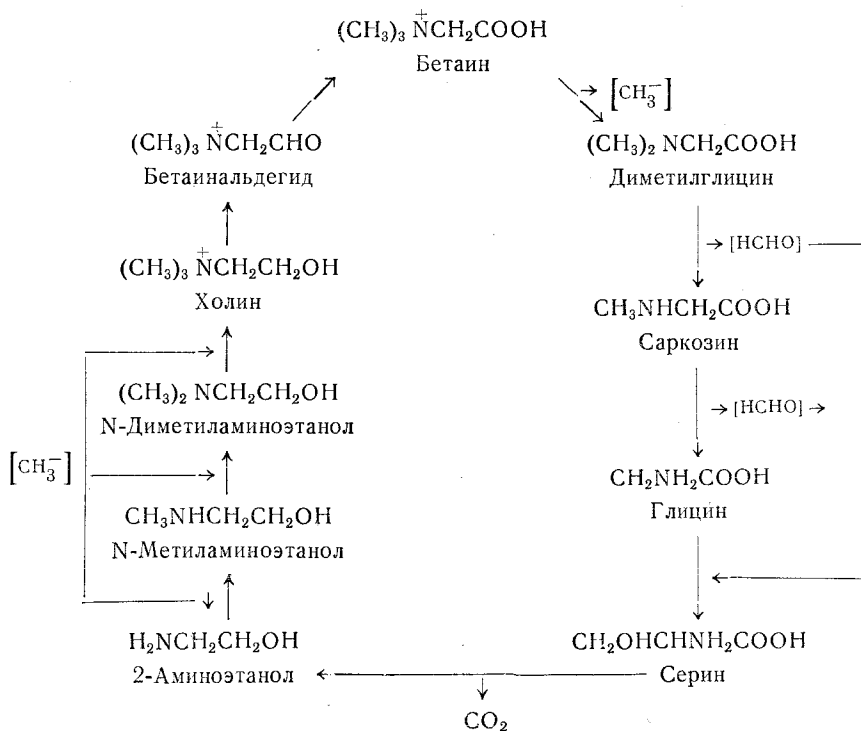
Найдено, что в растении табака формальдегид и β -углеродный атом серина используются как предшественники N-метильной группы никотина, причем в этом процессе формальдегид более эффективен [216—218]. Метильная группа метионина может служить предшественником метоксильных групп лигнина, являясь в этом превращении значительно более эффективным донатором, чем муравьиная кислота [219]. α -Углеродный атом гликолевой кислоты может служить источником как N-метильной группы никотина, так и метоксильных групп лигнина [1084].

Серин участвует также в реакции синтеза триптофана из индола и серина; эта реакция рассматривается в разделе, посвященном обмену триптофана.

Саркозин

Опыты на крысах, показавшие, что саркозин принадлежит к числу промежуточных продуктов обмена, выявил новый аспект в сложной проблеме обмена одноуглеродных остатков. Хорнер и Маккензи [220] наблюдали довольно значительное включение метки в саркозин мочи после введения животным саркозина вместе с метионином и бетаином, мечеными C^{14} в метильной группе. В препаратах печени саркозин, меченный в метильной

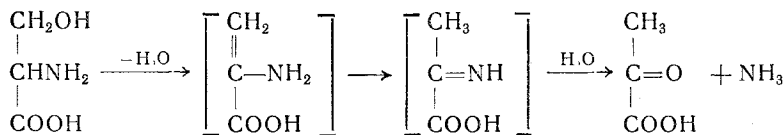
группе, превращался в формальдегид и муравьиную кислоту, содержавшие метку [221]. Эти соединения были обнаружены также в моче животных после введения C^{14} -саркозина; при этом значительное количество меченого углерода выводилось в виде CO_2 . В опытах *in vitro* ошутительные количества изотопа были обнаружены в глицине и серине. Выяснено, что диметилглицин является предшественником саркозина и окисляется до саркозина и формальдегида специфической оксидазой, которая не идентична саркозиноксидазе. Саркозиноксидаза, найденная в печени, превращает саркозин в формальдегид и глицин. Таким образом, при последовательном действии отдельных окислительных ферментов обе метильные группы диметилглицина, образующегося, как известно, при деметилировании бетаина (стр. 371), могут превращаться в формальдегид. Образующийся при этом глицин может конденсироваться с возникающими в том же окислительном превращении одноуглеродными остатками с образованием серина. Превращение холина в бетаин будет рассмотрено ниже (стр. 371). Упомянутые выше реакции отображены в следующей схеме [178]:



Прочие реакции этого цикла, в целом представляющего механизм окисления метильных групп, также можно считать доказанными. Стеттен [222] наблюдал переход N¹⁵-серина в этаноламин и высказал предположение, что серин превращается в этаноламин путем декарбоксилирования. Имеются данные о том, что в организме крысы серин, меченный в β-углеродном атоме, превращается в этаноламин, содержащийся во фракции липидов печени [172, 210]. Вместе с тем при введении глицина, меченного по α-углероду, заметного включения метки в этаноламин не наблюдалось; это свидетельствует о том, что восстановление глицина не играет существенной роли в образовании этаноламина. Известно также, что у крысы N-метил- и N-димилэтанолламин наравне с этаноламином служат предшественниками холина. Через приведенный цикл может происходить превращение β-углеродного атома серина в углеродный атом карбоксильной группы глицина и самого серина, а следовательно, и в CO₂. Природа активных одноуглеродных остатков, образующихся в этих реакциях, еще не известна, хотя, как указывалось выше, можно предполагать, что в этих процессах участвуют производные фолевой кислоты. Многие данные согласуются с реакциями, приведенными в схеме, но очевидно, что существуют и другие пути превращений серина и глицина. Известно, например, что α-углеродный атом глицина превращается через муравьиную кислоту в β-углеродный атом серина [169]. Вполне вероятно, что метильная группа метионина может окисляться и другими путями (см. стр. 375).

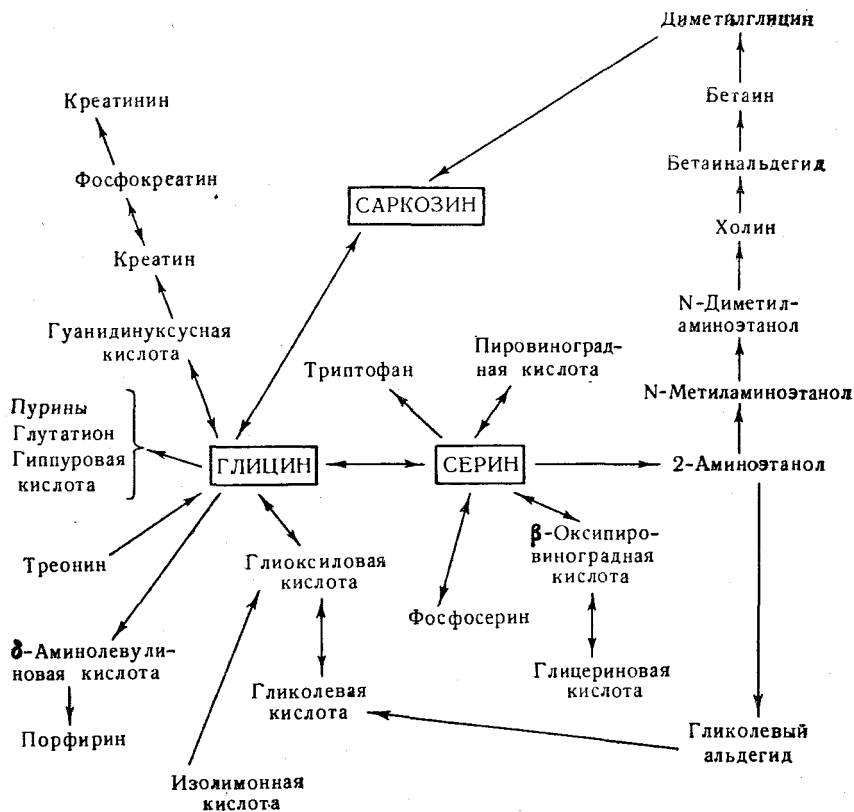
Другие превращения серина

Распад серина может происходить в результате дезаминирования с образованием пировиноградной кислоты и аммиака; реакция, по-видимому, протекает путем дегидратации, за которой следует гидролиз образующейся иминокислоты [223]:



Такая дегидратация с дезаминированием может протекать путем образования шиффова основания с пиридоксалем (стр. 247). В препаратах печени наблюдали превращение меченого DL-серина в меченый аланин [224]. Сериндегидратаза, выделенная из *Neurospora crassa*, обладает стереоспецифичностью по отношению к L-изомеру серина и дезаминирует также L-треонин;

в этой реакции в качестве кофермента участвует пиридоксаль-фосфат [225]. Из *Escherichia coli* получена D-сериндегидратаза, которая также активируется пиридоксальфосфатом [226, 227]. Специфическую же L-сериндезаминазу, выделенную из *E. coli*,

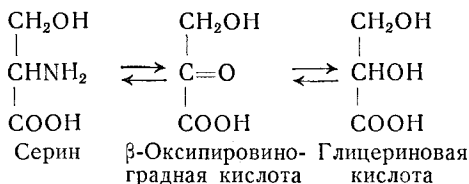


Фиг. 10. Сводная схема превращений глицина, серина и саркозина.

активировали глутатион и адениловая кислота, но не пиридоксальфосфат [228]. L-Сериндегидратаза *E. coli* дезаминирует также L-треонин; предполагают, что на оба субстрата действует один фермент.

После того как в печени и почках были открыты реакции переаминирования с участием серина (стр. 225) стало вероятным, что одним из промежуточных продуктов обмена серина может служить β -оксипировиноградная кислота. Эта кетокислота или β -фосфооксипировиноградная кислота может образоваться из глицериновой или соответственно из фосфоглице-

риновой кислоты. Следовательно, для синтеза и распада серина имеется еще один путь, включающий реакции переаминирования (см. также [1085, 1086]):



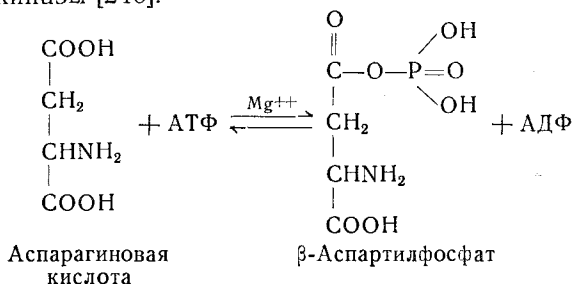
Установлено, что в составе пептидных цепей некоторых белков имеется фосфосерин. Фосфосерин и его пептиды были выделены из белков; недавно фосфосерин изолирован в кристаллическом виде [229—232]. О-фосфодиэфир L-серина и этаноламина найден в мышцах черепахи [233]. Сведения об обмене этих соединений немногочисленны; известно, что некоторые из них чувствительны к действию фосфатаз [234].

ТРЕОНИН (фиг. 11)

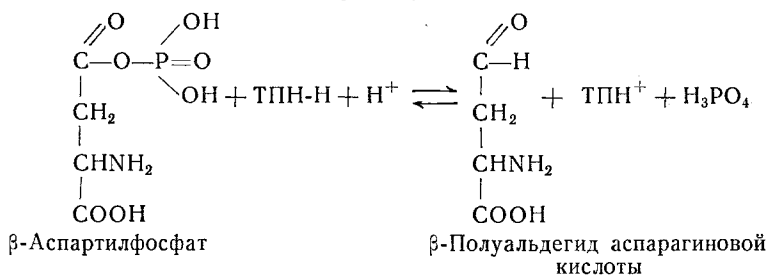
Биосинтез

Данные о синтезе треонина были получены при изучении процессов обмена у различных микроорганизмов. Результаты исследования мутанта *Neurospora crassa*, нуждающегося для роста как в метионине, так и в треонине, показали, что гомосерин может замещать обе эти аминокислоты [235]. Это явилось первым указанием на возможность синтеза треонина из гомосерина. Найдено, что в культурах мутанта *Neurospora*, для роста которого необходим только метионин, накапливаются гомосерин и треонин [236]. Дрожжи и *Escherichia coli* при росте на средах с меченым ацетатом синтезируют треонин и аспарагиновую кислоту, в которых атомы изотопа распределены одинаково [48, 64]. Результаты изотопных исследований также согласуются с предположением, по которому гомосерин является предшественником треонина [117, 233]. Дальнейшие успехи в выяснении путей биосинтеза треонина были достигнуты благодаря исследованиям Козна и его сотрудников [240—242] и Блэка [243—248]. Найдено, что суспензии мутанта *E. coli*, нуждающегося для роста в треонине, способны превращать аспарагиновую кислоту в гомосерин, а суспензии клеток нормальных штаммов *E. coli* используют гомосерин для синтеза треонина [240, 241]. В процессе превращения аспарагиновой кислоты в треонин Блэк открыл два новых промежуточных продукта, а именно β -аспартилфосфат и β -полуальдегид аспарагиновой кислоты. Промежуточные реакции этого превращения были изучены с использованием очищенных

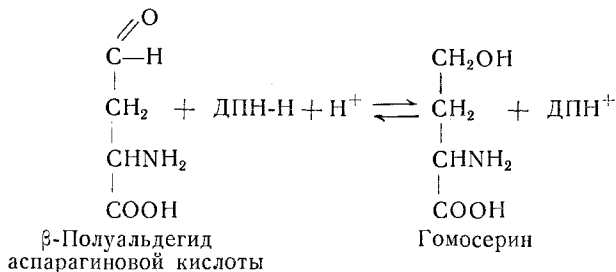
ферментных препаратов, полученных из дрожжей [243—248]. Превращение L-аспарагиновой кислоты в L-β-аспартилфосфат происходит в присутствии АТФ, ионов магния и фермента β-аспартокиназы [246]:



Специфический фермент, действующий при участии трифосфопиридиннуклеотида (дегидрогеназа β-полуальдегида аспарагиновой кислоты), восстанавливает β-аспартилфосфат в соответствующую альдегидокислоту [247]:



β-Полуальдегид L-аспарагиновой кислоты восстанавливается гомосериндегидрогеназой (при участии дифосфопиридиннуклеотида) в L-гомосерин; этот фермент проявляет некоторую активность и с трифосфопиридиннуклеотидом [248]:



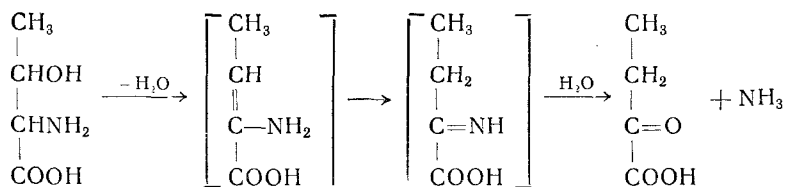
Коэн и сотрудники [249] нашли, что в первой фазе превращения промежуточным соединением служит β-аспартилкофермент А;

данные, полученные при изучении мутантов *E. coli*, согласуются с описанной выше цепью реакций [250]. У *E. coli* для превращения гомосерина в треонин необходимо присутствие АТФ и пиридоксальфосфата и, хотя для образования треонина необходимы оба кофактора, для исчезновения гомосерина достаточно присутствия одной АТФ. Из этого можно заключить, что процесс превращения гомосерина в треонин протекает с образованием промежуточного соединения¹. У различных бактерий треонин может частично замещать аспарагиновую кислоту, необходимую для роста [251, 252]; это объясняется рассмотренным выше превращением аспарагиновой кислоты в треонин. Роль треонинрацемазы у *E. coli* [253] (стр. 245) еще не ясна.

Получены данные, показывающие, что α -кетокислота, соответствующая треонину, играет роль предшественника валина и изолейцина (стр. 353). У *Neurospora* изолейцин может синтезироваться также из ацетальдегида и α -кетомасляной кислоты, образующейся из треонина (стр. 336). В связи с этим представляет интерес обнаружение мутанта *N. crassa*, при выращивании которого в присутствии треонина в среде накапливаются α -кето- β -метилвалерьяновая, α -кетоизовалерьяновая и пировиноградная кислоты и ацетальдегид [254].

Превращения треонина

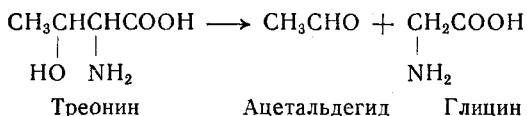
Пути распада треонина изучали у животных и микроорганизмов. У крыс процесс распада треонина, по-видимому, необратим; треонин не принимает участия в общем кругообороте азота аминокислот в организме млекопитающего. Так, при введении крысам N^{15} -аминокислот не наблюдали появления метки в треонине [255, 256]. Имеющиеся данные свидетельствуют о наличии двух путей распада треонина. Один из них сходен с реакцией дегидратирования и дезаминирования серина (стр. 331) и, возможно, катализируется тем же ферментом:



¹ В настоящее время известно, что в процессе этого превращения гомосерин сперва фосфорилируется (за счет АТФ) с образованием О-фосфогомосерина; это соединение под действием пиридоксалевого фермента, треонинсинтетазы, переходит в треонин в результате отщепления молекулы фосфорной кислоты и последующего присоединения молекулы воды. — *Прим. ред.*

С этим механизмом согласуются данные о том, что в препаратах печени крысы DL-треонин, меченный N¹⁵ и C¹⁴, превращается в L-α-аминомасляную кислоту [257]. Вероятно, из треонина образуется α-кетомасляная кислота, которая в результате стереоспецифической реакции переаминирования превращается в L-α-аминомасляную кислоту. К этому же продукту может привести и окислительное дезаминирование D-треонина.

Другой путь распада треонина открыли Браунштейн и Виленкина. Эти авторы наблюдали образование глицина и ацетальдегида из треонина в препаратах печени и почек различных животных [258]:



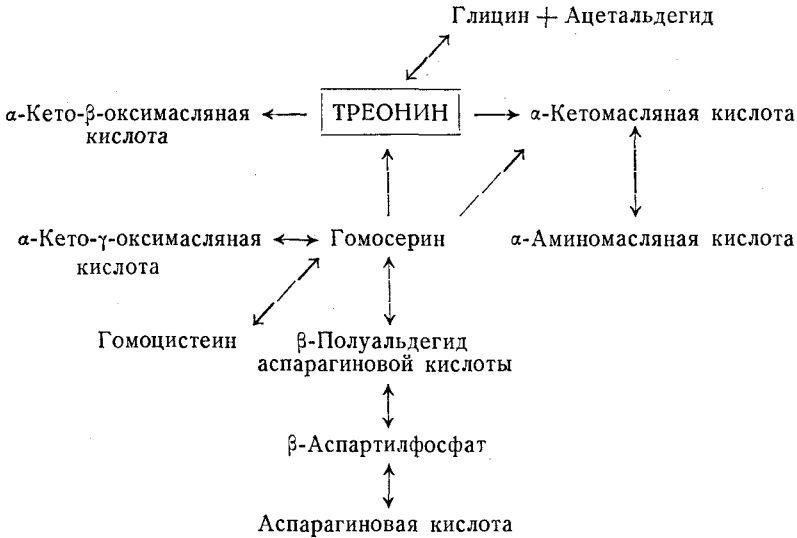
Любопытно, что в этой системе алло-треонин является более активным субстратом, чем треонин [185, 258, 259]. По-видимому, ферментативная реакция в слабой степени обратима, однако стерическая конфигурация продукта, образующегося при обратной реакции, не установлена [261]. Для фермента, катализирующего расщепление треонина на глицин и ацетальдегид, были предложены названия «глициногеназа» [258] и «альдолаза оксиаминокислот» [262]. Механизм реакции расщепления треонина изучали Снелл и сотрудники [260, 263]; они описали неферментативное обратимое расщепление треонина в присутствии пиридоксала и солей металлов [260, 263]. Оказалось, что при ферментативной реакции коферментом является пиридоксальфосфат [238]¹.

Описано ферментативное расщепление изомеров β-фенилсерина очищенной белковой фракцией печени крысы [264]. Эритро-L-изомер расщепляется в 9 раз быстрее, чем трео-изомер, и в 7 раз быстрее, чем алло-треонин. Продуктами ферментативного расщепления эритро-β-фенил-L-серина являются бензальдегид и глицин. Интересно, что Кнооп [265] еще в 1914 г. наблюдал при скормливании собакам β-фенилсерина повышенное выделение гиппуровой кислоты с мочой. Кнооп предполагал, что β-фенилсерин расщепляется на глицин и бензойную кислоту.

В опытах на крысах с применением треонина, меченного N¹⁵ и C¹⁴ в метильной группе, было найдено, что примерно от 1/5 до 1/3 треонина, введенного с пищей, расщепляется на глицин и уксусную кислоту [256]. Последняя, очевидно, образуется путем

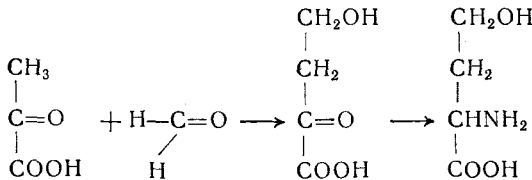
¹ Участие пиридоксальфосфата в ферментативном расщеплении треонина на глицин и ацетальдегид было установлено в 1953 г. Браунштейном и Виленкиной (Усп. соврем. биол., 36, 275, 1953). — Прим. ред.

окисления ацетальдегида. В той же работе отмечено, что после введения N¹⁵-лейцина в треонин переходит лишь незначительное количество N¹⁵, что согласуется с данными более ранних исследований. Однако тот факт, что некоторое количество азота лейцина все же было обнаружено в молекуле треонина, указывает на наличие в организме животного незначительного синтеза треонина или на частичную обратимость реакций его расщепления. Возможно, однако, что отмеченное включение изотопного азота в треонин обусловлено действием микрофлоры кишечника.



Фиг. 11. Сводная схема превращений треонина.

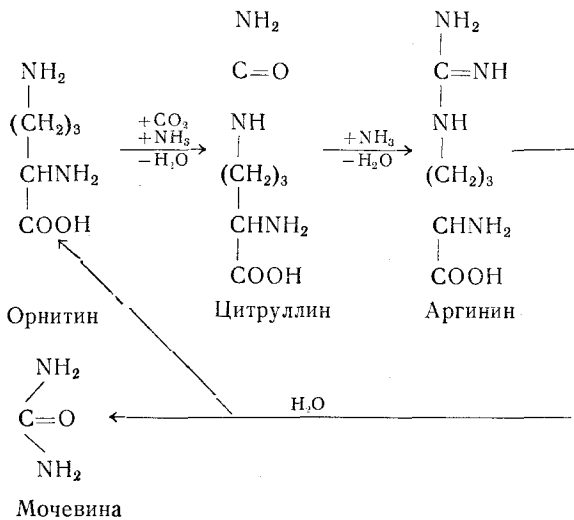
Данных, доказывающих, что в организме млекопитающих возможно образование треонина из гомосерина, не имеется. В связи с этим интересно отметить, что в опытах с препаратами печени было установлено образование соответствующей гомосерину кетокислоты (α-кето-γ-оксимасляной кислоты) из пировиноградной кислоты и формальдегида [266]:



Обнаружено также переаминирование этой кетокислоты [267].

АРГИНИН, ОРНИТИН И ЦИТРУЛЛИН (фиг. 12)

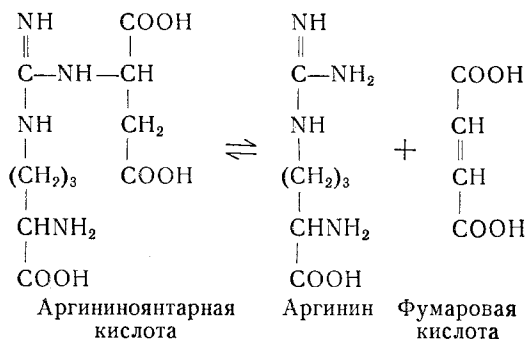
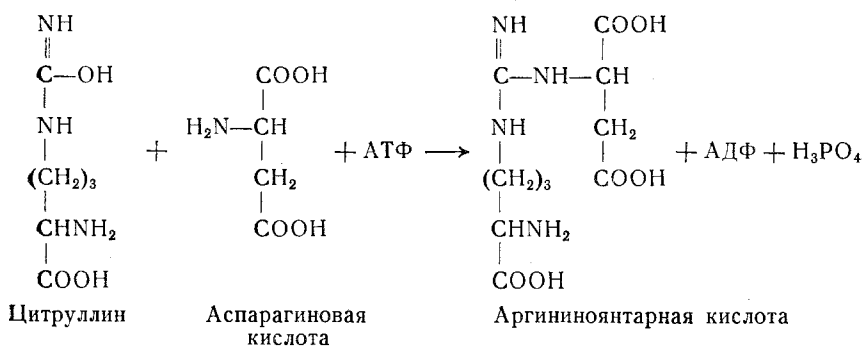
В 1932 г. Кребс и Гензлайт [268] предложили для объяснения образования мочевины следующий цикл реакций:



Эта схема находилась в соответствии с экспериментальными данными о каталитическом действии орнитина и цитруллина на образование мочевины в срезах печени. Результаты изотопных исследований на интактных животных [269—271] подтвердили в общих чертах механизм мочевинообразования, предусмотренный гипотезой Кребса и Гензеляйта. Доказано наличие всех реакций этого цикла или большинства из них у *Neurospora*, *Escherichia coli*, *Penicillium* и различных молочнокислых бактерий [239, 272, 273, 275—277]. Аргиназа, известная с 1904 г. [274, 278], встречается во многих тканях млекопитающих, в частности в печени и в молочной железе [279—283]. Этот фермент активируется ионами некоторых двухвалентных металлов (Co^{++} , Ni^{++} , Fe^{++} , Mn^{++}) [284—286]. Он обладает некоторой активностью в отношении октопина [287], α -N-бензоиларгинина [288], L- α -уреидо- δ -гуанидиновалерьяновой кислоты [289], агматина [290] и канаванина [291], но не действует на α -кето- δ -гуанидиновалерьяновую кислоту [292], ϵ -гуанидинокапроновую кислоту [293], δ -N-метиларгинин [294], γ -гуанидиномасляную кислоту [294] и на аргининфосфат [295]. При гидролизе канаванина образуются каналин и мочевина (стр. 49).

Превращение аргинина в мочевину и орнитин установлено много лет назад, механизмы же превращения орнитина в цит-

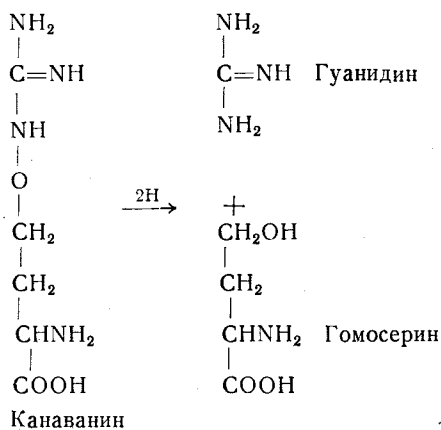
руллин и цитруллина в аргинин были выяснены лишь недавно. Образование аргинина из цитруллина может происходить в бесклеточных препаратах печени и почек [296, 297]. Найдено, что это превращение происходит более активно в присутствии аспарагиновой или глутаминовой кислоты. В дальнейших исследованиях Ратнер и ее сотрудники [298—306] показано, что образование аргинина из цитруллина происходит с обязательным участием аспарагиновой кислоты и аденозинтрифосфата. Реакция протекает в две ступени с образованием промежуточного соединения — L-аргининоянтарной кислоты [307]. При ферментативном расщеплении L-аргининоянтарной кислоты образуются аргинин и фумаровая кислота. Эту последовательность реакций передают следующие уравнения:



У *Chlorella* обнаружена канаваноянтарная кислота — канаваниновый аналог аргининоянтарной кислоты [308, 309]. Канаваноянтарная кислота образуется путем реакций, аналогичных реакциям, приводящим к образованию аргининоянтарной кислоты; ферментные системы млекопитающих также способны синтезировать канаваноянтарную кислоту и расщеплять ее

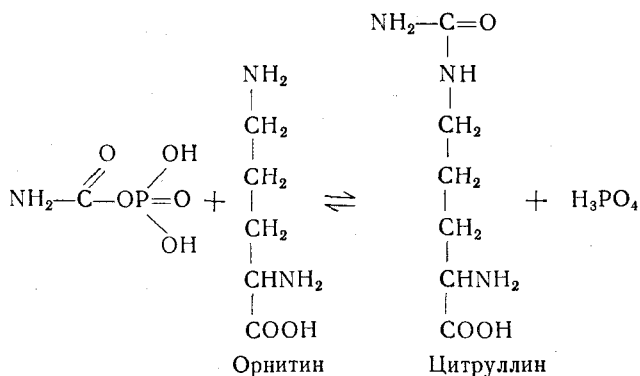
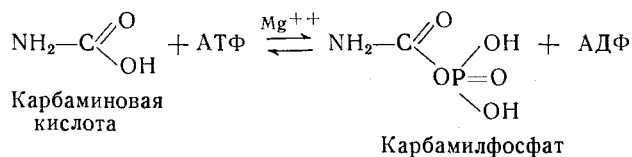
[310, 311]. Интересно, что препараты почек свиньи катализируют перенос амидиновой группы канаванина на орнитин с образованием каналаина и аргинина; реакция обратима. Фракции, полученные из почек, осуществляют также перенос амидиновой группы канаванина на глицин с образованием гуанидинуксусной кислоты (гликоциамина) [311] (стр. 321). Таким образом, аргинин, канаванин и гуанидинуксусная кислота могут служить донаторами амидиновой группы, а орнитин, каналин и глицин — ее акцепторами. Акцептором амидиновой группы может служить также лизин, превращаясь при этом в гомоаргинин [1087]. Высказано предположение, что при указанных реакциях в качестве общего промежуточного соединения образуется амидиновый комплекс фермента [1087, 1088].

Фермент, найденный в клетках *Streptococcus faecalis* и *S. equinus*, расщепляет канаванин, с присоединением водорода, на гуанидин и гомосерин [312]:



Печень млекопитающих способна очень активно синтезировать цитруллин. В печени, вероятно, происходит синтез и гидролиз некоторого количества аргинина; цитруллин, образующийся только в печени, переносится током крови к почкам, где осуществляются синтез и гидролиз аргинина. Аргинин плазмы, вероятно, образуется преимущественно в почках, синтезирующих его из цитруллина, но содержащих в сравнении с печенью относительно немного аргиназы. Ферменты, образующие аргининоянтарную кислоту и расщепляющие ее, имеются в печени и почках млекопитающих, в дрожжах и у *Neurospora*. Фермент, расщепляющий это соединение, найден у *Chlorella*, *Escherichia coli*, в бобах канавалии и семенах гороха [313].

Синтез цитруллина из орнитина был впервые обнаружен Борсуком и Дубновым в гомогенатах печени [314]. Коэн и сотрудники [315—319, 323, 327, 328] детально исследовали это превращение и показали, что синтез цитруллина возможен в выделенной из печени растворимой ферментной системе в присутствии АТФ, ионов Mg, CO₂, NH₃ и некоторых α-N-ацилпроизводных глутаминовой кислоты. Установлено, что реакция протекает в две ступени. В первой реакции образуется промежуточный продукт, содержащий карбамильную группу [320—322]; как показали позднее Джонс и ее сотрудники [49], промежуточным продуктом является карбамилфосфат. Эти реакции, которые были осуществлены с ферментными препаратами из тканей млекопитающих и из бактерий, можно представить следующим образом:



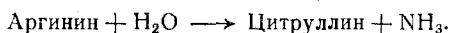
В ферментной системе из печени млекопитающих для первой реакции необходимо присутствие N-ацилпроизводного глутаминовой кислоты, по-видимому N-ацетилглутаминовой кислоты. Этот вопрос требует дальнейшего изучения [324—326, 1089].

В литературе нет данных, касающихся образования карбаминовой кислоты при синтезе мочевины. Образование карбаминовой кислоты может происходить неферментативным путем из аммиака и CO₂, но нужно учитывать, что концентрация аммиака в тканях млекопитающих, очевидно, очень низка (стр. 173). Ряд наблюдений показывает, что амидная группа глутамин быстро превращается в мочевину (см. [107, 1080] и стр. 174);

обязательно ли при этом превращении промежуточное образование аммиака, еще не установлено окончательно.

Если во второй реакции, приведенной выше, орнитин заменить аспарагиновой кислотой, то образуется карбамиласпарагиновая кислота [49, 50, 327, 1090]. Известно, что это соединение является предшественником оротовой кислоты (стр. 314).

Исследования, посвященные механизму расщепления аргинина без участия аргиназы, были проведены в опытах с различными микроорганизмами. Не исключена возможность наличия подобных реакций и в животных тканях. Первая ступень расщепления аргинина катализируется ферментом, получившим название аргининдезимидазы [329—332]:

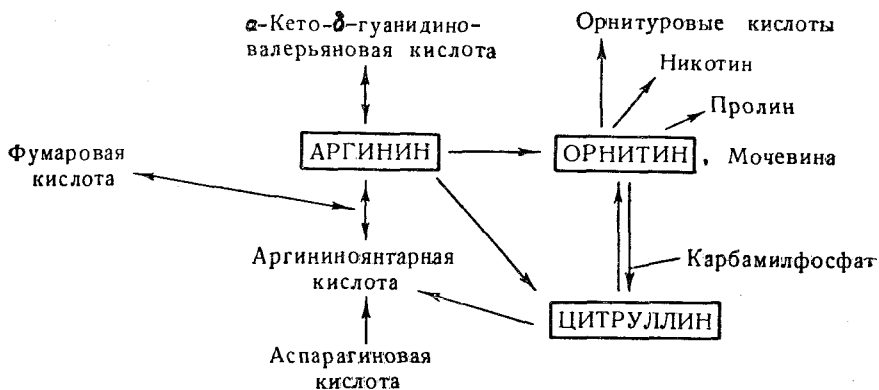


Эта система отличается от описанной выше ферментной системы, катализирующей синтез аргинина. Аргининдезимидаза была отделена от фермента, осуществляющего расщепление цитруллина. Превращение цитруллина в орнитин, CO_2 и NH_3 происходит в присутствии неорганического фосфата, ионов Mg и адениловой кислоты или аденозиндифосфата. То обстоятельство, что в этой системе образуется АТФ, привело к предположению, что реакция протекает с образованием фосфорилированного производного цитруллина [333—339]. В этой реакции арсенат может замещать неорганический фосфат, ионы Mg и нуклеотид. Рассматриваемое превращение, названное цитруллинфосфорилазной реакцией, происходит, по-видимому, путем фосфорокластического расщепления цитруллина с образованием орнитина и карбамилфосфата. Показано, что от карбамилфосфата остаток фосфорной кислоты переносится на аденозиндифосфат [49]. Следовательно, в расщеплении цитруллина участвует та же реакция, что и в его синтезе. Интересно отметить, что на вероятную роль карбамилфосфата и цитруллинфосфата некоторые исследователи указывали еще до того, как было установлено образование первого из названных соединений в качестве активного промежуточного продукта [337—340].

Орнитин, помимо его роли в цикле мочевинообразования, принимает участие также в других процессах обмена: он превращается в пролин (стр. 349) и в организме птиц соединяется с бензойной кислотой (стр. 267). По некоторым данным, орнитин является предшественником пирролидинового кольца никотина у растения табака [341] (см., однако, стр. 411).

Сакагути [342] приводит экспериментальные данные, указывающие на возможное наличие в белках связей, в которых участвует гуанидиновая группа аргинина. Подобная связь, по-видимому, должна легко гидролизываться кислотой. Имеются

указания на то, что предшественником гуанидиновых групп стрептомицина, возможно, является аргинин [343].



Фиг. 12. Сводная схема превращений аргинина, орнитина и цитруллина.

Описана аминокислотная оксидаза из печени индюка; этот фермент, обладает, по-видимому, относительно специфическим действием на L-диаминокислоты — аргинин, лизин, орнитин, превращая их в соответствующие α -кетокислоты [344].

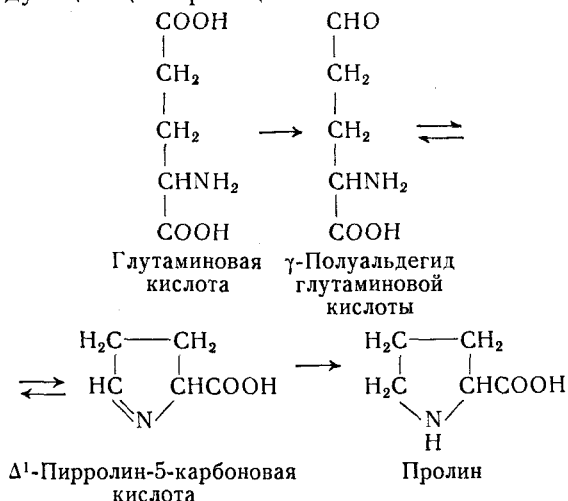
ПРОЛИН (фиг. 13)

При обсуждении промежуточного обмена пролина необходимо рассмотреть взаимоотношения этой аминокислоты с орнитином и глутаминовой кислотой. Поэтому в настоящий раздел включены некоторые данные, относящиеся к синтезу и распаду орнитина и глутаминовой кислоты; другие реакции обмена этих двух аминокислот рассмотрены в соответствующих разделах этой главы.

Биосинтез у микроорганизмов

Путь биосинтеза пролина у *Escherichia coli* изучали Фогель и Дэвис [345]. Они использовали мутантные штаммы этого организма, у которых блокированы различные стадии биосинтеза. Были выделены три типа мутантов, которые могли расти только в присутствии: а) пролина, б) пролина или γ -полуальдегида глутаминовой кислоты и в) пролина, γ -полуальдегида глутаминовой кислоты или глутаминовой кислоты. В культурах мутанта (а) накапливался γ -полуальдегид глутаминовой кислоты. Это соединение было выделено из культуральной среды, а также

синтезировано Фогелем и Дэвисом [345]. γ -Полуальдегид глутаминовой кислоты находится в равновесии со своей циклической формой — Δ^1 -пирролин-5-карбоновой кислотой; из последней путем ферментативного восстановления образуется пролин. Этот путь биосинтеза пролина встречается также у *Neurospora crassa* [346] и *Torula utilis* [347]; он может быть представлен в виде следующей цепи реакций:



Превращение глутаминовой кислоты в ее γ -полуальдегид происходит, возможно, путем реакций, аналогичных тем, которые были установлены Блэком при изучении превращения аспарагиновой кислоты в β -полуальдегид аспарагиновой кислоты (стр. 333). Восстановление Δ^1 -пирролин-5-карбоновой кислоты в пролин было изучено в опытах с препаратами из *N. crassa* и *E. coli*; для этой реакции необходимо присутствие дифосфопиридиннуклеотида или трифосфопиридиннуклеотида [348].

У микроорганизмов γ -полуальдегид глутаминовой кислоты и его α -N-ацетилпроизводное являются также предшественниками орнитина. Фогель [349—351] изучил мутант *E. coli*, нуждающийся в орнитине и накапливающий в процессе роста γ -полуальдегид N-ацетилглутаминовой кислоты. Это соединение вступало в реакцию переаминирования с глутаминовой кислотой с образованием α -N-ацетилорнитина, который путем гидролиза превращался в орнитин. Данные, полученные в опытах с изотопами, подтвердили предположение, по которому ацетилирование глутаминовой кислоты является первым звеном в цепи реакций, представленных ниже:

при переаминировании орнитина, может путем циклизации и восстановления переходить в пролин. Проблема синтеза орнитина у микроорганизмов подробно рассмотрена Дэвисом [118] и Фогелем [352].

Обмен пролина у млекопитающих

Взаимоотношения между пролином, глутаминовой кислотой и орнитином в тканях млекопитающих сходны с теми, которые обнаружены у микроорганизмов. Первые указания на эти взаимоотношения были получены в исследованиях по биохимии питания (стр. 123); прямые доказательства дали опыты с применением изотопов. Так, например, у крыс после скармливания им меченой глутаминовой кислоты изотопная метка содержится в пролине и аргинине [355, 356]. При скармливании N¹⁵-пролина изотоп был обнаружен в глутаминовой кислоте, аргинине и орнитине [357]. Установлено также превращение орнитина, меченного дейтерием, в пролин и глутаминовую кислоту [358]. В опытах со срезами печени и почек было показано превращение пролина в глутаминовую кислоту [359, 360].

Исследована возможность образования при этих реакциях ряда промежуточных продуктов, в том числе α -кето- δ -амино-валерьяновой кислоты (или продукта ее циклизации — Δ^1 -пирролин-2-карбоновой кислоты), γ -полуальдегида глутаминовой кислоты (Δ^1 -пирролин-5-карбоновой кислоты), 2-пирролидон-5-карбоновой кислоты и α -амино- δ -оксивалерьяновой кислоты. Результаты опытов с *E. coli* и срезами почек указывают на то, что α -амино- δ -оксивалерьяновая кислота, вероятно, не является промежуточным звеном. Хотя она используется *Neurospora*, но началу роста предшествует латентный период. По-видимому, при этом происходит превращение названной кислоты в более активное промежуточное соединение, вероятно в γ -полуальдегид глутаминовой кислоты [345, 360, 361]. Даных, которые говорили бы в пользу промежуточного образования 2-пирролидон-5-карбоновой кислоты, нет, хотя известно, что L-изомер этого соединения быстро подвергается обмену в организме кроликов и может замещать глутаминовую кислоту в питании некоторых микроорганизмов [362]. В противоположность L-изомеру D-пирролидон-карбоновая кислота выводится с мочой после приема ее с пищей, а также после скармливания D-глутаминовой кислоты [363, 364].

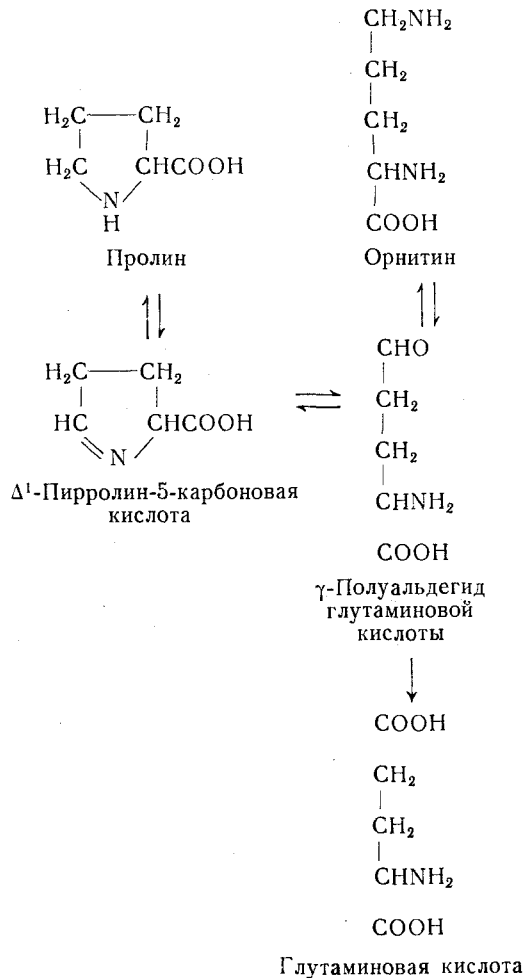
α -Кето- δ -аминовалерьяновая кислота, являющаяся продуктом окислительного дезаминирования D-пролина и D-орнитина оксидазой D-аминокислот, идентифицирована в виде 2, 4-динитрофенилгидразона [365]. Этот гидразон был выделен также после окисления L-пролина оксидазой L-аминокислот из почек крысы [366]. Свободная α -кетокислота была получена путем окисли-

тельного дезаминирования δ -N-карбобензоксиг-L-орнитина посредством оксидазы L-аминокислот из яда змей; после удаления защитной группы устанавливается равновесие между α -кето- δ -аминовалерьяновой кислотой и продуктом ее внутримолекулярной циклизации, Δ^1 -пирролин-2-карбоновой кислотой. Последнее соединение, по-видимому, не находится в равновесии с Δ^1 -пирролин-5-карбоновой кислотой. Рост некоторых мутантов *E. coli*, нуждающихся в пролине, поддерживается Δ^1 -пирролин-5-карбоновой кислотой, но не может быть обеспечен Δ^1 -пирролин-2-карбоновой кислотой [292]. В настоящее время нет убедительных данных, указывающих на возможность образования α -кето- δ -аминовалерьяновой кислоты в качестве промежуточного продукта при взаимопревращениях пролина, орнитина и глутаминовой кислоты.

Препараты почек кролика окисляют L-пролин в соединение, которое, вероятно, представляет собой γ -полуальдегид глутаминовой кислоты [367, 368]. Это соединение было получено также при переаминировании между орнитином и рядом α -кетокислот в препаратах печени крысы (стр. 226). Совокупность данных говорит за то, что γ -полуальдегид глутаминовой кислоты является промежуточным звеном в превращении пролин—орнитин—глутаминовая кислота, хотя это и не доказано однозначно.

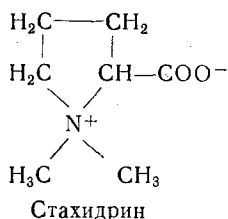
После скармливания крысам N^{15} -глицина в α - и δ -аминогруппах орнитина находили эквивалентные концентрации изотопа [369]. Эти результаты можно объяснить либо перемещением α -аминогруппы орнитина в δ -положение, либо тем, что источником образования обеих аминогрупп служит один и тот же азотистый предшественник. Стеттен [370] скармливала крысам в течение 9 дней DL-орнитин, меченный N^{15} в α - или δ -положении. В α -аминогруппы аргинина тканевых белков переходило очень мало изотопного азота из δ -аминогруппы орнитина. В образовании пролина эта группа участвовала в гораздо меньшей степени, чем α -аминогруппа, тогда как большая часть аминогрупп глутаминовой кислоты образовалась за счет δ -аминогруппы орнитина. Возможно, что на этих результатах отразилось в известной мере использование в опытах рацемических препаратов орнитина. Однако появление в моче значительных количеств D-орнитина показывает, что большая часть D-орнитина не подвергалась превращениям в организме. Полученные данные согласуются с возможностью первоначального превращения орнитина в γ -полуальдегид глутаминовой кислоты с переходом δ -аминогруппы в подвижный метаболический фонд азота, который, по-видимому, находится в равновесии с глутаминовой кислотой. Это объяснение согласуется с тем, что α -аминогруппа орнитина оказалась преимущественным предшественником азота пролина.

Пока не получено данных, подтверждающих или исключающих участие α -ацетил- или других α -ацилпроизводных глутаминовой кислоты или ее γ -полуальдегида в обмене у млекопитающих. Восстановление γ -полуальдегида глутаминовой кислоты в пролин в присутствии восстановленного дифосфопиридиннуклеотида было установлено в опытах с препаратами печени [1093]. Активность орнитин-трансаминазы обнаружена как в препаратах из тканей млекопитающих, так и у микроорганизмов (стр. 226). Совокупность данных указывает на наличие в организме животных следующих превращений:

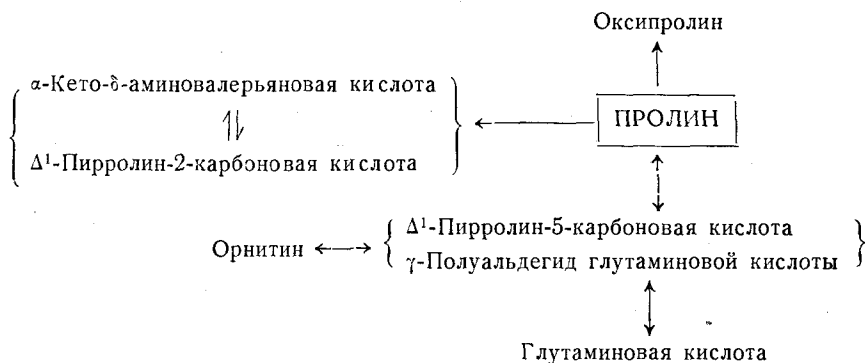


Обмен пролина у растений

Клейн и Линзер [372] показали, что у некоторых растений при введении пролина повышается образование метилбетанина пролина — стахидрина [371, 378, 389].



У люцерны 2-С¹⁴-орнитин не включался в стахидрин [373]. Эти данные показывают, что в этом растении не происходит замет-



Фиг. 13. Сводная схема превращений пролина.

ного превращения орнитина в пролин; пролин образуется у люцерны в основном за счет превращения глутаминовой кислоты — возможно, через γ-полуальдегид глутаминовой кислоты.

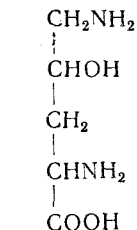
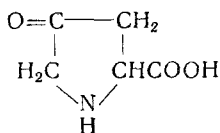
ОКСИПРОЛИН (фиг. 14)

L-Оксипролин был найден в кислотных гидролизатах немногих белков, в частности в коллагене и в меньших количествах в эластине. Распространение его в природе, очевидно, ограничивается преимущественно белками соединительной ткани животных. Значение оксипролина в строении коллагена рассмотрено в статье Густавсона [1094]. До сих пор не найдено организмов, нуждающихся для роста в этой аминокислоте. При выращивании *Sarcina lutea* в присутствии оксипролина он накапливается

в клетках и в культуральной среде этого микроорганизма [374]. *алло-L-Оксипролин* был найден в сандаловом дереве (в свободном состоянии) и в кислотных гидролизаторах фаллоидина (стр. 61). Недавно установлено присутствие оксипролина в кислотных гидролизатах белков из ткани моркови, растущей в тканевой культуре [1095].

После введения крысам в течение трех дней пролина, меченого N^{15} и дейтерием, среди выделенных из тушки аминокислот наиболее интенсивно меченым оказался оксипролин (если не считать самого пролина). Отношение $N^{15} : D$ в выделенном оксипролине показывало, что превращение пролина в оксипролин сопровождалось потерей примерно половины дейтерия, связанного с атомами углерода в молекуле пролина [357]. Эти данные указывают на прямое превращение пролина в оксипролин, но не исключают возможности существования других путей биосинтеза оксипролина. Когда крысам скармливали рацемический N^{15} -оксипролин, лишь около 0,1% оксипролина, выделенного из тушки, имело метку [375]. Эти результаты согласуются с малой скоростью обновления коллагена (стр. 274); однако при введении крысам меченого пролина в оксипролин тушки включалось значительно больше изотопа, чем при скармливании меченого оксипролина. Меченый азот оксипролина, введенный с пищей, переходил во многие аминокислоты тела, в особенности в глутаминовую и аспарагиновую кислоты. Эти данные указывают на быстрый распад оксипролина в организме крысы. На основании этих результатов Стеттен [375] предполагает, что большая часть оксипролина в тканях животного образуется, вероятно, из пролина, входящего в состав пептидных цепей, а не из свободного оксипролина.

Виткоп и сотрудники [1096, 1097] изучали различные соединения, которые могли бы участвовать в обмене пролина и оксипролина, в том числе γ -оксиорнитин и γ -кетопролин:

 γ -Оксиорнитин γ -Кетопролин

Виткоп и Бейлер [1097] осуществили химическим путем превращение стереоизомеров γ -оксиорнитина в соответствующие изомеры оксипролина.

Вполне вероятно, что оксипролин у крысы образуется из пролина; обратная реакция, по-видимому, не протекает в сколько-нибудь значительном масштабе, так как оксипролин в противоположность пролину не замещает аргинин в диете, предназначенной для обеспечения оптимального роста молодых крыс [376]. Оксипролин не обеспечивает рост мутантов *Escherichia coli*, нуждающихся в пролине [377]. Между тем было найдено, что у этого организма оксипролин конкурирует с глюкозой в синтезе пролина [239]. Природа этого интересного эффекта неясна. Если в препаратах оксипролина, использованных в этих опытах, присутствовала небольшая примесь пролина, то одно это могло бы объяснить полученные результаты.

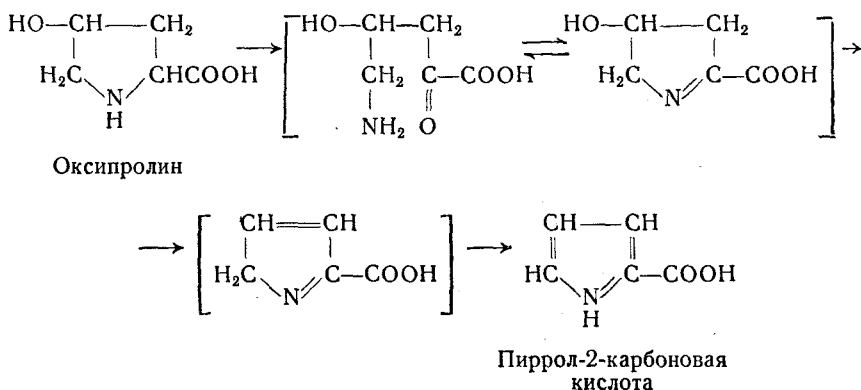
Уже давно установлено, что оксипролин обладает гликогенетическим действием [379, 380]. Данные, полученные *in vitro*, свидетельствуют о превращении его в глутаминовую кислоту и глутамин [359]. Исследования Стеттен [357—375] согласуются с этим представлением. Крысам вводили DL-оксипролин, меченный C^{14} по α -углеродному атому. Среди аминокислот, выделенных из тканей, наибольшая удельная активность была обнаружена в глутаминовой кислоте; в аспарагиновой кислоте и оксипролине содержалось примерно одинаковое количество изотопа, а в пролине его было совсем мало. В глутаминовой кислоте наибольшая концентрация изотопа была найдена в α -углеродном атоме; эти данные указывают на превращение оксипролина в глутаминовую кислоту [381]. В недавних исследованиях с меченым оксипролином получены указания на существование двух путей его обмена. Один путь приводит к образованию глутаминовой кислоты, а другой — к образованию аланина или близкого к нему соединения [1098].

Адамс [1091] изучал обмен оксипролина у адаптированного штамма *Pseudomonas*. В растворимых экстрактах из этого организма как L-оксипролин, так и алло-D-оксипролин превращались в глутаминовую кислоту. D-Оксипролин и алло-L-оксипролин практически не подвергались превращению. В виде глутаминовой кислоты была обнаружена только половина утилизированного оксипролина.

Исследования с применением препаратов печени и почек показали, что L-пролин окисляется через глутаминовую кислоту до CO_2 и NH_3 . Участвующий в этом процессе фермент, пролин-оксидаза, действует также на L-оксипролин [367, 1092]; по-видимому, она отличается от оксидазы L-аминокислот. Оксипролин окисляется в этой системе не до конца; в процессе окисления накапливается продукт, 2,4-динитрофенилгидразон которого является, как предполагают, производным γ -полуальдегида γ -оксиглутаминовой кислоты. Имеющиеся данные не позволяют

судить о природе промежуточных продуктов, образующихся в процессе превращения оксипролина в глутаминовую кислоту.

D-Аминокислотная оксидаза почек окисляет D-пролин в α -кето- δ -аминовалерьяновую кислоту [365] и в отсутствие каталазы — в γ -аминомасляную кислоту [382]; при окислении же D-оксипролина или *алло*-D-оксипролина в присутствии каталазы образуется пиррол-2-карбоновая кислота [382]. Образование пиррол-2-карбоновой кислоты из промежуточного продукта окисления (вероятно, из соответствующей α -кетокислоты, находящейся в равновесии со своей циклизированной формой) происходит неферментативным путем и катализируется кислотами:



Пиррол-2-карбоновая кислота была найдена также в числе продуктов расщепления мукопротеидов и сиаловой кислоты [383, 1099].



Ф и г. 14. Сводная схема превращений оксипролина.

ИЗОЛЕЙЦИН, ЛЕЙЦИН И ВАЛИН (фиг. 15)

Превращения этих трех аминокислот с разветвленной углеродной цепью для удобства можно обсуждать совместно. Первую ступень распада этих аминокислот и последнюю ступень в их биосинтезе представляют реакции переаминирования (см. стр. 210). Ниже обсуждается преимущественно обмен углеродных скелетов этих аминокислот.

Биосинтез

Боннер и сотрудники [384] выделили мутант *Neurospora crassa*, нуждающийся для роста в изолейцине и валине, и это явилось отправной точкой для ряда исследований, посвященных биосинтезу названных аминокислот. Благодаря применению изотопных, ферментативных и генетических методов мы довольно хорошо осведомлены о главных ступенях биосинтеза валина, изолейцина и лейцина.

Результаты ранних исследований на мутантах *Neurospora* и *Escherichia coli* показали, что ближайшими предшественниками валина и изолейцина являются α -кетонизовалерьяновая и соответственно α -кето- β -метилвалерьяновая кислоты [354, 385—387]. Были получены мутанты с абсолютной потребностью в изолейцине и частичной — в валине. Такие организмы не растут при добавлении соответствующих α -кетокислот; мало того, они накапливают α -кетоаналоги валина и изолейцина при выращивании на среде, содержащей минимальные количества этих двух аминокислот [387, 388]. На основании изучения условий роста таких мутантов можно заключить, что у них нарушена реакция переаминирования в биосинтезе изолейцина. Проверка ферментативной активности подтвердила, что мутанты лишены трансаминазы, катализирующей образование изолейцина из α -кето- β -метилвалерьяновой кислоты [390]. Отсутствием этого фермента обусловлена также частичная потребность мутанта в валине. Клетки мутанта и дикого штамма могут синтезировать некоторое количество валина путем переаминирования между α -кетонизовалерьяновой кислотой и аланином или α -аминомасляной кислотой, но активность трансаминазы, участвующей в этой реакции, недостаточна для снабжения мутанта валином в количестве, необходимом для оптимального роста [390, 391]. При повторных пересевах мутанта на среде с низкой концентрацией валина наблюдается повышение активности валин-аланин-трансаминазы. Такие культуры не требуют (или почти не требуют) дополнительного снабжения валином для оптимального

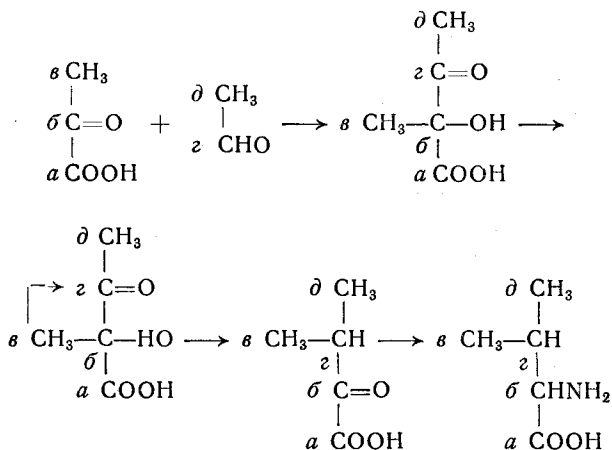
роста [391]. После обнаружения этих ферментных систем было найдено, что в питании первоначально использованных мутантов аланин и α -аминомасляная кислота могут замещать валин; эти данные согласуются со схемой, предложенной рядом авторов [390, 391]. Другие особенности системы трансминаз, участвующих в этих превращениях, рассмотрены в гл. III (стр. 210).

Вероятными предшественниками α -кето- β -метилвалерьяновой и α -кетоизовалерьяновой кислот являются α , β -диоксикислоты, накапливающиеся в культурах некоторых мутантов, у которых блокирован этап биосинтеза, предшествующий реакции переаминирования [392—394]. Такие мутанты могут расти при добавлении соответствующих диоксикислот; фермент, дегидратирующий эти диоксикислоты с образованием α -кетокислот, был выделен как из *E. coli*, так и из *N. crassa*. В настоящее время показано, что образование α -кетоизовалерьяновой и α -кето- β -метилвалерьяновой кислот катализирует один и тот же фермент [395, 396].

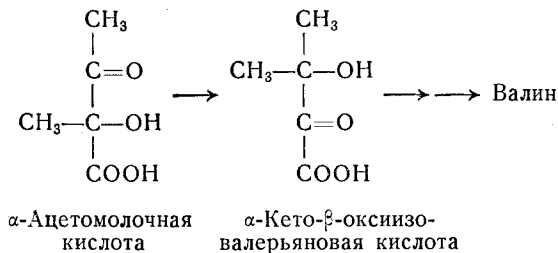
Ряд исследований указывал на наличие взаимосвязей треонина, α -аминомасляной кислоты и соответствующих им α -кетокислот с изолейцином и валином. Так, например, изолейцин-дефектные мутанты *E. coli* могут использовать для роста L- и D-треонин, гомосерин или α -аминомасляную кислоту [386—397]. Было показано, что при этом углерод треонина действительно представляет источник четырех углеродных атомов в молекуле изолейцина [396, 398] (стр. 335).

В изотопных исследованиях, проведенных на *Neurospora* и на *Torula utilis*, получены новые важные данные о происхождении диоксикислот, играющих роль предшественников α -кетоизовалерьяновой и α -кето- β -метилвалерьяновой кислот. На основании опытов с C^{14} -уксусной кислотой было высказано предположение, что прямые четырехуглеродные цепи в молекулах валина и изолейцина имеют общее происхождение [399]. Однако дальнейшие исследования, выполненные в двух лабораториях, показали, что углеродные остовы валина и изолейцина имеют различное происхождение, хотя реакции, участвующие в их образовании, сходны. Страссен и сотрудники [400, 401] изучали у *T. utilis* включение углерода молочной кислоты в валин. Оказалось, что углерод карбоксильной группы молочной кислоты переходит только в карбоксильную группу валина, тогда как α -углеродный атом молочной кислоты является предшественником атомов C-2 и C-3 валина; углерод метильных групп валина имеет источником α -углеродный атом молочной кислоты. Особенно существенно наблюдение, что атомы C-2 и C-3 молекулы валина происходят оба от α -углеродного атома молочной кис-

лоты; это свидетельствует об образовании связи между α -углеродными атомами двух молекул молочной кислоты в процессе образования валина. Возможный механизм превращения показывается нижеследующая схема:

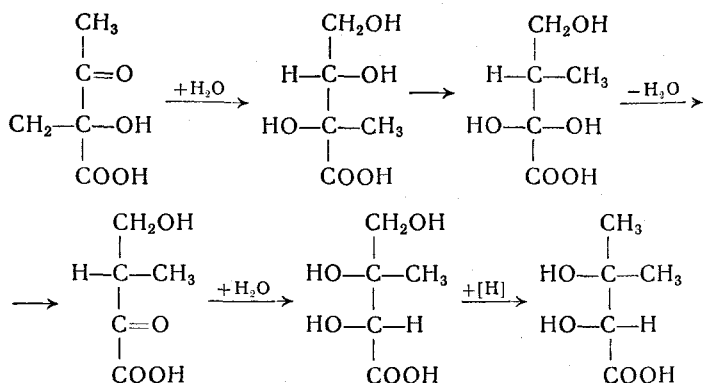


Согласно этой схеме, пировиноградная кислота конденсируется с ацетальдегидом в α -ацетомолочную кислоту, у которой в результате превращения типа пинаколиновой перегруппировки метильная группа перемещается из α -положения в β -положение. Путем перегруппировки из α -ацетомолочной кислоты может образовываться и α -кето- β -оксиизовалерьяновая кислота, которая также может служить предшественником валина:



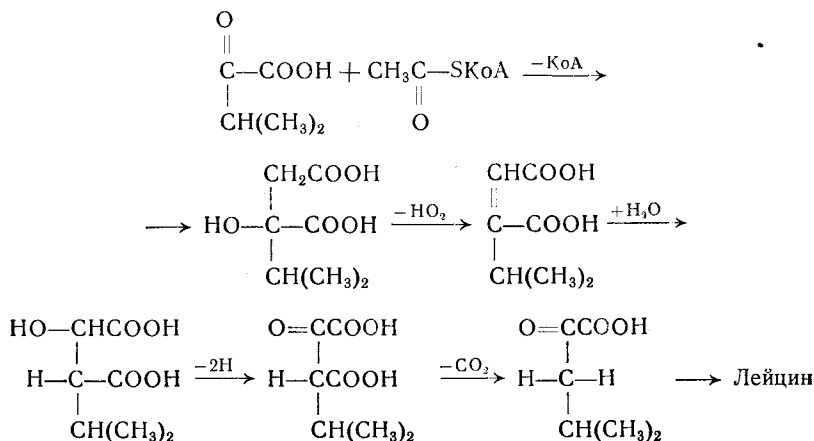
Эдельберг [396], опираясь на данные исследований о биосинтезе валина у *Neurospora*, предполагает аналогичную внутримолекулярную перегруппировку; его схема несколько отличается

от схемы, приведенной выше:



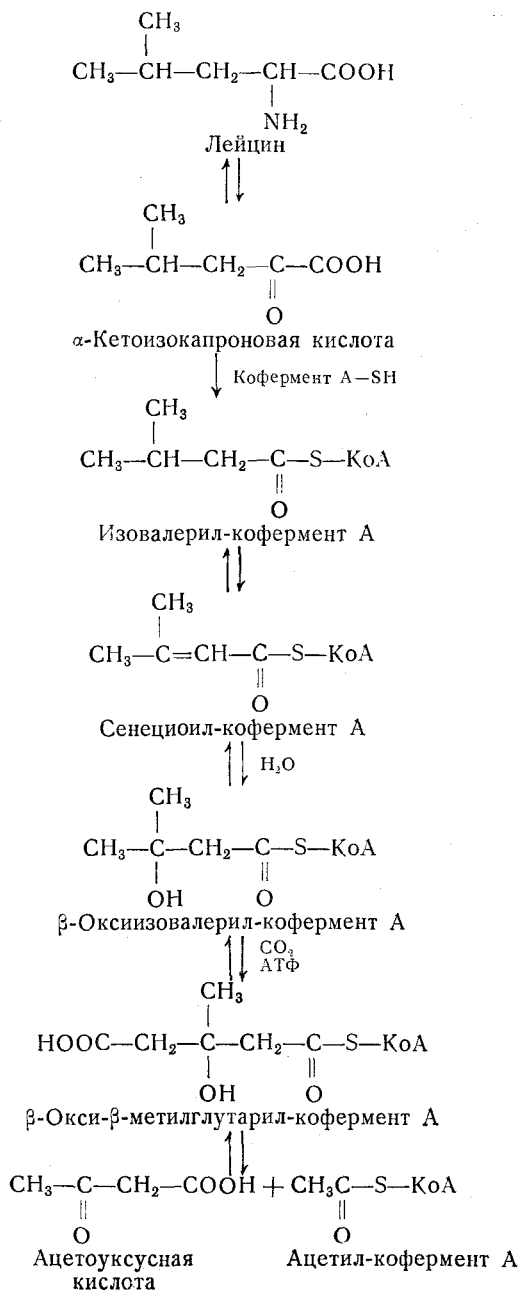
Эта цепь реакций поясняет образование диокислоты в качестве предшественника валина. Обе схемы согласуются с экспериментальными данными об образовании скелета валина и пировиноградной кислоты из углеродных атомов уксусной кислоты и CO_2 [402—404].

Имеются данные, которые свидетельствуют о том, что синтез изолейцина происходит аналогичным путем. Предполагают, что ацетальдегид, образующийся из пировиноградной кислоты, конденсируется с α -кетомасляной кислотой. Последующие превращения аналогичны реакциям, приведенным выше для валина [398, 403, 405, 406]. Возможно также, что первоначально конденсируются пировиноградная и α -кетомасляная кислоты с образованием семичленного промежуточного продукта, подвергающегося декарбоксилированию после перемещения боковой цепи. При биосинтезе валина также возможна аналогичная конденсация двух молекул пировиноградной кислоты. Данные опытов с мечеными предшественниками согласуются с изложенными выше предположениями, однако выяснение истинной природы промежуточных продуктов и их превращений остается задачей будущих исследований. Страсмен и Вайнхауз [407] рассчитали теоретическое распределение углеродных атомов метильной и карбоксильной групп уксусной кислоты в молекуле синтезируемого изолейцина, исходя из допущения, что источником α -кетомасляной кислоты является аспарагиновая кислота, которая в свою очередь образуется из щавелевоуксусной кислоты через цикл лимонной кислоты. Наблюдаемое распределение метки в выделенном изолейцине хорошо согласуется с рассчитанными величинами. Предусматриваемые приведенными выше схемами перемещения метильной и этильной групп представляют собой



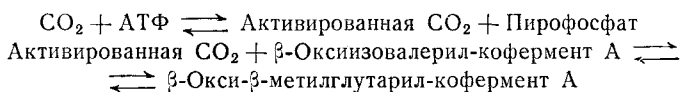
Распад моноаминокислот с разветвленной углеродной цепью

Пути распада валина, изолейцина и лейцина изучены в опытах с тканями млекопитающих. По-видимому, превращения этих аминокислот аналогичны: все они подвергаются переаминированию с образованием соответствующих α -кетокислот и затем необратимому окислительному декарбоксилированию с превращением остатков скелета в соответствующие ацилпроизводные кофермента А. В ранних исследованиях было установлено, что при превращении лейцина и изовалерьяновой кислоты в организме млекопитающих образуются кетоновые тела [413—415]. Отдельные этапы превращения лейцина в ацетоуксусную кислоту были выяснены при помощи изотопных методов и в последнее время — в исследованиях с ферментами. В опытах с изотопным углеродом установлено, что атомы С-1 и С-2 изовалерьяновой кислоты, соответствующие α - и β -углеродным атомам молекулы лейцина, дают начало двухуглеродным остаткам, которые могут конденсироваться с образованием ацетоуксусной кислоты [416—419]. Углеродные атомы метильных групп изопропильного остатка становятся углеродными атомами метильной и метиленовой групп ацетоуксусной кислоты. γ -Углеродный атом молекулы лейцина (или атом С-3 изовалерьяновой кислоты) переходит в карбонильный углерод ацетоуксусной кислоты. При этих исследованиях было доказано также включение CO_2 в карбоксильную группу ацетоуксусной кислоты [418, 420]. Ферментативные опыты Куна и сотрудников [421—423, 1102] привели к установлению представленных ниже промежуточных продуктов и реакций:



По аналогии с превращением пирувата в ацетилкофермент А предполагают, что при декарбоксилировании α -кетоизокапроновой кислоты образуется изовалерил-кофермент А, который окисляется до сенециоил-кофермента А (аналогично реакциям жирных кислот с неразветвленной цепью [424, 425]). Превращение сенециоил-кофермента А в β -оксиизовалерил-кофермент А было показано в опытах с препаратами сердечной мышцы и с очищенными препаратами кротоназы печени — фермента, катализирующего взаимопревращение кротонил- в β -оксибутирил-кофермента А. Присоединение CO_2 к β -оксиизовалерил-коферменту А с образованием β -окси- β -метилглутарил-кофермента А происходит, по-видимому, при участии АТФ. β -Окси- β -метилглутарил-кофермент А получен синтетически; он расщепляется препаратами из сердца свиньи (в присутствии цистеина или глутатиона) с образованием ацетоуксусной кислоты и ацетилкофермента А [426]. Приведенная схема распада лейцина находится в соответствии с известными кетогенными свойствами этой аминокислоты. Поскольку реакция декарбоксилирования в этом процессе необратима, эта схема согласуется с тем, что животные не могут синтезировать лейцин из каких-либо промежуточных продуктов обмена, за исключением соответствующей ему α -кетокислоты (или α -оксикислоты).

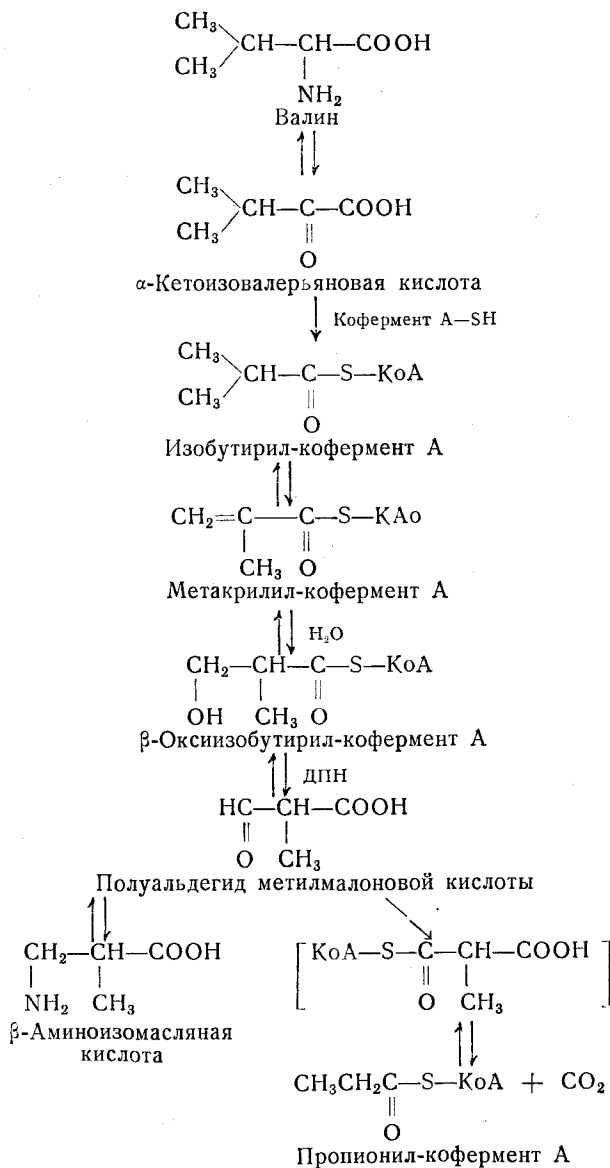
Согласно данным Куна [421], АТФ, возможно, реагирует с CO_2 , образуя «активированную» двуокись углерода, способную присоединяться к β -оксиизовалерилкоферменту А с образованием β -окси- β -метилглутарил-кофермента А¹:



Распад валина происходит путем цепи ферментативных реакций, сходных с реакциями, участвующими в обмене лейцина, однако конечные продукты превращений этих аминокислот различны. Уже давно известно, что валин служит источником образования гликогена [427—430]. Судя по данным опытов с исполь-

¹ В 1959 г. Ф. Линен и сотрудники установили, что «активированная углекислота», возникающая в процессах обратимого ферментативного декарбоксилирования-карбоксилирования, представляет собой лабильный продукт присоединения CO_2 к остатку биотина в биотинсодержащих ферментах. В описанном выше превращении лейцина в ацетоуксусную кислоту участвует биотиновый фермент (карбоксилаза β -метилкротонил-кофермента А); его карбоксипроизводное (СОО-биотин-энзим) переносит карбоксильный остаток на β -метилкротонил-кофермент А (сенециоил-кофермент А в приведенной выше схеме) с образованием метилглутаконил-КоА, который затем присоединяет молекулу воды, превращаясь в β -окси- β -метилглутарил-КоА (F. Lypen et al., *Angewandte Chemie*, 71, 481, 1959). — *Прим. ред.*

зованием изотопов, валин расщепляется с образованием кислоты с трехуглеродной цепью, которая может участвовать в синтезе гликогена [429, 430]. Схема превращений валина, приведенная ниже, согласуется с экспериментальными данными [421, 423, 431]:



Образование метакрилил-кофермента А предполагается по аналогии с промежуточными реакциями распада лейцина. Опыты с ферментными препаратами свидетельствуют о возможности гидратирования этого соединения с образованием β -окси-изобутирил-кофермента А. Изобутирильный остаток этого соединения, вероятно, превращается в пропионовую кислоту [432],

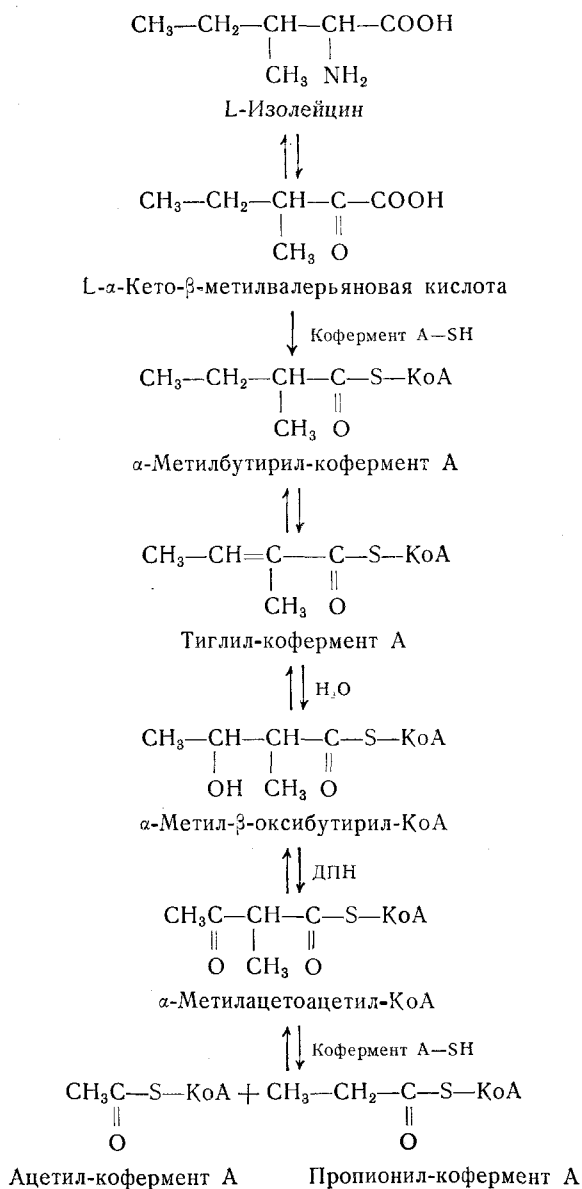


Фиг. 15. Сводная схема превращений изолейцина, лейцина и валина.

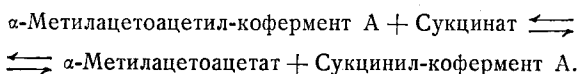
углеродные атомы которой имеют источником изопропильную группу валина. β -Оксиизобутирил-кофермент А, по-видимому, превращается в β -оксиизомасляную кислоту, которая может переходить в полуальдегид метилмалоновой кислоты. Для последнего соединения возможно переаминирование с образованием β -аминоизомасляной кислоты (являющейся также продуктом распада тимиана) или окисление в метилмалоновую кислоту. Описано карбоксилирование пропионил-кофермента А при участии CO_2 [433].

При некоторых условиях изолейцин обладает кетогенными свойствами, при других условиях он превращается в углеводы [434—436]. Кун и сотрудники [421, 423, 437—439] в своих исследованиях установили, что в срезах печени при распаде лейцина образуются как двухуглеродные, так и трехуглеродные фраг-

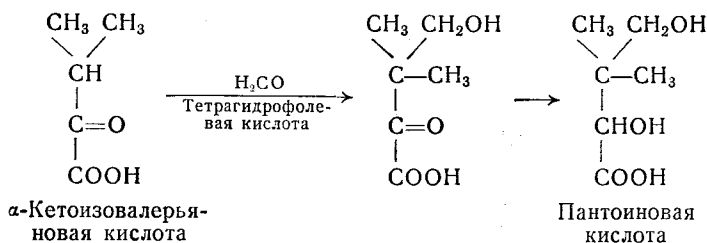
менты. Дальнейшие исследования этих авторов свидетельствуют в пользу приведенной ниже цепи превращений изолейцина:



Изолейцин превращается в α -кетокислоту, при окислительном декарбоксилировании которой образуется α -метилбутирил-кофермент А. Кун и его сотрудники нашли, что тиглиновая кислота (*цис*-2-метилкротоновая кислота) гидратируется препаратами из печени и сердца или очищенной кротоназой. Превращение тиглил-кофермента А в ацетил-кофермент А предполагается на основании образования лимонной кислоты в системах, содержащих щавелевоуксусную кислоту и ДПН. Последние две реакции приведенной выше схемы представляются вероятными по аналогии с промежуточными реакциями на пути окисления жирных кислот с неразветвленной цепью [440] и недавно доказаны экспериментально [439]. Из сердца свиньи получена очищенная трансфераза кофермента А, катализирующая следующую реакцию:



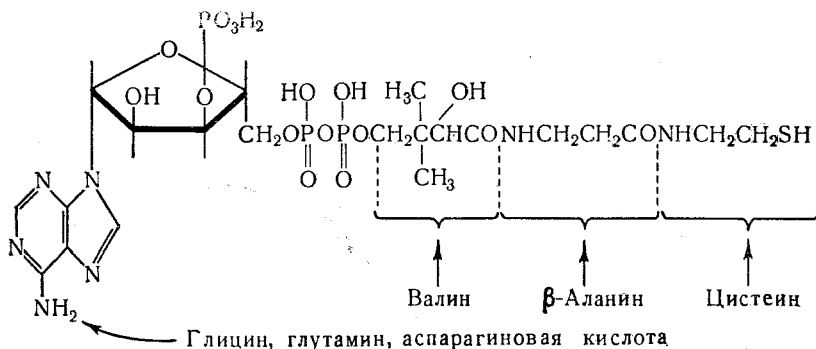
Аминокислоты с разветвленной цепью являются, вероятно, предшественниками некоторых родственных им по структуре природных соединений. Так, например, у *E. coli* [441, 442] из α -кетоизовалерьяновой кислоты образуется пантоиновая кислота:



Имеется сообщение о наличии в гидролизатах *E. coli* [433] α -аминоаналога пантоиновой кислоты, однако Маас и Дэвис [444] оспаривают эти данные.

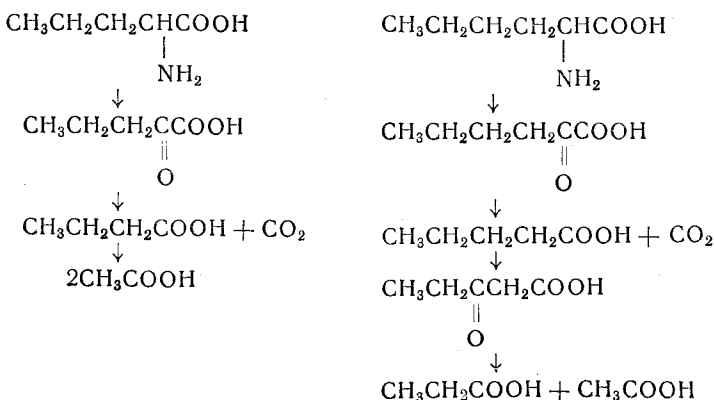
Образование пантотеновой кислоты изучали с применением полученного из *E. coli* очищенного фермента [445, 446], который катализирует образование пантотената из АТФ, пантоината и β -аланина. Экспериментальные данные указывают на то, что в этой реакции промежуточным звеном является образование связанного с ферментом комплекса пантоиновой и адениловой кислот (см. стр. 311). Можно отметить, что в построении моле-

кулы кофермента А принимают участие по крайней мере шесть аминокислот [1103]:



Валин служит также предшественником пенициллина (стр. 273). Роль лейцина, изолейцина и валина в образовании соединений с разветвленной цепью, участвующих в синтезе холестерина и каучука, рассматривалась на симпозиум, посвященном этой проблеме [447]. Отмечалось также, что эти аминокислоты могут участвовать в образовании каротиноидов [448]. Недавно β -метилмасляная и d - α -метилмасляная кислоты были обнаружены в жировой смазке шерсти собаки. Предполагают, что эти кислоты происходят из лейцина и соответственно изолейцина [449].

Хассан и Гринберг [450] исследовали превращения DL-норлейцина и DL-норвалина, меченных C^{14} , в организме крысы. Судя по выделению радиоактивной CO_2 , эти аминокислоты распадались довольно быстро, но в белки они, по-видимому, не включались. Гринберг [451] дает следующую схему катаболизма норвалина и норлейцина:

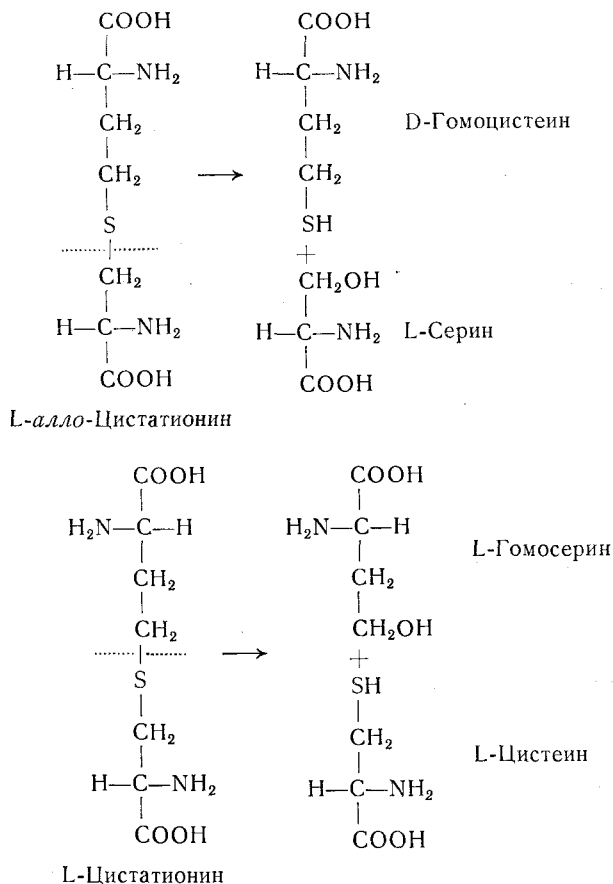


Первой ступенью в этих цепях реакций является переаминирование, приводящее к образованию α -кетокислот; эти реакции были показаны в ряде систем (табл. 22). Остальные этапы аналогичны реакциям окисления жирных кислот и реакциям окислительного распада аминокислот с разветвленной цепью.

МЕТИОНИН И ЦИСТЕИН (фиг. 16 и 17)

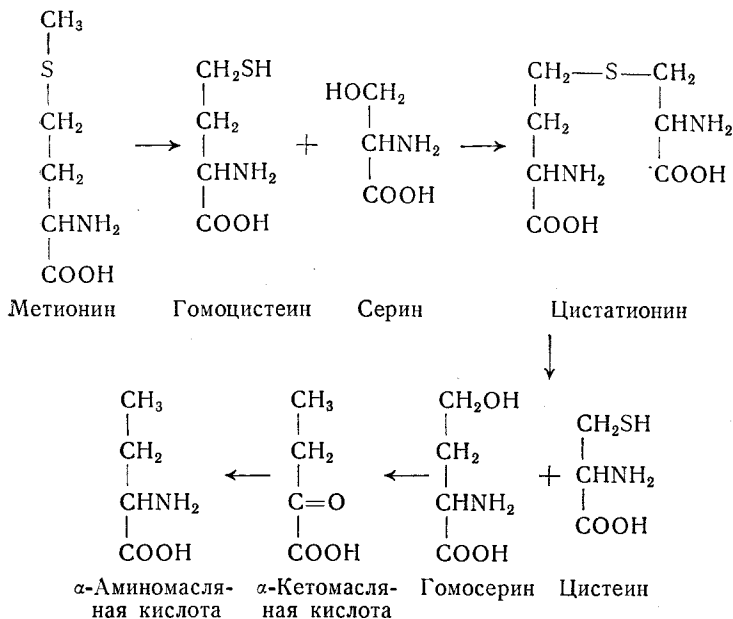
Образование и превращения цистатионина

Опыты по биохимии питания выявили заменимость цистеина (цистина) в диете. А именно было показано, что у крыс потребность в цистеине может удовлетворить метионин и что потребность в метионине частично может быть покрыта цистинном пищи (стр. 122). Эти результаты дали основание предполагать, что у крысы сера метионина переходит в серу цистина. Повышенное выделение цистина у больных цистинурией после введения метионина [452] и повышенное образование меркаптуровых кислот после совместного введения метионина и галлоидпроизводных бензола [453, 454] также указывали на возможность такого превращения. Тарвер и Шмидт [455], используя метионин, меченный S^{35} , получили прямое доказательство превращения серы метионина в серу цистина в организме крысы, а Стеттен [222] показала, что после введения крысам серина, меченного N^{15} , в тканях образуется цистин, содержащий высокую концентрацию изотопа. Бранд и сотрудники [457] наблюдали, что при введении гомоцистеина больным цистинурией они выделяют повышенные количества цистина; авторы предположили [458], что переход серы гомоцистеина в молекулу цистеина происходит через промежуточное соединение, S-(β -амино- β -карбокситил)-гомоцистеин, позднее названный цистатионином. Дю-Виньо и сотрудники [459—464] подтвердили этот путь превращения; ими показано, что акцептором серы служит молекула серина. Все четыре диастереоизомера цистатионина были синтезированы и исследованы в опытах по кормлению крыс [459, 465]. D-Изомеры оказались неактивными, L-цистатионин в опытах по поддержанию роста заменял цистеин пищи, тогда как L-алло-цистатионин стимулировал рост в отсутствие метионина при наличии холина в рационе. Авторы пришли к заключению, что L-цистатионин расщепляется в организме крысы на цистеин и гомосерин, тогда как при расщеплении L-алло-цистатионина образуется гомоцистеин и серин:



L-Цистатионин, меченный по сере, превращался в меченый цистин [464], а в опытах *in vitro* с препаратами печени крысы было найдено, что из него образуются цистеин и α -кетомасляная кислота [460, 462, 466]. Возможно, что α -кетомасляная кислота возникла из гомосерина, так как гомосерин, добавленный к ферментному препарату, вызывал образование этой кетокислоты. По-видимому, в организме может происходить аминирование α -кетомасляной кислоты в α -аминомасляную [467]. Последняя появляется в повышенных количествах в моче людей после приема метионина [468, 469]. При изучении фермента, осуществляющего конденсацию гомоцистеина и серина, оказалось, что он отличается от ферментной системы, расщепляющей цистатионин. Реакции образования и расщепления цистатионина

можно представить следующим образом:



Препараты печени В₆-авитаминозных крыс не катализируют образование цистеина из гомоцистеина и серина, если к гомогенатам не добавлен пиридоксальфосфат [470]; это свидетельствует об участии витамина В₆ в переносе серы через цистатионин. Оказалось, что пиридоксальфосфат необходим как для системы, синтезирующей цистатионин, так и для системы, расщепляющей его [471]¹. Для реакций β-замещения (или конденсации) проме-

¹ Участие пиридоксальфосфата в синтезе цистатионина и в его расщеплении на NH₃. α-кетомасляную кислоту и цистеин установлено одновременно Горяченковой (ДАН, 85, 603, 1952) и Бинкли [471], а его роль как кофермента гомосериндезаминазы — Браунштейном и Азарх (ДАН, 85, 385, 1952). Гринберг и сотрудники выделили из печени крысы в кристаллическом виде полифункциональный пиридоксальевый фермент, который катализирует описанные выше реакции — расщепление цистатионина с образованием NH₃, H₂S и пирувата и дезаминирование гомосерина (Y. Matsuo, D. M. Greenberg, J. Biol. Chem., 230, 545, 561, 1958; 234, 507, 516, 1959); другой пиридоксальевый фермент, выделенный в очищенном виде из печени крысы, по-видимому, совмещает функцию синтеза цистатионина из серина и гомоцистеина с активностью сериндегидратазы или сериндезаминазы. — Прим. ред.

жуточных шиффовых оснований Снелл и сотрудники сформулировали механизм, который объясняет роль витамина В₆ в этих превращениях (стр. 255).

Установлено, что препараты печени крысы осуществляют дезаминирование гомосерина с образованием α -кетомасляной кислоты [472]; оказалось, что реакция катализируется специфической дезаминазой, не действующей на серин или треонин (см. примечание на стр. 366).

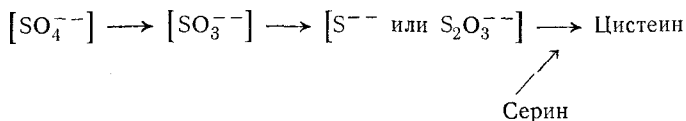
Бинкли [473] удалось отделить фермент, расщепляющий цистатионин, от фермента, синтезирующего его, путем избирательного инактивирования второго при нагревании до 50°. Кроме L-цистатинина, фермент расщепляет дженколовую кислоту, L-алло-цистатинин и лантионин [474].

Дальнейшее доказательство роли цистатинина в процессе пересульфирования получено в опыте с большим цистинурией, которому вводили S³⁵-метионин. Изотоп был обнаружен в цистине мочи [475]. Многие другие соединения также служат источниками серы цистеина. Найдено, что L-лантионин поддерживает рост крыс, получавших диету, недостаточную по цистину [476]. Сера гомолантионина [477, 478] и этионина [479] также может превращаться в серу цистина.

У крыс указанный путь образования цистеина, по-видимому, необратим. Однако у некоторых микроорганизмов синтез метионина из цистеина протекает путем цепи реакций, представляющей обращение рассмотренного выше процесса. Некоторые организмы, например *Neurospora*, катализируют эти реакции в обоих направлениях. Синтез метионина у *N. crassa* изучали с использованием нескольких мутантов, у которых были блокированы различные звенья биосинтетического процесса [235, 236, 480]. Так, были выделены мутанты, способные расти на средах, содержащих: а) метионин, б) метионин или гомоцистеин, в) метионин, гомоцистеин или цистатионин, а также мутанты, блокированные на стадии синтеза гомосерина или на стадии конденсации цистеина с гомосерином. Аналогичные мутанты *Escherichia coli* также подверглись изучению; в опытах с ферментами и с изотопами были получены данные, показавшие, что пути превращения цистеина в метионин у этого микроорганизма и у *Neurospora* аналогичны [483—486]. Цистатионин выделен из фильтратов культур некоторых мутантов *Neurospora* [480] и из мочи В₆-авитаминозных крыс [1104]. S³⁵-Цистатионин был обнаружен также в тканях млекопитающих в опытах с применением S³⁵-метионина [487, 488].

Таким образом, углеродная цепь цистеина как у млекопитающих, так и у микроорганизмов происходит из серина. Реакции обмена серина рассмотрены выше (стр. 319—323).

Механизм введения серы в углеродную цепь серина не ясен¹. Исследования на мутантах некоторых микроорганизмов дают указания на следующий путь [489, 1105, 1106]:



Возможно, что сероводород утилизируется в результате обращения реакций, катализируемых десульфгидразами цистеина и гомоцистеина (стр. 376); сульфит может использоваться путем обращения реакции расщепления β-сульфинилпириновинной кислоты (стр. 380).

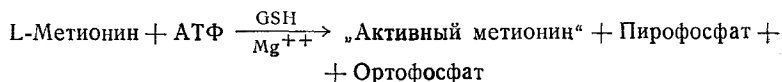
Трансметилирование

Деметилирование метионина с образованием гомоцистеина и обратное превращение являются важными процессами обмена. Опыты по кормлению крыс гомоцистеином показали, что как D-, так и L-изомер могут поддерживать рост в отсутствие метионина [456, 490]. Однако при некоторых рационах с недостаточным содержанием метионина гомоцистеин не обеспечивает рост, если к рациону не добавляется холин или иной донатор метильной группы [491—493]. Представление о переносе метильных групп, или трансметилировании, было выдвинуто впервые Гофмейстером в 1894 г. [494]; в исследованиях по биохимии питания оно получило экспериментальное подтверждение. Превращение метионина в гомоцистеин связано с образованием подвижной метильной группы, способной метилировать, например, такое соединение, как гуанидинуксусная кислота, с образованием креатина [495]. Другими примерами трансметилирования являются процессы переноса метильной группы от холина к гомоцистеину с образованием метионина и от метионина к карнозину с образованием ансерина [1107]. По данным Дю-Виньо и сотрудников, метильная группа переносится целиком: в процессе переноса метильного остатка, меченного изотопами углерода и водорода, не происходило потери дейтерия [496]. Однако концепция, согласно которой необходимо введение метильных групп с пищей, потребовала пересмотра, так как ряд наблюдений показал,

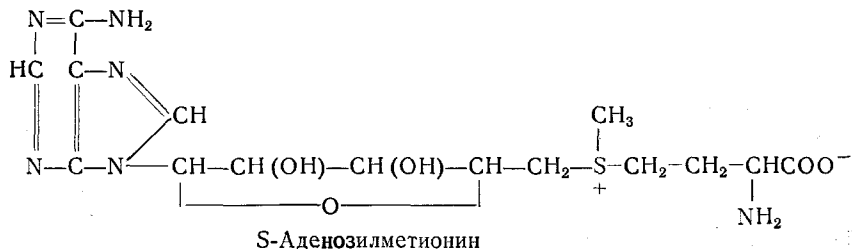
¹ Из дрожжей получен фермент (серинсульфгидраза), который при участии пиридоксальфосфата синтезирует L-цистеин путем замещения HO-группы серина HS-группой сероводорода (K. Schlossmann, F. Luyten, *Biochem. Z.*, 328, 591, 1957); другой, аналогичный фермент дрожжей образует S-метилцистеин из серина и метилмеркаптана (E. C. Wolff, S. Black, P. F. Doherty, *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 5958, 1956). — *Прим. ред.*

В исследованиях с применением N^{15} -бетаина показано, что атом азота этого соединения служит предшественником глицина, что указывает на полное деметилирование бетаина [514]. Описаны реакции трансметилирования с участием тетинов, например диметил- β -пропиотетина, диметилтетина [515, 516] и солей метилметионинсульфония [517—519].

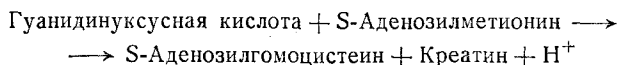
Реакции трансметилирования с участием «ониевых» соединений, таких, как бетаин или диметилтетин, не требуют наличия аденозинтрифосфата или других источников энергии. В противоположность этому процессы метилирования никотинамида за счет метионина [520, 521], метилирования норадреналина [522] и метилирования гуанидинуксусной кислоты [523—525] происходят только в присутствии аденозинтрифосфата. Для этих реакций необходимо «активирование» метионина аденозинтрифосфатом, которое, как показал Кентони [526—530, 1108], протекает согласно следующему уравнению:



«Активный метионин» имеет следующее строение:

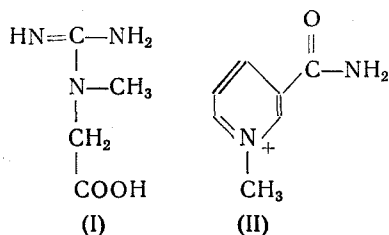


Кентони очистил фермент, катализирующий активирование метионина, и показал, что S-аденозилметионин может служить донатором метильной группы в отсутствие аденозинтрифосфата. В частности, метилирование гуанидинуксусной кислоты с образованием креатина протекает следующим путем:

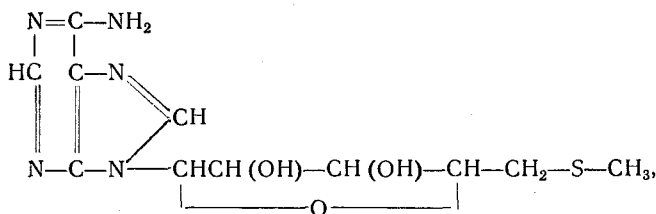


Реакция катализируется ферментом — метилферазой гуанидинуксусной кислоты. Установлено образование S-аденозилгомоцистеина; дальнейшие превращения этого соединения подлежат изучению. Метилирование никотинамида в N' -метилникотинамид происходит аналогичным путем, но под действием другого фермента — метилферазы никотинамида. Образованию креатина из

гуанидинуксусной кислоты сопутствует образование иона водорода, чего не наблюдается при метилировании никотинамида. Кентони объясняет это различие тем, что при синтезе гуанидинуксусной кислоты возникает третичный амин (I), тогда как при метилировании никотинамида образуется новое «ониевое» соединение (II), содержащее метилпиридиниевую группировку:



S-Аденозилметионин является, вероятно, предшественником 5'-тиометиладенозина



который содержится в различных микроорганизмах, в том числе в дрожжах [531—535]. У *Aerobacter aerogenes* тиометиладенозин, по-видимому, участвует в процессе синтеза метионина, протекающем с использованием α -аминомасляной кислоты [536]. В дрожжевых клетках метилмеркаптан используется для синтеза метионина, S-аденозилметионина и тиометиладенозина; в присутствии этилмеркаптана образуются этионин и тиоэтил-аденозин [537].

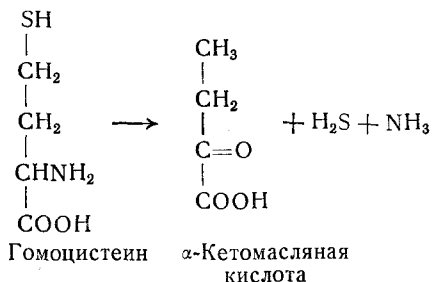
Метилметионинсульфоний и метионинсульфоксид могут поддерживать рост у крыс и у различных микроорганизмов [517, 519]. Метионинсульфоксид при этом, по-видимому, восстанавливается в метионин [538]. Что касается метилметионинсульфония, то имеются данные, указывающие на утилизацию его в результате переноса метильной группы к холину и креатину без предварительного образования метионина [539]; для обоснования этого предположения нужны дальнейшие исследования.

В работах, упомянутых выше, была показана возможность синтеза метильных групп в тканях крысы (стр. 371). Отношение витамина B₁₂ и фолевой кислоты к синтезу метильных групп

было выявлено в опытах по питанию крыс. Некоторым мутантам *Escherichia coli* для роста необходим либо метионин, либо витамин В₁₂. Как витамин В₁₂, так и фолевая кислота уменьшают потребность в пищевом холине, необходимом для предотвращения поражения почек у крыс и развития перозиса у цыплят [501, 504]. Как упоминалось выше, метильные группы могут синтезироваться путем восстановления «формиата». Имеются данные, показывающие, что предшественниками подвижных метильных групп могут служить метиловый спирт и формальдегид. Участие производных фолевой кислоты в переносе подвижных метильных групп и в процессе взаимопревращения серина и глицина не подвергается сомнению (стр. 327). Витамин В₁₂, по-видимому, играет также роль в обмене одноуглеродных остатков и в синтезе метильных групп за счет α-углеродного атома глицина. Последняя реакция протекает с пониженной интенсивностью при недостаточности витамина В₁₂, а также при недостаточности фолевой кислоты, витамина В₆ или пантотеновой кислоты [539]. Доказана возможность окисления метильных групп до СО₂ в целом организме [540, 581]. Так, например, после введения крысам метионина, меченного С¹⁴ в метильной группе, в выдыхаемом воздухе присутствовала С¹⁴О₂.

Другие превращения метионина

Один из главных путей обмена метионина, как это видно из сказанного выше, состоит в его деметилировании в гомоцистеин, который может путем пересульфирования превращаться в цистеин. Гомоцистеин может также окисляться в гомоцистин или в гомоцистеиновую кислоту [541] или подвергаться десульфидированию с образованием Н₂С, NH₃ и α-кетомасляной кислоты:

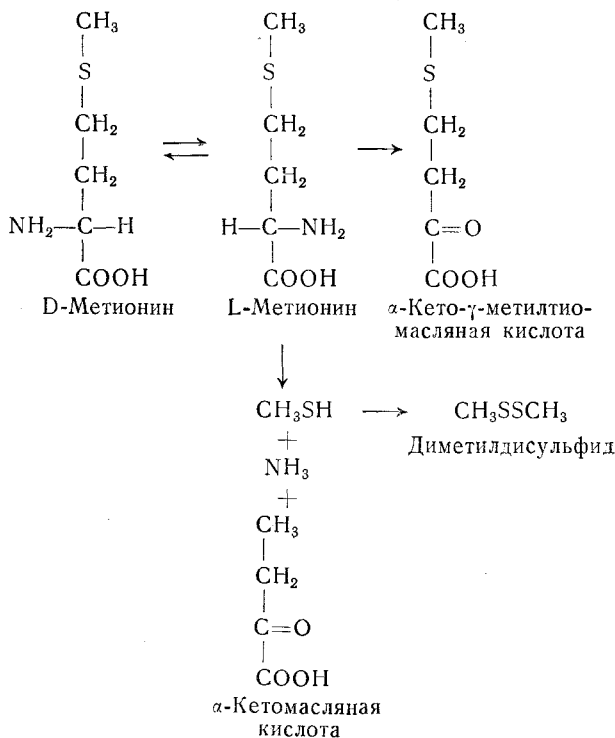


Фермент гомоцистеиндесульфгидраза, катализирующий эту реакцию, встречается в печени, почках и поджелудочной железе млекопитающих и в клетках *Proteus morganii* [545, 546]. Для действия бактериального фермента необходим пиридоксальфос-

фат. Фермент обладает некоторой активностью в отношении D-гомоцистеина, но более энергично расщепляет L-изомер [542].

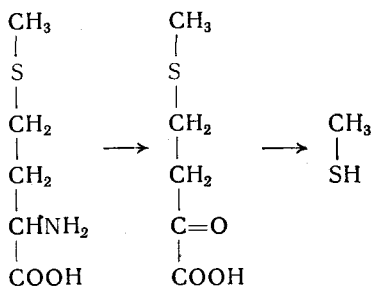
Метионин окисляется обычными аминокислотными оксидазами с образованием α -кето- γ -метилтиомасяной кислоты; эта реакция возможна для обоих изомеров метионина (стр. 186). Окисление D-метионина с последующим превращением образующейся α -кето кислоты в L-метионин путем переаминирования лежит, вероятно, в основе способности организма человека и крысы использовать D-метионин для роста. α -Кето- γ -метилтиомасяная кислота может распадаться в организме с образованием метилмеркаптана ([543, 544], см. ниже).

При разложении метионина некоторыми штаммами *Pseudomonas* в анаэробных условиях образуются аммиак, α -кетомасляная кислота и метилмеркаптан. Ферментную систему, осуществляющую эту реакцию, изучали в опытах с бесклеточными экстрактами; коферментом этой реакции оказался пиридоксальфосфат [547]. Экстракты из этих микроорганизмов содержат также L-аминокислотную оксидазу (стр. 187) и метионинрацемазу (стр. 243).



Другая бактериальная система, превращающая метионин в α -аминомасляную кислоту и метилмеркаптан, найдена у *E. coli* [548]; для ее действия необходимо присутствие АТФ и пиридоксальфосфата. Механизм этого превращения может быть тем же, что и у *Pseudomonas*, причем α -аминомасляная кислота образуется в результате переаминирования.

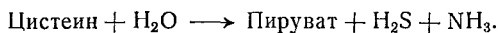
Образование метилмеркаптана из метионина наблюдали и при применении препаратов печени крысы. В этой системе предшественником метилмеркаптана, по-видимому, является α -кето- γ -метилтиомасляная кислота, из которой метилмеркаптан образуется значительно быстрее, чем из метионина [543, 544].



Характерный затхлый запах выдыхаемого воздуха у больных с тяжелыми поражениями печени («fetor hepaticus»), возможно, обусловлен метилмеркаптаном, образующимся при распаде метионина. На поздних стадиях заболеваний печени метилмеркаптан обнаруживается и в моче больных [1109]. При введении в организм крысы метилмеркаптана, меченного C^{14} и S^{35} , углерод метильной группы и сера метилмеркаптана выделяются соответственно в виде CO_2 и сульфата [544]. Судьба остальной части углеродного скелета метионина изучена недостаточно.

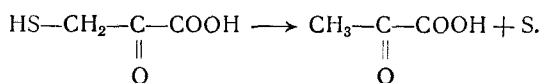
Распад цистеина

Биологический распад цистеина может происходить различными путями. Тарр [549] и Фромажо и сотрудники [550—553] наблюдали цистеиндесульфгидразную реакцию в препаратах печени, почек и поджелудочной железы млекопитающих, а также у ряда микроорганизмов. Как установлено в опытах с применением S^{35} , эта реакция обратима [1110]; ее можно выразить следующим уравнением:

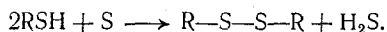


Одновременное наличие других конкурентных превращений цистеина и пировиноградной кислоты создает осложнения при изу-

чении этой реакции. В некоторых опытах наблюдали образование аланина, вероятно, за счет переаминирования между пировиноградной кислотой и цистеином или другими свободными аминокислотами (например, глутаминовой кислотой), присутствующими в ферментной системе [554]. Найдено, что пиридоксальфосфат активизирует препараты фермента, полученные из тканей В₆-авитаминозных животных [546, 555—560]. Предложен механизм десульфгидразной реакции, в основе которого лежит образование шиффова основания из пиридоксальфосфата и цистеина; этот механизм исследовали в неферментативных модельных системах (стр. 255). Хотя этот механизм правдоподобен, необходимо учитывать, что реакцию до сих пор изучали только с применением неочищенных ферментных препаратов, обладающих также трансминазной активностью; роль пиридоксальфосфата в реакциях переаминирования общеизвестна (стр. 248). При переаминировании между цистеином и α -кетокислотой должна образовываться β -меркаптопировиноградная кислота. Различные препараты из ткани животных и из бактерий десульфорируют β -меркаптопировиноградную кислоту в пировиноградную кислоту [561—563]:

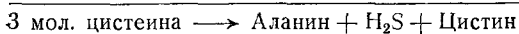
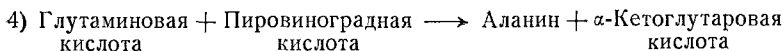
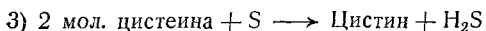
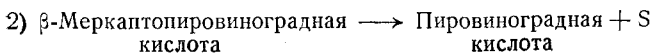
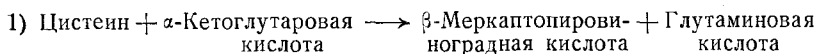


В присутствии восстанавливающих веществ, например β -меркаптоэтанола, цистеина или глутатиона, образующаяся в этой реакции сера восстанавливается в сероводород [561]:

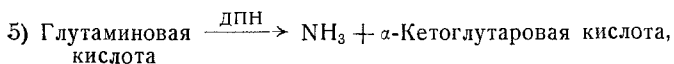


Таким образом, образование сероводорода из цистеина может происходить в результате реакций дезаминирования или переаминирования с последующим превращением β -меркаптопировиноградной кислоты в пировиноградную кислоту и серу или сероводород. При наличии избытка цистеина сера перейдет в сероводород; при исследовании цистеиндесульфгидразной реакции наблюдали одновременное превращение цистеина в цистин. Интересно отметить, что цистеиндесульфгидразная реакция не идет до конца; в большинстве опытов реакция прекратилась после образования пировиноградной кислоты и сероводорода в количестве, не достигающем половины теоретического. В некоторых бактериальных системах десульфирование протекает в две ступени: в первой происходит, по-видимому, дезаминирование цистеина, а во второй — освобождение сероводорода [555, 559, 564—566]. Образование сероводорода

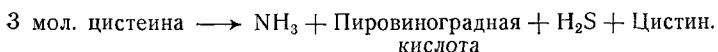
повышается в присутствии кетокислот, например кетоглутаровой кислоты [553, 1111]. Эти наблюдения согласуются с механизмом следующего рода:



Если вместо реакции (4) происходит следующая реакция:



то превращение протекает по валовому уравнению:

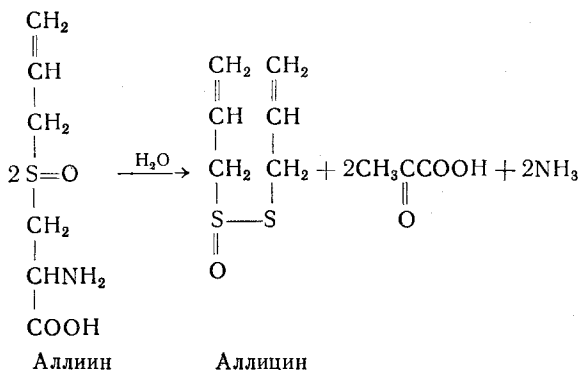


Данные ряда экспериментальных исследований хорошо согласуются с приведенной выше схемой, и, поскольку в этих исследованиях применялись неочищенные ферментные препараты, такой механизм распада цистеина вполне вероятен. Вместе с тем возможно, что в некоторых системах отщеплению серы предшествует образование аммиака в результате окислительного дезаминирования цистеина. Не исключен также первоначально предложенный механизм десульфгидразной реакции, с тем изменением, что в настоящее время учитывается промежуточное образование шиффова основания с пиридоксальфосфатом. Возможно, что в различных условиях встречаются все эти механизмы распада цистеина¹.

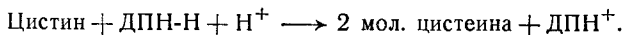
В ранних исследованиях наблюдали образование сероводорода как из D-, так и из L-цистеина в присутствии *Propionibacterium pentosaceum* [567]. Скорости образования сероводорода из обоих изомеров были примерно одинаковы. Недавно найдено, что экстракты из некоторых штаммов *Escherichia coli* катализируют десульфирование D-цистеина гораздо активнее, чем расщепление L-изомера [568]; в том и другом случае возникали примерно эквимольные количества пиرويноградной кислоты, аммиака и сероводорода.

¹ См. примечание к стр. 368.

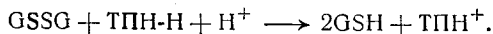
Реакция, катализируемая аллииназой, аналогична реакции десульфирования цистеина [569, 570]. Аллиин, содержащийся в луковичках чеснока, превращается под действием фермента в аллицин (придающий чесноку характерный для него запах), пировиноградную кислоту и аммиак. В этой реакции участвует пиридоксальфосфат [1112].



Цистеин легко окисляется в цистин неферментативным путем, однако известно, что эта реакция, равно как восстановление цистина в цистеин, может катализироваться ферментами. Как отмечено выше, превращение цистеина в цистин может происходить в результате реакции с серой. Много лет назад Кейлин [571] наблюдал окисление цистеина в цистин цитохромом *c* и цитохромоксидазой. Недавно описана реакция восстановления цистина в препаратах из дрожжей и высших растений при участии дифосфопиридиннуклеотида [572, 573].

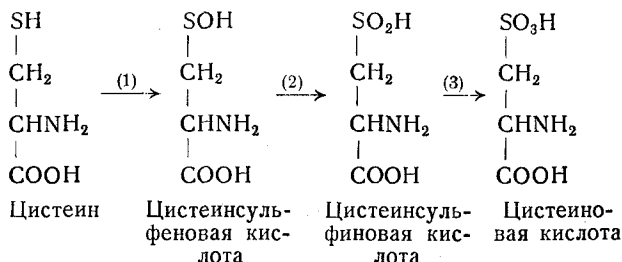


Действие фермента специфически направлено на цистеин и дифосфопиридиннуклеотид. Известна аналогичная реакция с участием глутатиона (GSH) и трифосфопиридиннуклеотида (ТПН) [574—578]:

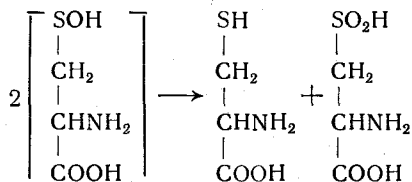


Одним из важных путей обмена цистеина является окисление его в цистеинсульфиновую кислоту. Около 20 лет назад Пири предположил, что цистеин при окислении превращается в цистеинсульфиновую кислоту, от которой далее отщепляется сульфит, окисляющийся в сульфат [541, 579, 580]. Возможно, что

при окислении цистеина промежуточным звеном является образование цистеинсульфеновой кислоты [582], но последняя не была выделена:

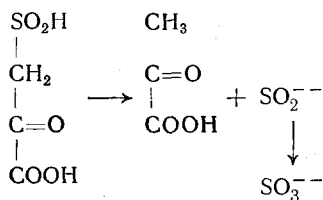
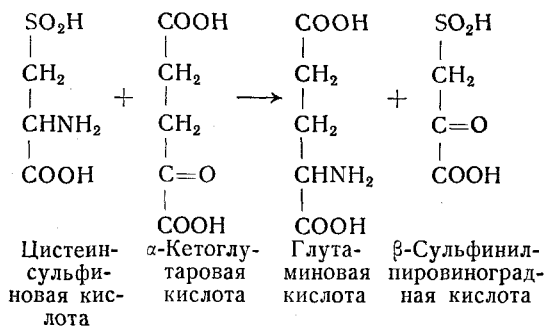


Дальнейшее окисление цистеинсульфиновой кислоты в цистеиновую кислоту экспериментально установлено (реакция 3). Цистеинсульфеновая кислота, вероятно, нестабильна; предполагают, что это соединение спонтанно подвергается дисмутации на цистеинсульфиновую кислоту и цистеин:



Цистеинсульфиновая кислота принадлежит к числу главных промежуточных продуктов обмена цистеина. В организме крысы цистеинсульфиновая кислота не переходит в сколько-нибудь значительных количествах в цистеин, поскольку она не способна заменять цистеин как пищевой фактор роста [583].

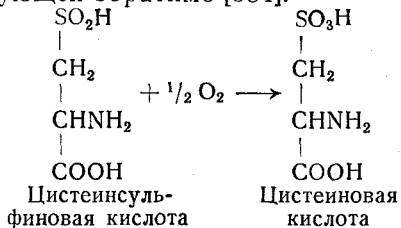
Описано образование сульфита и аланина из цистеинсульфиновой кислоты в препаратах печени кролика [553, 592, 593]. В последующих исследованиях было установлено, что это превращение происходит в результате реакции переаминирования между цистеинсульфиновой кислотой и α -кетоглутаровой или щавелевоуксусной кислотой с образованием β -сульфинилпировиноградной кислоты. Сульфинилпировиноградная кислота не была выделена. По-видимому, она в присутствии ионов некоторых металлов (например, Mn^{++}) спонтанно распадается на сульфит и пируват; эта реакция аналогична неферментативному декарбоксилированию щавелевоуксусной кислоты. Образующийся сульфит окисляется в сульфат. Эти реакции можно представить следующим образом [553, 584—591, 1113]:



Аналогичную реакцию переаминирования наблюдали между цистеинсульфиновой кислотой и щавелевоуксусной кислотой. Образование аланина, отмеченное в более ранних исследованиях, можно отнести за счет реакции переаминирования между пировиноградной и глутаминовой кислотами.

В препаратах печени крысы цистеинсульфиновая кислота вступает также в реакцию переаминирования с пировиноградной кислотой; это превращение в отличие от аналогичной реакции с α -кетоглутаровой кислотой оказалось нарушенным в тканях V_6 -авитаминозных крыс.

Цистеинсульфиновая кислота может окисляться в цистеиновую кислоту; это превращение катализируется дегидрогеназной системой, действующей обратимо [584]:

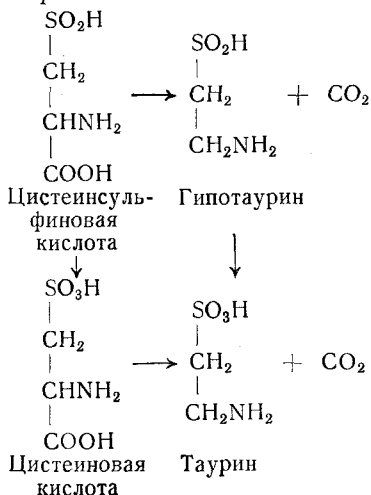


β -Сульфенилпировиноградная кислота, вероятно, не окисляется в β -сульфонилпировиноградную кислоту, так как последняя не превращается в пировиноградную кислоту и сульфат ферментными препаратами, образующими сульфат и пировиноградную кислоту из цистеинсульфиновой кислоты. Имеются данные о наличии обратимого переаминирования между β -сульфонил-

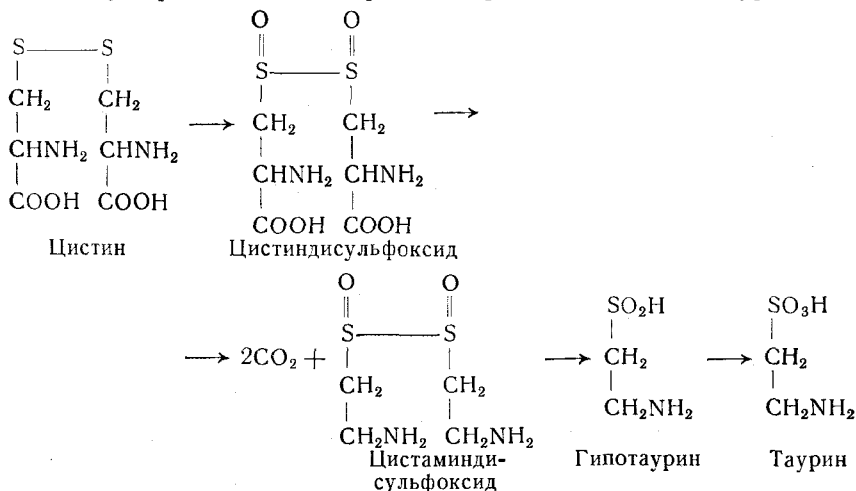
пировиноградной и глутаминовой кислотами с образованием цистеиновой и α -кетоглутаровой кислот.

Кроме того, описано окисление цистеинсульфиновой кислоты в β -сульфинилпировиноградную кислоту присутствующим в печени крысы ферментом, действующим при участии дифосфопиридиннуклеотида [584]. По-видимому, существуют по крайней мере два пути превращения цистеинсульфиновой кислоты в β -сульфинилпировиноградную кислоту, а именно окисление и переаминирование. При парентеральном введении цистеина крысам повышается содержание аланина в печени [594], как и при введении цистеинсульфиновой кислоты [595]. Цистеинсульфиновая кислота найдена в ткани мозга нормальной крысы [596]. Следовательно, имеются убедительные данные, подтверждающие роль этого соединения как нормального метаболита. О большой биологической реактивности цистеинсульфиновой кислоты свидетельствует ее участие в реакциях переаминирования, окисление в цистеиновую и в β -сульфинилпировиноградную кислоты и ее декарбоксилирование, описанное ниже. В опытах с применением меченого сульфита было установлено образование цистеинсульфиновой кислоты, по всей вероятности — за счет обращения одной или нескольких из указанных реакций; этот процесс в известной мере сходен с процессом фиксации двуокиси углерода [597]. В исследованиях на курином эмбрионе наблюдали включение радиоактивного сульфата в состав молекулы таурина [598, 599]. Превращение цистеинсульфиновой кислоты в таурин установлено у собаки [600]; в препаратах печени собаки обнаружена декарбоксилаза цистеиновой кислоты [601]. Кроме того, имеется ряд данных о наличии и образовании в биологических системах гипотаурина (2-аминоэтансульфиновой кислоты). Так, например, у крыс после внутривенного введения цистеина повышалось содержание аланина, гипотаурина и таурина в печени [594, 602]. В препаратах печени имеет место ферментативное декарбоксилирование цистеинсульфиновой кислоты с образованием гипотаурина [603]. Гипотаурин обнаружен в моче нормальных крыс, а также крыс, получающих рационы с высоким содержанием цистеина [604, 605]. Гипотаурин получен путем химического синтеза [602, 606—608]. Таурин образуется в организме путем декарбоксилирования цистеиновой кислоты или путем окисления гипотаурина. Для первой из этих реакций, как и для декарбоксилирования цистеинсульфиновой кислоты, необходим в качестве кофермента пиридоксальфосфат [1114]. Найдено, что крысы при недостаточности витамина B_6 выделяют мало таурина и гипотаурина или совсем не выделяют их [604, 609]. Гипотаурин, вероятно, легко подвергается биологическому окислению в таурин, но эта реакция пока

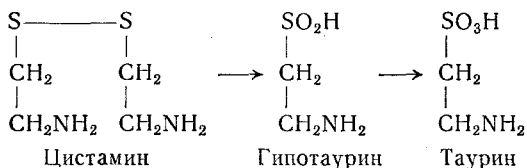
в деталях не изучена. Совокупность экспериментальных данных указывает на то, что главный путь образования таурина ведет через цистеинсульфиновую кислоту. Однако некоторое количество таурина, вероятно, образуется за счет декарбоксилирования цистеиновой кислоты. Эти реакции могут быть представлены следующим образом:



Еще один гипотетический путь образования таурина, который был указан уже в ранних работах [579, 580], состоит в превращении цистеина в цистин с последующим образованием цистиндисульфоксида и декарбоксилированием его в таурин:

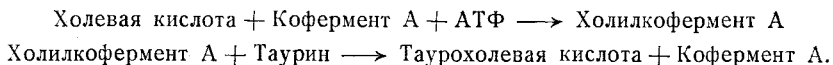


Описаны наблюдения, согласующиеся с этой цепью реакций. В частности, отмечено, что цистиндисульфоксид доступен окислительному декарбоксилированию в препаратах печени и легко превращается в сульфат в организме животных [541, 610]. Найдено также, что цистамин, образующийся, возможно, в результате распада кофермента А, превращается в организме различных животных в таурин; в этой реакции промежуточным соединением, по-видимому, является гипотаурин [611, 612]:

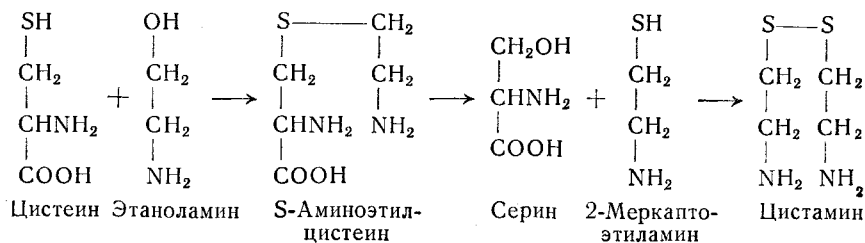


В моче и печени крыс после инъекции им цистеина найден цистаминдисульфоксид [612]. Из печени голубя выделен в очищенном виде фермент, окисляющий цистеамин (2-меркаптоэтиламин) в присутствии хлорида 2, 3, 5-трифенилтетразолия; для действия этого фермента необходимо присутствие дифосфопиридиннуклеотида [1115].

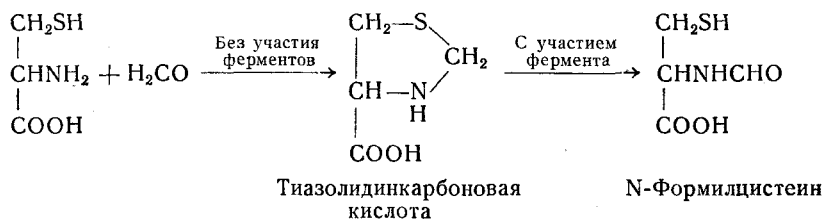
Таурин, подобно глицину, содержится в желчи в виде парного соединения с холевой кислотой. Синтез таурохолевой кислоты осуществлен при помощи препаратов микросом из печени морской свинки, катализирующих следующие реакции [1116]:



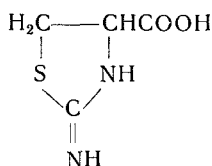
После инъекции S-аминоэтилцистеина крысы выделяют S-аминоэтилцистеин, соответствующее ему α -N-ацетилпроизводное и цистамин в связанной форме [613]. Образование цистамина из S-аминоэтилцистеина совместимо с гипотезой, согласно которой последний является промежуточным соединением в предполагаемой реакции переноса серы от цистеина к этаноламину:



При окислении цистеина в присутствии формальдегида образуется N-формилцистеин. Этот же продукт получен при окислении тиазолидинкарбоновой кислоты, образующейся при конденсации цистеина с формальдегидом [614]. При конденсации гомоцистеина с формальдегидом аналогичным путем образуется м-тиазан-4-карбоновая кислота [615]. Конденсации этого рода происходят неферментативным путем [616, 617], а продукты конденсации доступны действию ферментов [614, 615].

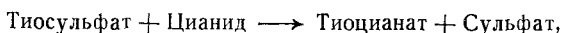


При взаимодействии цистеина с цианидом образуется соединение, вероятно имеющее строение 2-имино-4-тиазолидинкарбоновой кислоты [618]. Крысы выделяют это соединение с мочой после подкожного введения NaCN. Этой реакцией, возможно, обусловлено хорошо известное защитное действие цистеина при отравлении цианидом [619].

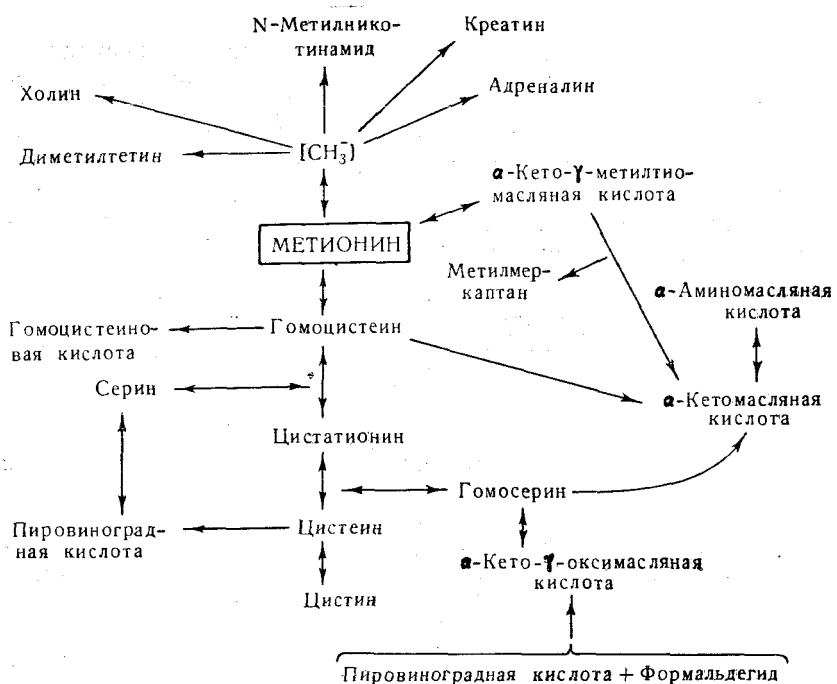


2-Имино-4-тиазолидинкарбоновая кислота

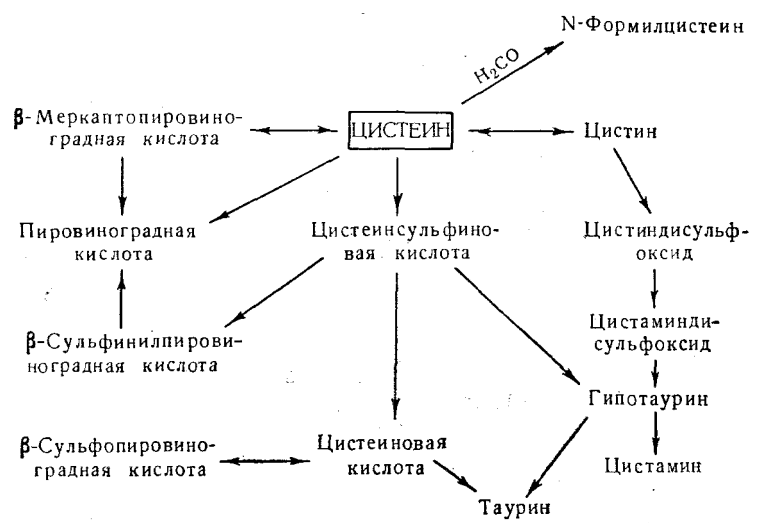
К числу конечных продуктов обмена серы у животных принадлежат сульфат и тиосульфат. Тиосульфат участвует в реакции



изучению которой было посвящено много работ. Образование тиоцианата (роданида) при этой реакции, играющей роль в детоксикации цианида, катализирует фермент роданеза, впервые обнаруженный Лангом [620]. Фермент содержится в печени и других тканях млекопитающих [620—623]. Сёрбо [623, 624] детально исследовал роданезу и выделил этот фермент в кристаллическом виде. Он пришел к выводу, что роданеза имеет

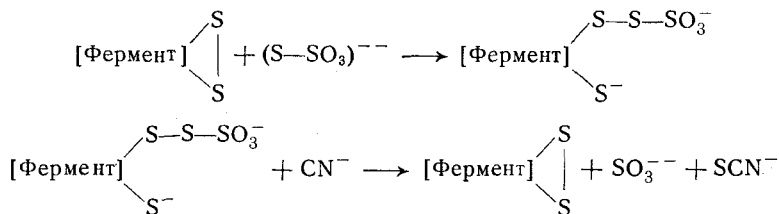


Ф и г. 16. Сводная схема превращений метионина.



Ф и г. 17. Сводная схема превращений цистеина.

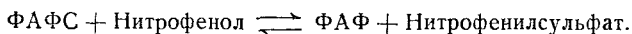
дисульфидную группу, реагирующую с тиосульфатом следующим образом:



По мнению Сёрбо, образование тиоцианата из цианида и элементарной серы в препаратах печени происходит под действием фермента, не идентичного роданезе. К аналогичному заключению он приходит в отношении образования роданида из β -меркаптопировиноградной кислоты, от которой ферментативным путем отщепляется сера [561, 625]. Кристаллическая роданеза не использует элементарную серу.

Окисление сульфида в тиосульфат в препаратах печени крысы катализируется термолабильными и термостабильными фракциями, полученными из этой ткани. Ферментные системы активируются соединениями, образующими клешневидные комплексы, и, по-видимому, требуют наличия ионов кобальта. Интересно отметить, что у голодающих животных активность сульфид-оксидазы значительно повышена по сравнению с контрольными неголодающими животными [1117].

Недавно показано, что для образования фенолосерных кислот (и, по-видимому, при биосинтезе других сложных эфиров серной кислоты) необходимо предварительное активирование сульфата в результате реакции, в которой участвует аденозинтрифосфат [1118]. Активный сульфат идентифицирован как 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС); при его взаимодействии с нитрофенолом образуется нитрофенилсульфат и 3',5'-дифосфоаденозин (ФАФ) [1119]:



ГИСТИДИН (фиг. 18)

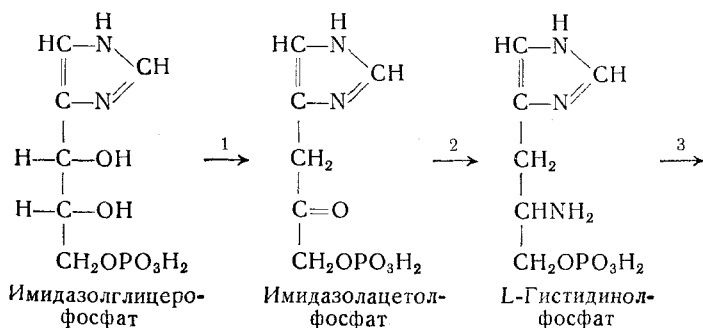
Биосинтез

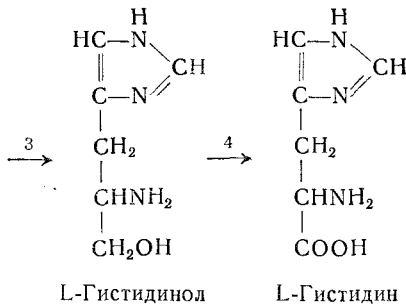
Многие экспериментальные животные нуждаются для роста и обеспечения азотистого равновесия в введении гистидина с пищей (табл. 10). Однако имеются данные, показывающие, что у молодых здоровых людей азотистое равновесие может сохраняться и при диете, не содержащей гистидина. Эти данные

указывают на возможность синтеза гистидина в тканях человека, но их можно толковать и иначе, например предположить, что гистидин синтезируется при участии микрофлоры кишечника или образуется при распаде гемоглобина (стр. 124). Данные, относящиеся к синтезу гистидина у человека, немногочисленны. У крысы возможно обеспечение роста при такой диете, в которой L-гистидин заменен его α -кето- или α -окси-аналогом или D-гистидином [626—629]. Интересно, что у мыши D-гистидин и имидазолмолочная кислота оказались активными лишь при наличии в рационе небольших количеств L-гистидина [630].

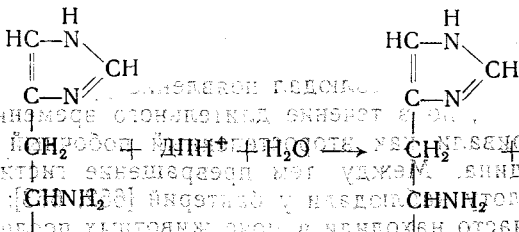
Все сведения о биосинтезе гистидина почерпнуты из опытов на микроорганизмах. Броквист и Снелл [631] нашли, что различные бактерии могут превращать β -имидазолпировиноградную кислоту в гистидин при наличии в среде пиридоксальфосфата. По данным этих авторов, *Lactobacillus arabinosus* проявляет потребность в гистидине только в отсутствие витамина B₆. Эти данные показывают, что имидазолпировиноградная кислота является предшественником гистидина, но в настоящее время при истолковании этих наблюдений следует учитывать и другие возможности. Взаимная связь между пуринами и гистидином, отмеченная в ранних исследованиях, теперь выяснена, по крайней мере частично, в результате изотопных исследований; они показали, что атом С-2 имидазольного ядра имеет источником муравьиную кислоту. Последняя может возникать в процессе обмена пуринов [632, 633] (ср., однако, [481, 482]).

Эймс и соотрудники [634—637, 1120], используя мутантные штаммы *Neurospora*, получили существенные данные по вопросу о происхождении углеродной цепи гистидина. Эти авторы выделили из культур грибов имидазолглицерин, имидазолацетол и L-гистидинол, а также фосфорные эфиры этих соединений. На основании химических и генетических соображений они предложили следующую схему биосинтеза гистидина:





Еще до этого Фогель и сотрудники выделили L-гистидинол из культур мутанта *Escherichia coli*, нуждающегося в гистидине [638]. Адамс изучил ферментативное превращение гистидинола в гистидин; для этой реакции необходимо присутствие дифосфопиридиннуклеотида [639—641]. Промежуточным звеном в этом превращении является образование гистидиналя [641]:



Л-Гистидиналь превращается в L-Гистидин

Превращение имидазолацетолфосфата в гистидинолфосфат происходит путем реакции переаминирования. Фермент, катализирующий эту реакцию, получен в очищенном виде; показано, что он действует при участии пиридоксальфосфата (стр. 232).

Происхождение пятичленной углеродной цепи гистидина в точности не известно. Оказалось, что глутаминовая и уксусная кислоты в этом процессе не являются промежуточными соединениями [642]; возможными источниками углерода гистидина можно считать производные пентоз или гексоз. Установлено, что у *E. coli* в синтезе гистидина участвует амидный азот глутамина. Амидная группа глутамина оказалась более эффективным источником атома N-1 молекулы гистидина, чем азот глутаминовой кислоты, аспарагина или ионов аммония [1121].

Недавно найдено, что механизмы биосинтеза гистидина у *E. coli* и у *Neurospora* сходны. В обоих организмах путь биосинтеза гистидина включает образование имидазолацетола и L-гистидинола, причем образование пятичленной углеродной цепи гистидина предшествует синтезу имидазольного кольца [643].

Распад гистидина

Распад гистидина в печени млекопитающих впервые изучили Дьердь и Рётлер [644] и Эдльбахер [645, 646]. Первоначально предполагали, что эта реакция, приводящая к расщеплению имидазольного кольца, образованию аммиака и исчезновению α -аминного азота (определяемого по Ван-Слайку), катализируется одним специфическим ферментом — гистидазой. Было найдено, что главный продукт превращения гистидина, который в ранних исследованиях не был идентифицирован, легко гидролизуется с образованием аммиака, глутаминовой и муравьиной кислот. Обсуждались различные возможные структуры этого соединения [647—650], но лишь в новейших работах этот процесс расшифрован полностью.

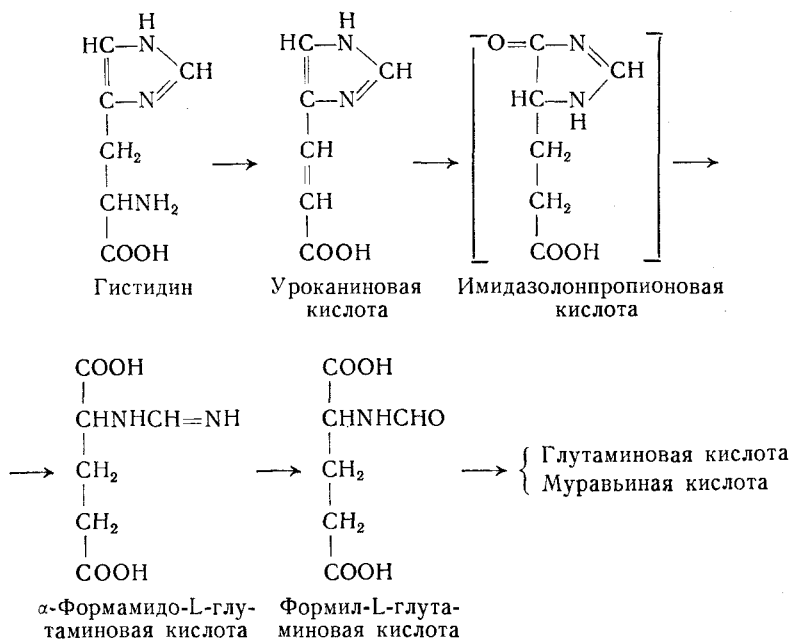
Еще в 1874 г. Яффе [651] наблюдал появление урোকаниновой кислоты в моче собаки, но в течение длительного времени это соединение рассматривали как второстепенный побочный продукт обмена гистидина. Между тем превращение гистидина в урোকаниновую кислоту наблюдали у бактерий [652, 653]; урোকаниновую кислоту часто находили в моче животных после введения гистидина [651, 653—660]. Сера и сотрудники [661, 662], а также другие авторы [663—670] наблюдали превращение ги-

Уроканиновая кислота найдена в поте; возможно, что она играет роль в защите кожи от действия ультрафиолетовых лучей [686, 687].

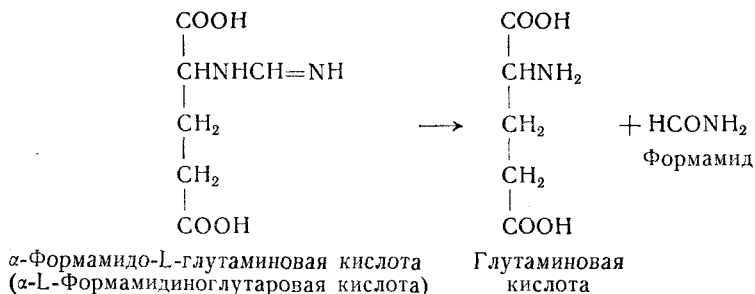
Ряд исследователей изучал распад уроканиновой кислоты под действием фермента уроканазы. Продукт действия уроканазы получен в кристаллическом виде несколькими авторами и идентифицирован по-разному — как формил-DL-изоглутамин [665, 668], формил-L-глутамин [648] и α -формамидо-L-глутаминовая кислота [650, 683, 688—690]. Дальнейшие исследования [691, 692] подтвердили, что это соединение является α -формамидо-L-глутаминовой кислотой. Оказалось, что это соединение не подвергается быстрому превращению в печени, но довольно легко поддается неферментативному расщеплению с образованием глутаминовой кислоты и изоглутамина. Между тем получены данные о превращении гистидина в глутаминовую кислоту в препаратах печени [674, 676]. *Pseudomonas* и некоторые другие бактерии легко превращают уроканиновую кислоту, гистидин и α -формамидоглутаминовую кислоту в глутаминовую кислоту, муравьиную кислоту и аммиак; при этом превращении промежуточным продуктом, по-видимому, является формил-L-глутаминовая кислота [683, 689, 693—695].

Высказано предположение, что в гистидиндезаминазной реакции участвует фолевая кислота [680, 696]. В моче крыс при недостаточности фолевой кислоты найдена α -формамидо-L-глутаминовая кислота [678, 690, 697, 698], что также указывает на участие фолевой кислоты в обмене гистидина. Дальнейшие исследования показали, что за счет α -формамидо-L-глутаминовой кислоты может происходить формилирование тетрагидрофолевой кислоты [1122]; описана реакция, катализируемая препаратами печени, при которой от α -формамидо-L-глутаминовой кислоты к тетрагидрофолевой кислоте переносится формимино-группа с образованием N¹⁰-формиминотетрагидрофолевой кислоты, превращающейся затем в N¹⁰-формилтетрагидрофолевую кислоту.

Имеющиеся данные находятся в соответствии со схемой превращения гистидина в глутаминовую кислоту, приведенной ниже. Эта схема предложена Суда и его сотрудниками и Тейбором и Мелером для *Pseudomonas* и для печени (до стадии образования формамидо-L-глутаминовой кислоты). Другие возможные схемы распада гистидина предусматривают превращение гипотетического промежуточного продукта, имидазолонпропионовой кислоты, в гидантоинпропионовую кислоту и далее в карбамилглутаминовую и глутаминовую кислоты. Возможно также образование α -формилизоглутамина из имидазолонпропионовой кислоты или из уроканиновой кислоты.



Магазаник и Баусер [699, 700] и Ваксман и Баркер [701] нашли, что у некоторых микроорганизмов (*Clostridium tetanomorphum* и *Aerobacter aerogenes*) в процессе обмена гистидина накапливается формамид. У этих микроорганизмов распад α -формамидо-L-глутаминовой кислоты, по-видимому, происходит путем гидролиза до формамида.

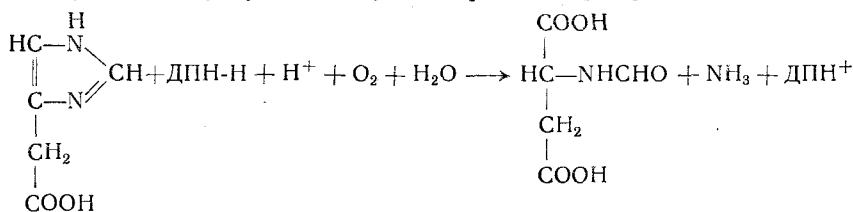


Гистидин может распадаться не только через уроканиновую кислоту, но и другими путями. Например, Рош и его сотрудники [702, 703] наблюдали в гепатопанкреасе мидий превращение

гистидина в ряд имидазольных соединений — имидазолпировиноградную и имидазолуксусную кислоты и имидазолметанол. Гистидин может переходить в карнозин (который гидролизуеться специфической пептидазой [704]) и в ансерин (стр. 70). Тиолгистидин входит в состав эрготионеина (стр. 55), который был впервые выделен из спорыньи [705] и найден в эритроцитах и различных тканях животных [706, 707]. Имеются данные, показывающие, что эрготионеин животных тканей имеет источником эрготионеин пищи. У крысы эрготионеин при очень низких концентрациях его в пище (1 : 100 000) накапливается в эритроцитах [708, 709]. Эрготионеин был также найден в фильтрах культур *N. crassa*. Он, очевидно, синтезируется этим организмом из гистидина; однако тиолгистидин, вероятно, не является промежуточным звеном в этом процессе. Сера эрготионеина может доставляться метионином или цистеином, а метильные группы — метионином [1123].

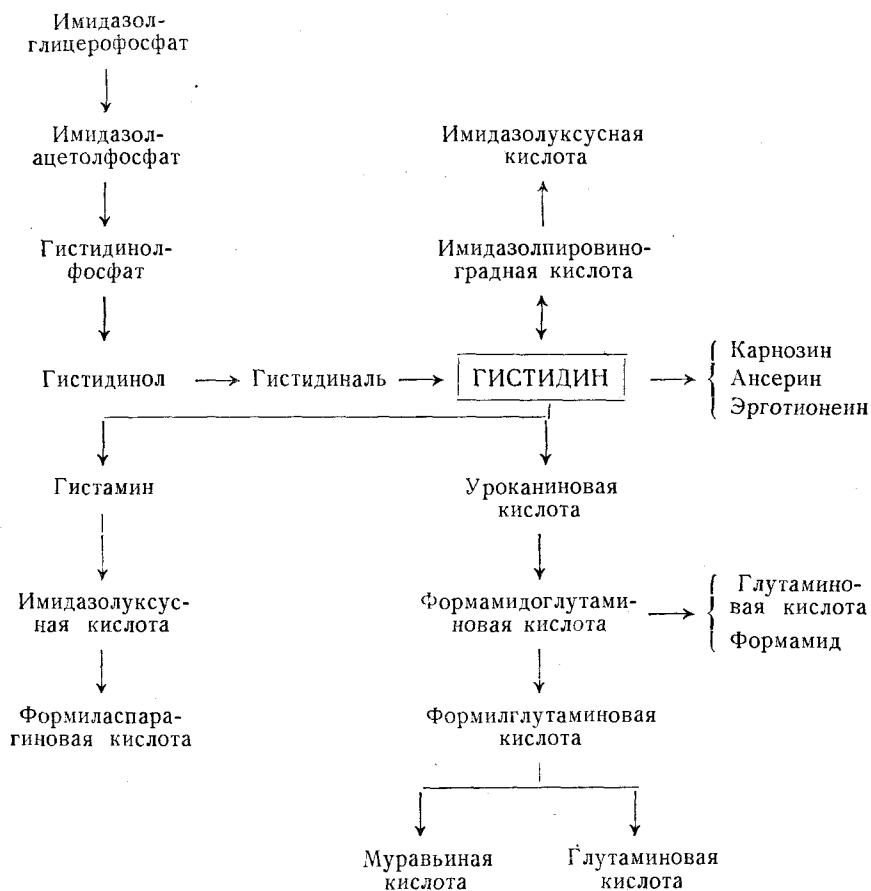
Большое физиологическое значение имеет реакция декарбонирования гистидина с образованием гистамина (табл. 20); последний, как известно, обладает интенсивным фармакологическим действием [710]. В тучных клетках содержится большое количество гистамина, и они обладают высокой гистидиндекарбоксилазной активностью. Гистамин в организме находится в связанной форме, природа которой остается еще не выясненной [1124]. Гистамин окисляется гистаминазой (диаминоксидазой, стр. 192) с образованием имидазолацетальдегида. Превращение имидазолацетальдегида в имидазолуксусную кислоту осуществлено в опытах с ксантиноксидазой, а также с альдегиддегидрогеназой и дифосфопиридиннуклеотидом [711]. Окисление гистамина в имидазолуксусную кислоту наблюдали у животных некоторых видов в опытах *in vivo* [712—717].

Клетки штамма *Pseudomonas*, адаптированного к имидазолуксусной кислоте, превращали это соединение в формиласпарагиновую кислоту путем следующей реакции [718]:



Указаний на наличие подобной реакции у животных в настоящее время нет. После введения крысам меченой имидазолуксусной кислоты наблюдали выделение рибонуклеозида имидазол-

уксусной кислоты [719]. Этот продукт выделялся и после инъекции крысам гистамина. Имидазолуксусная кислота является, по-видимому, главным продуктом обмена гистамина у крысы.



Фиг. 18. Сводная схема превращений гистидина.

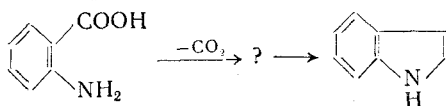
Имеется сообщение о том, что гистидин может действовать как кофермент при некоторых реакциях, катализируемых карбогидразами кишечника и другими ферментами [720]. Обнаружение ферментативного синтеза N-ацетилимидазола в экстрактах из *Clostridium kluveri* послужило поводом для предположений об участии имидазольной группы гистидина в реакциях переноса ацильных остатков [1125].

N-1-Метилгистидин и N-3-метилгистидин встречаются в природе (стр. 62), но об их обмене известно мало. При введении этих метилгистидинов в организм крысы, курицы, кролика или лягушки основная масса введенного соединения выделяется в неизмененном виде [1126].

ТРИПТОФАН (фиг. 19)

Биосинтез

Биосинтез триптофана изучали у *Escherichia coli*, *Neurospora crassa* и других микроорганизмов. Тот факт, что у некоторых микроорганизмов индол и анраниловая кислота могут замещать триптофан как фактор роста, согласуется с ранее высказанной гипотезой о том, что эти соединения являются предшественниками триптофана [721, 722]. Позднее было обнаружено, что индол и анраниловая кислота накапливаются в культурах некоторых мутантов *N. crassa* и *E. coli*, для роста которых необходим триптофан [118, 723]. Получены другие мутанты, которые могут расти только в присутствии индола, но не анраниловой кислоты. Экспериментальные данные позволяют предполагать, что анраниловая кислота переходит в индол [724, 1127]. Возможно, однако, что анраниловая кислота и индол образуются из общего промежуточного продукта, быть может из соединения «Z₁», описанного Дэвисом (стр. 349). Найдено, что карбоксильная группа анраниловой кислоты не участвует в образовании индола и переходит главным образом в углекислоту. Имеются данные, указывающие на то, что атом С-1 бензольного ядра анраниловой кислоты принимает участие в замыкании пирролового кольца при образовании индола [725, 726]:

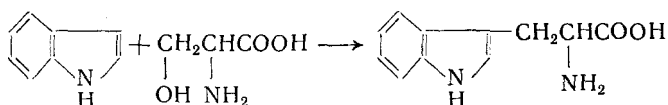


Опубликованы данные, указывающие на возможность образования индол-3-глицерофосфата в результате реакции между анраниловой кислотой и 5-фосфорибозилпирофосфатом. Высказано предположение, что индол-3-глицерофосфат может расщепляться на индол и триозофосфат [1128]¹. Анраниловая кис-

¹ Возможно, что в биосинтезе триптофана свободный индол в нормальных условиях не участвует; по данным Яновского (С. Janofsky et al., Biochim. Biophys. Acta, 28, 640, 1958; Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 44, 1161, 1958), представляется вероятным, что остаток индола переносится к β-углеродному атому серина от индол-3-глицерофосфата непосредственно или через промежуточный комплекс (индолил-фермент). — Прим. ред.

лота может образоваться из шикимовой кислоты, а также как продукт распада кинуренина под действием кинурениназы (стр. 401). Имеются данные, согласно которым при определенных условиях предшественником индола может служить фенилаланин [724]. В культурах мутантов, нуждающихся в триптофане, накапливаются различные неидентифицированные соединения, и при изучении роста таких мутантов отмечены явления, еще не поддающиеся объяснению [118]; ввиду этого путь образования антраниловой кислоты нельзя считать полностью установленным.

Много внимания было уделено изучению заключительного этапа биосинтеза триптофана, а именно реакции конденсации индола с серином [727, 729]:

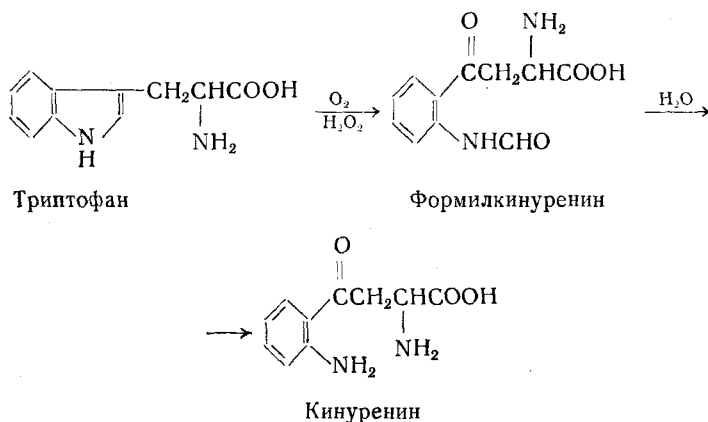


Фермент, катализирующий эту реакцию, — триптофандесмолаза (триптофансинтетаза) — получен в очищенном виде; найдено, что в его действии участвует пиридоксальфосфат. Возможно, что в этой системе какую-то роль играет цинк [730]. Для изучения механизма синтеза триптофана из индола и серина был применен препарат серина, меченного дейтерием в α - и β -положениях, C^{14} в β -углеродном атоме и N^{15} . Установлено, что в процессе конденсации освобождается половина атомов дейтерия. Эти данные указывают на внутримолекулярную дегидратацию серина, за которой следует присоединение индола к двойной связи образовавшейся α -аминоакриловой кислоты [729]. По-видимому, в ходе реакции возникает шиффово основание, состоящее из аминокриловой кислоты и пиридоксальфосфата [731].

Превращение триптофана в кинуренин и в никотиновую кислоту

Кинуренин был открыт Матсуока и Иосиматсу в моче кроликов, которым скармливали большие количества триптофана [732]. В настоящее время известно, что кинуренин может превращаться в кинуреновую кислоту (она фактически была открыта раньше кинуренина [733—735]), ксантуреновую кислоту, никотиновую кислоту и в некоторые пигменты. Эти превращения триптофана установлены в результате опытов по биохимии питания, изотопных и энзимологических исследований, а также опытов над мутантами микроорганизмов.

Нокс и Мелер [736] изучали превращение триптофана в кинуренин в опытах *in vitro* [736]. Они получили из печени крысы растворимую ферментную систему, катализирующую следующие реакции:



Окисление триптофана в формилкинуренин происходит с участием O_2 и H_2O_2 ¹; каталаза [737—739] тормозит этот процесс. Триптофанпероксидазная активность обнаружена также у бактерий [740]. Вторая из приведенных выше реакций представляет собой гидролиз формилкинуренина до кинуренина при участии фермента формилазы (кинуренинформамидазы); этот фермент найден в печени и у микроорганизмов [736—741].

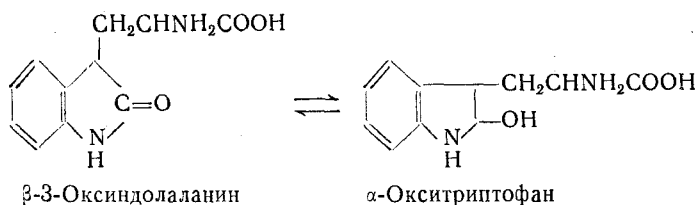
Известно, что у млекопитающих триптофанпероксидаза подвержена адаптивным изменениям [742]. Так, введение крысам триптофана значительно повышает на несколько часов активность триптофанпероксидазы в печени, после чего активность снижается до нормального уровня². Удаление надпочечников

¹ Танака и Нокс [J. Biol. Chem., 234, 1163 (1959)] позднее установили, что в окислении триптофана в формилкинуренин участвует только O_2 ; активирующее действие перекиси водорода объясняется тем, что она регенерирует активную ферро-форму железопорфириновой простетической группы фермента из неактивной ферри-формы; поскольку фермент не обладает пероксидазным действием, его следует обозначать наименованием «триптофанпирролаза», согласно предложению Котакэ, впервые описавшего действие этого фермента в 1934 г.— *Прим. ред.*

² Индуцированное образование «триптофанпероксидазы» наблюдается и в опытах со срезами печени *in vitro* при добавлении к инкубированным пробам триптофана; в отсутствие субстрата фермент в тканевых срезах и гомогенатах быстро инактивируется [743].— *Прим. ред.*

понижает активность этого фермента в печени крыс, а введение оперированным крысам кортизона вызывает повышение активности. Высказано предположение, что на активность фермента (вероятно, на синтез самого фермента) оказывают влияние гормональные факторы гипофиза и надпочечников [742—746].

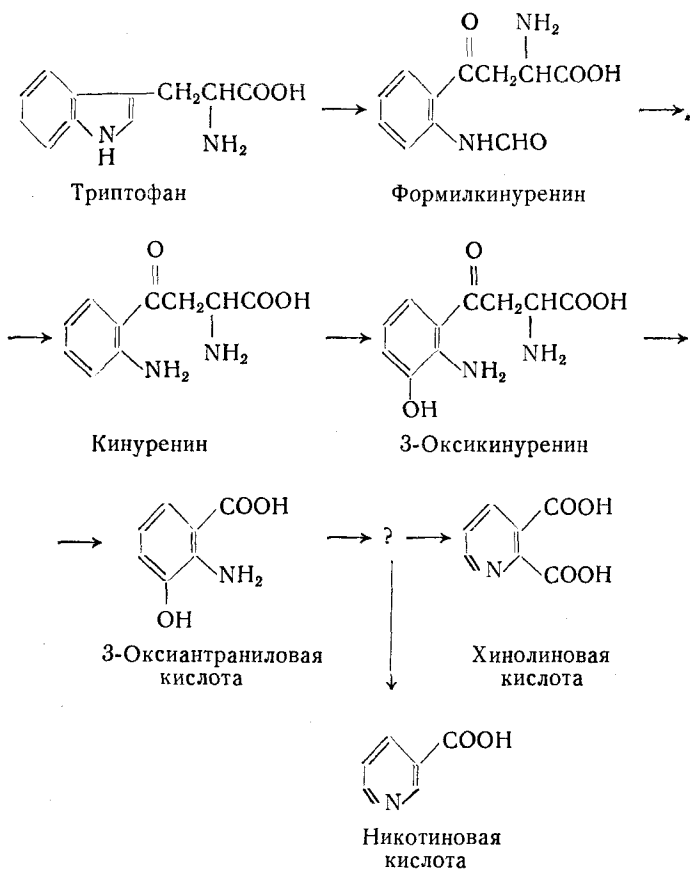
Предполагают, что процесс окисления триптофана триптофанпероксидазой протекает с образованием промежуточного соединения, природа которого еще не известна. Установлено, что оксиндолаланин не является этим промежуточным соединением [747—749]:



Рассматривались другие возможные промежуточные продукты в этом процессе [748, 750, 751]. Высказано предположение, что в реакции участвует тиамин [752].

В 1945 г. Крэль и сотрудники [753] нашли, что крысы, получающие диету с недостаточным содержанием никотиновой кислоты, растут нормально, когда к их рациону добавляется триптофан. За этим последовал ряд работ, в которых было доказано превращение триптофана в никотиновую кислоту (см., например, [724, 725, 754—768, 787]). Представляют интерес ранние исследования Гольдбергера и Таннера [769] о целебном действии триптофана при заболевании пеллагрой. Весьма вероятно, что описанное Гольдбергером клиническое действие триптофана обусловлено превращением его в никотиновую кислоту. Превращение кинуренина в никотиновую кислоту было показано в многочисленных исследованиях с применением мутантов *Neurospora* [724, 725, 758, 759, 761—764, 766—768]. Ниже (см. стр. 400) приведены вероятные промежуточные этапы этого превращения.

Хайдельбергер и сотрудники [770, 771], используя меченые соединения, установили, что в организме крысы углеродный атом в положении 3 индольного ядра триптофана становится углеродным атомом карбоксила никотиновой кислоты. Эти авторы показали также, что при превращении триптофана в кинуренин в организме кролика и в кинуреновую кислоту в организме собаки β -углеродный атом триптофана переходит в β -углеродный атом кинуренина и в атом С-3 в молекуле кинуреновой



кислоты. Боковая цепь триптофана не участвует в образовании молекулы никотиновой кислоты [770, 772]. В опытах на крысах и кроликах превращение триптофана в кинуруенин, кинуруеновую и ксантуруеновую кислоты исследовали также при помощи триптофана, содержащего N^{15} в пиррольном ядре [773]. В той же работе было показано, что у крысы азот ядра триптофана не переходит в гемин и что N^{15} -индол в организме крысы не используется для синтеза триптофана.

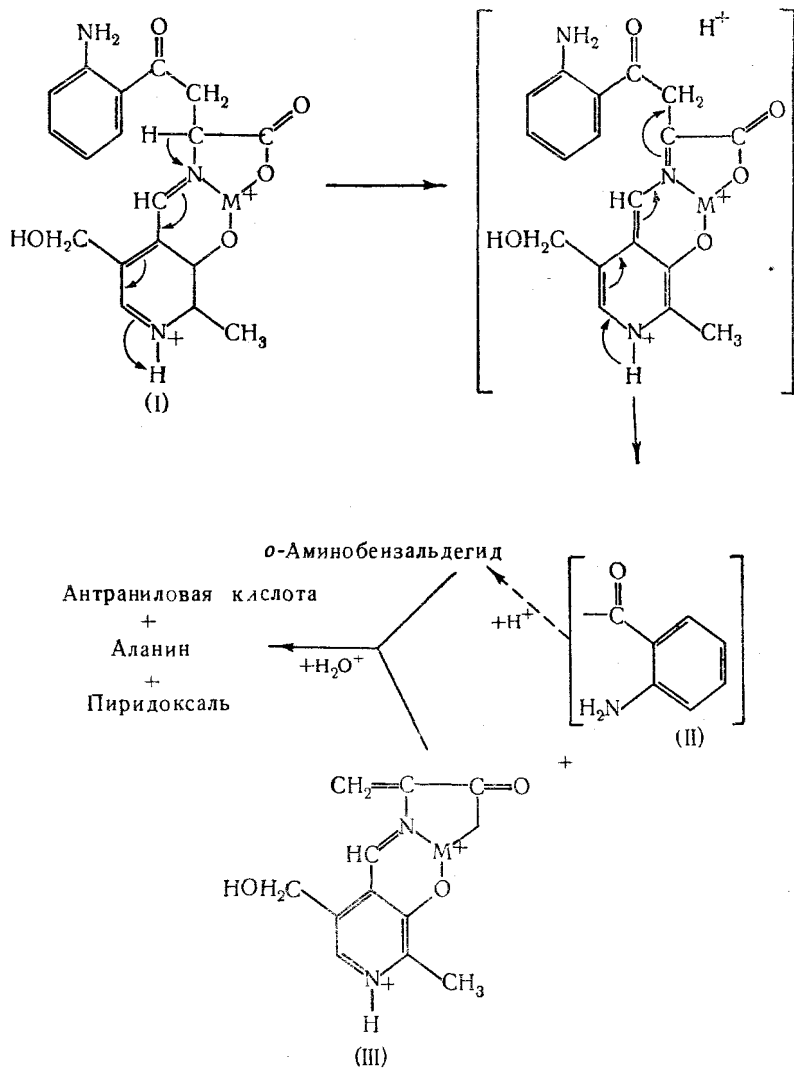
Кинуруенин может окисляться в 3-оксикинуруенин и превращаться в антралиловую и в кинуруеновую кислоты. Механизм окисления кинуруенина в 3-оксикинуруенин еще точно не выяснен, однако можно считать доказанным само наличие этой реакции [774, 775] и вероятным — участие в ней рибофлавина [776—778].

Возможно, что это превращение связано с фосфорилированием гидроксильной группы, поскольку в препаратах печени было обнаружено образование фосфорилированного производного 3-оксиантраниловой кислоты [779, 780]. 3-Оксикинуруенин накапливается как промежуточный продукт при образовании пигментов глаз у насекомых [781]; он найден в личинках насекомых [782, 783], в растениях [784] и в моче человека при некоторых патологических состояниях [785].

Возможно, что при окислении 3-оксикинуруенина промежуточным продуктом является α -N-ацетилкинуруенин. Имеются данные о наличии α -N-ацетил-3-оксикинуруенина у *Neurospora* [786]; α -N-ацетилкинуруенин и соответствующее ацетильное производное 3-оксикинуруенина обнаружены в моче V_6 -авитаминозных крыс, получавших большие количества триптофана [748].

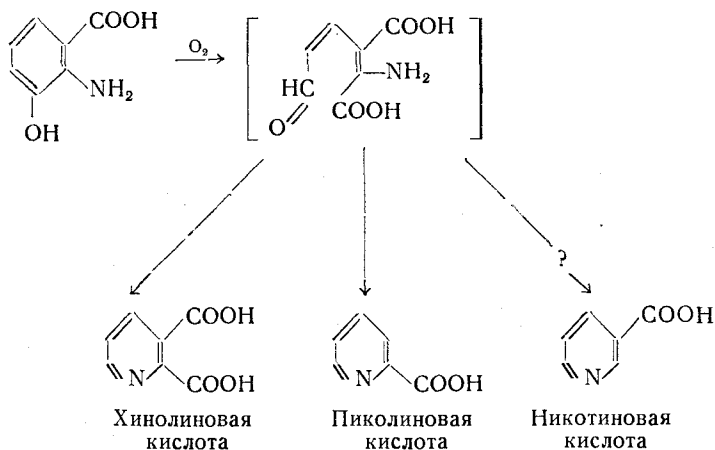
Как кинуруенин, так и 3-оксикинуруенин расщепляются кинуруениназой с образованием аланина и антраниловой или 3-оксиантраниловой кислоты. Кинуруениназа [748, 788—794] найдена в печени и почках млекопитающих и у различных микроорганизмов; в ее действии участвует в качестве кофермента пиридоксальфосфат [791]. Различные исследователи рассматривали механизм кинуруениназной реакции [795—797]. Лонгенеккер и Снелл [797] предполагали, что при этой реакции шиффово основание (I), образующееся из кинуруенина и пиридоксальфосфат-энзима (см. схему на стр. 402), превращается в шиффово основание α -аминоакриловой кислоты (II). Промежуточное соединение (II) (см. ниже) вступает в окислительно-восстановительную реакцию с продуктом (III), в результате чего образуются антраниловая кислота и шиффово основание аланина. Кроме кинуруенина и 3-оксикинуруенина, кинуруениназа расщепляет также формилкинуруенин (на формилантраниловую кислоту и аланин) и 5-оксикинуруенин (с образованием 5-оксиантраниловой кислоты) [798, 799].

3-Оксиантраниловая кислота превращается в никотиновую кислоту; путь этого превращения требует дальнейшего изучения. Значительное внимание было уделено вопросу о том, является ли хинолиновая кислота промежуточным звеном при этом превращении [739, 761, 801—804, 806, 807]. Хотя установлено, что 3-оксиантраниловая кислота переходит в хинолиновую кислоту и никотиновая кислота может образоваться из хинолиновой кислоты, имеются данные, свидетельствующие о том, что хинолиновая кислота не лежит на главном пути, ведущем к образованию никотиновой кислоты. Вполне вероятно, что предшественником как хинолиновой, так и никотиновой кислоты является промежуточный продукт, образующийся при



расщеплении 3-оксиантраниловой кислоты. Недавно Мелер [808] установил, что в печени окисление 3-оксиантраниловой кислоты сопровождается потреблением двух атомов кислорода и приводит к образованию промежуточного продукта, который может

спонтанно переходить в хинолиновую кислоту или ферментативным путем превращаться в пиколиновую кислоту:

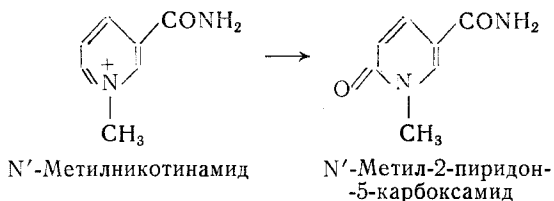


Возможно, что под действием другого фермента из этого промежуточного продукта образуется никотиновая кислота. Свободная пиколиновая кислота в природе не найдена, но соответствующее ей N-метилпроизводное, омарин, обнаружено у некоторых видов морских беспозвоночных [809]. Проблема образования никотиновой кислоты подробно изложена Дэлглишем [806] и Мелером [739].

Любопытно, что у *E. coli* и у *Bacillus subtilis*, по-видимому, отсутствует фермент (кинурениназа), способный превращать кинуренин в антралиловую кислоту. Опыты, в которых изучались превращения меченых препаратов индола и триптофана у некоторых мутантов этих организмов, показали, что указанные соединения не принимают существенного участия в образовании никотиновой кислоты. Возможно, что у *E. coli* и *B. subtilis* синтез никотиновой кислоты происходит другим путем [810].

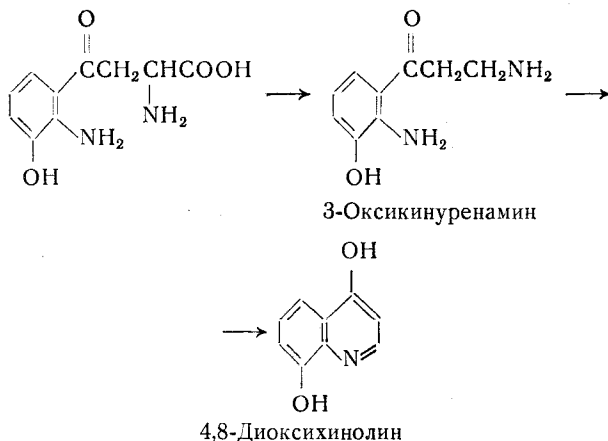
У животных некоторых видов никотиновая кислота выделяется в неизменном виде, тогда как у других видов она подвергается амидированию и метилированию или выводится в виде парных соединений. Большинство плотоядных и всеядных животных выделяют N'-метилникотинамид [811, 812]; травоядные животные выделяют свободную никотиновую кислоту или ее парные соединения [813]. Птицы некоторых видов выделяют никотинуровую кислоту — продукт соединения никотиновой кислоты с орнитинем [814, 815]. У человека [800, 816, 817] и

у некоторых животных N' -метилникотинамид подвергается окислению в N' -метил-2-пиридон-5-карбоксамид [818—820].



Другие превращения кинуренина и его производных

В гомогенатах печени мыши 3-оксикинуренин превращается в 4,8-диоксикинуренин, вероятно, следующим путем [821]:

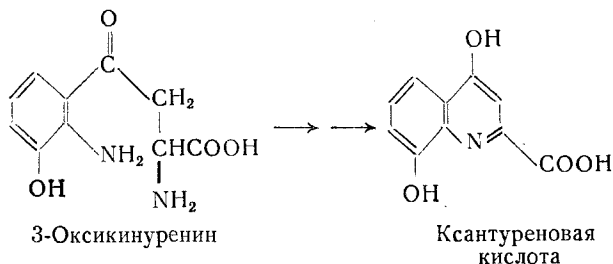


Полагают, что при этом превращении декарбоксилированию подвергается именно 3-оксикинуренин, а не ксантуреновая кислота, поскольку последняя при внесении в исследуемую систему не превращается в диоксикинуренин.

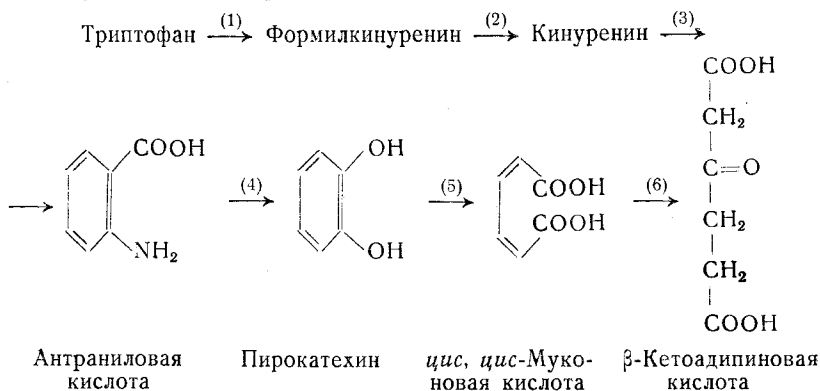
Известно, что 3-оксикинуренин является у насекомых предшественником некоторых глазных пигментов [781, 822], представляющих собой комплексы металлов с продуктами конденсации 3-оксикинуренина [805, 823, 824].

Образование кинуреновой кислоты из кинуренина происходит в результате реакции переаминирования (стр. 237), протекающей при участии пиридоксальфосфата. Кинуренинтрансминазу удалось отделить от кинурениназы, также принадлежащей к пиридоксальфосфат-ферментам. При переаминировании кинуренина, очевидно, образуется *o*-аминобензоилпировиноградная кислота, которая путем спонтанной циклизации переходит

в кинуреновую кислоту. Образование ксантуреновой кислоты из 3-оксикинурина также происходит в результате реакции переаминирования. Механизм реакции аналогичен превращению кинуренина:



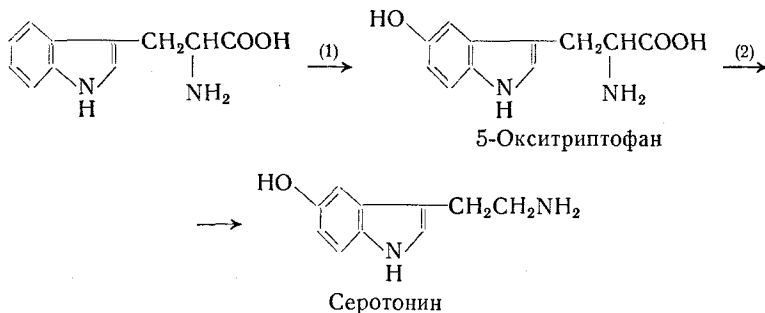
Антралиловая кислота у микроорганизмов может превращаться в индол (стр. 396) или по так называемому «ароматическому пути» окисляться в β-кетoadипиновую кислоту. Образование β-кетoadипиновой кислоты из триптофана наблюдали в опытах с экстрактами бактерий. Экспериментальные данные указывают на следующий путь образования β-кетoadипиновой кислоты [825—835, 839]:



Эти данные были получены в опытах с экстрактами из адаптированных и неадаптированных клеток *Pseudomonas*. Фермент, катализирующий реакцию (5), — пирокатехаза — был очищен. Оказалось, что для его действия необходимы ионы закисного железа. Продукт, образующийся при действии пирокатехазы, по-видимому, перегруппировывается с присоединением воды в β-кетoadипиновую кислоту; последняя подвергается дальнейшим превращениям с образованием янтарной кислоты и ацетилкофермента А [1130].

5-Окситриптофан и продукты его обмена

Одним из важных путей обмена триптофана в организме животных является его превращение в 5-окситриптамин. Прошел ряд лет с тех пор, как Верле и Менникен [836] сообщили, что в тканях млекопитающих триптофан превращается в вещество, обладающее прессорным действием; это вещество авторы рассматривали как триптамин. Недавние исследования Юденфренда и сотрудников [837, 838] показали, что указанное вещество, по всей вероятности, является 5-окситриптамином. Оно идентично гормону беспозвоночных — энтерамину [839], или серотонину [840—842]. Предшественником 5-окситриптамина является триптофан; это показали опыты, в которых после скармливания кроликам и жабам меченого триптофана был выделен меченый 5-окситриптамин [843]. 5-Окситриптамин образуется в результате следующих реакций:

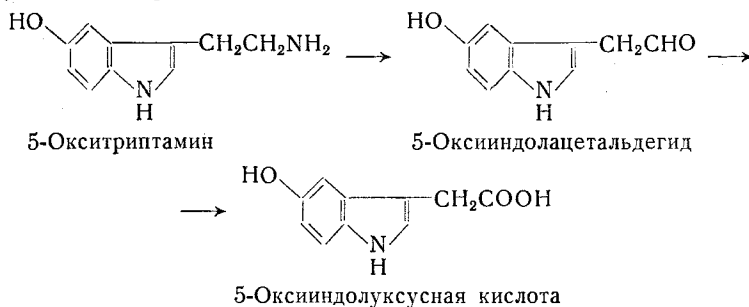


Предполагают, что при этом превращении сначала происходит окисление ароматического ядра, а затем декарбоксилирование боковой цепи, так как в тех же условиях триптамин не образуется и не переходит в 5-окситриптамин. В изотопных опытах с применением метода «ловушки» показано превращение триптофана в 5-окситриптамин срезами печени морской свинки и крысы [844]. После введения 5-окситриптофана собаки выделяют 5-окситриптамин [844].

Фермент, осуществляющий реакцию (2), — декарбоксилаза 5-окситриптофана — найден в некоторых тканях животных и получен в очищенном виде из почек свиньи и морской свинки [838]. Фермент является протеидом пиридоксальфосфата [1129]; он не действует на 3,4-диоксифенилаланин, 7-окситриптофан, триптофан и на D-изомер 5-окситриптофана. 5-Окситриптамин обладает разносторонним фармакологическим действием, проявляя прессорную, депрессорную и антидиуретическую активность. Хромафинные опухоли секретируют большие количества 5-окситриптамина (стр. 479).

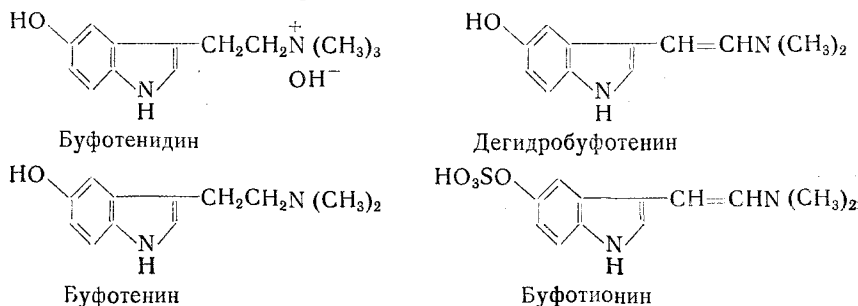
У собак наблюдали превращение 5-окситриптамина в 5-оксииндолуксусную кислоту [844]. Последняя является также нормальной составной частью мочи у человека [845, 846], выделяясь частично в виде парного соединения с глицином (5-оксииндол-ацетуровая кислота) [847, 848].

5-Оксииндолуксусная кислота, вероятно, образуется в результате действия моноаминоксидазы; имеются данные о промежуточном образовании 5-оксииндолацетальдегида [843].



Триптофанпероксидазная система не действует на 5-окситриптофан; эта аминокислота не используется штаммом *Pseudomonas* [799, 849], адаптированным к триптофану. Однако *Chromobacterium violaceum* превращает триптофан в 5-окситриптофан [850]. Высказано предположение [851], что 5-окситриптофан служит предшественником пигмента виолацеина, синтезируемого этим микроорганизмом, у которого, по-видимому, отсутствует «кинурениновый» путь распада триптофана.

Жабы [852, 853], отдельные беспозвоночные [854] и некоторые растения [855, 856] содержат N-диметил-5-окситриптамин (буфотенин), который образуется, вероятно, в результате метилирования 5-окситриптамина. Кроме того, выделен ряд родственных соединений, а именно: буфотенидин [858, 859], дегидробуфотенин [860] и буфотионин [861]. По-видимому, они также образуются из 5-окситриптамина.

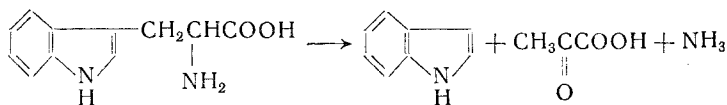


Участие триптофана в образовании гормона роста у растений

Гормон роста растений (ауксин) был сперва выделен из человеческой мочи [857, 869], а затем уже обнаружен у растений и идентифицирован как индолуксусная кислота. Известно, что для образования индолуксусной кислоты необходим триптофан [868, 870—872], однако механизм этого превращения не изучен. Триптофан может превращаться путем декарбоксилирования в триптамин, а последний — окисляться через соответствующий альдегид в индолуксусную кислоту. Вместе с тем триптофан может переходить в индолуксусную кислоту путем окислительного дезаминирования или переаминирования и последующего окислительного декарбоксилирования индолпировиноградной кислоты. Триптамин [873], индолпировиноградная кислота [874] и индолацетальдегид [875] найдены в биологических объектах. Как из триптамина [868, 871, 876], так и из индолпировиноградной кислоты [868, 871] растения могут образовывать ауксин. В капусте найден индолацетонитрил, обладающий интенсивной ауксиноподобной активностью [877]. Нитрил может возникать в результате окисления триптамина и затем путем гидролиза превращаться в индолуксусную кислоту; однако существование таких реакций экспериментально еще не доказано. Окислительное декарбоксилирование индолуксусной кислоты с образованием индол-3-альдегида изучено несколькими исследователями [878—880].

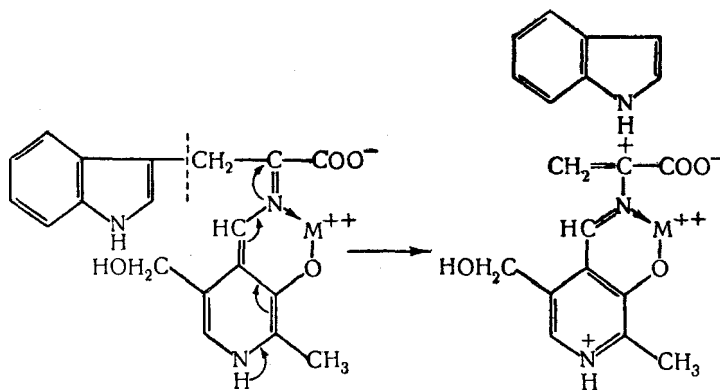
Прочие продукты обмена триптофана

У ряда бактерий распад триптофана происходит путем триптофаназной реакции с образованием индола, пировиноградной кислоты и аммиака:

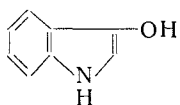


Эта реакция, впервые обнаруженная Гопкинсом и Колом [862], была детально изучена другими авторами [863, 864]. Вуд и сотрудники [865] получили из *E. coli* препараты фермента, осуществляющего это превращение, и показали, что его кофермен-

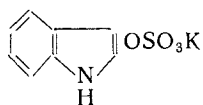
том является пиридоксальфосфат. Для реакции, по-видимому, необходимо присутствие ионов калия, аммония и, возможно, железа [866, 867]. Снелл и сотрудники [731] предположили, что механизм этой реакции заключается в отщеплении боковой цепи от комплекса, состоящего из пиридоксаля, триптофана и металла:



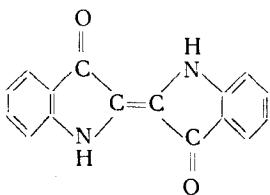
При распаде индола у некоторых бактерий наблюдается образование индоксила, индикана, индиго и индирубина. Эти соединения найдены в нормальной моче человека. Полагают, что они образуются бактериями кишечной флоры [881—883].



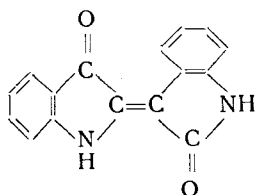
Индоксил



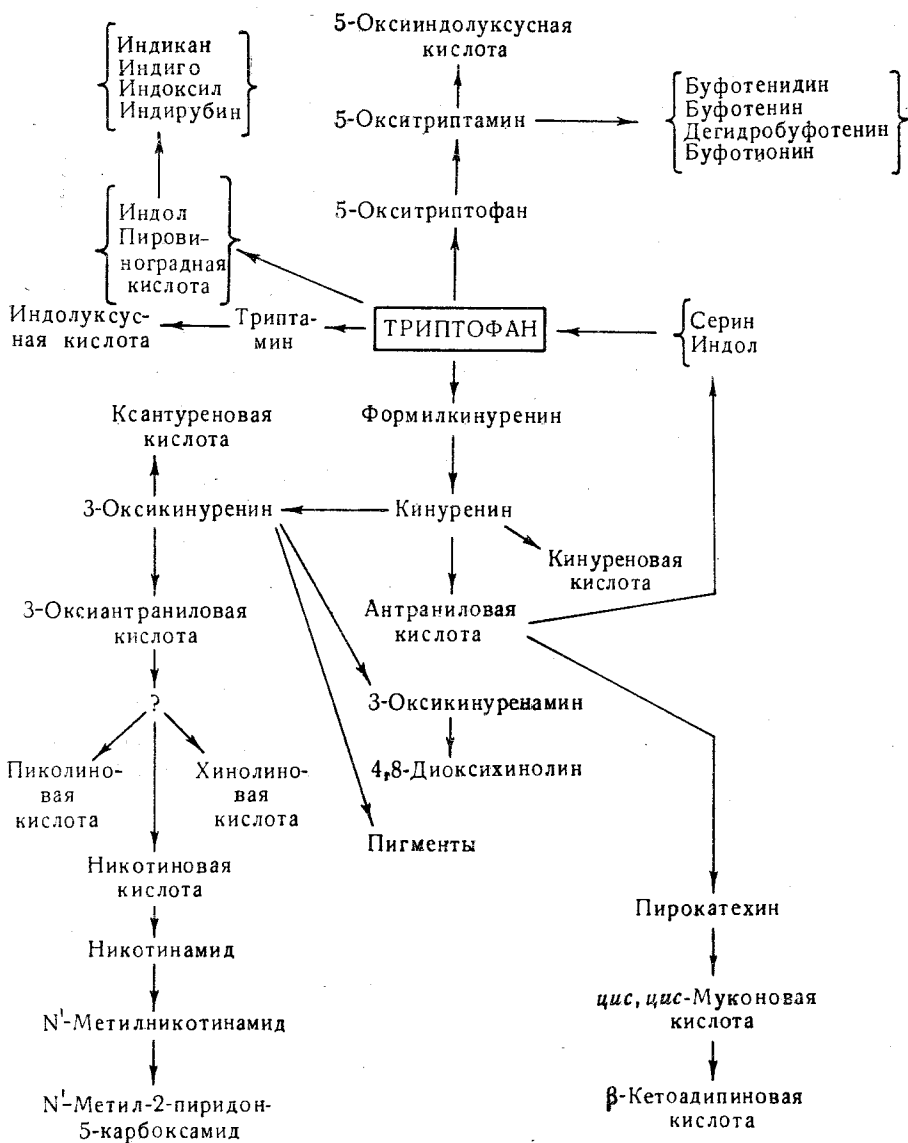
Индикан



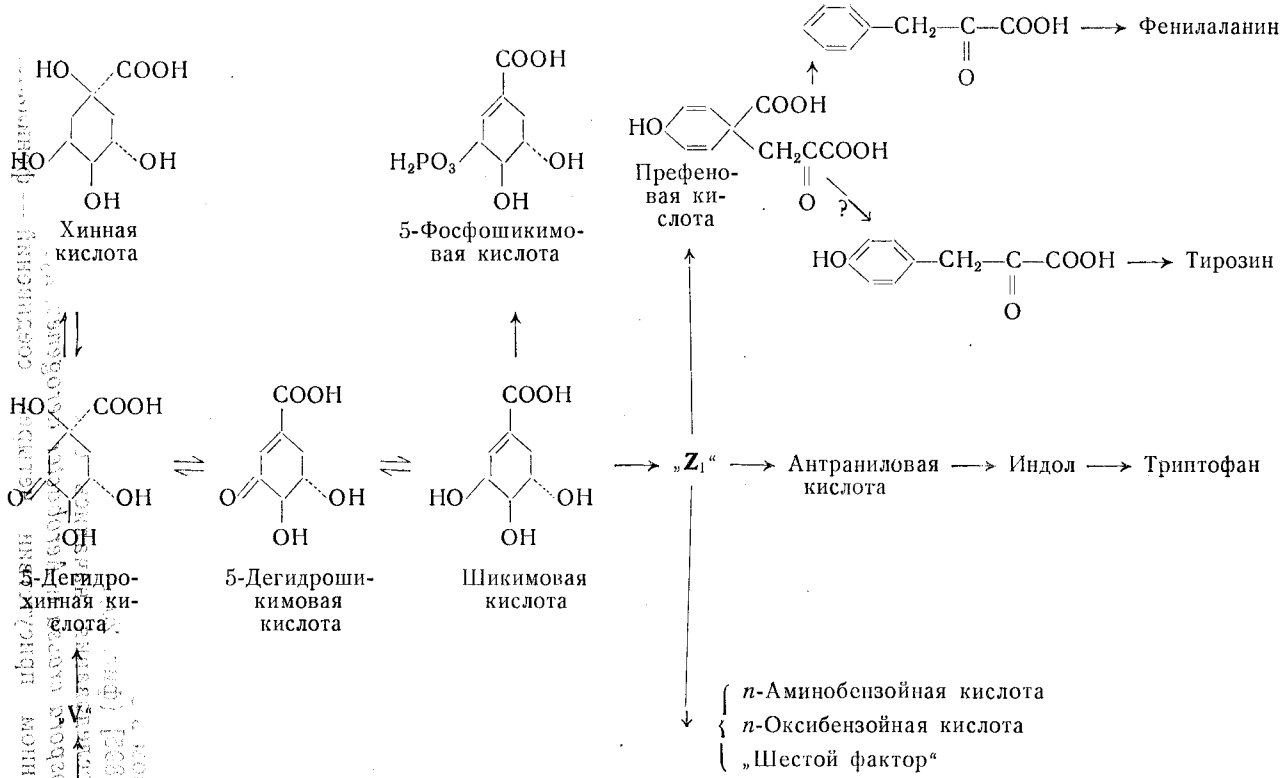
Индиго



Индирубин



Фиг. 19. Сводная схема превращений триптофана.



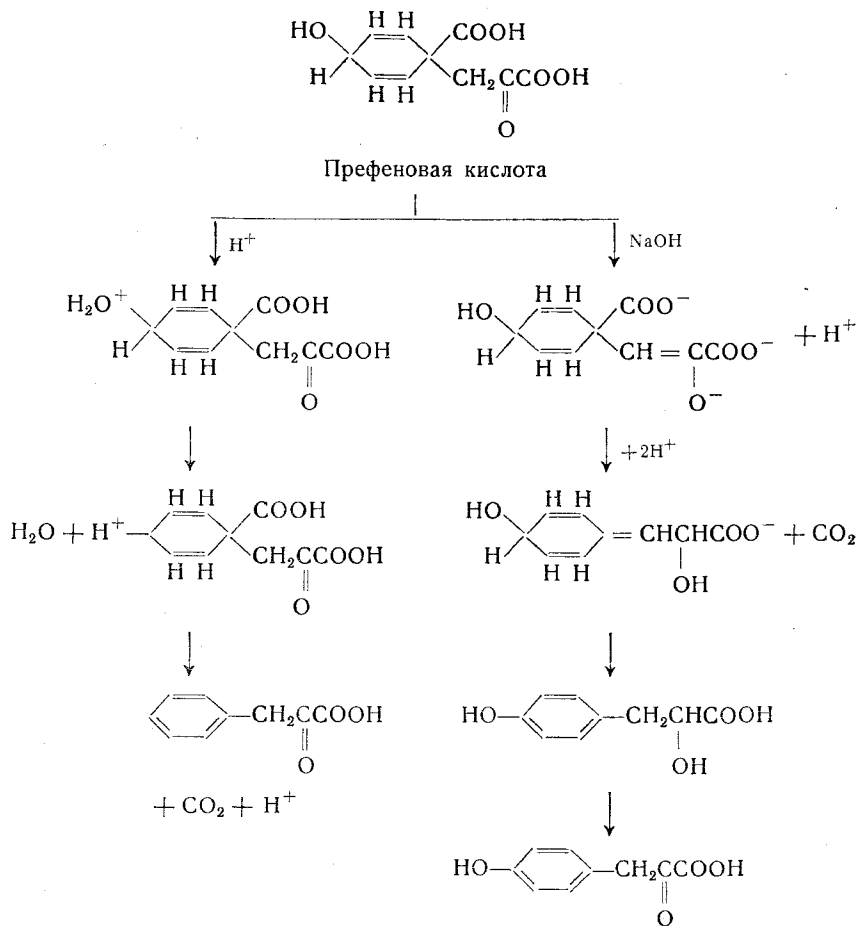
Фиг. 20. Схема биогенеза ароматических аминокислот.

тирозина, триптофана и *n*-аминобензойной кислоты [896]. При некоторых условиях им необходимы также *n*-оксибензойная кислота [897] и шестой, еще не идентифицированный фактор [898]. Позднее было найдено, что шикимовая кислота — соединение, обнаруженное в ряде растений, — может замещать все шесть факторов, необходимых для роста упомянутых мутантов [896]. Шикимовая кислота накапливается в культурах некоторых микроорганизмов, у которых блокированы более поздние звенья в цепи реакций биосинтеза; эта кислота была выделена и идентифицирована. Найдено, что в культурах мутантов, блокированных на стадии, предшествующей образованию шикимовой кислоты, накапливается 5-дегидрошикимовая кислота [899], и установлено, что предшественником последней является 5-дегидрохинная кислота [900, 901]. Родственная ей хинная кислота, широко распространенная в растениях, оказалась способной обеспечивать рост некоторых мутантов [900, 902]. Между тем получены данные, показывающие, что хинная кислота, очевидно, не является истинным промежуточным продуктом в биосинтезе ароматических аминокислот. В частности, у организмов, осуществляющих этот синтез, не найдено дегидрогеназы хинной кислоты [903, 904].

Фермент, катализирующий взаимопревращение дегидрошикимовой и шикимовой кислот — редуктаза дегидрошикимовой кислоты, — действует при участии трифосфопиридиннуклеотида [905]. Дегидрохиназа — фермент, катализирующий взаимопревращение дегидрохинной и дегидрошикимовой кислот, — повидимому, не нуждается в кофакторах. Эти ферменты найдены во всех изучавшихся организмах, синтезирующих ароматические аминокислоты, и отсутствуют у соответствующих мутантных штаммов.

В культурах некоторых мутантов, блокированных на стадиях, следующих за образованием шикимовой кислоты, накапливается 5-фосфошикимовая кислота и неидентифицированное соединение « Z_1 », из которого при кислотном гидролизе образуется шикимовая кислота [906]. Имеются данные, позволяющие предпологать, что соединение Z_1 является истинным промежуточным продуктом, который в процессе биосинтеза следует за шикимовой кислотой. Вместе с тем есть основание думать, что 5-фосфошикимовая кислота не лежит непосредственно на пути биосинтеза [907]. Найдено, что в культурах некоторых нуждающихся в фенилаланине мутантов накапливается другое соединение, названное префеновой кислотой [908—911]. Это соединение очень нестойко; при слабом подкислении оно быстро превращается в фенилпировиноградную кислоту [912, 913]. Некоторые мутанты *E. coli*, нуждающиеся

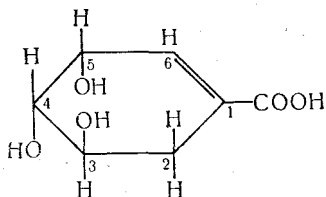
в тирозине, также образуют префеновую кислоту. Сформулированы схемы, поясняющие превращение префеновой кислоты в фенолпировиноградную и в *p*-окси-фенолпировиноградную кислоты [912].



Недавно опубликовано сообщение, согласно которому из префеновой кислоты образуется *p*-окси-фенолмолочная кислота [1132].

Соединение Z₁, возможно, служит общим источником образования 1) префеновой кислоты, являющейся предшественником фенилаланина и, возможно, тирозина, 2) антрилиновой кислоты,

3) *n*-оксибензойной кислоты, 4) *n*-аминобензойной кислоты и 5) неидентифицированного «шестого фактора» (см. фиг. 20). При поисках промежуточного продукта, предшествующего 5-дегидрошикимовой кислоте, было обнаружено соединение V, еще не идентифицированное. Изучение синтеза шикимовой кислоты в клетках *E. coli* из меченой глюкозы показало, что углеродный атом карбоксильной группы и атомы C-1 и C-2 ядра происходят из промежуточного продукта гликолиза, содержащего три углеродных атома.



Атомы C-3, C-4, C-5 и C-6 происходят из молекулы тетрозосфата, образующегося в цикле пентоз [893, 914—916, 1133]. В опытах с бесклеточными экстрактами получены доказательства превращения D-эритрозо-4-фосфата и фосфоэнолпирувата в дегидрошикимовую кислоту. Установлено образование дегидрошикимовой кислоты из седогептулозо-1,7-дифосфата, однако это превращение, по-видимому, связано с распадом седогептулозодифосфата на эритрозо-4-фосфат и фосфоэнолпируват [917]. Путь синтеза ароматических аминокислот, предполагаемый на основании этих исследований, согласуется с данными, полученными другими авторами при изучении биосинтеза тирозина и фенилаланина из меченых предшественников в дрожжах [918—922].

Механизм образования тирозина еще не установлен. Некоторые микроорганизмы способны превращать фенилаланин в тирозин [923], однако у *E. coli* этот процесс, по-видимому, не происходит. У этого организма тирозин, вероятно, является продуктом аминирования *n*-оксифенилпировиноградной кислоты, которая, возможно, образуется из префеновой кислоты (см. выше). Из данных, полученных на *E. coli* в опытах с применением антиметаболитов, например фенилсерина, был сделан вывод о возможности образования тирозина путем окисления фенилаланина [924, 925, 928]. Результаты другой работы [926] показывают, что фенилсерин тормозит использование бактериями фенилаланина, но не тирозина и что при этих условиях

тирозин, по-видимому, может превращаться в фенилаланин. Возможно, что такие превращения происходят в результате обратного перехода обеих аминокислот в молекулу общего для них предшественника. Высказано также предположение, что α -фенилглицин может служить предшественником фенилаланина [927].

Высшие животные не могут синтезировать ароматические аминокислоты *de novo*, однако показано, что в организме животных возможны некоторые реакции ароматизации циклических соединений. Хинная кислота, которая переходит в бензойную кислоту, и некоторые другие циклические соединения подвергаются в препаратах печени и почек превращению в ароматические соединения [929].

Обмен фенилаланина и тирозина у животных

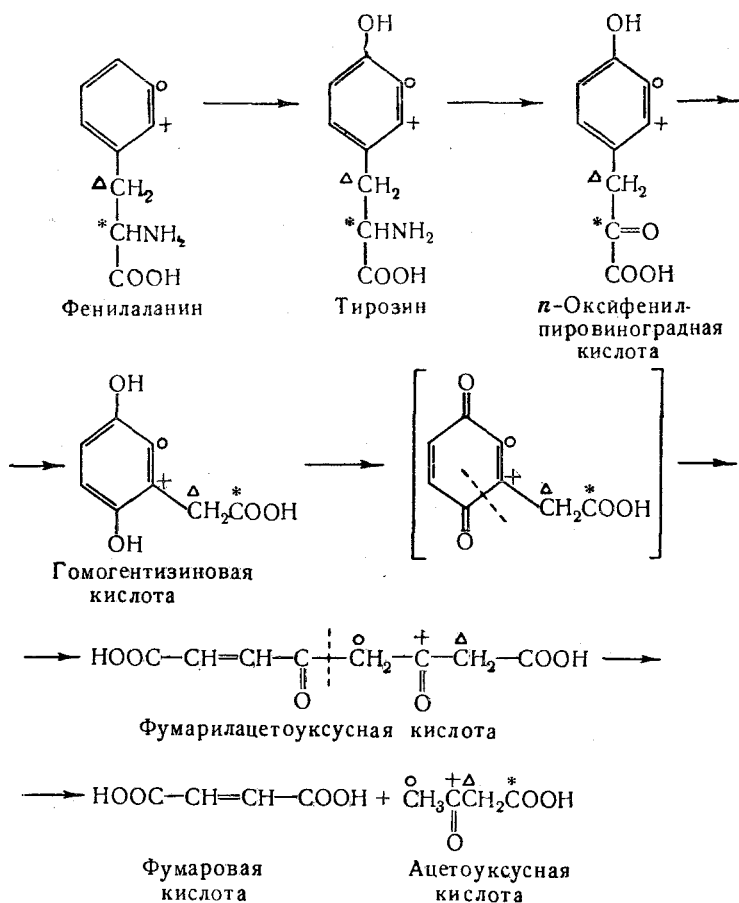
Уже давно известно, что при распаде фенилаланина и тирозина в организме животных образуется ацетоуксусная кислота. Начало расшифровки этого превращения было положено исследованиями о некоторых врожденных пороках обмена веществ у человека (см. гл. V). Выяснение промежуточных реакций этого процесса значительно продвинулось в последние годы в результате исследований с применением меченых метаболитов и различных ферментных препаратов. Экспериментальные данные о выделении гомогентизиновой кислоты у больных алкаптонурией, о повышенном выделении гомогентизиновой кислоты после приема с пищей фенилаланина и тирозина [930], а также об образовании ацетоуксусной кислоты из гомогентизиновой кислоты в перфузируемой печени [931, 932] дали основание предполагать, что гомогентизиновая кислота играет роль промежуточного продукта в обмене ароматических аминокислот. Было установлено, что у нормальных животных гомогентизиновая кислота, подобно фенилаланину и тирозину, подвергается окислению с образованием, в числе других продуктов, ацетоуксусной кислоты. При скормливании животным больших количеств фенилаланина и тирозина наблюдается выделение гомогентизиновой кислоты [933—938].

Превращение фенилаланина в тирозин было установлено еще в 1909 г. Нейбауэром [1930]; в настоящее время известно, что у животных эта реакция в количественном отношении занимает большое место. В 1913 г. Эмбден и Бальдес [931] наблюдали образование тирозина из фенилаланина в опытах с перфузией печени. У субъекта, страдающего тирозинозом, после

введения фенилаланина повышалась экскреция тирозина с мочой [939]. О снижении потребности животных в пищевом фенилаланине при включении в рацион тирозина уже говорилось (стр. 121). Известно, далее, что недоношенные младенцы, страдающие С-гиповитаминозом, после введения фенилаланина выделяют тирозин [940, 941]. Все эти данные свидетельствуют о превращении фенилаланина в тирозин. Этот процесс удалось однозначно доказать в опытах на крысах путем скармливания им фенилаланина, меченного дейтерием; из тканей животных был выделен тирозин с соответствующей меткой [942]. В организме больных, страдающих фенилпировиноградной олигофренией, эта реакция протекает в крайне ограниченном масштабе (стр. 475).

Юденфренд и Купер [943] осуществили превращение фенилаланина в тирозин в опытах *in vitro* при помощи ферментной системы, полученной из печени (фенилаланингидроксилаза). Механизм этой реакции сложен; по-видимому, для реакции необходимы две белковые фракции, дифосфопиридиннуклеотид, какой-нибудь альдегид, кислород и ионы Fe^{++} [923, 1134]. Результаты опытов с применением меченого тирозина показали, что обратного превращения тирозина в фенилаланин в организме животных не происходит [944]. Процесс превращения фенилаланина в тирозин наблюдали в мышцах и в печени [224]. Некоторые микроорганизмы способны катализировать образование тирозина из фенилаланина [923], но большинство бактерий, по-видимому, не обладает соответствующей ферментной системой.

Превращение фенилаланина в ацетоуксусную кислоту было изучено в опытах с применением изотопного углерода [946—951]. В этих изящных и убедительных исследованиях было показано, что: а) α -углеродный атом фенилаланина становится углеродом карбоксильной группы ацетоуксусной кислоты, б) атом С-2 бензольного ядра является предшественником карбонильного углеродного атома ацетоуксусной кислоты, в) атомы С-1 или С-3 ядра служат предшественниками углеродного атома метильной группы ацетоуксусной кислоты. В других исследованиях [947—950] найдено, что β -углеродный атом тирозина становится α -углеродным атомом ацетоуксусной кислоты. Эти данные свидетельствуют о перемещении боковой цепи в процессе окисления фенилаланина и тирозина. Установлено, что при распаде тирозина и фенилаланина образуются два четырехуглеродных фрагмента; один из них представляют кетоновые тела, а другой — яблочная кислота или близкое к ней соединение [951]. Изложенные выше данные могут быть представлены в виде следующей схемы:



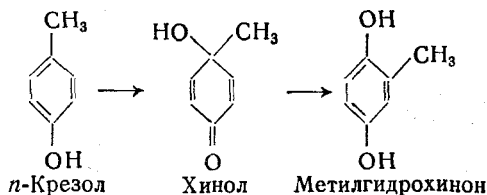
Приведенная выше цепь последовательных реакций была подтверждена результатами опытов с очищенными ферментами, причем были обнаружены дополнительные промежуточные продукты. Первый этап превращения тирозина состоит в образовании *p*-оксифенилпировиноградной кислоты путем реакции переаминирования. Интересно, что в более ранних исследованиях с использованием кашицы печени не наблюдали образования аммиака при окислении тирозина. Переаминирование между α -кетоглутаровой кислотой и тирозином (табл. 21) необходимо для дальнейших реакций окисления [952—954]. Возможность окисления тирозина через 2,5-диоксифенилаланин, очевидно, исключена, так как установлено, что это соединение не окисляется в ферментной системе, окисляющей тирозин [953].

Однако в организме у больных с алкаптаноурией 2,5-диоксифенилаланин может превращаться в гомогентизиновую кислоту [955]. *n*-Оксифенилпировиноградная кислота в опытах *in vitro* быстро окисляется с образованием тех же продуктов, что и при окислении самого тирозина [953].

Опубликованы данные, свидетельствующие о том, что при окислении *n*-оксифенилпировиноградной кислоты в гомогентизиновую известную роль играют аскорбиновая кислота [953, 956—962] и каталаза [1135]. Механизм действия аскорбиновой кислоты еще не ясен; аскорбиновая кислота может быть заменена в эксперименте некоторыми другими соединениями, например изоаскорбиновой кислотой. По вопросу о том, является ли 2,5-диоксифенилпировиноградная кислота промежуточным продуктом при окислении *n*-оксифенилпировиноградной кислоты, имеются расхождения. Сообщали, что 2,4-диоксифенилпировиноградная кислота накапливается при окислении *n*-оксифенилпировиноградной кислоты [959]. В более поздних исследованиях найдено, что 2,5-диоксифенилпировиноградная кислота не окисляется с заметной скоростью в ферментной системе, превращающей *n*-оксифенилпировиноградную кислоту в гомогентизиновую кислоту [961].

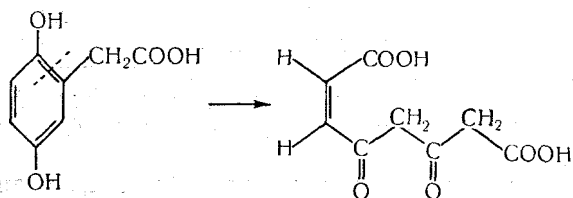
При недостаточности аскорбиновой кислоты животные, получившие *per os* большие количества фенилаланина или тирозина, выделяют с мочой *n*-оксифенилпировиноградную кислоту; количество выделяемой кислоты уменьшается при введении таким животным аскорбиновой кислоты [934—938]. Интересно, что птероилглутаминовая кислота предотвращает выделение с мочой *n*-оксифенилпировиноградной кислоты, вызываемое у морских свинок скормливанием тирозина, но не предохраняет животных от скорбута [963]. Окисление тирозина в препаратах печени, полученных от крыс с недостаточностью фолевой кислоты, удавалось активировать добавлением фолевой кислоты *in vitro* [964, 965].

В опытах с применением изотопов было доказано, что превращение *n*-оксифенилпировиноградной кислоты в гомогентизиновую сопровождается перемещением боковой цепи. Эта реакция, очевидно, аналогична реакции окисления *n*-крезола в метилгидрохинон:



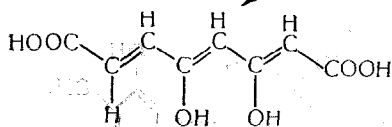
Возможно, что соответствующая биологическая реакция протекает сходным путем [966, 967]; механизм этого превращения и функция аскорбиновой кислоты при нем [968, 969] нуждаются в дальнейшем изучении.

Окисление гомогентизиновой кислоты изучали в различных системах *in vitro* [970—976]. Фермент, участвующий в этом процессе, найден в печени и почках, а также у одного штамма *Pseudomonas*; для его действия необходимо присутствие ионов Fe^{++} ; ионы Fe^{+++} неактивны. Аскорбиновая кислота и глутатион активируют систему — возможно, путем предохранения Fe^{++} и сульфгидрильных групп от окисления. α, α' -Дипиридил тормозит окисление гомогентизиновой кислоты, по всей вероятности, в результате связывания железа. При действии этой весьма своеобразной ферментной системы потребляется один моль кислорода и образуется малеилацетоуксусная кислота. Этот продукт, образование которого вначале было заподозрено на основании исследования спектров поглощения в ультрафиолетовой области [977], превращается в фумарацетоуксусную кислоту ферментом, для действия которого необходим в качестве кофактора глутатион [1136, 1137]. Интересно, что только фумарацетоуксусная кислота, но не малеилацетоуксусная кислота гидролизуется растворимым ферментом печени [970], обнаруженным ранее по его способности гидролизовать такие соединения, как α, γ -дикетокислоты и β, δ -дикетогексановая кислота [978—980]. Окисление гомогентизиновой кислоты и дальнейшие фазы ее обмена можно представить следующим образом:

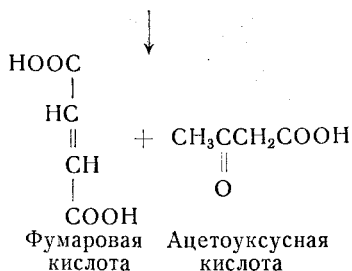


Гомогентизиновая
кислота

Малеилацетоуксусная
кислота

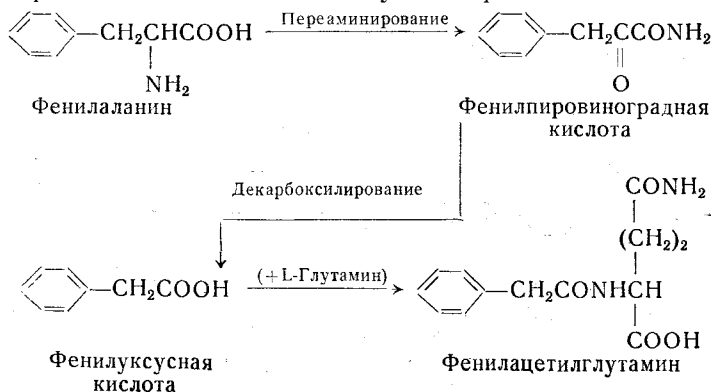


Фумарацетоуксусная кислота



Описаны три заболевания у человека, связанные с врожденными пороками окисления фенилаланина; они рассматриваются в гл. V.

Реакции, приведенные выше, представляют главный путь превращения фенилаланина в организме у млекопитающих, однако известны и другие реакции обмена фенилаланина. Установлено, например, что в нормальной моче человека [981, 982] имеется фенилацетилглутамин и что экскреция этого соединения значительно повышена после введения фенилуксусной кислоты [983—989]. При введении 20 г фенилуксусной кислоты почти вся введенная доза выделяется в виде фенилацетилглутамина. У всех исследованных видов животных (собака, крыса, кролик, обезьяна, лошадь, овца и кошка) нагрузка фенилуксусной кислотой вызывала выделение с мочой фенилацетилглицина. Только у человека и, возможно, у шимпанзе образуется фенилацетилглутамин. Появление этого соединения в моче дает основание предполагать наличие следующих реакций:

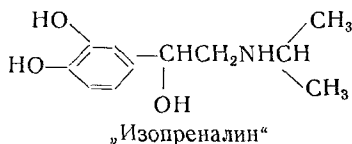


Другой путь обмена фенилаланина состоит в превращении его в гиппуровую кислоту. Хотя гиппуровая кислота, выделяемая человеком и животными, образуется главным образом из бензойной кислоты пищи, ее наличие в моче людей при

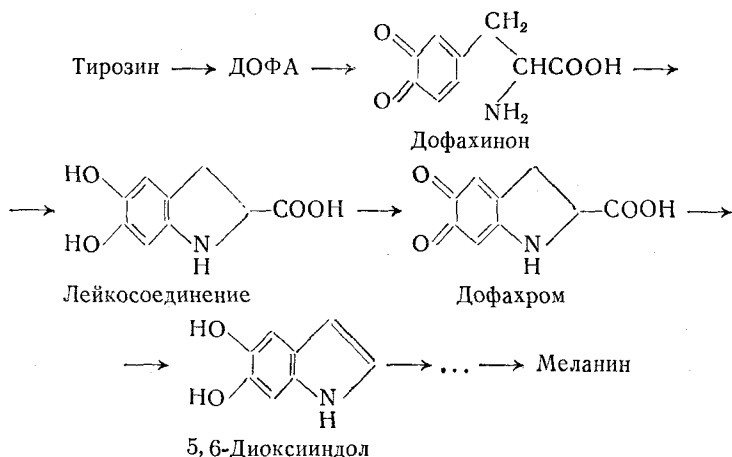
Окисление тирозина в ДОФА катализируется тирозиназой [996—998], которая имеется как в растительных, так и в животных тканях. Декарбоксилирование ДОФА имеет место в тканях животного и растительного происхождения. Реакция гидроксильирования тирозина в деталях не изучена. Известно, что метильная группа вводится в адреналин путем трансметилирования (стр. 370).

Схема, приведенная выше, еще не полностью подтверждена экспериментально. Были получены данные, указывающие на возможность существования других путей биосинтеза адреналина. Так, например, образование норадrenalина наблюдали при инкубировании кашицы из почек морских свинок в анаэробных условиях с диоксифенилсеринном [945].

Имеются указания на наличие в природе изопропилового аналога адреналина: опубликованы хроматографические данные, свидетельствующие о присутствии «изопреналина» в солевых экстрактах надпочечников обезьяны, кошки и человека [1139].



Тирозин через ДОФА и 5,6-диоксииндол переходит в меланин. Рейпер [996, 999] и Мейсон [997] обосновали следующий путь образования меланина:



На основе изучения полимеризации 5,6-диоксииндола высказаны предположения о механизме этой реакции [1000, 1001].

В печени и почках имеется сходная ферментная система, катализирующая дейодирование дийодтирозина и трийодтиронина [1140]. Возможно, что другие ферменты этого типа осуществляют взаимопревращение тироксина и трийодтиронина [1009, 1010]. Распад тироксина и трийодтиронина, по-видимому, протекает через реакции переаминирования (как это показано для 3,5-дидодтирозина [1011]); образующиеся этим путем кетокислоты могли бы декарбоксилироваться [1012].

Бактерии осуществляют разложение тирозина путем ряда реакций, в результате которых образуются такие продукты, как фенол, *n*-крезол, *n*-оксibenзойная кислота и др. [1013, 1014]. Превращение в фенол происходит под действием β -тирозиныазы¹, отщепляющей боковую цепь [555].

Тирозин найден в нормальной моче человека в виде соответствующей фенолосерной кислоты (тирозин-О-сульфата) [1015]. Он встречается, по-видимому, в этой форме и в фибриногене [1016]. Механизм образования тирозин-О-сульфата и значение этого производного неизвестны.

ЛИЗИН (фиг. 22)

Биосинтез

Биосинтез лизина изучен у плесени *Neurospora*, дрожжей и бактерий. Были обнаружены два пути синтеза этой аминокислоты; в одном из них промежуточными продуктами являются некоторые соединения, которые образуются и при распаде лизина в организме высших животных.

Отправным пунктом в исследовании путей биосинтеза лизина у *Neurospora* явилось выделение различных мутантов этого плесневого гриба, нуждающихся для роста в лизине. Один из этих мутантов способен расти на средах, содержащих либо лизин, либо α -аминоадипиновую кислоту [1017, 1018]. Было установлено, что при культивировании этого штамма на среде с добавлением α -аминоадипиновой кислоты, меченной C^{14} , почти весь внесенный радиоизотоп включается в лизин [1018]. Эти результаты указывают на то, что у *Neurospora* α -аминоадипиновая кислота служит предшественником лизина. Поскольку изотоп не был найден в других аминокислотах, α -аминоадипиновая кислота, по-видимому, не подвергается расщеплению с образованием промежуточных продуктов цикла Кребса. DL- α -аминоадипиновая кислота обеспечивает рост данного штамма плесени в такой же мере, как и эквивалентное количество L- α -амино-

¹ Этот фермент правильнее называть тирозиндефенолазой. — Прим. ред.

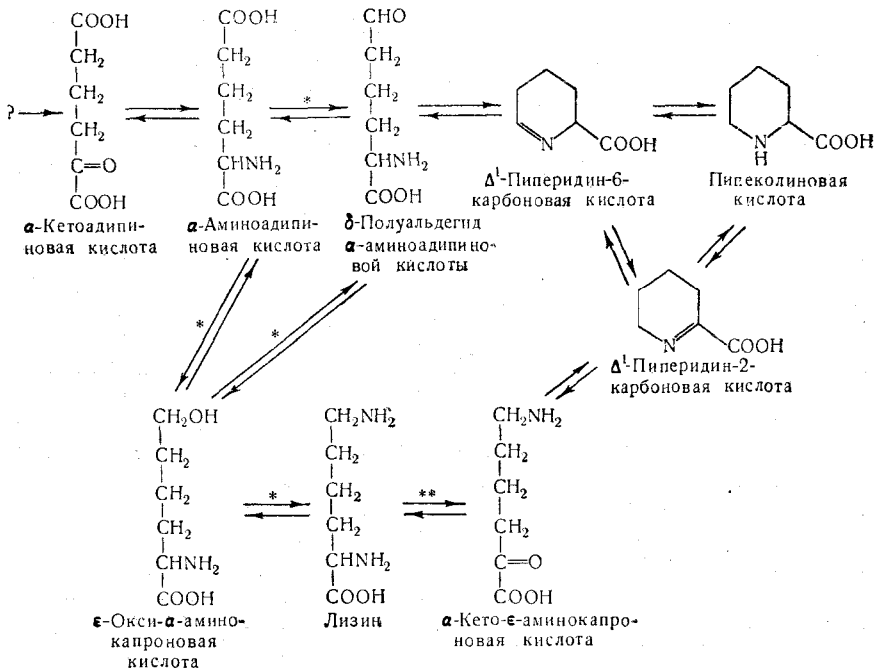
адипиновой кислоты. У некоторых мутантов *Ophiostoma*, нуждающихся в лизине, α -аминоадипиновая кислота может быть заменена α -кетoadипиновой кислотой [1019]. Заслуживает внимания, что ϵ -окси- α -аминокапроновая кислота поддерживает рост некоторых мутантных штаммов *Neurospora* [1020]. D-Лизин используется для роста некоторыми мутантами *Neurospora*, у которых нарушены ранние стадии биосинтеза лизина; штаммы, у которых блокировано ближайшее к лизину звено биосинтетического процесса, не могут использовать D-лизин.

Переход лизина в пипеколиновую кислоту обнаружен у *Neurospora* [1021—1023]; это превращение может происходить путем переаминирования или окислительного дезаминирования лизина по α - или ϵ -аминогруппе с образованием дегидропипеколиновых кислот, которые затем восстанавливаются в пипеколиновую кислоту. Мицелий *Neurospora* способен превращать α -кето- ϵ -аминокапроновую кислоту (находящуюся в равновесии с циклической формой, Δ^1 -пиперидин-2-карбоновой кислотой) в лизин и в пипеколиновую кислоту [1023].

Хотя имеются все основания считать α -аминоадипиновую кислоту предшественником лизина у *Neurospora*, промежуточные этапы этого превращения неизвестны. Данные, полученные при изучении распада лизина в других биологических объектах, заставляют думать о превращениях с участием δ -полуальдегида α -аминоадипиновой кислоты, α - или ϵ -ацилпроизводных лизина и аналогичных соединений. Хотя по этому вопросу имеются некоторые правдоподобные гипотезы, определенные данные об образующихся в ходе биосинтеза лизина продуктах отсутствуют. В приведенной ниже схеме (см. стр. 426) показаны некоторые возможные взаимопревращения предшественников лизина.

В последние годы получены данные, свидетельствующие об образовании у *Neurospora* α -окси- ϵ -N-ацетиламинокапроновой кислоты [1023]; однако это соединение не было однозначно идентифицировано.

Некоторые данные имеются также относительно взаимопревращений у *Neurospora* между лизином, α -кето- ϵ -аминокапроновой кислотой (Δ^1 -пиперидин-2-карбоновая кислота), α -аминоадипиновой и пипеколиновой кислотами; однако происхождение шестиуглеродной цепи остается неизвестным. В исследованиях, проведенных при помощи радиоактивных изотопов, получены лишь первые указания на происхождение шестиуглеродного остова у *Neurospora* и *Torulopsis* [237, 1024, 1026, 1027, 1036]. Установлено, что ϵ -углеродный атом и углеродный атом карбоксильной группы лизина происходят из карбоксильной группы уксусной кислоты; все остальные углеродные атомы лизина имеют источником углеродные атомы метильных групп уксусной



* Превращению, возможно, подвергается α-N-ацилпроизводное.

** Превращению, возможно, подвергается ε-N-ацилпроизводное.

кислоты. Результаты изотопных исследований позволяют предполагать, что в процессе синтеза углеродной цепи лизина ацетат конденсируется с α-кетоглутаратом с образованием гомолимонной кислоты; последняя в результате реакций, аналогичных реакциям цикла лимонной кислоты, превращается последовательно в гомоизолимонную, щавелевоглутаровую и α-кетоадипиновую кислоты [1027, 1036].

У ряда бактерий биосинтез лизина протекает через α-ε-диаминопимелиновую кислоту. По данным Уорк и ее сотрудников, а также других авторов [1028—1033] (стр. 51), мезо- и LL-формы α,ε-диаминопимелиновой кислоты широко распространены у самых различных бактерий; у некоторых бактерий, например у грамположительных кокков, у водорослей, грибов и дрожжей эта аминокислота не найдена. Диаминопимелиновая кислота, по-видимому, является предшественником лизина; на это указывает ее превращение в лизин под действием специфической декарбоксилазы (стр. 209). Это предположение подтверждается также данными Дэвиса [1034], выделившего му-

тантный штамм *Escherichia coli*, который проявляет абсолютную потребность в α , ϵ -диаминопимелиновой кислоте и относительную — в лизине как факторах роста. Было найдено, что у некоторых мутантных штаммов *E. coli*, для роста которых обязательно присутствие лизина, утрачена декарбоксилаза диаминопимелиновой кислоты; последняя накапливается в культурах этих мутантов. Однако мутантные штаммы, способные к росту на диаминопимелиновой кислоте, содержат декарбоксилазу. Диаминопимелиновая кислота, по-видимому, с трудом поглощается клетками микроорганизмов из внешней среды; этим можно объяснить тот факт, что для оптимального роста некоторых мутантных штаммов необходима как диаминопимелиновая кислота, так и лизин. Эти исследования были проведены до того, как были синтезированы и изучены три изомера диаминопимелиновой кислоты; возможно, что значение изложенных выше фактов станет более ясным после повторения опытов с применением чистых изомеров диаминопимелиновой кислоты. После получения синтетических изомеров диаминопимелиновой кислоты было установлено, что у микроорганизмов встречаются мезо- и LL-формы этой аминокислоты; субстратом декарбоксилазы диаминопимелиновой кислоты является мезо-форма. Образованию лизина из LL- α , ϵ -диаминопимелиновой кислоты должно предшествовать ее превращение в мезо-форму, что осуществляется специфическим ферментом, рацемазой диаминопимелиновой кислоты (стр. 244).

Пути биосинтеза диаминопимелиновой кислоты неизвестны; однако данные, полученные на мутантных штаммах, а также в исследованиях, проведенных с применением изотопов, позволяют предполагать, что предшественником диаминопимелиновой кислоты может служить аспарагиновая кислота (но не треонин или гомосерин) [117, 1034, 1035, 1141]. Возможно, что у *Escherichia coli* гомосерин и лизин имеют общего предшественника, который образуется из аспарагиновой кислоты (стр. 333).

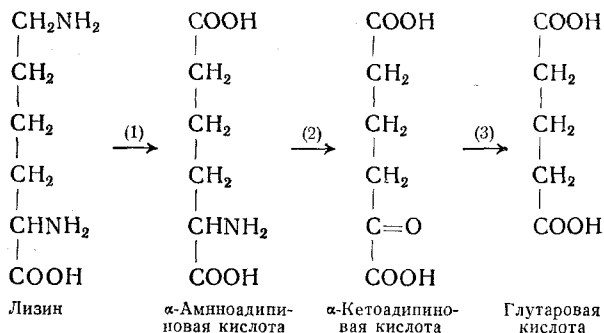
α , ϵ -Диаминопимелиновая кислота (или, возможно, продукты ее распада) может превращаться в дипиколиновую кислоту (стр. 58) [1037].

Распад лизина

Как известно, лизин незаменим в питании млекопитающих (табл. 10). В диете растущих крыс лизин не может быть заменен ни α -аминоадипиновой кислотой [1038], ни α -амино- ϵ -гуанидинокапроновой кислотой [1039]. В отличие от других аминокислот L-лизин не может быть заменен в пищевых рационах

D-изомером [1040, 1041] или производными L-изомера, у которых α -аминогруппа содержит заместитель или заменена оксигруппой. Между тем ϵ -N-ацетил- и ϵ -N-метиллизин могут заменять лизин в пищевом рационе роста крыс [1042, 1043]. При кормлении крыс лизином, содержащим N^{15} и дейтерий, отношение D : N^{15} в лизине, включающемся в белки органов, остается неизменным [1044]. При введении крысам N^{15} -аммония или N^{15} -аминокислот изотопный азот не переходит в α -аминогруппу лизина [270, 1045]. В организме крысы наблюдается лишь очень слабая лабилизация α -водородного атома лизина. Все эти данные указывают на то, что лизин не принимает сколько-нибудь активного участия в обратимых процессах переаминирования или дезаминирования; однако они не исключают возможности необратимого дезаминирования или переаминирования этой аминокислоты.

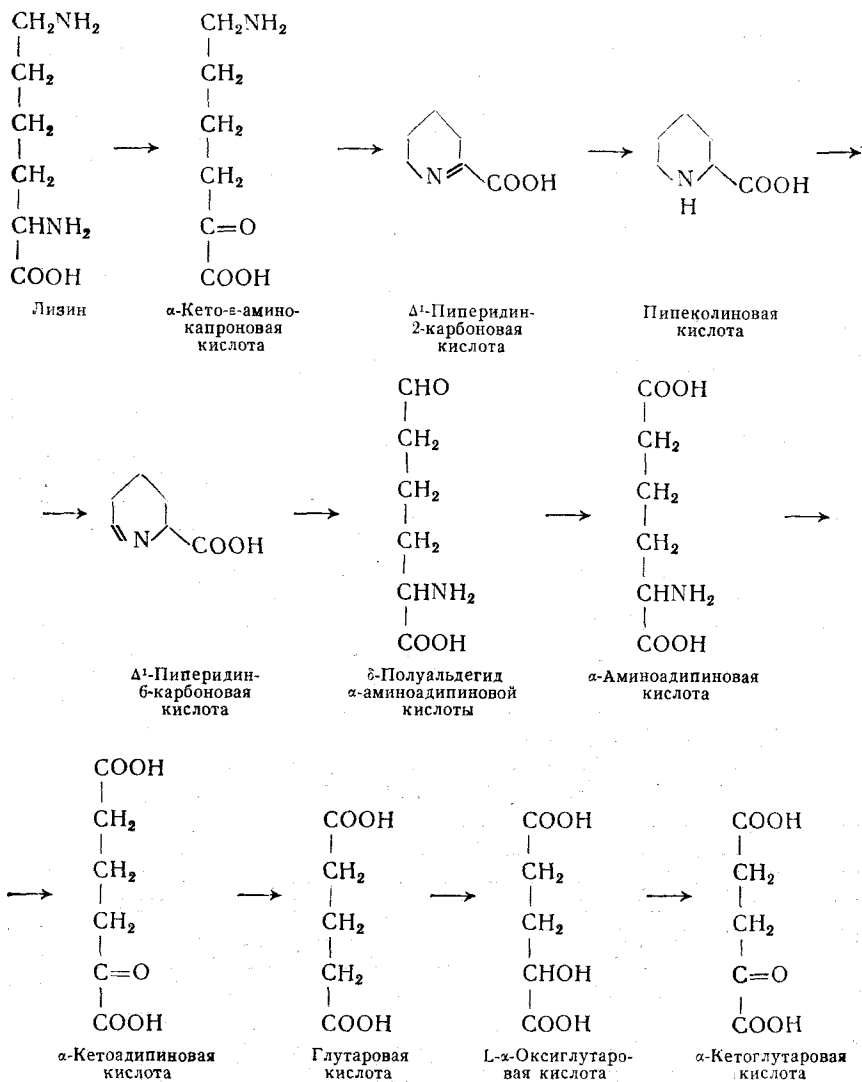
Борсук и его сотрудники [1046—1048] наблюдали превращение лизина в глутаровую кислоту. Они нашли, что в гомогенатах печени морской свинки ϵ - C^{14} -лизин превращается в α -аминоадипиновую кислоту; последняя переходит в α -кетoadипиновую кислоту, которая в свою очередь декарбоксилируется с образованием глутаровой кислоты:



Возможно, что реакция (2) осуществляется путем переаминирования.

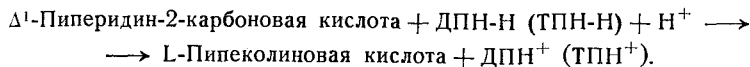
Образование глутаровой кислоты из лизина можно считать установленным; Рингер с сотрудниками [1050] еще в 1913 г. высказали предположение о существовании подобного превращения, исходя из того, что ни лизин, ни глутаровая кислота не превращаются в теле животных в глюкозу или в ацетоуксусную кислоту. Ротстайн и Миллер, пользуясь методом «изотопной ловушки», показали в опытах на крысах превращение лизина

в глутаровую кислоту и глутаровой кислоты в L- α -оксиглутаровую кислоту; последняя далее окисляется в α -кетоглутаровую кислоту; кроме того, ϵ -углеродный атом лизина может частично переходить в формиат. Эти данные указывают на возможность превращения лизина в глутаминовую кислоту, что согласуется с данными других авторов, полученными в исследованиях с ϵ -C¹⁴-лизином [1049, 1051, 1055]. Наличие пипеколиновой кислоты в тканях ряда растений [1025, 1056—1059] и обнаружение превращения лизина в пипеколиновую кислоту у высших растений [1071, 1072], у *Neurospora* [1023] и в организме крысы [1051] послужили указанием на то, что пипеколиновая кислота является промежуточным продуктом обмена лизина. По данным Ротстайна и Миллера, в организме крысы в процессе превращения лизина в пипеколиновую кислоту отщепляется α -аминогруппа, а не ϵ -аминогруппа лизина. Было найдено, что пипеколиновая кислота принадлежит к главным продуктам обмена лизина у крыс; она, по-видимому, представляет промежуточное звено при превращении лизина в α -аминоадипиновую кислоту. Эти исследования показали, что при распаде лизина в организме крысы переход азота ϵ -аминогруппы лизина в α -аминогруппу α -аминоадипиновой кислоты осуществляется в результате внутримолекулярной реакции переаминирования (см. схему на стр. 432) [1052, 1055]. Следует помнить, что, хотя приведенная ниже схема согласуется с известными фактами, касающимися процесса диссимиляции лизина, отдельные этапы этого процесса требуют экспериментального уточнения. Превращение лизина в α -кето- ϵ -аминокапроновую кислоту (или в ее циклическую форму, Δ^1 -пиперидин-2-карбоновую кислоту) еще не было осуществлено в опытах с ферментными препаратами из тканей млекопитающих. L-Аминокислотная оксидаза змеиного яда катализирует эту реакцию с очень малой скоростью. Когда ϵ -аминогруппа лизина блокирована, например посредством введения карбобензоксигруппы, окисление α -аминогруппы происходит значительно быстрее. В результате этой реакции образуется ϵ -N-карбобензоксипроизводное кетокислоты. После удаления защищающей группы получают кетокислоту (α -кето- ϵ -аминокапроновую кислоту), которая в растворе находится в равновесии с циклической формой [1060] (стр. 237). Образование этого соединения у *Neurospora* обнаружено Швитом и сотрудниками [1021—1023], которые наблюдали превращение лизина в Δ^1 -пиперидин-2-карбоновую кислоту. Следует учитывать возможное участие в обмене лизина его производных по ϵ -аминогруппе, особенно в связи с данными о том, что ϵ -N-ацетил- и ϵ -N-метилпроизводные лизина могут заменять лизин в питании растущих крыс. Притом известно, что реакции ферментативного

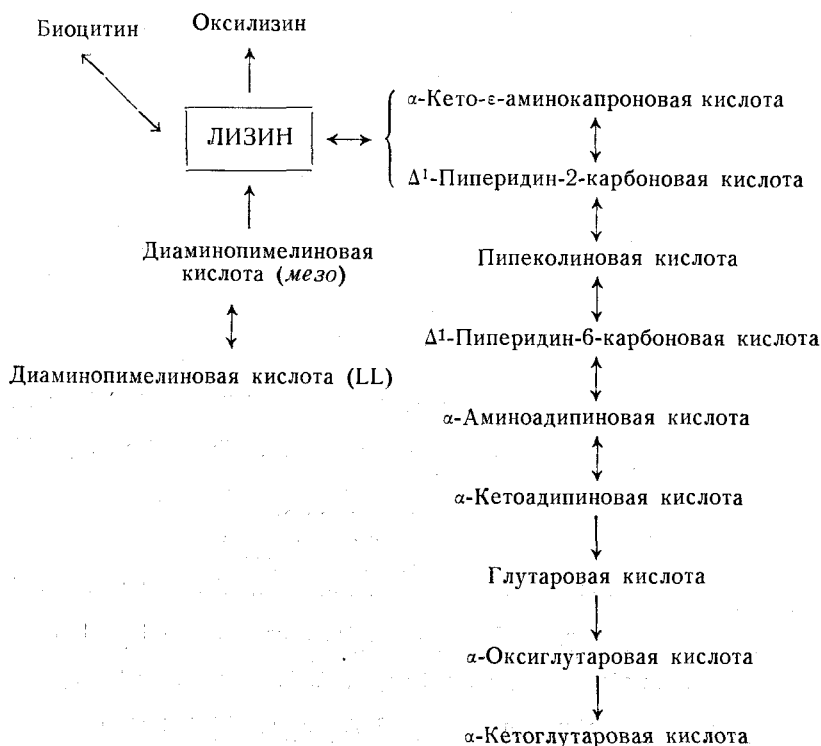


дезаминирования D- и L-лизина и переаминирования α -аминогруппы L-лизина протекают значительно быстрее, если α -аминогруппа блокирована [1060, 1061]. Аналогичные наблюдения имеются в отношении производных орнитина. Заслуживает внимания, что в одном из путей обмена орнитина участвует α -N-ацетилорнитин (стр. 344).

В опытах с одной из фракций гомогената печени крысы обнаружено превращение Δ^1 -пиперидин-2-карбоновой кислоты в L-пипеколиновую кислоту; для этой реакции необходим восстановленный ди- или трифосфопиперидиннуклеотид [1142]:



У крыс ϵ -C¹⁴-D-лизин не превращается в D-пипеколиновую кислоту; весь введенный в виде лизина изотопный углерод был обнаружен в моче и небелковых азотистых фракциях тканей [1062].



Фиг. 22. Сводная схема превращений лизина.

Нейбергер и Сангер [1061] впервые высказали предположение о том, что одним из продуктов обмена лизина является δ -аминовалерьяновая кислота. Установлено, что эта аминокислота образуется при декарбоксилировании α -кетопрекурсора лизина

[1060]. По данным Ротстайна и Миллера [1063], δ -C¹⁴- δ -аминовалерьяновая кислота превращается у крыс в глутаминовую кислоту. δ -Аминовалерьяновая кислота может подвергаться переаминированию [1064, 1065] (стр. 227); в результате этой реакции следует ожидать образования полуальдегида глутаровой кислоты, который может далее окисляться в глутаровую кислоту.

У дрожжей обнаружен лизин в связанной форме, а именно в виде ϵ -N-биотинил-L-лизина (биоцитин) [1066]. Существование соединения, содержащего лизин, связанный через ϵ -аминогруппу, весьма интересно; имеются и другие данные, подтверждающие существование соединений, содержащих связи через ϵ -аминогруппу лизина (стр. 0229). Райт и сотрудники [1067] обнаружили в крови человека фермент, гидролизующий биоцитин. Биоцитин выделяется с мочой в виде биоцитин-сульфоксида [1068].

Данные об обмене 5-оксилизина немногочисленны (стр. 50). Эта аминокислота обнаружена только в коллагене [1069]. При исследовании гидролизатов желатины и коллагена кожи, выделенных из тела молодых крыс, которым скармливали в течение трех недель C¹⁴-лизин, содержание радиоактивного углерода оказалось одинаковым в лизине и в оксизизине. Эти данные позволяют считать лизин предшественником оксизизина [1070].

ЛИТЕРАТУРА

1. McElroy W. D., Glass B., eds., "Inorganic Nitrogen Metabolism". Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1956.
2. Miller S. L., Science, **117**, 528 (1953); J. Am. Chem. Soc., **77**, 2351 (1955); Federation Proc., **15**, 316 (1956).
3. Graff J., Hoberman H. D., J. Biol. Chem., **186**, 369 (1950).
4. Сорвачев К. Ф., Биохимия, **18** (16), 696 (1953).
5. Pihl A., Fritzon P., J. Biol. Chem., **215**, 345 (1955).
6. Stadtman E. R., J. Am. Chem. Soc., **77**, 5765 (1955).
7. Bush M. T., Touster O., Brockman J. E., J. Biol. Chem., **188**, 685 (1951).
8. Fink K., Henderson R. B., Fink R. M., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **78**, 135 (1951); J. Biol. Chem., **197**, 441 (1952).
9. Funk C., Merritt A. J., Ehrlich A., Arch. Biochem. and Biophys., **35**, 468 (1952).
10. Nakada H. I., Weinhouse S., J. Biol. Chem., **187**, 663 (1950).
11. Wahba A. J., Shive W., J. Biol. Chem., **211**, 155 (1954).
12. Tanenbaum S. W., Garnjobst L., Tatum E. L., Am. J. Botany, **41**, 484 (1954).
13. Fürth O., von, Friedmann M., Biochem. Z., **26**, 435 (1910).
14. Clementi A., Arch. intern. physiol., **19**, 369 (1922).
15. Steenholdt G., Acta Physiol. Scand., **8**, 342 (1944).
16. Greenstein J. P., Carter C. E., J. Natl. Cancer Inst., **7**, 57 (1946).
17. Price V. E., Greenstein J. P., J. Natl. Cancer Inst., **7**, 275 (1947).
18. Carter C. E., Greenstein J. P., J. Natl. Cancer Inst., **7**, 433 (1947).

19. Errera M., Greenstein J. P., *J. Natl. Cancer Inst.*, **7**, 437 (1947).
20. Gonsalves J. M., Price V. E., Greenstein J. P., *J. Natl. Cancer Inst.*, **7**, 281 (1947).
21. Errera M. E., Greenstein J. P., *J. Natl. Cancer Inst.*, **7**, 285 (1947).
22. Grover C. E., Chibnall A. C., *Biochem. J.*, **21**, 857 (1927).
23. Schmalfluss K., Mothes K., *Biochem. Z.*, **221**, 134 (1930).
24. Gorr G., Wagner J., *Biochem. Z.*, **254**, 1 (1932).
25. Grassmann W., Mayr O., *Z. physiol. Chem.*, **214**, 185 (1933).
26. Utzino S., Imaizumi M., *Z. physiol. Chem.*, **253**, 51 (1938).
27. Koser S. A., Wright M. H., Dorfmann A., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **51**, 204 (1942).
28. Stokes J. L., Larsen A., Gunness M., *J. Bacteriol.*, **54**, 219 (1947).
29. Lardy H. A., Potter R. L., Elvehjem C. A., *J. Biol. Chem.*, **169**, 451 (1947).
30. Shive H., Rogers L. L., *J. Biol. Chem.*, **169**, 453 (1947).
31. Lardy H. A., Potter R. L., Burriss R. H., *J. Biol. Chem.*, **179**, 721 (1949).
32. Broquist H. P., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **188**, 431 (1951).
33. Moat A. G., Lichstein H. C., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **48**, 300 (1954).
34. Quastel J. H., Woolf B., *Biochem. J.*, **20**, 545 (1926).
35. Cook R. P., Woolf B., *Biochem. J.*, **22**, 474 (1928).
36. Woolf B., *Biochem. J.*, **23**, 472 (1929).
37. Virtanen A. I., Tarnanen J., *Biochem. Z.*, **250**, 193 (1932).
38. Gale E. F., *Biochem. J.*, **32**, 1583 (1938).
39. Williams V. R., McIntyre R. T., *J. Biol. Chem.*, **217**, 467 (1955).
40. Ellfolk N., *Acta Chem. Scand.*, **7**, 824, 1155 (1953); **8**, 151, 443 (1954).
41. Carter C. E., Cohen L. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 499 (1955).
42. Lieberman I., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 251 (1956).
43. Abrams R., Bentley M., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4179 (1955).
44. Woods L., Ravel J. M., Shive W., *J. Biol. Chem.*, **209**, 559 (1954).
45. Lagerkvist U., Reichard P., Ehrensward G., *Acta Chem. Scand.*, **5**, 1212 (1951).
46. Reichard P., Lagerkvist U., *Acta Chem. Scand.*, **7**, 1207 (1953).
47. Lieberman I., Kornberg A., *J. Biol. Chem.*, **207**, 911 (1954).
48. Lowenstein J. M., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **213**, 689 (1955); **220**, 57 (1956).
49. Jones M. E., Spector L., Lipmann F., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 819 (1955).
50. Reichard P., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 795 (1954).
51. Fairley J. L., *J. Biol. Chem.*, **210**, 347 (1954).
52. Wood J. G., *Ann. Rev. Biochem.*, **14**, 665 (1945).
53. Vickery H. B., Pucher G. W., Wakeman A. J., Leavenworth C. S., *Conn. Agr. Exptl. Sta. Bull.*, **399**, 757 (1937).
54. Archibald R. M., *Chem. Revs.*, **37**, 161 (1945).
55. Archibald R. M., *Euclides (Madrid)*, **7**, 251 (1947).
56. Steward F. C., Street H. E., *Ann. Rev. Biochem.*, **16**, 471 (1947).
57. Street H. E., *Advances in Enzymol.*, **9**, 391 (1949).
58. Steward F. C., Thompson J. F., *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **1**, 233 (1950).
59. Steward F. C., Thompson J. F., in "The Proteins" (Neurath and Bailey, eds.), vol. II, pt. A, p. 513. Academic Press, New York, 1954.
60. Fodor P. J., Miller A., Neidle A., Waelsch H., *J. Biol. Chem.*, **203**, 991 (1953).
61. Racker E., *J. Biol. Chem.*, **190**, 685 (1951).

62. Krimsky I., Racker E., *J. Biol. Chem.*, **198**, 721 (1952).
63. Loomis W. F., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **62**, 211 (1955).
64. Cutinelli C., Ehrensvärd G., Reio L., Saluste E., Stjernholm R., *Acta Chem. Scand.*, **5**, 353 (1951).
65. Wang C. H., Christensen B. E., Cheldelin V. H., *J. Biol. Chem.*, **201**, 683 (1953).
66. Tomlinson N., *J. Biol. Chem.*, **209**, 597 (1954).
67. Krimsky I., Racker E., *J. Biol. Chem.*, **198**, 731 (1952).
68. Cutinelli C., Ehrensvärd G., Reio L., Saluste E., Stjernholm R., *J. Biol. Chem.*, **189**, 93 (1951).
69. Cutinelli C., Ehrensvärd G., Reio L., Saluste E., Stjernholm R., *Arkiv Kemi*, **3**, 315 (1951).
70. Tomlinson N., *J. Biol. Chem.*, **209**, 605 (1954).
71. Lang S., *Hofmeister's Beitr.*, **5**, 321 (1904).
72. Krebs H. A., *Biochem. J.*, **29**, 1951 (1935).
73. Greenstein J. P., *Advances in Enzymol.*, **8**, 117 (1949).
74. Errera M., *Biol. Chem.*, **178**, 483 (1949).
75. Errera M., Greenstein J. P., *J. Biol. Chem.*, **178**, 495 (1949).
76. Greenstein J. P., Carter C. E., *J. Biol. Chem.*, **165**, 741 (1946).
77. Greenstein J. P., Price V. E., *J. Biol. Chem.*, **178**, 695 (1949).
78. Gilbert J. B., Price V. E., Greenstein J. P., *J. Biol. Chem.*, **180**, 209 (1949).
79. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **210**, 17 (1954).
80. Meister A., Levintow L., Greenfield R. E., Abendschein P. A., *J. Biol. Chem.*, **215**, 441 (1955).
81. Geddes W. F., Hunter A., *J. Biol. Chem.*, **77**, 197 (1928).
82. Zittle C. A., in "The Enzymes" (Sumner and Myrbäck, eds.), vol. I, pt. 2, p. 922. Academic Press, New York, 1951.
83. Hughes D. E., *Biochem. J.*, **45**, 325 (1949).
84. Hughes D. E., *Intern. Congr. Biochem. Abstr. of Commun. 1st Congr. Cambridge Engl.*, p. 324 (1949).
85. Hughes D. E., *Biochem. J.*, **46**, 231 (1950).
86. Hughes D. E., Williamson D. H., *Biochem. J.*, **51**, 45 (1952).
87. Meister A., in "Methods in Enzymology" (Colowick and Kaplan, eds.), vol. II, p. 380. Academic Press, New York, 1955.
88. Krebs H. A., *Biochem. J.*, **43**, 51 (1948).
89. Waelsch H., in "Phosphorus Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), vol. II, p. 109. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1952.
90. Waelsch H., *Advances in Enzymol.*, **13**, 237 (1952).
91. Hanes C. S., Hird F. J. R., Isherwood F. A., *Nature*, **166**, 288 (1950); **167**, 818 (1951); *Biochem. J.*, **51**, 25 (1952).
92. McIlwain H., Fildes P., Gladstone G. P., Knight B. J. G., *Biochem. J.*, **33**, 223 (1939).
93. McIlwain H., *Biochem. J.*, **33**, 1942 (1939).
94. Ayengar P., Roberts E., *J. Biol. Chem.*, **197**, 453 (1952).
95. Ayengar P., Roberts E., *Growth*, **17**, 201 (1953).
96. Ayengar P., Roberts E., Ramasarma G. B., *J. Biol. Chem.*, **193**, 781 (1951).
97. Hac L. R., Snell E. E., Williams R. J., *J. Biol. Chem.*, **159**, 273 (1945).
98. Hood D. W., Lyman C. M., *J. Biol. Chem.*, **185**, 39 (1950).
99. Lyman C. M., Kuiken K. A., Blotter L., Hale F., *J. Biol. Chem.*, **157**, 395 (1945).
100. Mueller J. H., Miller P. A., *J. Biol. Chem.*, **181**, 39 (1949).
101. Peeler H. T., Daniel L. J., Norris L. C., Heuser G. F., *J. Biol. Chem.*, **177**, 905 (1949).

102. Rickes E. L., Koch P. J., Wood T. R., *J. Biol. Chem.*, **178**, 103 (1949).
103. Stokes J. L., Koditschek L. K., Rickes E. L., Wood T. R., *J. Biol. Chem.*, **178**, 93 (1949).
104. Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, **172**, 71 (1948).
105. Camien M. N., Dunn M. S., *J. Biol. Chem.*, **217**, 125 (1955).
106. Ory R. L., Hood D. W., Lyman C. M., *J. Biol. Chem.*, **207**, 267 (1954).
107. Bach S. J., Smith M., *Nature*, **176**, 1126 (1955).
108. McIlwain H., Roper J. A., Hughes D. E., *Biochem. J.*, **42**, 492 (1948).
109. Lerner E. M., Mueller J. H., *J. Biol. Chem.*, **181**, 43 (1949).
110. Keynan A., Strecker H. J., Waelsch H., *J. Biol. Chem.*, **211**, 883 (1954).
111. Leloir L. F., Cardini C. E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **12**, 15 (1953).
112. Fowden L., *J. Exptl. Botany*, **6**, 362 (1955).
113. Steward F. C., Pollard J. K., in "Inorganic Nitrogen Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 377. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1956.
114. Calvin M., *Harvey Lectures Ser.*, **46**, 218 (1950—1951).
115. Tatum E. L., *Federation Proc.*, **8**, 511 (1949).
116. Roepke R. R., Libby R. L., Small M. H., *J. Bacteriol.*, **48**, 401 (1944).
117. Abelson P. H., *J. Biol. Chem.*, **206**, 335 (1954).
118. Davis B. D., *Advances in Enzymology*, **16**, 247 (1955).
119. Meinhart J. O., Simmonds S., *J. Biol. Chem.*, **213**, 329 (1955).
120. Meinhart J. O., Simmonds S., *J. Biol. Chem.*, **216**, 51 (1955).
121. Weinhouse S., Friedmann B., *J. Biol. Chem.*, **191**, 707 (1951).
122. Nakada H. I., Weinhouse S., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **4**, 257 (1953).
123. Weinhouse S., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 637, Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
124. Weinhouse S., Friedmann B., *J. Biol. Chem.*, **197**, 733 (1952).
125. Ratner S., Nocito V., Green D. E., *J. Biol. Chem.*, **152**, 119 (1944).
126. Mathews M. B., Vennesland B., *J. Biol. Chem.*, **186**, 667 (1950).
127. Campbell J. J., Smith R. A., Eagles B. A., *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 594 (1953).
128. Olson J. A., *Nature*, **174**, 695 (1954).
129. Weissbach A., Horecker B. L., in "Amido Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 174. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
130. Racker E., *Advances in Enzymol.*, **15**, 141 (1954).
131. Horecker B. L., Gibbs M., Klenow H., Smyrniotis P. Z., *J. Biol. Chem.*, **207**, 393 (1954).
132. Arnstein H. R. V., *Advances in Protein Chem.*, **9**, 2 (1954).
133. Weissbach A., Sprinson D. B., *J. Biol. Chem.*, **203**, 1023 (1953).
134. Elder H. A., Mortensen R. A., *J. Biol. Chem.*, **218**, 261 (1956).
135. Berlin N. I., Hewitt C., Lotz C., *Biochem. J.*, **58**, 498 (1954).
136. Borsook H., Dubnoff J. W., *J. Biol. Chem.*, **138**, 389 (1941); *Science*, **91**, 551 (1940).
137. Bloch K., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **138**, 167 (1941).
138. Fuld M., *Federation Proc.*, **13**, 215 (1954).
139. Benedict J. D., Kalinsky H. J., Scarrone L. A., Wertheim R., Stetten D., jr., *J. Clin. Invest.*, **34**, 141 (1955).
140. Borsook H., Dubnoff J. W., *J. Biol. Chem.*, **168**, 493 (1947).

141. Almqvist H. J., Mecchi E., Stokstad E. L. R., Manning P. D. V., *J. Biol. Chem.*, **134**, 465 (1940).
142. Barker H. A., Volcani B. E., Cardon B. P., *J. Biol. Chem.*, **173**, 803 (1948).
143. Paretsky D., Werkman C. H., *Arch. Biochem.*, **25**, 288 (1950).
144. Campbell L. L., jr., *J. Biol. Chem.*, **217**, 669 (1955).
145. Shemin D., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **159**, 567 (1945); **166**, 621 (1946).
146. Altman K. I., Casarett G. W., Masters R. E., Noonan T. R., Salomon K., *J. Biol. Chem.*, **176**, 319 (1948).
147. Radin N. S., Rittenberg D., Shemin D., *J. Biol. Chem.*, **184**, 745 (1950).
148. Wittenberg J., Shemin D., *J. Biol. Chem.*, **178**, 47 (1949), **185**, 103 (1950).
149. Muir H. M., Neuberger A., *Biochem. J.*, **45**, 163 (1949); **47**, 97 (1950).
150. Shemin D., Wittenberg J., *J. Biol. Chem.*, **192**, 315 (1951).
151. Shemin D., Kumin S., *J. Biol. Chem.*, **198**, 827 (1952).
152. Shemin D., Russell C. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4873 (1953).
153. Shemin D., Abramsky T., Russell C. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1204 (1954).
154. Shemin D., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 727. Johns Hopkins Press, Baltimore Maryland, 1955.
155. Shemin D., Russell C. S., Abramsky T., *J. Biol. Chem.*, **215**, 613 (1955).
156. Neuberger A., Scott J. J., *Nature*, **172**, 1093 (1953).
157. Wynn R. W., Corwin A. H., *J. Org. Chem.*, **15**, 203 (1950).
158. Dresel E. I. B., Falk J. E., *Nature*, **172**, 1185 (1953).
159. Falk J. E., Dresel E. I. B., Rimington C., *Nature*, **172**, 292 (1953).
160. Cookson G. H., Rimington C., *Nature*, **171**, 875 (1953).
161. Kennard O., *Nature*, **171**, 876 (1953).
162. Westall R. G., *Nature*, **170**, 614 (1953).
163. Bogorad L., *Science*, **121**, 878 (1955).
164. Granick S., in "Chemical Pathways of Metabolism" (Greenberg, ed.), vol. II, p. 287. Academic Press, New York, 1954.
165. Shemin D., *J. Biol. Chem.*, **162**, 297 (1946).
166. Goldsworthy P. D., Winnick T., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **180**, 341 (1949).
167. Winnick T., Moring-Claesson I., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **175**, 127 (1948).
168. Siekevitz P., Winnick T., Greenberg D. M., *Federation Proc.*, **8**, 250 (1949).
169. Siekevitz P., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **180**, 845 (1949).
170. Sakami W., *J. Biol. Chem.*, **176**, 995 (1948).
171. Elwyn D., Sprinson D. B., *J. Biol. Chem.*, **184**, 475 (1950).
172. Levine M., Tarver H., *J. Biol. Chem.*, **184**, 427 (1950).
173. Lascelles J., Woods D. D., *Nature*, **166**, 649 (1950).
174. Sakami W., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 658. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
175. Deodhar S., Sakami W., *Federation Proc.*, **12**, 195 (1953).
176. Mitoma C., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **196**, 599 (1952).
177. Sprinson D. B., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 608. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
178. Mackenzie C. G., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 684. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.

179. Handler P., Bernheim M. L. C., Klein J. R., *J. Biol. Chem.*, **138**, 211 (1941).
180. Elwyn D., Weissbach A., Sprinson D. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 5509 (1951).
181. Arnstein H. R. V., Neuberger A., *Biochem. J.*, **55**, 259, 271 (1953).
182. Welch A. D., Nichol C. H., *Ann. Rev. Biochem.* **21**, 633 (1952).
183. Plaut G. W. E., Betheil J. J., Lardy H. A., *J. Biol. Chem.*, **184**, 795 (1950).
184. Браунштейн А. Е., Виленкина Г. Я., *ДАН СССР*, **80**, 639 (1951).
185. Виленкина Г. Я., *ДАН СССР*, **84**, 559 (1952).
186. Totter J. R., Kelley R., Day P. L., Edwards R. R., *J. Biol. Chem.*, **186**, 145 (1950).
187. Weinhouse S., Friedmann B., *J. Biol. Chem.*, **210**, 423 (1954).
188. Lascelles J., Cross M. J., Woods D. D., *J. Gen. Microbiol.*, **10**, 267 (1954).
189. Holland B. R., Meinke W. W., *J. Biol. Chem.*, **178**, 7 (1949).
190. Wolf D. E., Anderson R. C., Kaczka E. A., Harris S. A., Arth G. E., Southwick P. L., Mozingo R., Folkers K., *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 2753 (1947).
191. Shive W., Bardos T. J., Bond T. J., Rogers L. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2817 (1950).
192. Brockman J. A., jr., Roth B., Broquist H. P., Hultquist M. E., Smith J. M., jr., Fahrenbach M. J., Cosulich D. B., Parker R. P., Stokstad E. L. R., Jukes T. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 4325 (1950).
193. Welch A. D., Heinle R. W., *Pharmacol. Revs.*, **3**, 345 (1951).
194. May M., Bardos T. J., Barger F. L., Lansford M., Ravel J. M., Sutherland G. L., Shive W., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 3067 (1951).
195. Pohland A., Flynn E. H., Jones R. G., Shive W., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 3247 (1951).
196. Roth B., Hultquist M. E., Fahrenbach M. J., Cosulich D. B., Broquist H. P., Brockman J. A., jr., Smith J. M., jr., Parker R. P., Stokstad E. L. R., Jukes T. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3247 (1952).
197. Sauberlich H. E., *J. Biol. Chem.*, **195**, 337 (1952).
198. Cosulich D. B., Roth B., Smith J. M., jr., Hultquist M. E., Parker R. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3252 (1952).
199. Cosulich D. B., Smith J. M., jr., Broquist H. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 4215 (1952).
200. Keresztesy J. C., Silverman M., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 5510 (1951); **75**, 1512 (1953).
201. Kisliuk R. L., Sakami W., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1456 (1954).
202. Kisliuk R. L., Sakami W., *J. Biol. Chem.*, **214**, 47 (1955).
203. Blakely R. L., *Biochem. J.*, **58**, 448 (1954).
204. Lascelles J., Woods D. D., *Biochem. J.*, **58**, 486 (1954).
205. Jaenicke L., *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 588 (1955).
206. Rauen H. M., Jaenicke L., *Z. physiol. Chem.*, **293**, 46 (1953).
207. Greenberg G. R., Jaenicke L., Silverman M., *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 589 (1955).
208. Wright B. E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **16**, 165 (1955).
209. Wright B. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 3390 (1955).
210. Weissbach A., Elwyn D., Sprinson D. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 3316 (1950).
211. Arnstein H. R. V., *Biochem. J.*, **48**, 27 (1951).
212. Elwyn D., Sprinson D. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 3317 (1950).
213. Elwyn D., Sprinson D. B., *J. Biol. Chem.*, **207**, 459 (1954).

214. Elwyn D., Sprinson D. B., *J. Biol. Chem.*, **207**, 467 (1954).
215. Dinning J. S., Sime J. T., Day P. L., *J. Biol. Chem.*, **217**, 205 (1955).
216. Byerrum R. U., Wing R. E., *J. Biol. Chem.*, **205**, 637 (1953).
217. Byerrum R. U., Hamill R. L., Ball C. D., *J. Biol. Chem.*, **210**, 645 (1954).
218. Byerrum R. U., Ringler R. L., Hamill R. L., Ball C. D., *J. Biol. Chem.*, **216**, 371 (1955).
219. Byerrum R. U., Flokstra J. H., Dewey L. J., Ball C. D., *J. Biol. Chem.*, **210**, 633 (1954).
220. Horner W. H., Mackenzie C. G., *J. Biol. Chem.*, **187**, 15 (1950).
221. Mackenzie C. G., *J. Biol. Chem.*, **186**, 351 (1950).
222. Stetten D., jr., *J. Biol. Chem.*, **144**, 501 (1942).
223. Chargaff E., Sprinson D. B., *J. Biol. Chem.*, **151**, 273 (1943).
224. Lien O. G., jr., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **195**, 637 (1952).
225. Yanofsky C., Reissig J. L., *J. Biol. Chem.*, **202**, 567 (1953).
226. Metzler D. E., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **198**, 353 (1952).
227. Metzler D. E., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **198**, 363 (1952).
228. Wood W. A., Gunsalus I. C., *J. Biol. Chem.*, **181**, 171 (1949).
229. Levene P. A., Hill D. W., *J. Biol. Chem.*, **101**, 711 (1933).
230. Lipmann F., Levene P. A., *J. Biol. Chem.*, **98**, 109 (1932).
231. Schmidt G., *Z. physiol. Chem.*, **223**, 86 (1934).
232. Agren G., Verdier C. H., de Glomset J., *Acta Chem. Scand.*, **5**, 324 (1951).
233. Roberts E., Lowe I. P., *J. Biol. Chem.*, **211**, 1 (1954).
234. Perlmann G. E., *Advances in Protein Chem.*, **10**, 1 (1955).
235. Teas H. J., Horowitz N. H., Fling M., *J. Biol. Chem.*, **172**, 651 (1948).
236. Fling M., Horowitz N. H., *J. Biol. Chem.*, **190**, 277 (1951).
237. Ehrensward G., Reio L., Saluste E., Stjernholm R., *J. Biol. Chem.*, **189**, 93 (1951).
238. Karasek M. A., Greenberg D. M., *Federation Proc.*, **15**, 284 (1956).
239. Abelson P. H., Bolton E. T., Aldous E., *J. Biol. Chem.*, **198**, 173 (1952).
240. Cohen G. N., Nisman B., Hirsch M. L., Wiesendanger S. B., *Compt. rend.*, **238**, 1746 (1954).
241. Cohen G. N., Hirsch M. L., *J. Bacteriol.*, **67**, 182 (1954).
242. Nisman B., Cohen G. N., Wiesendanger S. B., Hirsch M. L., *Compt. rend.* **238**, 1342 (1954).
243. Black S., Gray N. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 2271 (1953).
244. Black S., Wright N. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5766 (1953).
245. Black S., Wright N. G., *Federation Proc.*, **13**, 184 (1954).
246. Black S., Wright N. G., *J. Biol. Chem.*, **213**, 27 (1955).
247. Black S., Wright N. G., *J. Biol. Chem.*, **213**, 39 (1955).
248. Black S., Wright N. G., *J. Biol. Chem.*, **213**, 51 (1955).
249. Cohen G. N., Nisman B. et al. quoted by Black S., Wright N. G., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 591. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
250. Watanabe Y., Shimura K., *J. Biochem. (Japan)*, **42**, 181 (1955).
251. Woods L., Ravel J. M., Shive W., *J. Biol. Chem.*, **209**, 559 (1954).
252. Ravel J. M., Woods L., Felsing B., Shive W., *J. Biol. Chem.*, **206**, 391 (1954).
253. Amos H., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3858 (1954).
254. Wagner R. P., Bergquist A., *J. Biol. Chem.*, **216**, 251 (1955).
255. Elliott D. F., Neuberger A., *Biochem. J.*, **46**, 207 (1950).
256. Meltzer H. L., Sprinson D. B., *J. Biol. Chem.*, **197**, 461 (1952).
257. Lien O. G., jr., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **200**, 367 (1953).

258. Браунштейн А. Е., Виленкина Г. Я., ДАН СССР, **66**, 243 (1949).
259. Chao F. C., Delwiche C. C., Greenberg D. M., *Biochim. et Biophys. Acta*, **10**, 103 (1953).
260. Metzler D. E., Longenecker J. B., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 2787 (1953).
261. Gilbert J. B., Abstracts, American Chemical Society Meeting, Cincinnati, Ohio, March, 1955.
262. Lin S. C. C., Greenberg D. M., *J. Gen. Physiol.*, **38**, 181 (1954).
263. Metzler D. E., Longenecker J. B., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 639 (1954).
264. Gilbert J. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 4183 (1954).
265. Кнооп F., *Z. physiol. Chem.*, **89**, 151 (1914).
266. Hift H., Mahler H. R., *J. Biol. Chem.*, **198**, 901 (1952).
267. Meister A., *Ann. Rev. Biochem.*, **25**, 29 (1956).
268. Krebs H. A., Henseleit K., *Z. physiol. Chem.*, **210**, 33 (1932).
269. Schoenheimer R., "The Dynamic State of Body Constituents". Harvard U. P., Cambridge, Massachusetts, 1942.
270. Foster G. L., Schoenheimer R., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **127**, 319 (1939).
271. Clutton R. F., Schoenheimer R., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **132**, 227 (1940).
272. Srb A. M., Horowitz N. H., *J. Biol. Chem.*, **154**, 129 (1944).
273. Volcani B. E., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **174**, 893 (1948).
274. Kossel A., Dakin H. D., *Z. physiol. Chem.*, **42**, 181 (1904).
275. Bonner D., *Am. J. Botany*, **33**, 788 (1946).
276. Hogg J. F., Elliott A. M., *J. Biol. Chem.*, **192**, 131 (1951).
277. Wu C., Hogg J. F., *J. Biol. Chem.*, **198**, 753 (1952).
278. Kossel A., Dakin H. D., *Z. physiol. Chem.*, **41**, 321 (1904).
279. Baldwin E., *Biochem. J.*, **29**, 252 (1934).
280. Fuchs B., *Z. physiol. Chem.*, **114**, 101 (1931).
281. Folley S. J., Greenbaum A. L., *Biochem. J.*, **40**, 46 (1945).
282. Edlbacher S., Becker M., Segesser A. V., *Z. physiol. Chem.*, **255**, 53 (1938).
283. Stock C. H., Perkins M. E., Hellerman L., *J. Biol. Chem.*, **125**, 753 (1938).
284. Hellerman L., Perkins M. E., *J. Biol. Chem.*, **112**, 175 (1935).
285. Edlbacher S., Baur H., *Z. physiol. Chem.*, **254**, 275 (1938).
286. Anderson A. B., *Biochem. J.*, **39**, 139 (1945).
287. Akasi S., *J. Biochem. (Japan)*, **26**, 129 (1937).
288. Felix K., Müller H., Dirr K., *Z. physiol. Chem.*, **178**, 192 (1928).
289. Hunter A., *Biochem. J.*, **32**, 826 (1938).
290. Richards M. M., Hellerman L., *J. Biol. Chem.*, **134**, 237 (1940).
291. Damodaran M., Narayanan K. G. A., *Biochem. J.*, **34**, 1449 (1940).
292. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **206**, 577 (1954).
293. Thomas K., *Z. physiol. Chem.*, **88**, 465 (1913).
294. Thomas K., Kaphammer J., Flaschenträger B., *Z. physiol. Chem.*, **124**, 75 (1922).
295. Meyerhof O., Lohmann K., *Biochem. Z.*, **196**, 22 (1928).
296. Borsook H., Dubnoff J. W., *J. Biol. Chem.*, **141**, 717 (1941).
297. Krebs H. A., *Biochem. J.*, **36**, 758 (1942).
298. Ratner S., *Federation Proc.*, **8**, 603 (1949).
299. Ratner S., Pappas A., *J. Biol. Chem.*, **179**, 1183 (1949).
300. Ratner S., Pappas A., *J. Biol. Chem.*, **179**, 1199 (1949).
301. Ratner S., Petrack B., *J. Biol. Chem.*, **191**, 693 (1951).
302. Ratner S., Petrack B., *J. Biol. Chem.*, **200**, 161 (1953).
303. Ratner S., Petrack B., *J. Biol. Chem.*, **200**, 175 (1953).

304. Ratner S., Petrack B., Rochovansky O., *J. Biol. Chem.*, **204**, 95 (1953).
305. Ratner S., Anslow W. P., jr., Petrack B., *J. Biol. Chem.*, **204**, 115 (1953).
306. Ratner S., *Advances in Enzymol.*, **15**, 319 (1954).
307. Davison D. C., Elliott W. H., *Nature*, **169**, 313 (1952).
308. Walker J. B., *Proc. Soc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **38**, 561 (1952).
309. Walker J. B., *J. Biol. Chem.*, **204**, 139 (1953).
310. Kitagawa M., Yamada H., *J. Biochem. (Japan)*, **16**, 339 (1932).
311. Walker J. B., *J. Biol. Chem.*, **218**, 549 (1956).
312. Kihara H., Prescott J. M., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **217**, 497 (1955).
313. Ratner S., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 231. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
314. Borsook H., Dubnoff J. W., *J. Biol. Chem.*, **169**, 461 (1947).
315. Cohen P. P., Hayano M., *J. Biol. Chem.*, **166**, 239 (1946).
316. Cohen P. P., Grisolia S., *J. Biol. Chem.*, **174**, 389 (1948); **182**, 747 (1950).
317. Grisolia S., Koritz S. B., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **191**, 181 (1951).
318. Grisolia S., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **191**, 189 (1951).
319. Grisolia S., Burris R. H., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **191**, 203 (1951).
320. Grisolia S., Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, **198**, 561 (1952); **204**, 753 (1953).
321. Grisolia S., Marshall R. O., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 258. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
322. Grisolia S., Marshall R. O., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 446 (1954).
323. Cohen P. P., Hayano M., *J. Biol. Chem.*, **166**, 251 (1946).
324. Grisolia S., Grady H. J., Wallach D. P., *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 277 (1955).
325. Reichard P., Smith L. H., Hanshoff G., *Acta Chem. Scand.*, **9**, 1010 (1955).
326. Grisolia S., Wallach D. P., Grady H. J., *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 150 (1955).
327. Cohen P. P., Hayano M., *J. Biol. Chem.*, **170**, 687 (1947).
328. Cohen P. P., Hayano M., *J. Biol. Chem.*, **172**, 405 (1948).
329. Hills G. M., *Biochem. J.*, **34**, 1057 (1940).
330. Horn F., *Z. physiol. Chem.*, **216**, 244 (1953).
331. Oginsky E. L., Gehrig R. F., *J. Biol. Chem.*, **198**, 791 (1952).
332. Oginsky E. L., Gehrig R. F., *J. Biol. Chem.*, **198**, 799 (1952).
333. Knivett V. A., *Biochem. J.*, **55**, x (1953).
334. Korzenovsky M., Werkman C. H., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **46**, 174 (1953).
335. Slade H. D., Doughty C. C., Stamp W. C., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **48**, 338 (1954).
336. Oginsky E. L., Gehrig R. F., *J. Biol. Chem.*, **204**, 721 (1953).
337. Oginsky E. L., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 300. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
338. Slade H. D., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 321. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
339. Korzenovsky M., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 309. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
340. Stulberg M. P., Boyer P. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5569 (1954).

341. Dewey L. J., Byerrum R. U., Ball C. D., Abstracts, American Chemical Society Meeting (19C) Cincinnati, Ohio, March, 1955; *Biochim. et Biophys. Acta*, **18**, 141 (1955).
342. Sakaguchi S., *J. Biochim. (Japan)*, **40**, 21 (1953).
343. Hunter G. D., Herbert M., Hockenhull D. J. D., *Biochem. J.*, **58**, 249 (1954).
344. Boulanger P., Osteux R., *Compt. rend.*, **241**, 125 (1955).
345. Vogel H. J., Davis B. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 109 (1952).
346. Vogel H. J., Bonner D. M., *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, **40**, 688 (1954).
347. Abelson P. H., Vogel H. J., *J. Biol. Chem.*, **213**, 355 (1955).
348. Yura T., Vogel H. J., *Biochem. et Biophys. Acta*, **17**, 582 (1955).
349. Vogel H. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **39**, 578 (1953).
350. Vogel H. J., Abelson P. H., Bolton E. T., *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 584 (1953).
351. Vogel H. J., Bonner D. M., *J. Biol. Chem.*, **218**, 97 (1956).
352. Vogel H. J., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 335. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
353. Fincham J. R. S., *Biochem. J.*, **53**, 313 (1953).
354. Umbarger H. E., Mueller J. H., *J. Biol. Chem.*, **189**, 287 (1950).
355. Depocas F., Bouthillier L. P., *Extrait Rev. can. biol.*, **10**, 289 (1951).
356. Sallach H. J., Koeppe R. E., Rose W. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 4500 (1951).
357. Stetten M. R., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **153**, 113 (1944).
358. Roloff M., Ratner S., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **136**, 561 (1940).
359. Weil-Malherbe H., Krebs H. A., *Biochem. J.*, **29**, 2077 (1935).
360. Neber M., *Z. physiol. Chem.*, **240**, 70 (1936).
361. Srb A. M., Fincham J. R. S., Bonner D. M., *Am. J. Botany*, **37**, 533 (1950).
362. Forbes M., Sevag M. G., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **31**, 406 (1951).
363. Abderhalden E., Hanslian R., *Z. physiol. Chem.*, **81**, 228 (1912).
364. Ratner S., *J. Biol. Chem.*, **152**, 559 (1944).
365. Krebs H. A., *Enzymologia*, **7**, 53 (1939).
366. Blanchard M., Green D. E., Nocito V., Ratner S., *J. Biol. Chem.*, **155**, 421 (1944).
367. Taggart J. V., Krakaur R. B., *J. Biol. Chem.*, **177**, 641 (1949).
368. Lang K., Schmidt G., *Biochem. Z.*, **322**, 1 (1951).
369. Shemin D., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **158**, 71 (1945).
370. Stetten M. R., *J. Biol. Chem.*, **189**, 499 (1951).
371. Marion L., in "The Alkaloids" (Manske and Holmes, eds.), vol. I, pt. 1, p. 101. Academic Press, New York, 1950.
372. Klein G., Linser H., *Z. physiol. Chem.*, **209**, 75 (1932).
373. Leete E., Marion L., Spenser I. D., *J. Biol. Chem.*, **214**, 71 (1955).
374. Hoare D. S., *J. Gen. Microbiol.*, **12**, 534 (1955).
375. Stetten M. R., *J. Biol. Chem.*, **181**, 31 (1949).
376. Womack M., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **171**, 37 (1947).
377. Simmonds S., Fruton J. S., *J. Biol. Chem.*, **174**, 705 (1948).
378. Vickery H. B., *J. Biol. Chem.*, **60**, 647 (1924).
379. Kapfhammer J., Bischoff C., *Z. physiol. Chem.*, **172**, 251 (1927).
380. Hess W. C., Shaffran I. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 474 (1951).
381. Gianetto R., Bouthillier L. P., *Can. J. Biochem. Physiol.*, **32**, 154 (1954).
382. Radhakrishnan A. N., Meister A., *Federation Proc.*, **15**, 333 (1956).
383. Gottschalk A., *Biochem. J.*, **61**, 298 (1955).

384. Bonner D., Tatum E. L., Beadle G. W., Arch. Biochem., **3**, 71 (1943).
385. Bonner D., J. Biol. Chem., **166**, 545 (1946).
386. Umbarger H. E., Mueller J. H., J. Biol. Chem., **189**, 277 (1950).
387. Umbarger H. E., Adelberg E. A., J. Biol. Chem., **192**, 883 (1951).
388. Umbarger H. E., Magasanik B., J. Biol. Chem., **189**, 287 (1951).
389. Vickery H. B., J. Biol. Chem., **61**, 117 (1924).
390. Rudman D., Meister A., J. Biol. Chem., **200**, 591 (1953).
391. Adelberg E. A., Umbarger H. E., J. Biol. Chem., **205**, 475 (1953).
392. Adelberg E. A., Bonner D. M., Tatum E. L., J. Biol. Chem., **190**, 837 (1951).
393. Adelberg E. A., Tatum E. L., Arch. Biochem., **29**, 235 (1950).
394. Sjolander J. R., Folkers K., Adelberg E. A., Tatum E. L., J. Am. Chem. Soc., **76**, 1085 (1954).
395. Myers J. W., Adelberg E. A., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., **40**, 493 (1954).
396. Adelberg E. A., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 419. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
397. Umbarger H. E., J. Bacteriol., **65**, 203 (1953).
398. Adelberg E. A., J. Am. Chem. Soc., **76**, 4241 (1954).
399. Tatum E. L., Adelberg E. A., J. Biol. Chem., **190**, 843 (1951).
400. Strassman M., Thomas A., Weinhouse S., J. Am. Chem. Soc., **75**, 5135 (1953).
401. Strassman M., Thomas A. J., Weinhouse S., J. Am. Chem. Soc., **77**, 1261 (1955).
402. Rafelson M. E., jr., J. Am. Chem. Soc., **77**, 4679 (1955).
403. Adelberg E. A., Coughlin C. A., Barratt R. W., J. Biol. Chem., **216**, 425 (1955).
404. McManus I. R., J. Biol. Chem., **208**, 639 (1954).
405. Adelberg E. A., J. Biol. Chem., **216**, 431 (1955).
406. Strassman M., Thomas A. J., Locke L. A., Weinhouse S., J. Am. Chem. Soc., **76**, 4241 (1954).
407. Strassman M., Weinhouse S., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 452. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
408. Woodward R. B., Bloch K., J. Am. Chem. Soc., **75**, 2023 (1953).
409. Langdon R. G., Bloch K., J. Am. Chem. Soc., **74**, 1869 (1952).
410. Strassman M., Locke L. A., Thomas A. J., Weinhouse S., Science, **121**, 303 (1955); J. Am. Chem. Soc., **78**, 1599 (1956).
411. Reiss O., Bloch K., J. Biol. Chem., **216**, 703 (1955).
412. Langdon R. G., Bloch K., J. Biol. Chem., **200**, 135 (1953).
413. Embden G., Salomon H., Schmidt F., Beitr. Chem. Physiol. Pathol., **8**, 129 (1906).
414. Ringer A. I., Frankel E. M., Jonas L., J. Biol. Chem., **14**, 525 (1913).
415. Cohen P. P., J. Biol. Chem., **119**, 333 (1937).
416. Bloch K., J. Biol. Chem., **155**, 255 (1944).
417. Coon M. J., Gurin S., J. Biol. Chem., **180**, 1159 (1949).
418. Coon M. J., J. Biol. Chem., **187**, 71 (1950).
419. Zabin I., Bloch K., J. Biol. Chem., **185**, 117 (1950).
420. Plaut G. W. E., Lardy H. A., J. Biol. Chem., **192**, 435 (1951).
421. Coon M. J., Federation Proc., **14**, 762 (1955).
422. Bachhawat B. K., Robinson W. G., Coon M. J., J. Am. Chem. Soc., **76**, 3098 (1954).
423. Coon M. J., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 431. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.

424. Seubert W., Lynen F., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 2787 (1953).
425. Green D. E., Mii S., Mahler H. R., *J. Biol. Chem.*, **206**, 1 (1954).
426. Robinson W. G., Bachhawat B. K., Coon M. J., *Federation Proc.*, **14**, 270 (1955).
427. Rose W. C., Johnson J. E., Haines W. J., *J. Biol. Chem.*, **145**, 679 (1942).
428. Gray I., Adams P., Hauptmann H., *Experientia*, **6**, 430 (1950).
429. Fones W. S., Waalkes T. P., White J., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **32**, 89 (1951).
430. Peterson E. A., Fones W. S., White J., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **36**, 323 (1952).
431. Kinnory D. S., Takeda Y., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **212**, 379 (1955).
432. Atchley W. A., *J. Biol. Chem.*, **176**, 123 (1948).
433. Flavin M., *Federation Proc.*, **14**, 211 (1955).
434. Butts J. S., Blunden H., Dunn M. S., *J. Biol. Chem.*, **120**, 289 (1937).
435. Terriere L. C., Butts J. S., *J. Biol. Chem.*, **190**, 1 (1951).
436. Edson N. L., *Biochem. J.*, **29**, 2498 (1935).
437. Coon M. J., Abrahamsen N. S. B., Green G. S., *J. Biol. Chem.*, **199**, 75 (1954).
438. Coon M. J., Abrahamsen N. S. B., *J. Biol. Chem.*, **195**, 805 (1952).
439. Robinson W. G., Bachhawat B. K., Coon M. J., *J. Biol. Chem.*, **218**, 391 (1956).
440. Lynen F., Wesseley L., Wieland O., Rueff L., *Angew. Chem.*, **64**, 687 (1952).
441. Maas W. K., Vogel H. J., *J. Bacteriol.*, **65**, 388 (1953).
442. Nelson E. V., Purko M., Nelson W. O., Wood W. A., *Bacteriol. Proc.*, **130** (1950).
443. Ackermann W. W., Kirby H., *J. Biol. Chem.*, **175**, 483 (1948).
444. Maas W. K., Davis B. D., quoted by Davis B. D., *Advances in Enzymol.*, **16**, 247 (1955).
445. Maas W. K., Novelli G. D., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **43**, 236 (1953).
446. Maas W. K., 3rd Intern. Congr. Biochem. Brussels (1955).
447. Symposium on Cholesterol Metabolism, *Federation Proc.*, **14**, 752 (1955).
448. Goodwin T. W., Lijinsky W., *Biochem. J.*, **50**, 268 (1951).
449. Brouwer E., Nijkamp H. J., *Biochem. J.*, **55**, 444 (1953).
450. Hassan M., Greenberg D. M., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **39**, 129 (1952).
451. Greenberg D. M., (ed.), in «Chemical Pathways of Metabolism», vol. 2, p. 72. Academic Press, New York, 1954.
452. Brand E., Cahill G. F., Harris M. M., *J. Biol. Chem.*, **109**, 69 (1935).
453. White A., Lewis H. B., *J. Biol. Chem.*, **98**, 607 (1932).
454. Stekol J. A., *J. Biol. Chem.*, **117**, 147 (1937).
455. Tarver H., Schmidt C. L. A., *J. Biol. Chem.*, **130**, 67 (1939).
456. Vigneaud V., du, "Trail of Research in Sulfur Chemistry and Metabolism and Related Fields", Cornell U. P., Ithaca, New York, 1952.
457. Brand E., Cahill G. F., Block R. J., *J. Biol. Chem.*, **110**, 399 (1935).
458. Brand E., Block R. J., Kassell B., Cahill G. F., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **35**, 501 (1936).
459. Vigneaud V., du, Brown G. B., Chandler J. P., *J. Biol. Chem.*, **143**, 59 (1942).
460. Binkley F., Anslow W. P., jr., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **143**, 559 (1942).
461. Binkley F., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **144**, 507 (1942).

462. Anslow W. P., jr., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **170**, 245 (1947).
463. Binkley F., Okeson D., *J. Biol. Chem.*, **182**, 273 (1950).
464. Rachele J. R., Reed L. J., Kidwai A. R., Ferger M. F., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **185**, 817 (1950).
465. Anslow W. P., jr., Simmonds S., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **166**, 35 (1946).
466. Carroll W. R., Stacy G. W., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **180**, 375 (1949).
467. Matsuo Y., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **215**, 547 (1955).
468. Dent C. E., *Biochem. J.*, **40**, xlv (1946).
469. Dent C. E., *Science*, **105**, 335 (1947).
470. Браунштейн А. Е., Горяченкова Е. В., *ДАН СССР*, **74**, 529 (1950).
471. Binkley F., Christensen G. M., Jensen W. N., *J. Biol. Chem.*, **194**, 109 (1952).
472. Binkley F., Olson C. K., *J. Biol. Chem.*, **185**, 881 (1950).
473. Binkley F., *J. Biol. Chem.*, **191**, 531 (1951).
474. Binkley F., *J. Biol. Chem.*, **186**, 287 (1950); **192**, 209 (1951).
475. Reed L. J., Cavallini D., Plum F., Rachele J. R., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **180**, 783 (1949).
476. Jones D. B., Caldwell A., Horn M. J., *Federation Proc.*, **7**, 162 (1948).
477. Stekol J. A., Weiss K., *J. Biol. Chem.*, **175**, 405 (1948).
478. Stekol J. A., Weiss K., *J. Biol. Chem.*, **179**, 67 (1948).
479. Stekol J. A., Weiss K., *J. Biol. Chem.*, **185**, 577 (1950).
480. Horowitz N. H., *J. Biol. Chem.*, **171**, 255 (1947).
481. Luzzati D., Guthrie R., *J. Biol. Chem.*, **216**, 1 (1955).
482. Balis M. E., Levin D. H., Luzzati D., *J. Biol. Chem.*, **216**, 9 (1955).
483. Lampen J. O., Roepke R. R., Jones M. J., *Arch. Biochem.*, **13**, 55 (1947).
484. Bolton E. T., Gowie D. B., Sands M. K., *J. Bacteriol.*, **63**, 309 (1952).
485. Cowie D. B., Bolton E. T., Sands M. K., *J. Bacteriol.*, **62**, 63 (1951).
486. Kalan E. B., Ceithaml J., *J. Bacteriol.*, **68**, 293 (1954).
487. Hess W. C., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **40**, 127 (1942).
488. Tarver H., Tabachnik M., *Federation Proc.*, **12**, 279 (1953).
489. Hockenull D. J. D., *Biochim. et Biophys. Acta*, **3**, 326 (1949).
490. Dyer H. M., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **109**, 477 (1935).
491. Vigneaud V., du, Dyer H. M., Kies M., *J. Biol. Chem.*, **130**, 325 (1939).
492. Rose W. C., Rice E. E., *J. Biol. Chem.*, **130**, 305 (1939).
493. Vigneaud V., du, Chandler J. P., Moyer A. W., Keppel D. M., *J. Biol. Chem.*, **131**, 57 (1939).
494. Hofmeister H., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exptl. Pathol. Pharmacol.*, **33**, 198 (1894).
495. Vigneaud V., du, Chandler J. P., Cohn M., Brown G. B., *J. Biol. Chem.*, **134**, 787 (1940).
496. Keller E. B., Rachele J. R., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **177**, 233 (1949).
497. Toennies G., Bennett M. A., Medes G., *Growth*, **7**, 251 (1943).
498. Bennett M. A., Medes G., Toennies G., *Growth*, **8**, 59 (1944).
499. Bennett M. A., *Federation Proc.*, **4**, 83 (1945).
500. Vigneaud V., du, Simmonds S., Chandler J. P., Cohn M., *J. Biol. Chem.*, **159**, 755 (1945).
501. Vigneaud V., du, Ressler C., Rachele J. R., *Science*, **112**, 267 (1950).
502. Bird H. R., Rubin M., Groschke A. C., *J. Nutrition*, **33**, 319 (1947).

503. Gillis M. B., Norris L. C., *J. Biol. Chem.*, **179**, 487 (1949).
504. Schaefer A. E., Salmon W. D., Strength D. R., Copeland D. H., *J. Nutrition*, **40**, 95 (1950).
505. Stekol J. A., Weiss K., *J. Biol. Chem.*, **186**, 343 (1950).
506. Bennett M. A., *J. Biol. Chem.*, **187**, 751 (1950).
507. Jukes T. H., Stokstad E. L. R., Broquist H. P., *Arch. Biochem.*, **25**, 453 (1950).
508. Borsook H., Dubnoff J. W., *J. Biol. Chem.*, **160**, 247 (1947).
509. Dubnoff J. W., *Arch. Biochem.*, **24**, 251 (1949).
510. Muntz J. A., *J. Biol. Chem.*, **182**, 489 (1950).
511. Ericson L. E., Williams J. N., jr., Elvehjem C. A., *J. Biol. Chem.*, **212**, 537 (1955).
512. Cromwell B. T., Rennie S. D., *Biochem. J.*, **58**, 322 (1954).
513. Cromwell B. T., Rennie S. D., *Biochem. J.*, **58**, 318 (1954).
514. Stetten D., jr., *J. Biol. Chem.*, **140**, 143 (1941).
515. Dubnoff J. W., Borsook H., *J. Biol. Chem.*, **176**, 789 (1948).
516. Vigneaud V., du Moyer A. W., Chandler J. P., *J. Biol. Chem.*, **174**, 477 (1948).
517. McRorie R. A., Sutherland G. L., Lewis M. S., Barton A. D., Glazener M. G., Shive W., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 115 (1954).
518. Bennett M. A., *J. Biol. Chem.*, **141**, 377 (1941).
519. McRorie R. A., Glazener M. R., Skinner C. G., Shive W., *J. Biol. Chem.*, **211**, 489 (1954).
520. Perlzweig W. A., Bernheim M. L. C., Berheim F., *J. Biol. Chem.*, **150**, 401 (1943).
521. Ellinger P., *Biochem. J.*, **42**, 175 (1948).
522. Keller E. B., Boissonnas R. A., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **183**, 627 (1950).
523. Borsook H., Dubnoff J. W., *J. Biol. Chem.*, **132**, 559 (1940); **134**, 635 (1940).
524. Sourkes T. L., *Arch. Biochem.*, **21**, 265 (1949).
525. Barrenscheen H. K., Pany J., *Z. physiol. Chem.*, **283**, 78 (1948).
526. Cantoni G. L., *J. Biol. Chem.*, **189**, 203, 745 (1951).
527. Cantoni G. L., in "Phosphorus Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), vol. I, p. 641. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1951, vol. II, p. 129, 1952.
528. Cantoni G. L., *J. Biol. Chem.*, **204**, 403 (1953).
529. Cantoni G. L., Vignos P. J., *J. Biol. Chem.*, **209**, 647 (1954).
530. Cantoni G. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2942 (1952).
531. Suzuki V., Odake S., Mori T., *Biochem. Z.*, **154**, 278 (1924).
532. Sato K., Makino K., *Nature*, **167**, 238 (1951).
533. Baddiley J., Trauth O., Weygand F., *Nature*, **167**, 359 (1951).
534. Smith R. L., Schlenk F., *Federation Proc.*, **11**, 289 (1952).
535. Weygand F., Jung R., Leber D., *Z. physiol. Chem.*, **291**, 155 (1952).
536. Schwartz M., Shapiro K., *J. Bacteriol.*, **67**, 98 (1954).
537. Schlenk F., Tillotson J. A., *Federation Proc.*, **13**, 290 (1954).
538. Sourkes T. L., Trano Y., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **42**, 321 (1953).
539. Stekol J. A., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
540. Mackenzie C. G., Chandler J. P., Keller E. B., Rachele J. R., Gross N., Melville D. B., Vigneaud V., du, *J. Biol. Chem.*, **169**, 757 (1947).
541. Medes G., Floyd N. F., *Biochem. J.*, **36**, 259 (1942).
542. Desnuelle P., *Bull. soc. chim. biol.*, **25**, 1001 (1943).
543. Canellakis E. S., Tarver H., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **42**, 387 (1953).

544. Canellakis E. S., Tarver H., Arch. Biochem. and Biophys., **42**, 446 (1953).
545. Fromageot C., Desnuelle P., Compt. rend., **214**, 647 (1942); Bull. soc. chim. biol., **24**, 2169 (1942).
546. Kallio R. E., J. Biol. Chem., **192**, 371 (1951).
547. Kallio R. E., Larson A. D., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 616. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
548. Ohigashi K., Tsunetoshi A., Ichihara K., Med. J. Osaka Univ., **2**, 111 (1951).
549. Tarr H. L. A., Biochem. J., **27**, 1869 (1933).
550. Fromageot C., in "The Enzymes" (Sumner and Myrbäck, eds.), vol. 2, p. 248, 1951.
551. Fromageot C., Advances in Enzymol., **7**, 369 (1947).
552. Fromageot C., Wookey E., Chaix P., Enzymologia, **9**, 198 (1940).
553. Chatagner F., Fromageot B., Giornate Biochim. Italo-Franco-Elvetiche April 21—24, p. 3 (1955).
554. Smythe C. V., Ann. N. Y. Acad. Sci., **45**, 425 (1944).
555. Ohigashi K., Tsunetoshi A., Uchida M., Ichihara K., J. Biochem. (Japan), **39**, 211 (1952).
556. Meister A., Morris H. P., Tice S. V., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **82**, 301 (1952).
557. Delwiche E. A., J. Bacteriol., **62**, 717 (1951).
558. Браунштейн А. Е., Азарх Р. М., ДАН СССР, **71**, 93 (1950).
559. Suda M., Saigo T., Ichihara A., Med. J. Osaka Univ., **5**, 127 (1954).
560. Metaxas M. A., Delwiche E. A., J. Bacteriol., **70**, 735 (1955).
561. Meister A., Fraser P. E., Tice S. V., J. Biol. Chem., **206**, 561 (1954).
562. Anderson K. E., Ransford R., Science Studies St. Bonaventure Coll., **15**, 87 (1953).
563. Hanson H., Mantel E., Z. physiol. Chem., **295**, 141 (1953).
564. Tamiya N., J. Chem. Soc. Japan Pure Chem. Sect., **72**, 118 (1951).
565. Tamiya N., J. Biochem. (Japan), **41**, 199, 287 (1954).
566. Ichihara A., Saigo T., Suda M., Symposia on Enzyme Chem. (Japan), **10**, 43 (1954).
567. Desnuelle P., Wookey E., Fromageot C., Enzymologia, **8**, 225 (1940).
568. Saz A. K., Brownell L. W., Arch. Biochem. and Biophys., **52**, 291 (1954).
569. Stoll A., Seebeck E., Advances in Enzymol., **11**, 377 (1951).
570. Klein P., Souverein C., Biochem. Z., **326**, 123 (1954).
571. Keilin D., Proc. Roy. Soc., **B106**, 418 (1930).
572. Nickerson W. J., Romano A. H., Science, **115**, 676 (1952).
573. Romano A. H., Nickerson W. J., J. Biol. Chem., **208**, 409 (1954).
574. Conn E. E., Vennesland B., J. Biol. Chem., **192**, 17 (1951).
575. Mapson L. W., Goddard D. R., Biochem. J., **49**, 592 (1951).
576. Rall T. W., Lehninger A. L., J. Biol. Chem., **194**, 119 (1952).
577. Racker E., J. Biol. Chem., **217**, 855 (1955).
578. Asnis R. E., J. Biol. Chem., **213**, 77 (1955).
579. Pirie N. W., Biochem. J., **28**, 305 (1934).
580. Medes G., Biochem. J., **33**, 1559 (1939).
581. Mackenzie C. G., Chandler J. P., Keller E. B., Rachele J. R., Cross N., Melville D. B., Vigneaud V., du, J. Biol. Chem., **180**, 99 (1949).
582. Lavine T. F., J. Biol. Chem., **113**, 580, 583 (1936).
583. Bennett M. A., Biochem. J., **31**, 962 (1937).
584. Singer T. P., Kearney E. B., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 558. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.

585. Kearney E. B., Singer T. P., *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 270 (1953).
586. Kearney E. B., Singer T. P., *Biochim. et Biophys. Acta*, **8**, 698 (1952).
587. Kearney E. B., Singer T. P., *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 276 (1953).
588. Singer T. P., Kearney E. B., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 570 (1954).
589. Singer T. P., Kearney E. B., *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 290 (1953).
590. Singer T. P., Kearney E. B., *Advances in Enzymol.*, **15**, 79 (1954).
591. Chatagner F., Bergeret B., Séjourné T., Fromageot C., *Biochim. et Biophys. Acta*, **9**, 340 (1952).
592. Fromageot C., Royané M. A., *Helv. Chim. Acta*, **26**, 1279 (1946).
593. Fromageot C., Chatagner F., Bergeret B., *Biochim. et Biophys. Acta*, **2**, 294 (1948).
594. Awapara J., *Nature*, **165**, 76 (1950).
595. Bergeret B., Chatagner F., Fromageot C., *Biochim. et Biophys. Acta*, **9**, 147 (1952).
596. Bergeret B., Chatagner F., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 297 (1954).
597. Chapeville F., Fromageot P., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 415 (1954).
598. Machlin L. J., Pearson P. B., Denton C. A., *J. Biol. Chem.*, **212**, 469 (1955).
599. Lowe I. P., Roberts E., *J. Biol. Chem.*, **212**, 477 (1955).
600. Virtue R. W., Doster-Virtue M. E., *J. Biol. Chem.*, **127**, 431 (1939).
601. Blaschko H., *Biochem. J.*, **36**, 571 (1942).
602. Awapara J., *J. Biol. Chem.*, **203**, 183 (1953).
603. Chatagner F., Bergeret B., *Compt. rend.*, **232**, 448 (1951).
604. Chatagner F., Tabechian H., Bergeret B., *Biochim. et Biophys. Acta*, **13**, 313 (1954).
605. Cavallini D., Mondovi B., De Marco C., *J. Biol. Chem.*, **216**, 577 (1955).
606. Cavallini D., De Marco C., Mondovi B., *Giorn. Biochim.*, **4**, 338 (1953).
607. Bricas E., Kieffer F., Fromageot C., *Biochim. et Biophys. Acta*, **18**, 358 (1955).
608. Davison A. N., *Biochim. et Biophys. Acta*, **19**, 66 (1956).
609. Blaschko H., Datta S. P., Harris H., *Brit. J. Nutrition*, **7**, 364 (1953).
610. Medes G., *Biochem. J.*, **31**, 1330 (1937).
611. Eldjarn L., *J. Biol. Chem.*, **206**, 483 (1954); *Scand. J. Clin. and Lab. Invest.*, **6** (13), 96 (1954).
612. Cavallini D., Mondovi B., De Marco C., *Giorn. Biochim.*, **1**, 455, 465 (1952); **2**, 13 (1953).
613. Cavallini D., Mondovi B., De Marco C., *Biochim. et Biophys. Acta*, **18**, 122 (1955).
614. Harris J., Mackenzie C. G., *Federation Proc.*, **14**, 223 (1955).
615. Wriston J. G., jr., *Federation Proc.*, **14**, 308 (1955).
616. Schubert M. P., *J. Biol. Chem.*, **114**, 341 (1936).
617. Ratner S., Clarke H. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 200 (1937).
618. Wood J. L., Cooley S. L., *J. Biol. Chem.*, **218**, 449 (1956).
619. Voegtlin C., Johnson J. M., Dyer H. M., *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **27**, 467 (1926).
620. Lang K., *Biochem. Z.*, **259**, 243 (1933).
621. Rosenthal O., *Federation Proc.*, **7**, 181 (1948).
622. Gal E. M., Fung F. H., Greenberg D. M., *Cancer Research*, **12**, 574 (1952).

623. Sörbo B. H., *Svensk Kem. Tidskr.*, **65**, 169 (1953).
624. Sörbo B. H., *Acta Chem. Scand.*, **5**, 724, 1218 (1951); **7**, 32, 238, 1129, 1137 (1953); **8**, 694 (1954).
625. Wood J. L., Fiedler H., *J. Biol. Chem.*, **205**, 231 (1953).
626. Harrow B., Sherwin C. P., *J. Biol. Chem.*, **70**, 683 (1926).
627. Cox G. J., Rose W. C., *J. Biol. Chem.*, **68**, 781 (1926).
628. Conrad R. M., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **117**, 351 (1936).
629. Neuberger A., Webster T. A., *Biochem. J.*, **40**, 576 (1946).
630. Celander D. R., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **202**, 339, 351 (1953).
631. Broquist H., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **180**, 59 (1949).
632. Levy L., Coon M. J., *J. Biol. Chem.*, **192**, 807 (1951).
633. Tabor H., Mehler A. H., Hayaishi O., White J., *J. Biol. Chem.*, **196**, 121 (1952).
634. Ames B. N., Mitchell H. K., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 252 (1952).
635. Ames B. N., Mitchell H. K., Mitchell M. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1015 (1953).
636. Ames B. N., Mitchell H. K., *J. Biol. Chem.*, **212**, 687 (1955).
637. Ames B. N., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Blass, eds.), p. 357. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
638. Vogel H. J., Davis B. D., Mingioli E. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 1897 (1951).
639. Adams E., *J. Biol. Chem.*, **209**, 829 (1954).
640. Adams E., *J. Biol. Chem.*, **217**, 325 (1955).
641. Adams E., *J. Biol. Chem.*, **217**, 317 (1955).
642. Levy L., Coon M. J., *Federation Proc.*, **11**, 248 (1952); *J. Biol. Chem.*, **208**, 691 (1954).
643. Westley J., Ceithaml J., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **60**, 215 (1956).
644. György P., Röthler H., *Biochem. Z.*, **173**, 334 (1926).
645. Edlbacher S., *Z. physiol. Chem.*, **157**, 106 (1926).
646. Edlbacher S., Kraus J., *Z. physiol. Chem.*, **191**, 225 (1927); **195**, 267 (1931).
647. Leuthardt F., "The Enzymes" (Summer and Myrbäck, eds.), vol. I, pt. 2, p. 1156, Academic Press, New York, 1951.
648. Edlbacher S., *Ergeb. Enzymforsch.*, **9**, 131 (1943).
649. Edlbacher S., Neber M., *Z. physiol. Chem.*, **225**, 261 (1934).
650. Walker A. C., Schmidt C. L. A., *Arch. Biochem.*, **5**, 445 (1944).
651. Jaffe M., *Ber.*, **7**, 1669 (1874).
652. Raistrick H., *Biochem. J.*, **11**, 71 (1917).
653. Darby W. J., Lewis H. B., *J. Biol. Chem.*, **146**, 225 (1942).
654. Siegfried M., *Z. physiol. Chem.*, **24**, 399 (1898).
655. Hunter A., *J. Biol. Chem.*, **11**, 537 (1912).
656. Swain R. L., *Am. J. Physiol.*, **13**, 30 (1905).
657. Hunter A., Givens M. H., *J. Biol. Chem.*, **8**, 449 (1910).
658. Kotake K., Konishi M., *Z. physiol. Chem.*, **122**, 230 (1922).
659. Konishi M., *Z. physiol. Chem.*, **122**, 237 (1922).
660. Kiyokawa M., *Z. physiol. Chem.*, **214**, 38 (1933).
661. Sera Y., Yada S., *J. Osaka Med. Soc.*, **38**, 1107 (1939).
662. Sera Y., Aihara D., *J. Osaka Med. Soc.*, **41**, 745 (1942).
663. Takeuchi M., *J. Biochem. (Japan)*, **34**, 1 (1941).
664. Akamatsu S., *J. Japan. Biochem. Soc.*, **17**, 75 (1943).
665. Oyama Y., *J. Biochem. (Japan)*, **36**, 227 (1944).
666. Паршин А. Н., *ДАН СССР*, **58**, 621 (1947).
667. Паршин А. Н., Горюхина Т. А., *Биохимия*, **15**, 499 (1950).
668. Sera Y., *Med. J. Osaka Univ.*, **4**, 1 (1951).
669. Hall D. A., *Biochem. J.*, **51**, 499 (1952).
670. Горюхина Т. А., *ДАН СССР*, **87**, 645 (1952).

671. Tabor H., Hayaishi O., *J. Biol. Chem.*, **194**, 171 (1952).
672. Erspamer V., Benati O., *Biochem. Z.*, **324**, 66 (1953).
673. Mehler A. H., Tabor H., *J. Biol. Chem.*, **201**, 775 (1953).
674. Abrams A., Borsook H., *J. Biol. Chem.*, **198**, 205 (1952).
675. Fournier J. P., Bouthillier L. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 5210 (1952).
676. Wolf G., *J. Biol. Chem.*, **200**, 637 (1953).
677. Wolf G., Wu P. L., *Federation Proc.*, **13**, 323 (1954).
678. Tabor H., Silverman M., Mehler A. H., Daft F. S., Bauer H., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 756 (1953).
679. Morel C. J., *Helv. Chim. Acta*, **29**, 905 (1946).
680. Matsuda K., Itagaki J., Wachi T., Uchida M., *J. Biochem. (Japan)*, **39**, 40 (1952).
681. Suda M., Tomihata K., Nakaya A., Kato A., *J. Biochem. (Japan)*, **40**, 257 (1953).
682. Wickremasinghe R. L., Fry B. A., *Biochem. J.*, **58**, 268 (1954).
683. Borek B. A., Waelsch H., *J. Biol. Chem.*, **205**, 459 (1953).
684. Kumagai N., *J. Japan. Biochem. Soc.*, **21**, 191 (1949).
685. Erspamer V., Benati O., *Science*, **117**, 161 (1953).
686. Zenisek A., Kral J. A., *Biochim. et Biophys. Acta*, **12**, 479 (1953).
687. Zenisek A., Kral J. A., Hais I. M., *Biochim. et Biophys. Acta*, **18**, 589 (1955).
688. Borek B. A., Waelsch H., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1772 (1953).
689. Tabor H., Mehler A. H., *J. Biol. Chem.*, **210**, 559 (1954).
690. Silverman M., Bakerman H. A., Daft F. S., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **87**, 451 (1954).
691. Miller A., Waelsch H., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 6195 (1954).
692. Seegmiller J. E., Silverman M., Tabor H., Mehler A. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 6205 (1954).
693. Nichizawa Y., *Med. J. Osaka Univ.*, **5**, 105 (1954).
694. Suda M., Miyahara I., Tomihata K., Kato A., *Med. J. Osaka Univ.*, **3**, 115 (1952).
695. Suda M., Nakaya A., Hara M., Kato A., Ikenaka T., *Med. J. Osaka Univ.*, **4**, 107 (1953).
696. Ichihara K., Uchida M., Matsuda K., Kmajari N., Kikuoka H., *Z. physiol. Chem.*, **295**, 220 (1953).
697. Silverman M., Gardiner R. C., Bakerman H. A., *J. Biol. Chem.*, **194**, 815 (1952).
698. Bakerman H., Silverman M., Daft F. S., *J. Biol. Chem.*, **188**, 117 (1951).
699. Magasanik B., *J. Biol. Chem.*, **213**, 557 (1955).
700. Magasanik B., Bowser H. R., *J. Biol. Chem.*, **213**, 571 (1955).
701. Wachsmann J. T., Barker H. A., *J. Bacteriol.*, **69**, 83 (1955).
702. Roche J., Thoai Ng.-V., Glahn P. E., *Compt. rend.*, **148**, 481 (1954).
703. Thoai Ng.-V., Glahn P. E., Hedegaard J., Manchon P., Roche J., *Biochim. et Biophys. Acta*, **15**, 87 (1954).
704. Hanson H., Smith E. L., *J. Biol. Chem.*, **179**, 789 (1949).
705. Tanret M. C., *Compt. rend.*, **149**, 222 (1909).
706. Melville D. B., Horner W. H., Lubschez R., *J. Biol. Chem.*, **206**, 221 (1954).
707. Touster O., Yarbrow M. C., *J. Lab. Clin. Med.*, **39**, 720 (1952).
708. Melville D. B., Otken C. C., Kovalenko V., *J. Biol. Chem.*, **216**, 325 (1955).
709. Melville D. B., Horner W. H., Otken C. C., Ludwig M. L., *J. Biol. Chem.*, **213**, 61 (1955).
710. Tabor H., *Pharmacol. Revs.*, **6**, 299 (1954).

711. Tabor H., *J. Biol. Chem.*, **188**, 125 (1951).
712. Mehler A. H., Tabor H., Bauer H., *J. Biol. Chem.*, **197**, 475 (1952).
713. Schayer R. W., *J. Biol. Chem.*, **196**, 469 (1952).
714. Schayer R. W., *J. Biol. Chem.*, **203**, 787 (1953).
715. Schayer R. W., Kennedy J., Smiley R. L., *J. Biol. Chem.*, **205**, 739 (1953).
716. Tabor H., Mehler A. H., Schayer R. W., *J. Biol. Chem.*, **200**, 605 (1953).
717. Bouthillier L. P., Goldner M., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **44**, 251 (1953).
718. Hayaishi O., Tabor H., Hayaishi T., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5570 (1954).
719. Tabor H., Hayaishi O., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 505 (1955).
720. Larner J., Gillespie R. E., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **58**, 252 (1955).
721. Fildes P., *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **22**, 293 (1941).
722. Snell E. E., *Arch. Biochem.*, **2**, 389 (1943).
723. Tatum E. L., Bonner D. M., Beadle G. W., *Arch. Biochem.*, **3**, 477 (1944).
724. Haskins F. A., Mitchell H. K., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **35**, 500 (1949).
725. Nyc J. F., Mitchell H. K., Liefer E., Langham W. H., *J. Biol. Chem.*, **179**, 783 (1949).
726. Yanofsky C., *Biochim. et Biophys. Acta*, **16**, 594 (1955).
727. Umbreit W. W., Wood W. A., Gunsalus I. C., *J. Biol. Chem.*, **165**, 731 (1946).
728. Yanofsky C., *J. Biol. Chem.*, **194**, 279 (1952).
729. Tatum E. L., Shemin D., *J. Biol. Chem.*, **209**, 671 (1954).
730. Nason A., Kaplan N. O., Colowick S. P., *J. Biol. Chem.*, **188**, 397 (1951).
731. Metzler D. E., Ikawa M., Snell E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 648 (1954).
732. Matsuoka Z., Yoshimatsu S., *Z. physiol. Chem.*, **143**, 206 (1925).
733. Liebig J., *Ann.*, **86**, 125 (1853).
734. Ellinger A., *Z. physiol. Chem.*, **43**, 325 (1904).
735. Kotake Y., Kawase M., *Z. physiol. Chem.*, **214**, 6 (1933).
736. Knox W. E., Mehler A. H., *J. Biol. Chem.*, **187**, 419 (1950).
737. Mehler A. H., Knox W. E., *J. Biol. Chem.*, **187**, 431 (1950).
738. Knox W. E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 117 (1954).
739. Mehler A. H., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 882. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
740. Hayaishi O., Stanier R. Y., *J. Bacteriol.*, **62**, 691 (1951).
741. Jakob W. B., *J. Biol. Chem.*, **207**, 657 (1954).
742. Knox W. E., Mehler A. H., *Science*, **113**, 237 (1951).
743. Ефимочкина Е. Ф., *Биохимия*, **19** (1), 68 (1954).
744. Knox W. E., Auerbach V. H., *J. Biol. Chem.*, **214**, 307 (1955).
745. Geschwind I. I., Li C. H., *Nature*, **172**, 732 (1953).
746. Lec N. D., Williams R. H., *Biochim. et Biophys. Acta*, **9**, 698 (1952); *J. Biol. Chem.*, **204**, 477 (1953).
747. Sakan T., Hayaishi O., *J. Biol. Chem.*, **186**, 177 (1950).
748. Dalglish C. E., Knox W. E., Neuberger A., *Nature*, **168**, 20 (1951).
749. Mason M., Berg C. P., *J. Biol. Chem.*, **188**, 783 (1951).
750. Ek A., Kissman A., Patrick J. B., Witkop B., *Experienta*, **8**, 36 (1952).
751. Jayson G. G., Scholes G., Weiss J., *Biochem. J.*, **57**, 386 (1954).

752. Dalglish C. E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **15**, 295 (1954).
753. Krehl W. A., Teply L. J., Sarma P. S., Elvehjem C. A., *Science*, **101**, 489 (1945); *Nutrition*, **31**, 85 (1946).
754. Spector H., *J. Biol. Chem.*, **173**, 659 (1948).
755. Sarett H. P., *J. Biol. Chem.*, **182**, 659, 671 (1950).
756. Dalglish C. E., *Quart. Revs. (London)*, **5**, 227 (1951).
757. Rosen F., Huff J. W., Perlzweig W. A., *J. Biol. Chem.*, **163**, 343 (1946).
758. Beadle G. W., Mitchell H. K., Nyc J. F., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **33**, 155 (1947).
759. Mitchell H. K., Nyc J. F., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **34**, 1 (1948).
760. Rosen F., Huff J. W., Perlzweig W. A., *J. Biol. Chem.*, **167**, 511 (1947).
761. Bonner D., Yanofsky C., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **35**, 576 (1949).
762. Bonner D., Beadle G. W., *Arch. Biochem.*, **11**, 319 (1946).
763. Yanofsky C., Wasserman E., Bonner D., *Science*, **111**, 61 (1950).
764. Nyc J. F., Mitchell H. K., *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 1847 (1948).
765. Sarett H. P., *J. Biol. Chem.*, **182**, 679 (1950).
766. Bonner D., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **34**, 5 (1948).
767. Bonner D. M., Wasserman E., *J. Biol. Chem.*, **185**, 69 (1950).
768. Mitchell H. K., Nyc J. F., Owen R. D., *J. Biol. Chem.*, **175**, 433 (1948).
769. Goldberger J., Tanner W. F., *Public Health Repts*, **37**, 462 (1922).
770. Heidelberger C., Gullberg M. E., Morgan A. F., Lepkovsky S., *J. Biol. Chem.*, **179**, 143 (1949).
771. Heidelberger C., Abraham E. P., Lepkovsky S., *J. Biol. Chem.*, **179**, 151 (1949).
772. Hundley J. M., Bond H. W., *Arch. Biochem.*, **21**, 313 (1949).
773. Schayer R. W., *J. Biol. Chem.*, **187**, 777 (1950).
774. Henderson L. M., Ramasarma G. B., *J. Biol. Chem.*, **181**, 687 (1949).
775. Yanofsky C., Bonner D. M., *J. Nutrition*, **44**, 603 (1951).
776. Charconnet-Harding F., Dalglish C. E., Neuberger A., *Biochem. J.*, **53**, 513 (1953).
777. Mason M., *J. Biol. Chem.*, **201**, 513 (1953).
778. Henderson L. M., Koski R. E., D'Angeli F., *J. Biol. Chem.*, **215**, 369 (1955).
779. Hellmann H., Wiss O., *Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta*, **10**, C16, C35 (1952).
780. Wiss O., Hellmann H., *Z. Naturforsch.*, **8b**, 70 (1953).
781. Butenandt A., Weidel W., Schlossberger H. G., *Z. Naturforsch.*, **46**, 242 (1949).
782. Sundaram T. K., Sarma P. S., *Nature*, **172**, 627 (1953).
783. Makino K., Takahashi H., Satoh K., Inagami K., *Nature*, **173**, 586 (1954).
784. Wiltshire G. H., *Biochem. J.*, **55**, 408 (1953).
785. Dalglish C. E., Tekman S., *Biochem. J.*, **56**, 458 (1954).
786. Yanofsky C., Bonner D. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **36**, 167 (1950).
787. Sarett H. P., *J. Biol. Chem.*, **182**, 691 (1950).
788. Wiss O., Fuchs H., *Helv. Chim. Acta*, **32**, 2553 (1949).
789. Wiss O., Hatz F., *Helv. Chim. Acta*, **32**, 532 (1949).
790. Wiss O., *Helv. Chim. Acta*, **32**, 1694 (1949).
791. Браунштейн А. Е., Горяченкова Е. В., Пасхина Т. С., *Биохимия*, **14**, 163 (1949).

792. Kotake Y., Chikano M., Ichihara K., *Z. physiol. Chem.*, **143**, 218 (1925).
793. Kotake Y., *J. Chem. Soc. (Japan)*, **60**, 632 (1939).
794. Knox W. E., *Biochem. J.*, **53**, 379 (1953).
795. Jakoby W. B., Bonner D. M., *J. Biol. Chem.*, **205**, 709 (1953).
796. Браунштейн А. Е., Шемякин М. М., *Биохимия*, **18**, 393 (1953).
797. Longenecker J. B., Snell E. E., *J. Biol. Chem.*, **213**, 229 (1955).
798. Jakoby W. B., Bonner D. M., *J. Biol. Chem.*, **205**, 699 (1953).
799. Hayaishi O., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 914. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
800. Knox W. E., Grossman W. I., *J. Biol. Chem.*, **168**, 363 (1947).
801. Henderson L. M., *J. Biol. Chem.*, **178**, 1005 (1949).
802. Henderson L. M., *J. Biol. Chem.*, **181**, 677 (1949).
803. Bokman A. H., Schweigert B. S., *J. Biol. Chem.*, **186**, 153 (1950).
804. Bokman A. H., Schweigert B. S., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **33**, 270 (1951).
805. Butenandt A., Schiedt U., Biekert E., *Ann.*, **588**, 106 (1954).
806. Dalgliesh C. E., *Advances in Protein Chem.*, **10**, 31 (1955).
807. D'Angeli F., Koski R. E., Henderson L. M., *J. Biol. Chem.*, **214**, 781 (1955).
808. Mehler A. H., *J. Biol. Chem.*, **218**, 241 (1956).
809. Kalckar H. M., Strominger J. L., Gewirtz N. R., *Biol. Bull.* **105**, 391 (1953).
810. Yanofsky C., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 930. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
811. Huff J. W., Perlzweig W. A., *Science*, **97**, 538 (1943).
812. Huff J. W., Perlzweig W. A., *J. Biol. Chem.*, **167**, 157 (1947).
813. Perlzweig W. A., Rosen F., Pearson P. B., *J. Nutrition*, **40**, 453 (1950).
814. Dann W. J., Huff J. W., *J. Biol. Chem.*, **168**, 121 (1947).
815. Jones K. M., Elliott W. H., *Biochim. et Biophys. Acta*, **14**, 586 (1954).
816. Knox W. E., Grossman W. I., *J. Biol. Chem.*, **166**, 391 (1946).
817. Hunter S. F., Handler P., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **35**, 377 (1952).
818. Holman W. I. M., Lange D. J., *de. Nature*, **165**, 604 (1950).
819. Walters C. J., Brown R. R., Kaihara M., Price J. M., *J. Biol. Chem.*, **217**, 489 (1955).
820. Sarett H. P., *J. Biol. Chem.*, **193**, 627 (1951).
821. Makino K., Arai K., *Science*, **121**, 143 (1955).
822. Kikkawa H., Ogita Z., Fujito S., *Proc. Japan Acad.*, **30**, 30 (1954); *Science*, **121**, 43 (1955).
823. Butenandt A., Schiedt U., Biekert E., *Ann.*, **586**, 229 (1954).
824. Butenandt A., Schiedt U., Biekert E., Kornmann P., *Ann.*, **586**, 217 (1954).
825. Stanier R. Y., *J. Bacteriol.*, **54**, 339 (1947).
826. Stanier R. Y., Tsuchida M., *J. Bacteriol.*, **58**, 45 (1949).
827. Suda M., Hayaishi O., Oda Y., *J. Biochem.*, **37**, 355 (1950).
828. Hayaishi O., Hashimoto K., *J. Biochem.*, **37**, 371 (1950).
829. Suda M., Hashimoto K., Natsuoka H., Kamahora T., *J. Biochem.*, **37**, 355 (1951).
830. Stanier R. Y., Hayaishi O., Tsuchida M., *J. Bacteriol.*, **62**, 355 (1951).
831. Hayaishi O., Stanier R. Y., *J. Bacteriol.*, **62**, 367 (1951).
832. Stanier R. Y., Hayaishi O., *Science*, **114**, 2961 (1951).
833. Siström W. R., Stanier R. Y., *J. Biol. Chem.*, **210**, 821 (1954).

834. Stanier R. Y., Ingraham J. L., *J. Biol. Chem.*, **210**, 799 (1954).
835. MacDonald D. L., Stanier R. Y., Ingraham J. L., *Biol. Chem.*, **210**, 809 (1954).
836. Werle E., Mennicken G., *Biochem. Z.*, **291**, 325 (1937).
837. Udenfriend S., Clark C. T., Titus E., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 501 (1953).
838. Clark C. T., Weissbach H., Udenfriend S., *J. Biol. Chem.*, **210**, 139 (1954).
839. Hayaishi O., Stanier R. Y., *J. Bacteriol.*, **62**, 691 (1951).
840. Rapport M. M., Green A. A., Page I. H., *J. Biol. Chem.*, **174**, 735; **176**, 1237, 1243 (1948).
841. Rapport M. M., Green A. A., Page I. H., *Science*, **108**, 329 (1948).
842. Page I. H., *Physiol. Revs.*, **34**, 563 (1954).
843. Udenfriend S., Titus E., Weissbach H., Peterson R., *J. Biol. Chem.*, **219**, 335 (1956).
844. Udenfriend S., Titus E., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass eds.), p. 945. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
845. Udenfriend S., Titus E., Weissbach H., *J. Biol. Chem.*, **216**, 499 (1955).
846. Armstrong M. D., *Federation Proc.*, **13**, 175 (1954).
847. Schayer R. W., Wu K. Y. T., Smiley R. L., Kobayashi Y., *J. Biol. Chem.*, **210**, 259 (1954).
848. Ewin A. J., Laidlaw P. P., *Biochem. J.*, **7**, 18 (1913).
849. Udenfriend S., Clark C. T., Titus E., *Federation Proc.*, **12**, 282 (1953).
850. Mitoma C., Weissbach H., Udenfriend S., *Nature*, **175**, 994 (1955).
851. Beer R. J. S., Jennings B. E., Robertson A., *J. Chem. Soc.*, p. 2679 (1954).
852. Jensen H., Chen K. K., *J. Biol. Chem.*, **116**, 87 (1936).
853. Wieland H., *Ann.*, **513**, 1 (1934).
854. Erspamer V., *Rend. Sci. Farmitalia*, **1** (1954).
855. Stromberg V. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1707 (1954).
856. Wieland T., Motzel W., Merz H., *Ann.*, **581**, 10 (1953).
857. Kögl F., Haagen-Smit A. J., Erxleben H., *Z. physiol. Chem.*, **228**, 104 (1934).
858. Wieland H., Hesse G., Mittasch H., *Ber.*, **64**, 2099 (1931).
859. Wieland H., Konz W., Mittasch H., *Ann.*, **513**, 1 (1934).
860. Jensen H., *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 1765 (1935).
861. Wieland H., Wieland T., *Ann.*, **528**, 234 (1937).
862. Hopkins F. G., Cole S. W., *J. Physiol. (London)*, **29**, 451 (1903).
863. Happold F. C., Hoyle L., *Biochem. J.*, **29**, 1918 (1935).
864. Happold F. C., *Advances in Enzymol.*, **10**, 51 (1950).
865. Wood W. A., Gunsalus I. C., Umbreit W. W., *J. Biol. Chem.*, **170**, 313 (1947).
866. Dawes E. A., Happold F. C., *Biochem. J.*, **44**, 349 (1949).
867. Happold F. C., Struyvenberg A., *Biochem. J.*, **58**, 379 (1954).
868. Gordon S. A., Nieva F. S., *Arch. Biochem.*, **20**, 367 (1949).
869. Kögl F., Haagen-Smit A. J., Erxleben H., *Z. physiol. Chem.*, **228**, 90 (1934).
870. Thimann K. V., *J. Biol. Chem.*, **109**, 279 (1935).
871. Gordon S. A., Nieva F. S., *Arch. Biochem.*, **20**, 356 (1949).
872. Wildman S. G., Ferri M. G., Bonner J., *Arch. Biochem.*, **13**, 131 (1947).
873. White E. P., *New Zealand J. Sci. Technol.*, **B25**, 137 (1944).
874. Stowe B. B., Thimann K. V., *Nature*, **172**, 764 (1953).

875. Larsen P., *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **2**, 169 (1951).
876. Skoog F., *J. Gen. Physiol.*, **20**, 311 (1937).
877. Jones E. R. H., Henbest H. B., Smith G. F., Bentley J. A., *Nature*, **169**, 485 (1952).
878. Tang Y. W., Bonner J., *Arch. Biochem.*, **13**, 11 (1947).
879. Wagenknecht A. C., Burris R. H., *Arch. Biochem.*, **25**, 30 (1949).
880. Galston A. W., Bonner J., Baker R. S., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **42**, 456 (1953).
881. Hoppe-Seyler G., *Z., physiol. Chem.*, **7**, 423 (1883).
882. Neuberger C., Schwenck E., *Biochem. Z.*, **79**, 387 (1917).
883. Dalglish C. E., *J. Clin. Pathol.*, **8**, 73 (1955).
884. Sakamoto Y., Uchida M., Ichihara K., *Med. J. Osaka Univ.*, **3**, 477 (1953).
885. Robinson R., *J. Chem. Soc.*, **111**, 876 (1917).
886. Robinson R., *J. Chem. Soc.*, p. 1079 (1936).
887. Winterstein E., Trier G., "Die Alkaloide", Borntraeger, Berlin, 1910.
888. Woodward R. B., *Nature*, **162**, 155 (1948).
889. Tamelen E. E., *Experientia*, **9**, 457 (1953).
890. Davis B. D., *Harvey Lectures Ser.*, **50**, 230 (1955).
891. Davis B. D., *Bull. soc. chim. biol.*, **36**, 947 (1954).
892. Davis B. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **39**, 363 (1953).
893. Shigeura H. T., Sprinson D. B., Davis B. D., *Federation Proc.*, **12**, 1507 (1953).
894. Davis B. D., *Experientia*, **6**, 41 (1950).
895. Tatum E. L., Gross S. R., Ehrensward G., Garnjobst L., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **40**, 271 (1954).
896. Davis B. D., *J. Biol. Chem.*, **191**, 315 (1951).
897. Davis B. D., *Nature*, **166**, 1120 (1950).
898. Davis B. D., *J. Bacteriol.*, **64**, 729 (1952).
899. Salamon I. I., Davis B. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5567 (1953).
900. Davis B. D., Weiss U., Naunyn-Schmiedeberg's *Arch. expl. Pathol. Pharmacol.*, **220**, 1 (1953).
901. Weiss U., Davis B. D., Mingioli E. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5572 (1953).
902. Gordon M., Haskins F. A., Mitchell H. K., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **36**, 427 (1950).
903. Mitsuhashi S., Davis B. D., *Biochim. et Biophys. Acta*, **15**, 54 (1954).
904. Mitsuhashi S., Davis B. D., *Biochim. et Biophys. Acta*, **15**, 268 (1954).
905. Yaniv H., Gilvarg C., *J. Biol. Chem.*, **213**, 787 (1955).
906. Davis B. D., Mingioli E. S., *J. Bacteriol.*, **66**, 129 (1953).
907. Davis B. D., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 779. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
908. Davis B. D., *Science*, **118**, 251 (1953).
909. Katagiri M., Sato R., *Science*, **118**, 250 (1953).
910. Katagiri M., *J. Biochem.*, **40**, 629 (1953).
911. Simmonds S., *J. Biol. Chem.*, **185**, 755 (1950).
912. Gilvarg C., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 812. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
913. Weiss U., Gilvarg C., Mingioli E. S., Davis B. D., *Science*, **119**, 774 (1954).
914. Shigeura H. T., Sprinson D. B., Davis B. D., *Federation Proc.*, **11**, 286 (1952).
915. Shigeura H., Sprinson D. B., Davis B. D., *Federation Proc.*, **12**, 458 (1953).

916. Sreenivasan P. R., Specher M., Spinson D. B., *Federation Proc.*, **13**, 302 (1954).
917. Sreenivasan P. R., Katagiri M., Sprinson D. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4943 (1955).
918. Baddiley J., Ehrensvärd G., Klein E., Reio L., Saluste E., *J. Biol. Chem.*, **183**, 777 (1950).
919. Ehrensvärd G., 2nd Intern. Congr. Biochem. Paris, Symposium Microbiol Metabolism p. 72, 1952.
920. Gilvarg C., Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **193**, 339 (1951); **199**, 689 (1952).
921. Thomas R. C., Cheldelin V. H., Christensen B. E., Wang C. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5554 (1953).
922. Rafelson M. E., jr., Ehrensvärd G., Reio L., *Exptl. Cell Research Suppl.*, **3**, 281 (1955).
923. Mitoma C., Leeper L. C., *Federation Proc.*, **13**, 266 (1954).
924. Beerstecher E., jr., Shive W., *J. Biol. Chem.*, **164**, 53 (1946); **167**, 49 (1947).
925. Bergmann E. D., Sicher S., Volcani B. E., *Biochem. J.*, **54**, 1 (1953).
926. Simmonds S., Dowling M. T., Stone D., *J. Biol. Chem.*, **208**, 701 (1954).
927. Haddox C. H., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **38**, 482 (1952).
928. Beerstecher E., jr., Shive W., *J. Biol. Chem.*, **167**, 527 (1947).
929. Beer C. T., Dickens F., Pearson J., *Biochem. J.*, **48**, 222 (1951).
930. Neubauer O., *Deut. Arch. klin. Med.*, **95**, 211 (1909).
931. Embden G., Baldes K., *Biochem. Z.*, **55**, 301 (1913).
932. Embden G., Salomon H., Schmidt F., *Biochem. Z.*, **55**, 301 (1913).
933. Falta W., Langstein L., *Z. physiol. Chem.*, **37**, 513 (1903).
934. Abbot L. D., jr., Salmon C. L., jr., *J. Biol. Chem.*, **150**, 339 (1943).
935. Butts J. S., Dunn M. S., Hallman L. F., *J. Biol. Chem.*, **123**, 711 (1938).
936. Fölling A., Closs K., *Z. physiol. Chem.*, **227**, 169 (1934).
937. Sealock R. R., Silberstein H. E., *J. Biol. Chem.*, **135**, 251 (1940).
938. Sealock R. R., Perkinson J. D., Basinski D. H., *J. Biol. Chem.*, **140**, 153 (1941).
939. Medes G., *Biochem. J.*, **26**, 917 (1932).
940. Levine S. Z., Marples E., Gordon H. H., *J. Clin. Invest.*, **20**, 199 (1941).
941. Levine S. Z., Dann M., Marples E., *J. Clin. Invest.*, **22**, 551 (1943).
942. Moss A. R., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **135**, 415 (1940).
943. Udenfriend S., Cooper J. R., *J. Biol. Chem.*, **194**, 503 (1952).
944. Grau C. R., Steele R., *J. Nutrition*, **53**, 59 (1954).
945. Blaschko H., Burn J. H., Langemann H., *Brit. J. Pharmacol.*, **5**, 431 (1950).
946. Schepartz B., Gurin S., *J. Biol. Chem.*, **180**, 663 (1949).
947. Winnick T., Friedberg F., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **173**, 189 (1948).
948. Weinhouse S., Millington R. H., *J. Biol. Chem.*, **175**, 995 (1948).
949. Weinhouse S., Millington R. H., *J. Biol. Chem.*, **181**, 645 (1949).
950. Dische R., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **211**, 199 (1954).
951. Lerner A. B., *J. Biol. Chem.*, **181**, 281 (1949).
952. La Du B. N., jr., Greenberg D. M., *J. Biol. Chem.*, **190**, 245 (1951).
953. LeMay-Knox M., Knox W. E., *Biochem. J.*, **49**, 686 (1951).
954. Schepartz B., *J. Biol. Chem.*, **193**, 293 (1951).
955. Neuberger A., Rimington C., Wilson J. M. G., *Biochem. J.*, **41**, 438 (1947).
956. Williams J. N., jr., Sreenivasan A., *J. Biol. Chem.*, **203**, 109 (1953)

957. Williams J. N., jr., Sreenivasan A., *J. Biol. Chem.*, **203**, 613 (1953).
958. Williams J. N., jr., Sreenivasan A., *J. Biol. Chem.*, **203**, 605 (1953).
959. Uchida M., Suzuki S., Ichihara K., *J. Biochem. (Japan)*, **41**, 41 (1954).
960. La Du B. N., jr., Greenberg D. M., *Science*, **117**, 111 (1953).
961. La Du B. N., Zannoni V. G., *J. Biol. Chem.*, **217**, 777 (1955).
962. Sealock R. R., Goodland R. L., *Science*, **114**, 645 (1951).
963. Woodruff C. W., Cherrington M. E., Stockell A. K., Darby W. J., *J. Biol. Chem.*, **178**, 861 (1949).
964. Rodney G., Swendseid M. E., Swanson A. L., *J. Biol. Chem.*, **168**, 395 (1947).
965. Rodney G., Swendseid M. E., Swanson A. L., *J. Biol. Chem.*, **179**, 19 (1949).
966. Neuberger A., *Ann. Rev. Biochem.*, **18**, 243 (1949).
967. Witkop B., Goodwin S., *Experientia*, **8**, 377 (1952).
968. Udenfriend S., Clark C. T., Axelrod J., Brodie B. B., *J. Biol. Chem.*, **208**, 731 (1954).
969. Brodie B. B., Axelrod J., Shore P. A., Udenfriend S., *J. Biol. Chem.*, **208**, 741 (1954).
970. Ravdin R. G., Crandall D. I., *J. Biol. Chem.*, **189**, 137 (1951).
971. Suda M., Takeda Y., *Med. J. Osaka Univ.*, **2**, 37, 41 (1950).
972. Suda M., Takeda Y., Sujishi K., Tanaka T., *J. Biochem. (Japan)*, **38**, 297 (1951).
973. Crandall D. I., Halikis D. N., *J. Biol. Chem.*, **208**, 629 (1954).
974. Crandall D. I., *J. Biol. Chem.*, **212**, 565 (1955).
975. Schepartz B., *J. Biol. Chem.*, **205**, 185 (1953).
976. Knox W. E., Edwards S. W., *J. Biol. Chem.*, **216**, 479 (1955).
977. Knox W. E., Edwards S. W., *J. Biol. Chem.*, **216**, 489 (1955).
978. Meister A., Greenstein J. P., *J. Biol. Chem.*, **175**, 573 (1948).
979. Witter R. F., Stotz E., *J. Biol. Chem.*, **176**, 501 (1948).
980. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **178**, 577 (1949).
981. Woolf L. I., *Biochem. J.*, **49**, ix (1951).
982. Stein W. H., Paladini A. C., Hirs C. H. W., Moore S., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2848 (1954).
983. Thierfelder H., Sherwin C. P., *Ber.*, **47**, 2630 (1914).
984. Ambrose A. M., Power F. W., Sherwin C. P., *J. Biol. Chem.*, **101**, 669 (1933).
985. Sherwin C. P., *J. Biol. Chem.*, **31**, 307 (1917).
986. Sherwin C. P., Wolf M., Wolf W., *J. Biol. Chem.*, **37**, 113 (1919).
987. Shiple G. J., Sherwin C. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **44**, 618 (1922).
988. Shiple G. J., Sherwin C. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **53**, 463 (1922).
989. Power F. W., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **33**, 598 (1935).
990. Schreier K., Altman K. I., Hempelmann L. H., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **87**, 61 (1954).
991. Armstrong M. D., Chao F. C., Parker V. J., Wall P. E., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **90**, 675 (1955).
992. Gurin S., Delluva A. M., *J. Biol. Chem.*, **170**, 545 (1947).
993. Udenfriend S., Cooper J. R., Clark C. T., Baer J. E., *Science*, **117**, 663 (1953).
994. Udenfriend S., Wyngaarden J. B., *Biochim. et Biophys. Acta*, **20**, 48 (1956).
995. Tainter M. L., Tullar B. F., Luduena F. P., *Science*, **107**, 39 (1948). (1948).
996. Raper H. S., *Biochem. J.*, **21**, 89 (1927); *J. Chem. Soc.*, p. 125 (1938).
997. Mason H. S., *J. Biol. Chem.*, **168**, 433 (1947); **172**, 83 (1948); **181**, 803 (1949).

998. Lerner A. B., Fitzpatrick T. B., Calkins E., Summer-son W. H., *J. Biol. Chem.*, **178**, 185 (1949).
999. Raper H. S., *Biochem. J.*, **20**, 735 (1926); **26**, 2000 (1932).
1000. Bu'Lock J. D., Harley-Mason J., *J. Chem. Soc.*, p. 703 (1951).
1001. Bruce J. M., *J. Appl. Chem.*, 469 (1954).
1002. Johnson T. B., Tewkesbury L. B., jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **28**, 73 (1943).
1003. Harington C. R., *J. Chem. Soc.*, p. 193 (1944).
1004. Pitt-Rivers R., *Physiol. Revs.*, **30**, 194 (1950); *Biochem. Soc. Symposia* (Cambridge, Engl.) No. 5, 55 (1950).
1005. Gross J., Pitt-Rivers R., *Biochem. J.*, **53**, 645 (1953).
1006. Roche J., Lissitzky S., Michel R., *Compt. rend.*, **234**, 997, 1228 (1952).
1007. Pitt-Rivers R., Stanbury J. B., Rapp B., *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*, **15**, 616 (1955).
1008. Fawcett D. M., Kirkwood S., *J. Biol. Chem.*, **209**, 249 (1954).
1009. Wilkinson J. H., MacLagan N. F., *Biochem. J.*, **58**, 87 (1954).
1010. Hogness J. R., Berg M., Van Arsdell P. P., jr., Williams R. H., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **90**, 93 (1955).
1011. Tong W., Taurog A., Chaikoff I. L., *J. Biol. Chem.*, **207**, 59 (1954).
1012. Thibault O., Pitt-Rivers R., *Lancet*, **ii**, 285 (1955).
1013. Baumann E., *Ber.*, **12**, 1450 (1879).
1014. Baumann E., *Z. physiol. Chem.*, **1**, 244 (1877).
1015. Tallan H. H., Bella S. T., Stein W. H., Moore S., *J. Biol. Chem.*, **217**, 703 (1955).
1016. Bettelheim F. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2838 (1954).
1017. Mitchell H. K., Houlahan M. B., *J. Biol. Chem.*, **174**, 883 (1948).
1018. Windsor E., *J. Biol. Chem.*, **192**, 607 (1951).
1019. Bergström S., Rottenberg M., *Acta Chem. Scand.*, **4**, 553 (1950).
1020. Good N., Heilbronner R., Mitchell H. K., *Arch. Biochem.*, **28**, 464 (1950).
1021. Schweet R. S., Holden J. T., Lowy P. H., *Federation Proc.*, **13**, 293 (1954).
1022. Schweet R. S., Holden J. T., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **211**, 517 (1954).
1023. Schweet R. S., Holden J. T., Lowy P. H., in "Amino Acid Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 496. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1955.
1024. Ehrensward G., Reio L., Saluste E., *Acta Chem. Scand.*, **3**, 645 (1949).
1025. Morrison R. I., *Biochem. J.*, **53**, 474 (1953).
1026. Gilvarg C., Bloch K., *J. Biol. Chem.*, **193**, 339 (1951).
1027. Strassman M., Weinhouse S., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1680 (1953).
1028. Work E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **3**, 400 (1949).
1029. Asselineau J., Choucroun N., Lederer E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **5**, 197 (1950).
1030. Work E., *Biochem. J.*, **49**, 17 (1951).
1031. Work E., Dewey D. L., *J. Gen. Microbiol.*, **9**, 394 (1953).
1032. Work E., Birnbaum S. M., Winitz M., Greenstein J. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 1916 (1955).
1033. Ikawa M., O'Barr J. S., *J. Biol. Chem.*, **213**, 877 (1955).
1034. Davis B. D., *Nature*, **169**, 534 (1952).
1035. Abelson P. H., Bolton E. T., Britten R. J., Cowie D. B., Roberts R. B., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **39**, 1020 (1953).
1036. Strassman M., Weinhouse S., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3457 (1952).
1037. Perry J. J., Foster J. W., *J. Bacteriol.*, **69**, 337 (1955).

1038. Geiger E., Dunn H. J., *J. Biol. Chem.*, **178**, 877 (1949).
1039. Stevens C. M., Bush J. A., *J. Biol. Chem.*, **183**, 139 (1950).
1040. Berg C. P., *J. Nutrition*, **12**, 671 (1936).
1041. Neuberger A., Sanger F., *Biochem. J.*, **38**, 125 (1944).
1042. Neuberger A., Sanger F., *Biochem. J.*, **37**, 515 (1943).
1043. Gordon W. O., *J. Biol. Chem.*, **127**, 487 (1939).
1044. Clark I., Rittenberg D., *J. Biol. Chem.*, **189**, 521 (1951).
1045. Weissman N., Schoenheimer R., *J. Biol. Chem.*, **140**, 779 (1941).
1046. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **176**, 1395 (1948).
1047. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **173**, 423 (1948).
1048. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., *J. Biol. Chem.*, **176**, 1383 (1948).
1049. Miller L. L., Bale W. F., *Federation Proc.*, **8**, 230, 510 (correction) (1949).
1050. Ringer A. I., Frankel E. M., Jonas L., *J. Biol. Chem.*, **14**, 539 (1913).
1051. Rothstein M., Miller L. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4371 (1953).
1052. Rothstein M., Miller L. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1459 (1954).
1053. Rothstein M., Miller L. L., *J. Biol. Chem.*, **206**, 243 (1954).
1054. Rothstein M., Miller L. L., *J. Biol. Chem.*, **211**, 859 (1954).
1055. Rothstein M., Miller L. L., *J. Biol. Chem.*, **211**, 851 (1954).
1056. Morrison R. I., *Biochem. J.*, **50**, xiv (1952).
1057. Grobbelaar N., Zacharius R. M., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2912 (1954).
1058. Zacharius R. M., Thompson J. F., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2908 (1954).
1059. Zacharius R. M., Thompson J. F., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2949 (1952).
1060. Meister A., *J. Biol. Chem.*, **206**, 577, 587 (1954); **195**, 813 (1952).
1061. Neuberger A., Sanger F., *Biochem. J.*, **38**, 119 (1944).
1062. Rothstein M., Bly C. G., Miller L. L., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **50**, 252 (1954).
1063. Rothstein M., Miller L. L., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **54**, 1 (1955).
1064. Roberts E., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **48**, 395 (1954).
1065. Suda M., Kamahora T., Hagihira H., *Med. J. Osaka Univ.*, **5**, 119 (1954).
1066. Wright L. D., Gresson E. L., Skeggs H. R., Peck R. L., Wolf D. E., Wood T. R., Valiant J., Folkers K., *Science*, **114**, 635 (1951).
1067. Wright L. D., Driscoll C. A., Boger W. P., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **86**, 355 (1954).
1068. Wright L. D., Gresson E. L., Driscoll C. A., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **91**, 248 (1956).
1069. Hamilton P. B., Anderson R. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2892 (1955).
1070. Sinex F. M., Van Slyke D. D., *J. Biol. Chem.*, **216**, 245 (1955).
1071. Grobelaar N., Steward F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4341 (1953).
1072. Lowy P., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **47**, 228 (1953).
1073. Fink K., McGaughey C., Henderson R. B., Fink R. M., *Federation Proc.*, **15**, 251 (1956).
1074. Maas W. K., *Federation Proc.*, **15**, 305 (1956).
1075. Carter C. E., *Federation Proc.*, **15**, 230 (1956).
1076. Moyed H. S., Magasanik B., *Federation Proc.*, **15**, 318 (1956).

1077. Bentley M., Abrams R., *Federation Proc.*, **15**, 218 (1956).
1078. Lagerkvist U., *Acta Chem. Scand.*, **9**, 1028 (1955).
1079. Lowther D. A., Rogers H. J., *Biochem. J.*, **62**, 304 (1956).
1080. Burke W. T., Miller L. L., *Federation Proc.*, **15**, 227 (1956).
1081. Rogers L. L., Pelton R. B., Williams R. J., *J. Biol. Chem.*, **214**, 503 (1955); **220**, 321 (1956).
1082. Lowy B. A., Brown G. B., Rachele J. R., *J. Biol. Chem.*, **220**, 325 (1956).
1083. Jaenicke L., *Federation Proc.*, **15**, 281 (1956).
1084. Byerrum R. U., Dewey L. J., Hamill R. L., Ball C. D., *J. Biol. Chem.*, **219**, 345 (1956).
1085. Ichihara A., Greenberg D. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **41**, 605 (1955).
1086. Ballou C. E., Hesse R., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 3718 (1956).
1087. Fuld M., *Federation Proc.*, **15**, 257 (1956).
1088. Walker J. B., *Federation Proc.*, **15**, 378 (1956).
1089. Hall L. M., Cohen P. P., *Federation Proc.*, **15**, 266 (1956).
1090. Reichard P., Hanshoff G., *Acta Chem. Scand.*, **10**, 548 (1956).
1091. Adams E., *Federation Proc.*, **15**, 209 (1956).
1092. Lang K. Mayer U., *Biochem. Z.*, **324**, 237 (1953).
1093. Smith M. E., Greenberg M. D., *Nature*, **177**, 1130 (1956).
1094. Gustavson K. H., "The Chemistry and Reactivity of Collagen" Academic Press, New York, 1956.
1095. Steward F. C., Bedwell R. G. S., Yemm E. W., *Nature*, **178**, 789 (1956).
1096. Witkop B., Special Publication No. 3, Chem. Soc. London, p. 60 (1955).
1097. Witkop B., Beiler T., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2822 (1956).
1098. Heck W. W., Leak J. C., Wolf G., Berger C. R. A., *Federation Proc.*, **15**, 271 (1956).
1099. Gottschalk A., *Nature*, **176**, 881 (1955).
1100. Umbarger H. E., *Federation Proc.*, **15**, 374 (1956).
1101. Umbarger H. E., Brown B., *J. Bacteriol.*, **71**, 443 (1956).
1102. Bachhawat B. K., Woessner J. F., jr., Coon M. J., *Federation Proc.*, **15**, 214 (1956).
1103. Baddiley J., *Advances in Enzymol.*, **16**, 1 (1955).
1104. Blaschko H., Hope D. B., *Biochem. J.*, **63**, 7P (1956).
1105. Lampen J. O., Roepke R. R., Jones M. J., *Arch. Biochem.*, **13**, 55 (1947).
1106. Horowitz N. H., *Advances in Genet.*, **3**, 33 (1950).
1107. McManus I. R., *Federation Proc.*, **15**, 312 (1956).
1108. Cantoni G. L., Durell J., *Federation Proc.*, **15**, 229 (1956).
1109. Challenger F., Walshe J. M., *Biochem. J.*, **59**, 372 (1955).
1110. Smythe C. V., Halliday D., *J. Biol. Chem.*, **144**, 237 (1942).
1111. Chatagnier F., Sauret-Ignazi G., *Bull. soc. chim. biol.*, **38**, 415 (1956).
1112. Горяченкова Е. В., *ДАН СССР*, **87**, 457, 1952.
1113. Singer T. P., Kearney E. B., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **61**, 397 (1956).
1114. Hope D. B., *Biochem. J.*, **59**, 497 (1955).
1115. Brady R. O., *Federation Proc.*, **15**, 345 (1956).
1116. Elliott W. H., *Biochem. J.*, **62**, 427, 433 (1956).
1117. Baxter C. F., Van Reen R., Pearson P. B., *Federation Proc.*, **15**, 215 (1956).
1118. De Meio R. H., Wizerkaniuk M., Fabriani E., *J. Biol. Chem.*, **203**, 257 (1953).
1119. Robbins P. W., Lipmann F., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2652 (1956).

1120. Ames B. N., *Federation Proc.*, **15**, 210 (1956).
1121. Neidle A., Waelsch H., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 1767 (1956).
1122. Miller A., Waelsch H., *Biochim. et Biophys. Acta*, **17**, 278 (1955); *Arch. Biochem. and Biophys.*, **63**, 262 (1956).
1123. Melville D. B., Eich S., Ludwig M. L., *Federation Proc.*, **15**, 1026 (1956).
1124. Schayer R. W., *Federation Proc.*, **15**, 347 (1956).
1125. Stadtman E. R., White F. J., jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 2022 (1953).
1126. Cowgill R. W., Freeberg B., *Federation Proc.*, **15**, 237 (1956).
1127. Trudinger P. A., *Biochem. J.*, **62**, 480 (1956).
1128. Yanofsky C., *Biochim. et Biophys. Acta*, **20**, 438 (1956).
1129. Buxton J., Sinclair H. M., *Biochem. J.*, **62**, 27P (1956).
1130. Katagiri M., Hayaishi O., *Federation Proc.*, **15**, 285 (1956).
1131. Dawson R. F., Christman D. R., Anderson R. C., Solt M. L., D'Adam A. F., Weiss U., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2645 (1956).
1132. Ghosh J. J., *Federation Proc.*, **15**, 261 (1956).
1133. Sreenivasan P. R., Shigeura H. T., Sprecher M., Sprinson D. B., Davis B. D., *J. Biol. Chem.*, **220**, 477 (1956).
1134. Mitoma C., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **60**, 476 (1956).
1135. Zannoni V. G., La Du B. N., *Federation Proc.*, **15**, 391 (1956).
1136. Pitt B. M., Knox W. E., *Federation Proc.*, **15**, 327 (1956).
1137. Edwards S. W., Knox W. E., *J. Biol. Chem.*, **220**, 79 (1956).
1138. Leeper L. C., Udenfriend S., *Federation Proc.*, **15**, 298 (1956).
1139. Lockett M. F., *Brit. J. Pharmacol.*, **9**, 498 (1954).
1140. Ruegamer W. R., Chodos R. B., *Federation Proc.*, **15**, 343 (1956).
1141. Gilvarg C., *Federation Proc.*, **15**, 261 (1956).
1142. Meister A., Buckley S. D., *Biochem. et Biophys. Acta*, **23**, 202 (1957).

Глава V

НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ ПРИ НЕКОТОРЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

ВВЕДЕНИЕ

Исследование «нормальных» биохимических и физиологических процессов служит обычно необходимой предпосылкой для выяснения сущности патологических процессов. В самом деле, особое внимание, уделявшееся в последнее время исследованиям, направленным на выяснение природы заболеваний человека, послужило толчком к углубленному изучению различных функций нормального организма. Несомненно также, что исследование некоторых патологических состояний в свою очередь способствовало пониманию нормальных процессов. Так, например, определенные стороны нормального обмена веществ могут нарушаться или усиливаться при некоторых заболеваниях. Поэтому наши представления о нормальном процессе и о его нарушении в условиях патологии могут углубляться более или менее параллельно.

В этой главе дан обзор некоторых нарушений обмена аминокислот, наблюдаемых при патологических состояниях. Часть из них уже упоминалась в предшествующих главах. Фактически, по-видимому, каждое заболевание связано с изменениями в обмене аминокислот; это мнение подтверждается множеством литературных данных. В данной главе рассматриваются лишь те явления, о которых известно достаточно, чтобы сопоставить их с нормальными функциями. Поэтому рассматриваемый в ней материал относительно ограничен; в основном он должен служить дополнением к приведенным в предшествующих главах данным о нормальных биохимических и физиологических процессах.

ОБМЕН АММИАКА

У млекопитающих большая часть выделяемого с мочой азота принадлежит мочеvine. Как указано выше (стр. 338), источниками атомов азота мочевины служат карбамилфосфат и α -аминогруппа аспарагиновой кислоты. Азот аспарагиновой кислоты может образоваться из аммиака в результате сочетанного действия дегидрогеназы глутаминовой кислоты и глутамат-аспарат-трансаминазы. Некоторое количество ионов аммония

выделяется с мочой, заменяя ионы натрия и калия и способствуя выведению ионов водорода при ацидозе. При физиологических значениях pH аммиак существует преимущественно в виде ионов NH_4^+ . Тем не менее предполагают, что через почечные каналцы диффундирует именно свободный аммиак, NH_3 (находящийся в равновесии с NH_4^+). Были получены данные о том, что экскреция аммиака способствует сохранению в организме оснований в результате обмена ионов аммония на ионы натрия или калия [1, 2] и что аммиак выделяется путем диффузии неионизированного NH_3 через клетки почечных каналцев [3—6]. Недавно Орлов и Берлинер [234] детально изучили этот вопрос и пришли к заключению, что «экскрецию аммиака и слабых оснований следует приписать не активному переносу этих веществ в мочу, а пассивной диффузии, обусловленной повышением кислотности мочи». Выделение аммиака может привести к реабсорбции ионов натрия в обмен на ионы водорода в результате уменьшения градиента pH между клетками почечных каналцев и мочой [3, 235].

Аммиак мочи образуется в основном из амидной группы глутамина и отчасти из других аминокислот, вероятно при совместном участии ферментов переаминирования и дегидрирования глутаминовой кислоты и, быть может, также под действием глициноксидазы (стр. 191). Активность ферментных систем, участвующих в образовании аммиака, повышается при хроническом ацидозе и снижается при хроническом алкалозе [1, 7, 236].

Аммиак всасывается также из кишечника, где он образуется в результате действия уреазы бактерий и при других реакциях (стр. 173). Через воротную вену аммиак переносится в печень, где переходит в мочевины. В печени и в ряде других тканей (например, в мозге) аммиак превращается в амидную группу глутамина. Высокая активность механизмов, участвующих в связывании аммиака, подтверждается тем, что в норме содержание свободного аммиака в крови и тканях млекопитающих очень невелико [8].

Уже из приведенных данных становится очевидной существенная роль печени в обмене аммиака. В опытах, в которых воротную вену соединяли непосредственно с поллой веной, уровень аммиака в периферической крови повышался [9, 10]. У людей, страдающих болезнями печени, содержание аммиака в крови нередко повышено. Многие исследователи наблюдали повышение содержания аммиака в крови при коме [10, 18]. В экспериментах на животных было показано, что высокие дозы аммиака вызывают кому, конвульсии и смерть [19]; такие же

явления наблюдаются после инъекций уреазы [20], а также при введении изоникотинилгидразида и других гидразидов, которые, возможно, превращаются в аммиак [21]¹. Прием внутрь 3 г хлористого аммония сравнительно мало влияет на уровень аммиака в крови здоровых людей; у группы больных с гепатитами и циррозами печени уровень аммиака в крови при подобной нагрузке заметно возрастал [18]; было найдено, что эти явления связаны с нарушением функции печени и, быть может, также с наличием коллатерального оттока крови из системы воротной вены. После приема ионов аммония у больных с печеночной недостаточностью могут развиваться мозговые симптомы, характерные для терминальной стадии этого заболевания. Глубина комы в терминальной стадии заболевания печени обычно пропорциональна уровню аммиака в периферической венозной и артериальной крови [8]. В норме уровень аммиака в артериальной крови выше, чем в венозной. Бесман и сотрудники [22, 23] показали, что при заболевании печени повышается разность между уровнями аммиака в артериях и венах мозга и что мозг удерживает аммиак, когда уровень последнего в крови превышает 1 $\mu\text{г}/\text{мл}$. При поражениях печени [24, 25], а также при гепатэктомии у животных нередко повышается содержание аминокислот в крови (см. [26]). Уровень глутамина в крови при заболеваниях печени остается относительно постоянным [27].

Бесман и Бесман [23] предложили объяснение механизма печеночной комы, основанное на том, что аммиак может нарушать использование α -кетоглутаровой кислоты в тканях. Можно ожидать в этих условиях торможения реакций цикла лимонной кислоты и тем самым окислительного обмена в мозге. Согласно этой гипотезе, высокие концентрации аммиака должны вызывать усиленное образование глутаминовой кислоты и α -кетоглутаровой кислоты. Эта реакция, катализируемая глутаматдегидрогеназой, способствовала бы быстрому связыванию α -кетоглутаровой кислоты. Рекнагель и Поттер [28], исследуя кетогенное влияние аммиака в опытах с кашицей печени, нашли, что в присутствии хлористого аммония происходит превращение α -кетоглутаровой кислоты в глутаминовую; это приводит к снижению образования щавелевоуксусной кислоты, вследствие чего обмен дыхательных субстратов переключается в сторону образования ацетоуксусной кислоты.

¹ При отравлении изоникотинилгидразидом (и другими антагонистами витамина В₆) развитие судорог и гибель животных связаны с подавлением действия некоторых пиридоксальных ферментов в центральной нервной системе, а не с аммиачной интоксикацией. — *Прим. ред.*

С такой трактовкой механизма развития комы согласуются данные о снижении потребления кислорода в мозге при печеночной коме [8, 29]. Повышенное содержание аммиака в крови наблюдается иногда и при других расстройствах, например при шоке [30] и при психозах, сопутствующих заболеваниям печени [31].

Высокая концентрация аммиака в крови и тканях приводит к повышенному образованию глутамина из глутаминовой кислоты и аденозинтрифосфата; вследствие этого возможно уменьшение количества аденозинтрифосфата, необходимого для других реакций, например для синтеза ацетилхолина [32]. Тайгерман и Мак-Вайкар [33] нашли, что у крыс при скормливаниях им в течение 10 дней углекислого аммония и глутаминовой кислоты повышается уровень глутамина в тканях, тогда как при раздельном введении карбоната аммония или глутамата количество глутамина в тканях не повышается. В мозге содержится значительное количество глутаминовой кислоты, и поэтому в присутствии «излишка» аммиака возможен усиленный синтез глутамина. Сведения о масштабах этой реакции при коме, по-видимому, отсутствуют, однако вполне вероятно, что синтез глутамина является одним из процессов, способствующих удалению аммиака. Было предложено испытать введение глутаминовой кислоты при лечении печеночной комы (см. [34—38]). Хотя при помощи глутаминовой кислоты удается предотвратить у животных конвульсии и кому, вызванные аммиаком [19], применение ее для лечения печеночной комы не дало значительного эффекта, быть может из-за ослабления функции печени и связанного с этим уменьшения общей активности ферментной системы, синтезирующей глутамин. Кроме того, введенная глутаминовая кислота не поступает в мозг в сколько-нибудь заметном количестве [33, 39].

Недавние исследования Гринстайна и его сотрудников [40—42] показали, что токсичность сравнительно больших доз отдельных аминокислот или смеси аминокислот для крысы снижается при одновременном или предварительном введении L-аргинина. Далее было установлено, что аргинин оказывает защитное действие против токсических доз ацетата аммония. L-Аргинин оказывал большее влияние, чем D-аргинин или L-орнитин, хотя и эти соединения проявляли некоторое защитное действие. Соли глутаминовой, аспарагиновой и α -кетоглутаровой кислот были относительно слабо активными. Авторы предполагают, что защитное действие аргинина реализуется через цикл мочевинообразования Кребса — Гензельта (стр. 147).

АМИНОАЦИДУРИЯ

Хотя источником аминокислот мочи являются аминокислоты плазмы, между концентрациями различных аминокислот в крови и в моче нет определенного соответствия. Так, с мочой в наибольшем количестве выделяются вовсе не те аминокислоты, уровень которых в плазме максимален (см. табл. 3). Кроме того, концентрации аминокислот в крови человека относительно постоянны, тогда как выделение аминокислот с мочой подвержено значительным колебаниям. Качественные и количественные различия в экскреции аминокислот обусловлены рядом факторов, в том числе характером питания и наследственностью. В норме у человека на долю аминокислот приходится менее 3% азота мочи; таким образом, человек выделяет с мочой примерно от 80 до 300 мг азота аминокислот в сутки. В экскреции аминокислот наблюдаются значительные видовые различия [43]; любопытно, что кошки выделяют фелинин — аминокислоту, отсутствующую в моче животных других видов (стр. 52). У человека фактор наследственности влияет на количество выделяемой β -аминоизомасляной кислоты (она образуется, вероятно, при расщеплении тимина, см. стр. 309). Примерно 10% людей выделяют около 200 мг β -аминоизомасляной кислоты в сутки, тогда как большинство людей выделяет лишь около $\frac{1}{10}$ этого количества. Повышенная экскреция β -аминоизомасляной кислоты зависит, вероятно, от фактора, связанного с функцией почек, так как нет данных о наличии повышенного уровня этой аминокислоты в крови субъектов, выделяющих ее в больших количествах с мочой [44—46].

На экскрецию аминокислот в значительной мере влияет степень их реабсорбции в почечных канальцах [47—54, 235]. В норме реабсорбции в канальцах подвергаются значительные количества аминокислот — тем большие, чем выше уровень аминокислот в крови. Экспериментальные исследования о почечной реабсорбции проведены преимущественно на собаках; во многих опытах применялись рацемические аминокислоты. Полученные данные говорят о том, что аргинин, лизин и глутаминовая кислота труднее подвергаются реабсорбции, чем глицин, аланин, изолейцин, валин, треонин, триптофан, фенилаланин и метионин. Отмечено, что при реабсорбции существуют конкурентные отношения между креатином и аминокислотами (например, глицином или аланином), тогда как глюкоза с аминокислотами не конкурирует. Высказано предположение, что реабсорбция аминокислот обеспечивается единым механизмом, однако исследования, касающиеся цистинурии (см. ниже), наводят на мысль о наличии особого механизма для реабсорбции

аргинина, орнитина, лизина и цистина. Известны примеры конкуренции между самими аминокислотами при реабсорбции; если такая конкуренция имеет место между L- и D-аминокислотами, то это в большой мере обесценило бы результаты опытов, проведенных с использованием рацемических аминокислот.

В общем повышенная экскреция аминокислот наступает в тех случаях, когда существенно повышено содержание аминокислот в крови или когда нарушен процесс почечной реабсорбции.

Примером первого рода (превышение почечного порога [54, 55]) может служить выделение фенилаланина при фенилпировиноградной олигофрении (стр. 474). При поражениях печени обычно повышается общий уровень аминокислот в плазме, что сопровождается общей аминоацидурией [17, 55—60]. Это не удивительно, поскольку дезаминирование аминокислот происходит в основном в печени. Дент и Уолш [56] наблюдали у больных с легкими формами заболеваний печени повышенное выделение с мочой цистина, таурина, β -аминоизомасляной кислоты, метилглутимидина, этаноламина и метионина. При более тяжелом поражении печени значительно увеличено выделение всех аминокислот, наподобие экскреции аминокислот у животных после гепатэктомии [61].

Общая аминоацидурия [65] наблюдается и при других патологических состояниях, связанных с повышенным уровнем аминокислот в плазме, например при кахексиях, мышечной атрофии [62, 63], гипертиреозах, травме [64]. Болезни почек, при которых снижается реабсорбция в почечных канальцах, могут сопровождаться общей аминоацидурией, глюкозурией и протеинурией.

При цистинурии имеется специфическое нарушение почечной реабсорбции цистина, а также орнитина, аргинина и лизина [66—71]. При этом заболевании у больных обычно не наблюдается других нарушений, кроме образования цистиновых камней. Заслуживает внимания, что цистин, одна из первых аминокислот, изолированных из природных объектов, был выделен Волластоном [72] в 1810 г. из мочевого камня. Дент и сотрудники [69—71] пришли к выводу, что единственная аномалия при цистинурии состоит в нарушении функций почечных канальцев. Любопытно, что при этом заболевании выделяются также аргинин, орнитин и лизин; Дент и сотрудники [71] предполагают, что в реабсорбции указанных аминокислот участвует общий механизм.

В одном из более ранних исследований в моче одного больного с цистинурией были найдены путресцин и кадаверин [73]; они могли возникнуть из соответствующих аминокислот под действием декарбоксилаз бактерий, присутствующих в моче. Цисти-

нурия, по-видимому, не связана с нарушением процессов промежуточного обмена цистина; имеются убедительные данные, свидетельствующие о том, что она относится к разряду врожденных пороков обмена. Цистинурия встречается также у собак, у которых в основе этого синдрома лежат те же причины, что и у человека [74].

Разные виды аминоацидурии обнаружены и при ряде других, сравнительно редких расстройств, до сих пор еще полностью не расшифрованных. Синдром Фанкони [75—77] представляет наследственное заболевание, сопровождающееся аминоацидурией и выделением с мочой пептидов, бикарбоната и фосфата. Этому заболеванию могут сопутствовать остеомалация, рахит и поражение печени [65, 78, 79]; иногда при этом наблюдается и цистинурия, однако этот симптом явно не идентичен неосложненной цистинурии. Простую цистинурию следует отличать от цистиноза — значительно более тяжелого заболевания с ранним смертельным исходом. При этом страдании наблюдается генерализованная аминоацидурия наряду с системными нарушениями, которые связаны с отложением кристаллов цистина в тканях, в частности в ретикулоэндотелиальной системе [80—86]. Существует мнение, что цистиноз и синдром Фанкони являются сходными заболеваниями [81]. При синдроме Фанкони концентрации аминокислот в крови обычно не отклоняются от нормы, и имеются данные о наличии дефекта в функции почек. На более поздних стадиях течение болезни может осложняться развитием поражения печени.

При гепато-лентиккулярной дегенерации (болезнь Вильсона) наблюдается генерализованная аминоацидурия, связанная с поражением печени [87—89]. Однако аминоацидурия может появиться до развития признаков заболевания печени; существенное повышение уровня аминокислот в крови обычно отсутствует. Имеются также указания на экскрецию пептидов с мочой при этом заболевании [89]. Особый интерес представляют данные о том, что у таких больных нарушен обмен меди [90—95]. Наблюдается отложение меди в чечевицеобразном ядре мозга, печени и роговице; с мочой выделяются необычно большие количества меди в виде клешневидных комплексов с пептидами дикарбоновых аминокислот. В нормальной сыворотке крови медь связана с одним из α -глобулинов, церулоплазмином. Концентрация этого белка снижена при болезни Вильсона, однако общее количество меди в сыворотке крови соответствует норме или превышает ее [93, 95]. Между экскрецией аминокислот и экскрецией меди имеется параллелизм — например, повышенное выделение аминокислот, вызванное пищевым рационом с высоким содержанием белка, сопровождается повышенной экскрецией

меди [94]. Природа первичного поражения при этом заболевании остается невыясненной. Интересно, что повреждение почек, вызванное металлами (ураном, свинцом, кадмием, ртутью) [96—98] и другими агентами [99, 100], приводит к аминокацидурии.

Другое наследственное расстройство обмена, галактоземия, также связано с аминокацидурией, которая, по некоторым данным, исчезает при исключении галактозы из пищи [101—103]. Имеются указания на то, что аминокацидурия и в этом случае обусловлена нарушением реабсорбции в почечных канальцах. У некоторых больных со спонтанной идиопатической гипогликемией введение аминокислот или белка снижает уровень глюкозы в крови натошак [104].

Исследование экскреции аминокислот привело уже к открытию ряда интересных нарушений при различных патологических состояниях, в том числе при некоторых относительно редких заболеваниях; возможно, однако, что менее резкие изменения экскреции аминокислот сопутствуют и другим заболеваниям. Такого рода явления теперь доступны изучению благодаря усовершенствованию методов определения аминокислот. При этом, однако, следует строго контролировать все условия (особенно питание). Регулирование уровня аминокислот в крови происходит при участии гормонов (стр. 179); вполне вероятно, что их действие отражается и на экскреции аминокислот. Так, при введении кортизона больным с ревматоидным артритом у них наблюдалась повышенная экскреция аминокислот [105]. Имеются также данные о сравнительно регулярных изменениях экскреции ряда аминокислот у женщин в связи с половым циклом. Так, у женщин во время беременности повышается экскреция гистидина, треонина, лизина и триптофана, тогда как в период лактации экскреция аминокислот относительно понижена [106].

ОБМЕН ФЕНИЛАЛАНИНА И ТИРОЗИНА

«...аномалии, о которых я намерен сообщить... могут быть отнесены к врожденным порокам обмена. Некоторые из них несомненно (а вероятно, и все) существуют уже при рождении... Они характеризуются значительным отклонением от видовой нормы, далеко превосходящим обычные индивидуальные вариации; напрашивается мысль, что они представляют собой «уродства» обмена, т. е. химическое подобие пороков морфологического развития... Вполне возможно, что промежуточные продукты, возникающие на различных стадиях [обмена], как таковые существуют лишь мимолетно, подвергаясь дальнейшим изменениям почти тотчас же после своего образования, и что протекание процесса обмена по какому-либо определенному пути следует предста-

влять себе как непрерывное движение, а не как ряд отдельных ступеней. Если какое-нибудь из звеньев процесса выпадает, то промежуточный продукт, дойдя до этого пункта, уже не подвергается далее превращению, подобно тому как при прекращении движения ленты в биоскопе движущиеся фигуры останавливаются с поднятой ногой» (Гаррод, 1923).

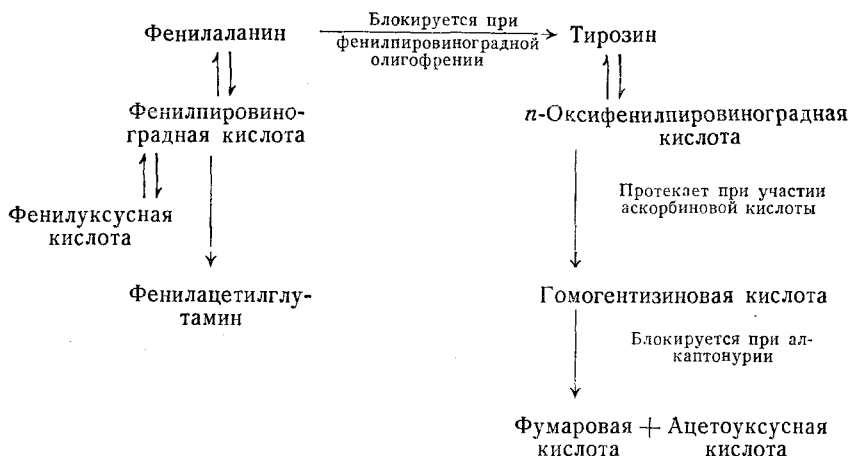
Общие замечания

Известны некоторые заболевания человека, связанные с наследственными нарушениями обмена тирозина и фенилаланина. Эти заболевания наряду с другими, о которых говорилось в предшествующем разделе, относятся к «врожденным порокам обмена веществ». Гаррод впервые высказал предположение, что такие «пороки обмена» зависят от врожденной неспособности организма осуществлять определенную промежуточную реакцию в нормальной цепи последовательных обменных превращений [107]. Наследование этих заболеваний носит обычно рецессивный характер. Поэтому больных, страдающих этими аномалиями, можно считать мутантами человека по аналогии с мутантами, полученными у микроорганизмов, например у *Neurospora crassa* и *Escherichia coli*. В отличие от мутантных микроорганизмов, у которых нарушение обмена обычно легко обнаруживается по изменению потребностей в факторах питания, выявление мутации у человека нередко осложняется развитием вторичных явлений. Тем не менее исследование мутационных нарушений обмена у человека в ряде случаев способствовало выяснению нормальных путей обмена веществ.

Алкаптонурия

Характерным признаком алкаптонурии является выделение гомогентизиновой кислоты с мочой; основное нарушение обмена состоит в потере способности окислять гомогентизиновую кислоту (по-видимому, вследствие недостатка оксидазы гомогентизиновой кислоты, см. стр. 420).

Больные с алкаптонурией могут выделять с мочой до 0,5 г гомогентизиновой кислоты в день. Характерным признаком является черная окраска, приобретаемая мочой при стоянии вследствие окисления гомогентизиновой кислоты кислородом воздуха. Судя по сообщениям о больных, моча которых темнела при сто-



янии, болезнь эта, по-видимому, имеет вековую давность [107]. Гаррод ссылается на случаи алкаптонурии у школьника (описан в 1584 г.) и у монаха (описан в 1609 г.), здоровья которых не нарушалось, хотя они в течение длительного времени выделяли черную мочу. Первое тщательное описание алкаптонурии принадлежит Бёдекеру [108]; позднее была выделена и идентифицирована гомогентизиновая кислота [109]. Заболевание может быть выявлено в раннем возрасте, так как при этом детские пеленки быстро темнеют на воздухе. Гомогентизиновая кислота встречается и в других жидкостях организма [110]. У больных с алкаптонурией обычно не проявляется других симптомов заболевания, если не считать потемнения сухожилий и хрящей в пожилом возрасте; этот симптом известен под названием охроноза. Охроноз может проявляться внешне в потемнении носа, ушей и склеры; при аутопсии находят отложения пигмента в хрящах. Другие продукты обмена тирозина или фенилаланина в моче больных с алкаптонурией не появляются [111]. Содержание гомогентизиновой кислоты в крови весьма невелико [110—112]; по-видимому, почечный порог этого соединения низок. Почечный клиренс гомогентизиновой кислоты чрезвычайно высок; высказано предположение, что почки выделяют гомогентизиновую кислоту не только в результате простой фильтрации, но и путем активной секреции. Гомогентизиновая кислота мочи, возможно, образуется в основном в почках [111—113].

При введении гомогентизиновой кислоты в организм больного с алкаптонурией она целиком выделяется с мочой. В теле здоровых людей эта кислота, напротив, подвергается быстрому

превращению и, за исключением тех случаев, когда дозы гомогентизиновой кислоты очень высоки, появления алкаптонурии не наблюдается [113—115]. Больные с алкаптонурией выделяют «избыточную» гомогентизиновую кислоту после приема тирозина, фенилаланина, *n*-оксифенилпировиноградной, фенилмолочной или 2,5-диоксифенилпировиноградной кислоты [111, 116—119]. В противоположность этому *o*-тирозин, *m*-тирозин и соответствующие им α -кетокислоты, а также *n*-оксифенилмолочная кислота не вызывают увеличения экскреции гомогентизиновой кислоты.

В опытах на животных удавалось вызвать выделение гомогентизиновой кислоты введением очень больших доз фенилаланина [120—127]. Выделение гомогентизиновой кислоты, наблюдаемое после нагрузки тирозином у людей и морских свинок при недостаточности аскорбиновой кислоты, устраняется введением аскорбиновой кислоты [128]. При С-авитаминозе с мочой выделяются также *n*-оксифенилпировиноградная и *n*-оксифенилмолочная кислоты. Так, недоношенные младенцы с С-гиповитаминозом выделяют *n*-оксифенилпируват и *n*-оксифениллактат, особенно при высокобелковом рационе; эти продукты обмена тирозина исчезают из мочи после лечения младенцев аскорбиновой кислотой [129]. Нарушения, наблюдаемые при недостаточности аскорбиновой кислоты, согласуются с данными опытов *in vitro*, в которых было установлено, что для ферментативного окисления *n*-оксифенилпирувата необходимо присутствие аскорбиновой кислоты (стр. 420). Установлено, что недостаточность аскорбиновой кислоты не играет роли в генезисе истинной алкаптонурии и введение аскорбиновой кислоты ее не устраняет [111, 130, 131].

Экскрецию гомогентизиновой кислоты в опытах на животных вызывали также применением рационов, недостаточных по серусодержащим аминокислотам. Наблюдаемое при этом выделение гомогентизиновой и *n*-оксифенилпировиноградной кислот устранялось введением цистеина [132, 133]. Отмеченное в этих исследованиях, а также в опытах со скорбутными морскими свинками выделение гомогентизиновой кислоты может зависеть как от дискоординации в обмене аминокислот, так и от нарушения функции почек [132].

Экскреция *n*-оксифенилпировиноградной кислоты

Как упомянуто выше, *n*-оксифенилпировиноградная кислота была найдена в моче животных и человека при недостаточности аскорбиновой кислоты. Она часто содержится также в моче

больных с поражением печени [135—137]. Введение таким больным тирозина не повышает экскрецию *n*-оксифенилпировиноградной кислоты; в данном случае нарушение зависит, по-видимому, от поражения клеток печени и связанного с ним общего снижения ферментативной активности. Экскреция *n*-оксифенилпировиноградной кислоты отмечена также при некоторых нарушениях кроветворения и инфекциях [137]. У больных с поражением печени введение *n*-оксифенилпировиноградной кислоты усиливает реакцию мочи с реактивом Миллона; эта проба была предложена в качестве теста для оценки функционального состояния печени [135—137].

n-Оксифенилпировиноградная кислота наряду с 2, 5-диоксифенилпировиноградной найдены в моче морских свинок после скармливания им тирозина и натриевой соли масляной кислоты [134].

Выделение очень больших количеств *n*-оксифенилпировиноградной кислоты наблюдали у одного больного с нарушением обмена, для которого было предложено название «тирозиноз» [138]. При введении тирозина этому больному повышалась экскреция *n*-оксифенилпировиноградной кислоты наряду с экскрецией тирозина, *n*-оксифенилмолочной кислоты и 3, 4-диоксифенилаланина. Повышенное выделение тирозина и *n*-оксифенилпирувата наступало также после введения фенилаланина. Введение диоксифенилаланина повышало экскрецию тирозина и *n*-оксифенилпирувата; после приема последнего соединения в моче наряду с ним появлялась соответствующая α -оксикислота. Гомогентизиновая кислота, по-видимому, подвергалась окислению, поскольку прием этого соединения не вызывал алкаптонурии. Какое звено обмена заблокировано при тирозинозе, в точности не установлено, однако имеющиеся данные указывают на дефект в ферментной системе, осуществляющей превращение тирозина в гомогентизиновую кислоту. Тирозиноз не представляет интереса для клинической практики (описан лишь один случай), однако исследование его сыграло определенную роль в выяснении нормальных путей обмена ароматических аминокислот.

Фенилпировиноградная олигофрения

Для этого заболевания, описанного в 1934 г. Фёллингом, характерно сочетание нарушения умственного развития больных с выделением фенилпировиноградной кислоты с мочой [139—142]. Заболевание не всегда приводит к раннему смертельному исходу, однако больные обычно нуждаются в присмотре и их

нужно оберегать от инфекций и обеспечить полноценным питанием. Психические нарушения часто бывают весьма тяжелыми, но у некоторых больных отмечено лишь незначительное снижение умственных способностей. Фенилпировиноградная олигофрения — наследственное заболевание, связанное, по-видимому, с рецессивным геном. Подсчитано, что этот ген встречается примерно у 0,5% населения США [143]. Данные о частоте явного заболевания нужно считать минимальными, так как, вероятно, не все случаи распознаются.

Помимо фенилпировиноградной кислоты, больные выделяют также в сравнительно больших количествах фенилмолочную кислоту, фенилаланин и фенилацетилглутамин [140—150]. Суточные величины экскреции фенилпировиноградной и фенилмолочной кислот могут достигать до 1—2 г каждой из этих кислот; количество выделяемого фенилаланина достигает 900 мг, а фенилацетилглутамина — 2,4 г в сутки. Здоровые люди выделяют лишь небольшие количества фенилаланина (табл. 3) и не более нескольких сот миллиграммов фенилацетилглутамина. Фенилаланин у больных накапливается в крови, где его уровень доходит до 10—40 мг на 100 мл плазмы (нормальные величины — 1—2 мг). Концентрация фенилаланина в спинномозговой жидкости примерно такая же, как и в плазме [146, 151, 152]. Содержание фенилпировиноградной и фенилуксусной кислот в крови больных очень низко [151, 153]. Концентрации других аминокислот в крови не отклоняются от нормы.

При фенилкетонурии введение больным фенилаланина приводит к увеличению экскреции фенилпировиноградной кислоты и к повышению содержания фенилаланина в плазме, тогда как прием других аминокислот не вызывает подобных изменений [146, 151, 154, 155]. Одно время предполагали, что при этом заболевании может образовываться D-фенилаланин, поскольку известно, что фенилпировиноградная кислота образуется легче из D-фенилаланина, чем из его L-изомера. Однако в последующих исследованиях D-фенилаланин не был обнаружен ни в крови, ни в моче больных фенилкетонурией [156, 157]. Поэтому предположение, что фенилпировиноградная олигофрения обусловлена рацемизацией или инверсией L-фенилаланина, было отброшено. Напротив, экспериментальное подтверждение получила гипотеза, согласно которой при этом заболевании блокировано превращение фенилаланина в тирозин. Джервис [158] отметил, что в то время, как у здоровых людей после приема фенилаланина увеличивается содержание в крови соединений, реагирующих с реактивом Миллона, у больных, страдающих фенилкетонурией, этого не наблюдается. Юденфренд и Бесман [159] давали таким больным нагрузку C¹⁴-фенилаланином и получили убедительные

доказательства того, что при этом заболевании нарушено превращение фенилаланина в тирозин. Однако их опыты показали, что при этом пороке обмена из меченого фенилаланина все же образуется некоторое количество тирозина. Так, у контрольных больных отношение удельных активностей тирозина и фенилаланина составляло около 0,2, тогда как у двух детей, страдающих фенилкетонурией, оно было равно лишь 0,02. Указанные авторы полагают, что результаты их исследования могут быть объяснены а) уменьшением (но не полным отсутствием) гидроксилазы фенилаланина (стр. 417), б) превращением фенилаланина в тирозин в результате действия бактериальной флоры кишечника или другой ферментной системы (например, неспецифической гидроксилазы ароматических соединений), в) отсутствием какого-нибудь кофактора фенилаланиноксидазы и г) наличием ингибитора фенилаланиноксидазы. При исследовании полученного при биопсии кусочка печени больного фенилкетонурией в ткани печени не удалось обнаружить активности фермента, катализирующего превращение фенилаланина в тирозин [160].

Опубликованные данные не дают основания считать, что превращение фенилаланина в тирозин блокировано полностью, но угнетение этого превращения достаточно велико, чтобы объяснить большинство описанных фактов. Ограничение превращения фенилаланина в тирозин должно приводить к накоплению фенилаланина, а переаминирование этой аминокислоты — к образованию фенилпировиноградной кислоты. В результате дальнейших превращений фенилпирувата образуются фенилмолочная кислота и повышенные по сравнению с нормой количества фенилацетилглутамин. Присутствие фенилуксусной кислоты в моче больных с фенилкетонурией можно объяснить декарбоксилированием фенилпировиноградной кислоты, которое, возможно, протекает неферментативным путем. Хорошо известно, что принятая внутрь фенилуксусная кислота выделяется у человека в виде фенилацетилглутамин (стр. 421). Наличие свободной фенилуксусной кислоты в тканях до сих пор не установлено; возможно, что фенилуксусная кислота по мере своего образования быстро вступает в соединение с глутамином или что фенилацетилглутамин синтезируется непосредственно из фенилпирувата (например, с промежуточным образованием фенилацетилкофермента А).

С участием реакций переаминирования в образовании фенилпировиноградной кислоты согласуется то обстоятельство, что после приема внутрь глутамин, глутамат или аспарагин экскреция фенилпировиноградной кислоты снижается. Высказано предположение, что введенные аминокислоты сдвигают *in vivo*

равновесие в реакциях переаминирования в пользу фенилаланина. Введение глутамина не оказывает заметного влияния на выделение фенилацетилглутамина; очевидно, экскреция последнего не приводит к существенному обеднению организма глутамином [161].

Высказан ряд предположений о химическом механизме, лежащем в основе нарушения психического развития ребенка при фенилкетонурии. Возможно, что фенилуксусная кислота, токсическое действие которой на нервную систему известно [162], или другие продукты обмена фенилаланина вызывают повреждение мозга. Нельзя также исключить возможность вредного действия на мозг самого фенилаланина. С этой точки зрения значительный интерес представляет сообщение о том, что белки крови больных с фенилпировиноградной олигофренией содержат повышенное по сравнению с нормой количество фенилаланина [163] (см., однако, [164]). Следует также отметить, что фенилаланин может конкурентно угнетать активность тирозиназы грибов [165]; возможно, что фенилаланин в высоких концентрациях тормозит и другие превращения тирозина в обмене веществ.

В последнее время появились сообщения о лечении больных фенилкетонурией при помощи диеты с низким содержанием фенилаланина при достаточном содержании тирозина [166—169]. У некоторых больных, получавших бедный фенилаланином рацион, было отмечено некоторое повышение умственных способностей. Весьма вероятно, однако, что этот способ лечения если и дает положительный эффект, то лишь в раннем возрасте, когда еще не развилось стойкое повреждение мозга. Ограничение количества фенилаланина в рационе приводит к значительному снижению фенилкетонурии и уровня фенилаланина в крови. Было предложено использовать для лечения наряду с ограничением приема фенилаланина введение глутамина. Известно, что введенный *per os* глутамин быстро поступает в мозг и в другие ткани; поддержание достаточно высокого уровня глутамина в тканях могло бы способствовать подавлению образования фенилпирувата в тканях [161].

Можно было ожидать, что при фенилкетонурии обмен тирозина окажется заторможенным. Помимо значительного угнетения синтеза тирозина из фенилаланина возможно также тормозящее действие избыточного количества фенилаланина на превращения тирозина (ср. [165]). Это предположение подтверждается отмеченной у больных с фенилкетонурией тенденцией к уменьшению пигментации. У некоторых больных, получавших в течение нескольких месяцев рацион с ограниченным содержанием фенилаланина, было отмечено потемнение волос и кожи.

У больных, страдающих фенилкетонурией, наблюдали повышенную чувствительность к адреналину, что, быть может, указывает на нарушение эндогенного образования адреналина; указаний на нарушение у таких больных функций щитовидной железы не имеется [144].

В связи с тем что при фенилкетонурии в моче был обнаружен ряд необычных продуктов обмена ароматических аминокислот, возник вопрос о возможном наличии при этом заболевании других дефектов обмена. Так, например, в моче больных с фенилкетонурией были найдены *n*-оксифенилуксусная, *o*-оксифенилуксусная и *n*-оксифенилмолочная кислоты [170—176]. Кроме того, появление в моче некоторых производных индола указывает на нарушение обмена триптофана [177]. Образование этих соединений, возможно, является вторичным следствием первичного дефекта, состоящего в нарушении образования тирозина из фенилаланина (ср. [178]). Большое значение будет иметь дальнейшее изучение механизма превращения фенилаланина в тирозин; в частности, важно выяснить, состоит ли основное нарушение обмена в недостаточности фермента или в недостатке того или иного кофактора (стр. 417), который может принимать участие в ряде ферментативных реакций.

Альбинизм и феохромоцитома

Альбинизм представляет собой врожденную аномалию обмена тирозина, выражающуюся в выпадении биосинтеза меланина и наследуемую по рецессивному типу. При этом состоянии, по-видимому, блокировано превращение ДОФА (диоксифенилаланина) в меланин. Дефект, локализованный на более раннем этапе обмена тирозина, представляется маловероятным, так как при альбинизме не обнаружено признаков недостаточности биосинтеза адреналина (ср. [179]).

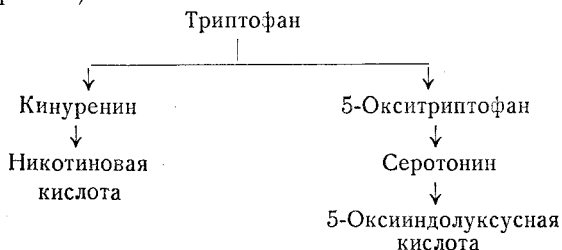
Феохромоцитомами называют продуцирующие адреналин и норадреналин опухоли, которые развиваются из клеток мозгового слоя надпочечников или узлов симпатической нервной системы [180]. Симптомы, возникающие при этом поражении, могут быть объяснены повышенной секрецией адреналина и норадреналина; эти гормоны легко обнаружить в моче подобных больных [181]. Радикальное удаление опухоли устраняет указанный синдром. Эти опухоли, вырабатывающие большие количества адреналина и норадреналина, могут оказаться полезным объектом для изучения механизма образования названных гормонов.

ОБМЕН ТРИПТОФАНА

К числу процессов обмена триптофана в организме человека относятся превращения триптофана в никотиновую кислоту через кинуренин и окисление и декарбоксилирование триптофана с образованием 5-окситриптамина (серотонина) (стр. 201). В нормальных условиях на долю каждого из этих процессов приходится лишь несколько процентов всего подвергающегося превращению в организме триптофана.

Повышенное образование серотонина

У больных с далеко зашедшим злокачественным карциноидом (опухоль, происходящая из энтерохромафинных, или аргентафинных, клеток) обмен триптофана протекает преимущественно по пути превращения его в серотонин [182]. При этом заболевании были отмечены симптомы, характерные для пеллагры. По-видимому, в случае низкого содержания никотиновой кислоты в питании ограничение процесса образования никотиновой кислоты из триптофана при этом заболевании приводит к развитию явлений недостаточности никотиновой кислоты. Для больных, страдающих карциноидом, характерны потеря веса, приливы крови к коже, хронический понос, приступы одышки и поражение сердечных клапанов [183—187]. Хромафинные клетки желудочно-кишечного тракта вырабатывают серотонин [188, 189]; развивающаяся из этих клеток карциноидная опухоль содержит значительные количества серотонина [182, 190, 191]. При исследовании мочи у нескольких больных, страдающих злокачественным карциноидом, было обнаружено резкое увеличение экскреции 5-оксииндолуксусной кислоты — продукта обмена серотонина [182] (стр. 407).



Уровень серотонина в крови и в моче таких больных значительно выше, чем в норме. Помимо серотонина и 5-оксииндолуксусной кислоты в моче больных, страдающих карциноидом, найдены другие производные 5-оксииндола [182]; получены также данные о присутствии этих соединений в моче здоровых людей

[237]. При исследовании карциноидной опухоли Шердса и сотрудники [182] нашли, что она содержит большие количества производных 5-оксииндола, основную массу которых составляет серотонин. После частичного удаления опухолевой ткани экскреция 5-оксииндолуксусной кислоты с мочой снизилась; то обстоятельство, что она все же превышала норму, было связано с наличием метастазов.

Клинические явления, наблюдаемые у больных со злокачественной карциноидной опухолью, связаны, очевидно, с образованием больших количеств серотонина в опухоли и ее метастазах, со снижением биосинтеза никотиновой кислоты и с развитием белковой недостаточности, обусловленной недостатком триптофана. У здоровых людей для образования серотонина расходуется лишь около 1% триптофана пищи, тогда как у больных, страдающих злокачественным карциноидом, на образование серотонина может уходить до 60% всего триптофана.

Серотонин выделили одновременно и независимо друг от друга Раппорт с сотрудниками [238] и Эрспамер [118, 189, 192]; последний называл это соединение энтерамином. Заслуживает внимания, что в крови почти весь серотонин находится в кровяных пластинках. Его фармакологическое действие описано в ряде обзоров [189, 239]. Известно, что он оказывает возбуждающее действие на гладкие мышцы, что проявляется в повышении двигательной функции кишечника, в сужении бронхов и сосудов. Освобождение серотонина из кровяных пластинок, возможно, играет роль в сокращении сосудов, способствующем остановке кровотечения [193, 194]. Многие симптомы, наблюдаемые у больных, страдающих злокачественным карциноидом, обусловлены, вероятно, действием серотонина на гладкую мускулатуру.

У млекопитающих серотонин обнаружен в стенках желудка и кишечника, в крови и мозге. Присутствие его в мозге вызвало предположения о том, что он играет важную роль в этом органе. Далее оказалось, что соединение, химически родственное серотонину, а именно диэтиламид лизергиновой кислоты, вызывающий галлюцинации и другие психические нарушения при введении здоровым людям в весьма малых дозах (например, 40 μ g), подавляет действие серотонина на гладкую мускулатуру *in vitro* [195, 196].

Экскреция продуктов обмена триптофана

Имеются данные о появлении в моче многих соединений, являющихся продуктами обмена триптофана. Экскреция их отмечена при различных заболеваниях, но до настоящего времени нет полной ясности в вопросе о механизмах, лежащих в основе

соответствующих нарушений обмена. Еще в ранних работах было установлено, что после скормливания триптофана животные выделяют с мочой кинуреновую кислоту [197, 198]. Кинуренин был открыт в моче кроликов после скормливания им больших количеств триптофана [199], а ксантуреновая кислота впервые была выделена из мочи крыс, которых кормили фибрином [200].

Достоверно известно, что ксантуреновая кислота выделяется при недостаточности витамина В₆ (см., например, [201—203]). После введения большой дозы триптофана наблюдается примерное соответствие между количеством выводимой ксантуреновой кислоты и степенью развития недостаточности витамина В₆ [204]. При беременности, по-видимому, возникает повышенная потребность в витамине В₆, вследствие чего после нагрузки триптофаном выделяется сравнительно большое количество ксантуреновой кислоты [205, 206]. Найдено также, что туберкулезные больные при лечении гидразидом изоникотиновой кислоты проявляют симптомы, характерные для недостаточности витамина В₆, и выделяют повышенные по сравнению с нормой количества ксантуреновой кислоты после приема триптофана [207]. В другой работе сообщается, что у больных легкой формой туберкулеза, получавших изоникотинилгидразид, было отмечено нарастающее увеличение экскреции кинуренина и ацетилкинуренина после нагрузки L-триптофаном; увеличение экскреции ксантуреновой кислоты было менее значительным [208]. Эти данные можно объяснить угнетением действия кинурениназы и кинуренин-трансаминазы, так как в состав обоих этих ферментов входит витамин В₆ (стр. 246).

Ксантуреновая кислота найдена также в моче больных, страдающих тяжелой формой диабета; после устранения глюкозурии экскреция ксантуреновой кислоты прекращалась. Кроме того, на взаимосвязь между ксантуреновой кислотой и диабетом указывает тот факт, что путем инъекции ксантуреновой кислоты удается вызвать гипергликемию и снизить содержание гликогена в печени. Полагают, что в основе этого эффекта лежит эндокринный (гипофизарно-адреналовый) механизм [209—212]. Мак-Даниель и сотрудники [213] опубликовали недавно данные о нарушении обмена триптофана у крыс при аллоксановом диабете. Эти исследователи отметили значительное увеличение экскреции N'-метилникотинамида у здоровых крыс после нагрузки триптофаном и отсутствие подобного эффекта у крыс с аллоксановым диабетом. После введения инсулина экскреция N'-метилникотинамида (в условиях данного опыта) повышалась до нормального уровня.

Выделение 3-оксикинуренина с мочой наблюдали у больных при туберкулезе [214] и при различных лихорадочных заболева-

ниях [215]. 3-Оксикинуруенин наряду с кинуруенином был найден при диабете, лейкемии, болезни Ходжкина, при множественной миеломе и лимфосаркоме; кроме того, моча при этих заболеваниях часто содержала также ксантуруеновую, 3-оксиантраниловую и антраниловую кислоты [215].

В опытах по развитию опухолей у крыс под влиянием 2-ацетиламинофлуорена было выявлено наличие взаимоотношений между этим канцерогеном и триптофаном. Введение внутрь 2-ацетиламинофлуорена вызывало развитие опухолей в различных органах, но не в мочевом пузыре. Если же 2-ацетиламинофлуорен вводили вместе с DL-триптофаном, то опухоли мочевого пузыря возникали более чем у 90% подопытных животных [216]. Пока не опубликовано аналогичных исследований с применением L- и D-триптофана, однако, по данным исследований, касающихся роста животных, D-триптофан в организме крысы легко может превращаться в L-изомер (табл. 15). У человека, получившего L-триптофан, с мочой выделяются заметные количества кинуруенина, кинуруеновой и ксантуруеновой кислот и N-метил-2-пиридон-5-карбоксамида, тогда как в моче у кошек найдено сравнительно мало этих и других производных триптофана. У кошек в отличие от человека рак мочевого пузыря встречается редко [217]. Наконец, установлено, что по крайней мере один из продуктов распада триптофана (3-оксиантраниловая кислота [218]) при введении его в мочевой пузырь мыши в виде пилюли вызывает развитие рака пузыря. Совокупность данных говорит о наличии какой-то связи между обменом триптофана и развитием опухоли; этот вопрос подлежит дальнейшему изучению.

Присутствие различных продуктов обмена триптофана в моче больных при некоторых заболеваниях может стоять в прямой связи со специфическим патологическим процессом; однако могут быть выдвинуты и другие объяснения. Например, выделение таких метаболитов может представлять собой вторичное явление, зависящее от изменения функции почек или от нарушения нормальных соотношений между различными аминокислотами в промежуточном обмене веществ. Возможно также, что полученные данные в какой-то степени связаны с повышенной интенсивностью распада триптофана. Обнаружено, что активность триптофанпероксидазы в печени может подвергаться быстрым и резким адаптивным изменениям и зависит от влияния определенных эндокринных воздействий. В свете этих данных возможно, что выделение продуктов распада триптофана с мочой является следствием повышенной интенсивности процесса окисления триптофана в кинуруенин. В общем обмен триптофана может, по-видимому, служить чувствительным показателем мно-

гих болезненных состояний; но еще не ясно, являются ли нарушения обмена триптофана причиной соответствующих заболеваний или они всего лишь отражают наличие этих заболеваний. Возможность существования каузальных взаимоотношений между состоянием обмена триптофана и такими заболеваниями, как рак, диабет и туберкулез, подлежит дальнейшему изучению.

Опубликовано сообщение о том, что врожденная гипопластическая анемия (*erythrogenesis imperfecta*) — редкое заболевание, характеризующееся эритроидной гипоплазией костного мозга и циркуляцией в крови нормоцитарных и нормохромных эритроцитов, — сопровождается выделением антраниловой кислоты с мочой. Экскреция антраниловой кислоты повышалась при введении триптофана. После приема рибофлавина экскреция антраниловой кислоты, напротив, снизилась (стр. 401), однако при этом не наблюдалось изменений морфологической картины крови, на которую не оказывали влияния и лечебные препараты, обычно применяемые для стимулирования эритропоэза [219].

ДРУГИЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ

Число описанных аномалий обмена ароматических аминокислот довольно значительно; между тем о подобных нарушениях в обмене аминокислот жирного ряда известно немного. Тем не менее нет оснований отрицать возможность существования пороков обмена алифатических аминокислот. Накопление ненормальных продуктов их обмена могло остаться незамеченным ввиду трудности обнаружения таких соединений. Ароматические же производные, напротив, нередко легко доступны идентификации и выделению благодаря отличительным особенностям их ароматических групп.

Несомненно, существует еще много аномалий обмена аминокислот. Имеющиеся данные часто не позволяют делать окончательных выводов. Описан ряд отклонений от нормы, связанных с развитием новообразований; они детально рассмотрены Гринстайном [220]. Работы, в которых обсуждалось возможное наличие взаимосвязи между раком и обменом триптофана, упомянуты выше.

Значительный интерес возбудили недавно полученные данные о высокой концентрации пептидов, содержащих остатки глутамина, в крови некоторых больных, страдающих целиакией (*celiac disease*). Предполагают, что у этих больных гидролиз глиадина в пищеварительном тракте доходит в основном лишь до пептидов, которые всасываются из кишечника. С появлением этих пептидов, по-видимому, связано токсическое

действие глиадина пшеничной клейковины на больных, страдающих целиакией [221, 222]. Эти исследования отчетливо показали, что из кишечника при определенных условиях могут всасываться довольно большие количества пептидов. Уже давно было описано появление пептидов в крови после приема белковой пищи [223]. В последнее время возможная роль пептидов в обмене аминокислот снова привлекает внимание исследователей [224] (стр. 165).

О большом разнообразии реакций переаминирования и значении этих реакций в обмене веществ уже говорилось в предыдущих главах. В 1955 г. было установлено, что при инфаркте миокарда значительно повышена активность глутамат-аспартат-трансаминазы в сыворотке крови; на этом наблюдении основано диагностическое и прогностическое использование реакций переаминирования в клинике [225—228]. В сыворотке крови здоровых людей скорость реакции между аспарагиновой и α -кетоглутаровой кислотами очень незначительна; реакцию можно проследить путем внесения в реакционную систему дегидрогеназы яблочной кислоты и восстановленного дифосфопиридиннуклеотида и наблюдения за уменьшением оптической плотности при 340 м μ в результате окисления кофермента. Через один-два дня после появления клинических признаков инфаркта миокарда активность трансаминазы в сыворотке оказывается повышенной в 2—10 раз по сравнению с нормальной. Активность трансаминазы возвращается к нормальному уровню примерно через 5 дней, если поражение не распространяется на новые участки миокарда. В ряде опытов с экспериментально вызванным инфарктом миокарда у собак уровень активности фермента в кровяной сыворотке был пропорционален размеру пораженного инфарктом участка сердечной мышцы [227]. Ввиду широкого распространения глутамат-аспартат-трансаминазы можно ожидать повышения активности этой трансаминазы в сыворотке и при повреждении других органов. Такое повышение было отмечено при заболеваниях печени и других патологических состояниях. Тем не менее определение активности трансаминазы в сыворотке крови при сопоставлении с другими данными клинического исследования представляет практический интерес. По-видимому, при инфаркте миокарда в плазму крови переходят из сердечной мышцы и другие ферментные системы (например, лактатдегидрогеназа) [229].

Гистамин широко распространен в тканях животных; это соединение, несомненно, имеет большое физиологическое значение (см. обзоры Роуза [230], Кода [231] и Тейбора [232]).

В настоящее время известно, что относительно большие количества гистамина сосредоточены в тучных клетках, содержащих

также гепарин. В недавно опубликованном сообщении описана генерализованная гиперплазия тучных клеток у больного, страдающего *urticaria pigmentosa* [233]. Концентрация гистамина в печени и селезенке этого больного была необычайно высока (примерно в 100 раз выше нормального уровня, который соответствует 10—12 μg на 1 г ткани); активность гистидиндекарбоксилазы печени также была в несколько сот раз выше нормальной. Очевидно, это заболевание связано с врожденной избыточной активностью гистидиндекарбоксилазы; представляет ли это нарушение первичный «порок обмена» или вторичное явление, остается пока не выясненным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rector F. C., jr., Seldin D. W., Copenhaver J. H., jr., *J. Clin. Invest.*, **34**, 20 (1955).
2. Ryberg C., *Acta Physiol. Scand.*, **15**, 161 (1948).
3. Pitts R. F., *Federation Proc.*, **7**, 418 (1948).
4. Wolf A. V., *Am. J. Physiol.*, **148**, 54 (1947).
5. Ferguson E. B., jr., *J. Physiol. (London)*, **112**, 420 (1951).
6. Gilman A., Brazeau P., *Am. J. Med.*, **15**, 765 (1953).
7. Leonard E., Orloff J., *Am. J. Physiol.*, **182**, 131 (1955).
8. Bessman S. P., in "Inorganic Nitrogen Metabolism" (McElroy and Glass, eds.), p. 408. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1956.
9. Nencki M., Pawlow I. P., Zaleski J., *Arch. exptl. Pathol. Pharmacol.*, **39**, 26 (1895).
10. McDermott W. V., jr., Adams R. D., *J. Clin. Invest.*, **33**, 1 (1954).
11. Philips G. B., Schwartz R., Gabuzda G. J., jr., Davidson C. S., *New Engl. J. Med.*, **247**, 239 (1952).
12. Riddell A. G., McDermott W. V., jr., *Lancet*, **i**, 1263 (1954).
13. Sherlock S., Summerskill W. H. J., White L. P., Phear E. A., *Lancet*, **ii**, 453 (1954).
14. McDermott W. V., jr., Adams R. D., Riddell A. G., *Trans. Am. Surg. Assoc.*, **72**, 297 (1954).
15. Walshe J. M., *Quart J. Med.*, **20**, 421 (1951).
16. Cauelaert C., van, Deviller C., Halff M., *Compt. rend.*, **111**, 739 (1932).
17. Kirk E., *Acta Med. Scand., Suppl.*, **77**, 1 (1936).
18. White J., Phear E. A., Summerskill W. H. J., Sherlock S., *J. Clin. Invest.*, **34**, 158 (1955).
19. Saperstein M. R., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **32**, 334 (1943).
20. Kirk J. S., Sumner J. B., *J. Biol. Chem.*, **94**, 21 (1931), *J. Immunol.*, **26**, 495 (1934).
21. Cedrangolo F., *Giornate Biochim., Italo-Franco-Elvetiche* April 21—24, p. 3 (1954).
22. Bessman S. P., Fazekas J. F., Bessman A. N., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **85**, 66 (1954).
23. Bessman S. P., Bessman A. N., *J. Clin. Invest.*, **32**, 622 (1955).
24. Hsia D. Y. Y., Gellis S. S., *J. Clin. Invest.*, **33**, 1603 (1954).
25. Wu C., Bollman J. L., Butt H. R., *J. Clin. Invest.*, **34**, 845 (1955).
26. Mann F. C., *Medicine*, **6**, 419 (1927).
27. Seegmiller J. E., Schwartz R., Davidson C. S., *J. Clin. Invest.*, **33**, 984 (1954).

28. Recknagel R. O., Potter V. R., *J. Biol. Chem.*, **191**, 263 (1951).
29. Wechsler R. L., Crum W., Roth J. L. A., *Clin. Research Proc.*, **II**, 74 (1954).
30. Nelson R. M., Seligson D., *Surgery*, **34**, 1 (1953).
31. Havens L. L., Child C. G., *New Engl. J. Med.*, **252**, 756 (1955).
32. Braganca B. M., Faulkner P., Quastel J. H., *Biochim. et Biophys. Acta*, **10**, 83 (1933).
33. Tigerman H., Mac Vicar R., *J. Biol. Chem.*, **189**, 793 (1951).
34. Walley R. V., *Lancet*, **i**, 157 (1954).
35. Walshe J. M., *Lancet*, **i**, 1075 (1953).
36. Singh I. D., Barclay J. A., Cooke W. T., *Lancet*, **i**, 1004 (1954).
37. Alexander J. W., Porter C. E., *Gastroenterology*, **26**, 926 (1954).
38. Webster L. T., jr., Davidson C. S., *J. Clin. Invest.*, **35**, 191 (1950).
39. Schwerin P., Bessman S. P., Waelsch H., *J. Biol. Chem.*, **184**, 37 (1950).
40. Gullino P., Winitz M., Birnbaum S. M., Otey M. C., Cornfield J., Greenstein J. P., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **58**, 253, 255 (1955).
41. Greenstein J. P., Winitz M., Gullino P., Birnbaum S. M., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **59**, 301 (1955).
42. du Ruisseau J. P., Greenstein J. P., Winitz M., Birnbaum S. M., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **64**, 335 (1956).
43. Datta S. P., Harris H., *Ann. Eugenics*, **18**, 107 (1953).
44. Crumpler H. R., Dent C. E., Harris H., Westall R. G., *Nature*, **167**, 307 (1951).
45. Harris H., *Ann. Eugenics*, **18**, 43 (1953).
46. Harris H., *Eugenics Lab. Mem.*, **37**, 1 (1953).
47. Pitts R. F., *Am. J. Physiol.*, **140**, 155, 535 (1944).
48. Beyer K. H., Wright L. D., Skeggs H. R., Russo H. F., Shanner G. A., *Am. J. Physiol.*, **151**, 202 (1947).
49. Wright L. D., *Trans. N. Y. Acad. Sci.*, **10**, 271 (1948).
50. Kirk E., *Acta Med. Scand.*, **89**, 450 (1936).
51. Doty J. R., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **46**, 129 (1941).
52. Goettsch E., Lyttle J. D., Grim W. M., Dunbar P., *Am. J. Physiol.*, **140**, 688 (1944).
53. Beyer K. H., Wright L. D., Russo H. F., Skeggs H. R., Patch E. A., *Am. J. Physiol.*, **146**, 330 (1946).
54. Evered D. F., *Biochem. J. (London)*, **62**, 416 (1956).
55. Dent C. E., Walshe J. M., *Brit. Med. Bull.*, **10**, 247 (1954).
56. Dent C. E., Walshe J. M., *Ciba Symposia Liver Disease*, p. 22, 1951.
57. Frankl W., Martin H., Dunn M. S., *Arch. Biochem.*, **13**, 103 (1947).
58. Gabuzda G. J., jr., Eckhardt R. D., Davidson C. S., *J. Clin. Invest.*, **31**, 1015 (1952).
59. Walshe J. M., *Quart. J. Med.*, **22**, 483 (1953).
60. Walshe J. M., Senior B., *J. Clin. Invest.*, **34**, 302 (1955).
61. Flock E. V., Mann F. C., Bollman J. L., *J. Biol. Chem.*, **192**, 293 (1951).
62. Bland W. H., Bloom A., Drell W., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **90**, 704 (1955).
63. Ames S. R., Risley H. A., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **68**, 131 (1948).
64. Eades C. H., jr., Pollack R. L., Hardy J. D., *J. Clin. Invest.*, **34**, 1756 (1955).
65. Brick I. W., *New Engl. J. Med.*, **247**, 635 (1952).
66. Yeh H. L., Frankl W., Dunn M. S., Parker P., Hughes B., György P., *Am. J. Med. Sci.*, **214**, 507 (1947).
67. Ackermann D., Kutscher F. Z., *Z. Biol.*, **37**, 355 (1912).

68. Stein W. H., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **78**, 705 (1951).
69. Dent C. E., Rose G. A., Quart. J. Med., **20**, 205 (1951).
70. Dent C. E., Heathcote J. G., Joron G. E., J. Clin. Invest., **33**, 1210 (1954).
71. Dent C. E., Senior B., Walshe J. M., J. Clin. Invest., **33**, 1216 (1954).
72. Wollaston W. H., Ann. Chim. (Paris), **76**, 21 (1810).
73. Udranský V. L., Baumann E., Z. Physiol. Chem., **13**, 562 (1889).
74. Turner A. W., Nature, **177**, 237 (1956).
75. Fanconi G., Jahrb. Kinderheilk, **147**, 299 (1936).
76. Fanconi G., Helv. Paediat. Acta, **1**, 183 (1945).
77. McCune D. J., Mason H. H., Clarke H. T., Am. J. Diseases Children, **65**, 81 (1943).
78. Toni G., de, Acta Paediat., **16**, 479 (1933).
79. Dent C. E., Biochem. J. (London), **41**, 240 (1947).
80. King F. P., Lochridge E. P., Am. J. Diseases Children, **82**, 446 (1951).
81. Harper H. A., Grossman M., Henderson P., Steinbach H., Am. J. Diseases Children, **84**, 327 (1952).
82. Meyerson R. M., Pastor B. H., Am. J. Med. Sci., **228**, 378 (1954).
83. Sirota J. H., Hamerman D., Am. J. Med., **16**, 138 (1954).
84. Abderhalden E., Z. Physiol. Chem., **38**, 557 (1903).
85. Burki E., Ann. Paediat., **156**, 324 (1941).
86. Esser M., Ann. Paediat., **156**, 344 (1941).
87. Baker A. B., Arch. Pathol., **46**, 268 (1948).
88. Uzman L., Denny-Brown D., Am. J. Med. Sci., **215**, 599 (1948).
89. Uzman L., Hood B., Am. J. Med. Sci., **223**, 392 (1952).
90. Cumings J. N., Brain, **71**, 410 (1948); **74**, 10 (1951).
91. Porter H., Arch. Biochem. Biophys., **31**, 262 (1951).
92. Spillane J. D., Keuser J. W., Parker R. A., J. Clin. Pathol., **5**, 16 (1952).
93. Scheinberg I. H., Gitlin D., Science, **116**, 484 (1952).
94. Bearn A. B., Kunkel H. G., J. Clin. Invest., **33**, 400 (1954).
95. Uzman L. L., Am. J. Med. Sci., **226**, 645 (1953).
96. Rothstein A., Berke H., J. Pharm. Exptl. Therap., **96**, 179 (1949).
97. Wilson V. K., Thomson M. L., Dent C. E., Lancet, **2**, 66 (1953).
98. Clarkson T. W., Kench J. E., Biochem. J. (London), **62**, 361 (1956).
99. Spencer A. G., Franglen G. T., Lancet, **1**, 190 (1952).
100. Van Creveld S., Arons P., Ann. Paediat., **173**, 299 (1949).
101. Holzel A., Kromrower G. M., Wilson V. K., Brit. Med. J., **1**, 194 (1952).
102. Robertson G. K., Med. J. Australia, **1**, 698 (1954).
103. Bickel H., Thursby-Pelham D. C., Arch. Diseases Children, **29**, 224 (1954).
104. Cochrane W. A., Payne W. W., Simpkins M. J., Woolf L. J., J. Clin. Invest., **35**, 411 (1956).
105. Brodie E. C., Wallraff E. B., Borden A. L., Holbrook W. P., Stephens C. A. L., jr., Hill D. F., Kent L. J., Kemmerer A. R., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **75**, 285 (1950).
106. Miller S., Ruttiger V., Macy I. G., J. Biol. Chem., **209**, 795 (1954).
107. Garrod A. E., "Inborn Errors of Metabolism". Oxford Medical Pubs., London, 1923.
108. Boedecker C., Z. rat. Med., **7**, 130 (1859).
109. Wolkow M., Baumann E., Z. physiol. Chem., **15**, 228 (1891).
110. Lanyar F., Lieb H., Z. physiol. Chem., **203**, 135 (1931).
111. Neuberger A., Rimington C., Wilson J. M. G., Biochem. J. (London), **41**, 438 (1947).
112. Katsch G., Metz E., Deut. Arch. klin. Med., **157**, 143 (1927).

113. Leaf G., Neuberger A., *Biochem. J. (London)*, **43**, 606 (1948).
114. Falta W., *Deut. Arch. klin. Med.*, **81**, 231 (1904).
115. Embden G., *Z. physiol. Chem.*, **17**, 182 (1893).
116. Neubauer O., *Deut. Arch. klin. Med.*, **95**, 211 (1909).
117. Neubauer O., "Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie", vol. 5, Springer, Berlin, 1928.
118. Neubauer O., Falta W., *Z. physiol. Chem.*, **42**, 81 (1904).
119. Fromherz K., Hermanns L., *Z. physiol. Chem.*, **91**, 194 (1914).
120. Falta W., Langstein L., *Z. physiol. Chem.*, **37**, 513 (1903).
121. Abbot L. D., jr., Salmon C. L., jr., *J. Biol. Chem.*, **150**, 339 (1943).
122. Butts J. S., Dunn M. S., Hallman L. F., *J. Biol. Chem.*, **123**, 711 (1938).
123. Fölling A., Closs K., *Z. physiol. Chem.*, **227**, 169 (1934).
124. Sealock R. R., Silberstein H. E., *J. Biol. Chem.*, **135**, 251 (1940).
125. Sealock R. R., Perkinson J. D., Basinski D. H., *J. Biol. Chem.*, **140**, 153 (1941).
126. Lanyar F., *Z. physiol. Chem.*, **275**, 225 (1942); **278**, 155 (1943).
127. Papageorge E., Lewis H. B., *J. Biol. Chem.*, **123**, 211 (1938).
128. Sealock R. R., Silberstein H. E., *Science*, **90**, 517 (1939).
129. Levine S. Z., Marples E., Gordon H. H., *Science*, **90**, 620 (1939); *J. Clin. Invest.*, **20**, 199, 209 (1941).
130. Diaz C. J., Mendoza H. C., Rodriguez J. S., *Klin. Wochschr.*, **18**, 965 (1939).
131. Sealock R. R., Galdston M., Steele J. M., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **44**, 580 (1940).
132. Neuberger A., Webster T. A., *Biochem. J. (London)*, **41**, 449 (1947).
133. Glynn L. E., Himsworth H. P., Neuberger A., *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **26**, 326 (1945).
134. Takeda Y., Sujishi K., Hara M., Tanaka T., *Med. J. Osaka Univ.*, **3**, 313 (1952); *Chem. Abstr.*, **47**, 7656 (1953).
135. Felix K., Leonhardi G., Glasenapp I., von, *Z. physiol. Chem.*, **287**, 133 (1951).
136. Felix K., Teske R., *Z. physiol. Chem.*, **267**, 173 (1941).
137. Gros H., Kirnberger E. J., *Klin. Wochschr.*, **32**, 115 (1954).
138. Medes G., *Biochem. J. (London)*, **26**, 917 (1932).
139. Fölling A., *Z. physiol. Chem.*, **227**, 169 (1934).
140. Fölling A., *Nord. Med. Tidskr. (Stockholm)*, **8**, 1054 (1934).
141. Jervis G. A., *Arch. Neurol. Psychiat.*, **38**, 944 (1937).
142. Jervis G. A., *J. Mental Sci.*, **85**, 719 (1939).
143. Jervis G. A., *Research Publ. Assoc. Research Nervous Mental Disease*, **33**, 259 (1954).
144. Cawte J. E., *Med. J. Australia*, **11**, 15 (1954).
145. Dann M., Marples E., Levine S. Z., *J. Clin. Invest.*, **22**, 87 (1943).
146. Fölling A., Closs K., Gammes T., *Z. physiol. Chem.*, **256**, 1 (1938).
147. Closs K., Braaten K., *Z. physiol. Chem.*, **271**, 221 (1941).
148. Closs K., Fölling A., *Z. physiol. Chem.*, **254**, 250 (1938).
149. Woolf L. I., *Biochem. J. (London)*, **49**, 9 (1951).
150. Stein W. H., Paladini A. C., Hirs C. H. W., Moore S., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2848 (1954).
151. Jervis G. A., Block R. J., Bolling D., Kanze E., *J. Biol. Chem.*, **134**, 105 (1940).
152. Borek E., Brecher A., Jervis G. A., Waelsch H., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **75**, 86 (1950).
153. Jervis G. A., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **81**, 715 (1952).
154. Penrose L. S., Quastel J. H., *Biochem. J. (London)*, **31**, 266 (1937).

155. Jervis G. A., *J. Biol. Chem.*, **126**, 305 (1938).
156. Fölling A., Mohr O. L., Ruud L., *Pub. Nerwegian Acad. Sci.*, **13**, (1945).
157. Prescott B. A., Borek E., Brecher A., Waelsch H., *J. Biol. Chem.*, **181**, 273 (1949).
158. Jervis G. A., *J. Biol. Chem.*, **169**, 651 (1947).
159. Udenfriend S., Bessman S. P., *J. Biol. Chem.*, **203**, 901 (1953).
160. Wallace H. W., Moldave K., Meister A., *Proc. Exptl. Biol. Med.*, **94**, No. 4 (1957).
161. Meister A., Udenfriend S., Bessman S. P., *J. Clin. Invest.*, **35**, 619 (1956).
162. Sherwin C. P., Kennerd K. S., *J. Biol. Chem.*, **40**, 259 (1919).
163. Schrappe O., *Nervenarzt*, **23**, 175 (1952).
164. Block R. J., Jervis G. A., Bolling D., Webb M., *J. Biol. Chem.*, **134**, 567 (1940).
165. Dancis J., Balis M. E., *Pediatrics*, **15**, 63 (1955).
166. Bickel H., Gerrard J., Hickmans E. M., *Acta Paediat.*, **43**, 64 (1954).
167. Woolf L. I., Griffiths R., Moncrieff A., *Brit. Med. J.*, **1**, 57 (1955).
168. Bickel H., Gerrard J., Hickmans E. M., *Lancet*, **11**, 812 (1953).
169. Armstrong M. D., Tyler F. H., *J. Clin. Invest.*, **34**, 565 (1955).
170. Boscott R. J., Bickel H., *Scand. J. Clin. and Lab. Invest.*, **5**, 380 (1953).
171. Boscott R. J., Bickel H., *Biochem. J. (London)*, **56**, i (1954).
172. Armstrong M. D., Shaw K. N. F., *J. Biol. Chem.*, **213**, 805 (1955).
173. Armstrong M. D., Tyler F. H., *J. Clin. Invest.*, **34**, 565 (1955).
174. Armstrong M. D., Shaw K. N. F., Wall P. E., *J. Biol. Chem.*, **218**, 293 (1956).
175. Armstrong M. D., Shaw K. N. F., *J. Biol. Chem.*, **213**, 805 (1955).
176. Armstrong M. D., Shaw K. N. F., Robinson K. S., *J. Biol. Chem.*, **213**, 797 (1955).
177. Armstrong M. D., Robinson K. S., *Arch. Biochem. Biophys.*, **52**, 287 (1952).
178. Dalglish C. E., *Biochem. J. (London)*, **58**, xiv (1954).
179. Dalglish C. E., *Advances in Protein Chem.*, **10**, 31 (1955).
180. Smithwick R. H., Greer W. E. R., Robertson C. W., Wilkins R. W., *New Engl. J. Med.*, **242**, 252 (1950).
181. Engel A., Euler U. S., von, *Lancet*, **2**, 387 (1950).
182. Sjoerdsma A., Weissbach H., Udenfriend S., *Am. J. Med.*, **20**, 520 (1956).
183. Biörck G., Axen O., Thorson A., *Am. Heart J.*, **44**, 143 (1952).
184. Branwood A. W., Bain A. D., *Lancet*, **11**, 1259 (1954).
185. Jenkins J. S., Butcher P. J. A., *Lancet*, **1**, 331 (1955).
186. Bean W. B., Olch D., Weinberg H. S., *Circulation*, **12**, 1 (1955).
187. Thorson A., Biörck G., Bjorkman G., Waldenström J., *Am. Heart J.*, **47**, 795 (1954).
188. Vialli M., Erspamer V., *Z. Zellforsch. u. Mikroskop. Anat.*, **19**, 743 (1933).
189. Erspamer V., *Rend. sci. Farmitalia*, **1**, 1 (1954).
190. Lewbeck F., *Nature*, **172**, 910 (1953).
191. Ratzenhofer M., Lewbeck F., *Z. Krebsforsch.*, **60**, 169 (1954).
192. Erspamer V., *Arch. intern. pharmacodynamie*, **76**, 308 (1948).

193. Zucker M. B., *Am. J. Physiol.*, **148**, 275 (1947).
194. Fenichel R. L., Seegers W. H., *Am. J. Physiol.*, **181**, 19 (1955).
195. Woolley D. W., Shaw E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **40**, 228 (1954).
196. Gaddum J. H., *Ciba Symp. on Hypertension*, p. 75 (1954).
197. Ellinger A., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **43**, 325 (1904).
198. Kotake Y., Kawase M., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **214**, 6 (1933).
199. Matsuoka Z., Takemura S., *J. Biochem. (Japan)*, **1**, 175 (1922).
200. Musajo L., *Gazz. chim. ital.*, **67**, 167, 171, 182 (1937).
201. Miller E. C., Baumann C. A., *J. Biol. Chem.*, **157**, 551 (1945).
202. Glazer H. S., Mueller J. F., Thompson C., Hawkins V. R., Vilter R. W., *Arch. Biochem. and Biophys.*, **33**, 243 (1951).
203. Greenberg L. D., Bohr D. F., McGrath H., Rinehart J. F., *Arch. Biochem.*, **21**, 237 (1949).
204. Chiancone F. M., *Acta Vitaminol.*, **4**, 193 (1950).
205. Musajo L., *Bull. soc. chim. biol.*, **35**, 711 (1953).
206. Wachstein M., Gudoitis H., *J. Lab. Clin. Med.*, **40**, 550 (1952).
207. Biehl J. P., Vilter R. W., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **85**, 389 (1954).
208. Price J. M., Brown R. R., Larson F. C., *Federation Proc.*, **15**, 330 (1956).
209. Kotake Y., Tani S., *J. Biochem. (Japan)*, **40**, 295 (1953).
210. Kotake Y., Inada T., *J. Biochem. (Japan)*, **40**, 291 (1953).
211. Kotake Y., Hotta Y., *Proc. Japan. Acad.*, **30**, 903 (1954).
212. Kotake Y., Inada T., Matsomura Y., *J. Biochem. (Japan)*, **42**, 63 (1955).
213. McDaniel E. G., Hundley J. M., Sebrell W. H., jr., *Federation Proc.*, **14**, 443 (1955).
214. Makino K., Satoh K., Fujiki T., Kawaguchi K., *Nature*, **170**, 977 (1952).
215. Musato L., Benassi C. A., Parpajola A., *Nature*, **175**, 855 (1955).
216. Dunning W. F., Curtis M. R., Maun M. E., *Cancer Research*, **10**, 454 (1950).
217. Brown R. R., Price J. M., *J. Biol. Chem.*, **219**, 985 (1956).
218. Boyland E., Watson G., *Nature*, **177**, 837 (1956).
219. Altman K. I., Miller G., *Nature*, **172**, 868 (1953).
220. Greenstein J. P., "Biochemistry of Cancer", Academic Press, New York, 1954.
221. Kamer J. H., van de Weijers H. A., 3rd Intern. Congr. Biochem., **13**, 15 (1955).
222. Shaw B., Frazer A. C., Ross C. A. C., Sammons H. G., 3rd Intern. Congr. Biochem., **13**, 36 (1955).
223. London E. S., Katschieff N., *Z. physiol. Chem.*, **228**, 235 (1934).
224. Fischer R. B., "Protein Metabolism", Wiley, 1954.
225. Karmen A., Wroblewski F., La Due J. S., *J. Clin. Invest.*, **34**, 126 (1955).
226. Karmen A., *J. Clin. Invest.*, **34**, 131 (1955).
227. Nydick I., Wroblewski F., La Due J. S., *Circulation*, **12**, 161 (1955).
228. Steinberg D., Ostrow B. H., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **89**, 31 (1955).
229. Wroblewski F., La Due J. S., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **90**, 210 (1956).
230. Rose B., *Recent Prog. Hormone Research*, **7**, 375 (1952).

231. Code C. F., *Physiol. Revs.*, **32**, 47 (1952).
232. Tabor H., *Pharmacol. Revs.*, **6**, 299 (1954).
233. Gardner L. I., Tice A. A., *Clin. Research. Proc.*, **4**, 158 (1956).
234. Orloff J., Berliner R. W., *J. Clin. Invest.*, **35**, 223 (1956).
235. Lotspeich W. D., Pitts R. F., *J. Biol. Chem.*, **168**, 611 (1947).
236. Davies B. M. A., Yudkin J., *Biochem. J. (London)*, **52**, 407 (1952).
237. Bumpus F. M., Page I. H., *J. Biol. Chem.*, **212**, 111 (1955).
238. Rapport M. M., Green A. A., Page I. H., *J. Biol. Chem.*, **174**, 735: 176, 1237, 1243 (1948); *Science*, **108**, 329 (1948).
239. Page I. H., *Physiol. Revs.*, **34**, 563 (1954).

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абсолютная оптическая конфигурация 85
- Аген (см. Треххлористый азот)
- Агматин 193, 203, 205
- Аденилоянтарная кислота 313
- Аденин, сообщение о переаминировании 238
- S-Аденозилметионин 372
- Аденозин, сообщение о переаминировании 239
- Адреналин, влияние на аминокислоты плазмы крови 180
- образование 422
- окисление 193
- секреция феохромоцитомами 478
- Адреналэктомия, влияние на аминокислоты крови 180
- Азасерин 46, 286
- Азегидип-2-карбоновая кислота 58
- Азот, минимальное количество в рационе 123
- Азотистая кислота, действие на связанный в белке лизан 18
- — реакция с аминокислотами 33
- Азотистый обмен, конечные продукты у различных видов животных 171
- «Активный метионин» 372
- DL-Аланилглицин, свободная энергия образования 261
- Аланин, антагонисты 141, 145
- вкус L- и D-изомеров 96
- гликогенетическое действие 181
- С-концевой остаток в цепи инсулина 27—29
- обмен 308
- окисление изомеров 185
- Аланин, первичное образование на Земле 307
- потребность у бактерий 134
- — — животных 122
- рацемизация 240—242
- сводная схема превращений 308
- свойства α -кетокислотных аналогов 98
- синтез 12
- содержание в белках 26
- — — тканях 64
- точка разложения, растворимость, значение рК' 30
- D-Аланин в биологических объектах 67—69
- использование бактериями 138, 242
- переаминирование 217, 227, 228
- L-Аланин, выделение из шелка 12
- как донатор водорода 197
- образование в результате декарбоксирования аспарагиновой кислоты 203
- переаминирование 216, 217
- удельное оптическое вращение 82
- β -Аланин, антагонисты 141, 145
- в биологических объектах 46
- дезаминирование 309
- и синтез карнозина 272
- как предшественник кофермента А 365
- обмен 308
- образование в результате декарбоксирования аспарагиновой кислоты 203
- переаминирование 217

- β-Аланин, первичное образование на Земле, 307
 — производное кофермента А 308
 — сводная схема превращений 310
 — содержание в тканях 64
 Аланиндегидрогеназа в *Bacillus subtilis* 191
 Алкаптонурия 416, 471
 S-Алкилпроизводные D-цистеина, окисление 186
 Аллкиназа 379
 Аллиин, асимметрический атом серы 90
 — в чесноке 54
 — ферментативное расщепление 379
 Аллилглицин 88
 — как антагонист цистеина 145
 L-Аллилглицин, удельное оптическое вращение 84
 (+)-S-Аллил-L-цистеинсульфоксид (см. также Аллиин), удельное оптическое вращение 83
 Аллицин 379
 Альбинизм 478
 Аманитины 75
 δ-Амид α-аминоадипиновой кислоты (гомоглутамин), вкус L- и D-изомеров 96
 — — — дезамидирование 316
 — — — переаминирование 217
 — — — свойства α-кетокислотных аналогов 98
 — — — стремление к циклизации 17
 δ-Амид D-α-аминоадипиновой кислоты, остаток в цефалоспорине 77
 γ-Амид α-аминоглутаровой кислоты (см. Глутамин)
 β-Амид α-аминоянтарной кислоты (см. Аспарагин)
 δ-Амид α-кетoadипиновой кислоты, свойства 98
 — — — переаминирование 217
 γ-Амид α-кетоглутаровой кислоты 99, 217, 222
 γ-Амид α-кето-γ-метилглутаровой кислоты 218
 γ-Амид α-кето-γ-метиленглутаровой кислоты 218
 β-Амид α-кетоянтарной кислоты 99, 217, 223
 Амидный азот, содержание в белках 26
 α-Аминоадипиновая кислота, вкус L- и D-изомеров 96
 — — в обмене лизина 426
 — — окисление изомеров 185
 — — δ-полуальдегид 218, 427, 431
 — — свойства α-кетокислотных аналогов 98
 — — содержание в тканях 64
 D-α-Аминоадипиновая кислота в биологических объектах 67
 L-α-Аминоадипиновая кислота в биологических объектах 47
 — — переаминирование 217
 — — удельное оптическое вращение 83
 Аминоацидурия 467—470
 Аминоацилы, соединения с адениловой кислотой 278
 o-Аминобензоилпировиноградная кислота (2-аминобензоилпировиноградная кислота) 218, 404
 — — циклизация в кинуреновую кислоту 237
 n-Аминобензойная кислота 412
 α-Аминовалерьяновая кислота (см. Норвалин)
 δ-Аминовалерьяновая кислота из лизина 433
 — — — пролина 198
 — — переаминирование 217
 2-Амино-5-гептенная кислота (см. Кротилаланин)
 α-Аминогептановая кислота, вкус L- и D-изомеров 96
 — — свойства α-кетокислотных аналогов 98

- L- α -Аминогептановая кислота, переаминирование 216, 217
 — — удельное оптическое вращение 84
- α -Аминоглутаровая кислота (см. Глутаминовая кислота)
- α -Амино- δ -гуанидиновалерьяновая кислота (см. Аргинин)
- α -Амино- γ -гуанидиноксимасляная кислота (см. Канаванин)
- α -Аминодиметил- γ -бутиротетин в биологических объектах 54
- α -Амино- β , β' -диметил- γ -оксимасляная кислота 62
- Аминоизоамилсульфоновая кислота 143
- α -Аминоизобутансульфоновая кислота 142
- α -Аминоизовалерьяновая кислота (см. Валин)
- α -Аминоизокапроновая кислота (см. Лейцин)
- α -Аминоизомасляная кислота 141
 — — первичное образование на Земле 307
- β -Аминоизомасляная кислота, выделение с мочой у человека 467
 — — из валина 361
 — — образование 309
 — — содержание в тканях 45, 64
- 5-Амино-4-имидазокарбоксамидриботид 238
- α -Амино- β -имидазолпропионовая кислота (см. Гистидин)
- α -Амино- β -3 (индазол)-пропионовая кислота 144
- α -Амино- β -3-индолпропионовая кислота (см. Триптофан)
- L- α -Аминокаприловая кислота, удельное оптическое вращение 84
- α -Аминокапроновая кислота (см. Норлейцин)
- α -Амино- δ -карбамидовалерьяновая кислота (см. Цитруллин)
- δ -Амино- δ -карбоксивалерилглицин в цефалоспорине N 77
- S-(ρ -Амино- β -карбоксийтил)-гомоцистеин (см. Цистатионин)
- α -Амино- β -кетoadипиновая кислота 324
- Аминокислот смеси, использование при исследовании роста животных 126—129
- Аминокислотные оксидазы, использование в микрометоде для определения конфигурации 69
 — — — при получении изомеров 92
 — — — — кетокислот 97
 — — как катализаторы реакций 183
 — — практическое использование 189
 — — флавинадениндинуклеотид в качестве кофермента 183
- D-Аминокислотная оксидаза, возможная физиологическая роль 69, 186
 — — распространение и специфичность 185—187
 — — роль при использовании D-аминокислот 135—137
- L-Аминокислотная оксидаза микроорганизмов 188
 — — специфическое действие на основные аминокислоты 343
 — — специфичность 187
- Аминокислоты, ацилирование 34, 266
 — в виде цвиттерионов 32, 33
 — вкус оптических изомеров 96
 — влияние солей на растворимость 31
 — вопросы стереохимии 79—90
 — восстановление карбоксильных групп 36
 — выделение 82, 91
 — декарбоксилирование 199—210
 — — в присутствии D 22, 210
 — диссоциация 30—33
 — загрязнение при получении 91
 — «заменимые» и «незаменимые» 120

- Аминокислоты, классификация 11
- крови 63, 105, 180
 - накопление бактериями 169
 - натриевые соли 31
 - неокислительное дезаминирование 194—199
 - неправильное соотношение 146
 - обмен аминокрупп 171—177
 - — при заболеваниях 463—485
 - — углеродных цепей 180—182
 - обнаружение изомеров 94
 - обычно встречающиеся в белках 10—23
 - окислительное дезаминирование 182—192
 - определение 39
 - открытие 9
 - поглощение в клетках путем активного процесса 165—171
 - потребность при беременности и лактации 126
 - — для азотистого равновесия у человека 123
 - — при заболеваниях 126
 - — связь с аминокислотным составом организма 125
 - — у высших животных 121—126
 - — — клеток, выращиваемых в тканевой культуре 131
 - — — микроорганизмов 133—135
 - — — низших животных 132, 133
 - проявление недостаточности 129, 130
 - растворимость 30, 31
 - рацемизация 239—245
 - с гликогенетическими свойствами 181
 - — кетогенными свойствами 181
 - сокращения 28
 - сопряженные процессы окисления и восстановления 196
 - терминология 9
 - точка разложения 30
 - устойчивость 30, 31
 - физические свойства 29
- Аминокислоты, фосфорилирование 38
- химические реакции 33—39
 - хлоргидраты 31
 - этерификация 37
- D-Аминокислоты в биологических объектах 66—70
- всасывание в кишечнике 138
 - выделение после введения рацемических аминокислот 138
 - инверсия 135—137
 - использование 135—139
 - поглощение в клетках 165
 - получение из рацематов путем избирательного разрушения L-формы 92
 - сообщения о наличии в опухолях 67
 - торможение 137
 - характерный сладкий вкус 96
- DL-Аминокислоты 133—135
- в рационе 114
 - выделение D-компоненты после введения 138
 - образование при воздействии щелочей 80
 - разделение 92—95
- L-Аминокислоты, получение из рацематов путем избирательного разрушения D-форм 92
- удельное оптическое вращение 82—84
- Аминоксидазы 192
- α -Аминолевулиновая кислота как антагонист аспарагиновой кислоты 141—152
- δ -Аминолевулиновая кислота 323
- Аминомалоновая кислота, декарбоксилирование 202
- — переаминирование 217
 - — свойства α -кетокислотных аналогов 98
- α -Аминомасляная кислота как антагонист валина 142
- — в синтезе метионина 373
 - — вкус L- и D-изомеров 96

- α -Аминомасляная кислота, образование из гомосерина 368
 — — — — — треонина 336
 — — окисление изомеров 185
 — — первичное образование на Земле 307
 — — свойства α -кетокислотных аналогов 98
 — — содержание в тканях 64
- D- α -Аминомасляная кислота в биологических объектах 67
- L- α -Аминомасляная кислота в биологических объектах 45
 — — переаминирование 216, 217
 — — удельное оптическое вращение 83
- Аминомасляная кислота 141
- Аминомасляная кислота в биологических объектах 45
 — — возможный путь обмена через янтарную кислоту 202
 — — из пролина 352
 — — образование 203, 205
 — — переаминирование 216, 217
 — — содержание в тканях 64
- α -Амино- β -меркаптопропионовая кислота (см. Цистин)
- Аминометансульфоновая кислота 142
- α -Амино- β -метилвалерьяновая кислота (см. Изолейцин)
- Амино- α -метилемасляная кислота в биологических объектах 47
 — — образование в результате декарбоксилации 203
- Амино- γ -метилтиомасляная кислота (см. Метионин)
- o*-Амино-3-оксибензоилпировиноградная кислота (2-амино-3-оксибензоилпировиноградная кислота) 219
- α -Амино- δ -оксивалерьяновая кислота 144, 346
- L- α -Амино- δ -окси-*n*-валерьяновая кислота, удельное оптическое вращение 84
- α -Амино- β -оксизомасляная кислота (см. α -Метил-D-серин)
- α -Амино- ε -оксикапроновая кислота 219, 427, 428
 — — как антагонист лизина 143, 154
 — — свойства α -кетокислотных аналогов 98
- L- α -Амино- ε -окси-*n*-капроновая кислота, удельное оптическое вращение 84
- α -Амино- β -оксимасляная кислота (см. Треонин)
- α -Амино- γ -оксимасляная кислота (см. Гомосерин)
- γ -Амино- γ -оксимасляная кислота, образование в результате декарбоксилации 203
- α -Амино- γ -оксипимелиновая кислота в биологических объектах 62
- α -Амино- β -оксипропионовая кислота (см. Серин)
- α -Амино- β -(*n*-оксифенил) пропионовая кислота (см. Тирозин)
- α -Аминопимелиновая кислота 62
- β -Аминопропионитрил 309
- α -Аминопропионовая кислота (см. Аланин)
- β -Аминопропионовая кислота (см. β -Аланин)
- Аминоспирты 37
- α -Аминотрикарбаллиловая кислота, превращение в изолимонную кислоту 89
 — — свойства α -кетокислотных аналогов 98
- L- α -Аминотрикарбаллиловая кислота, удельное оптическое вращение 84
- Аминокусная кислота (см. Глицин)
- n*-Аминофенилаланин 144, 145
- n*-Амино-D-фенилаланин, окисление 186
- α -Амино- β -фенилпропионовая кислота (см. Фенилаланин)

- α -Аминофенилуксусная кислота, свойства α -кетокислотных аналогов 99
 L- α -Аминофенилуксусная кислота, удельное оптическое вращение 84
 α -Амино- β -фенилэтансульфоная кислота 145
 α -Амино- β -хлормасляная кислота 143
 L- α -Аминоциклогексилпропионовая кислота, удельное оптическое вращение 84
 L- α -Аминоциклогексилуксусная кислота, удельное оптическое вращение 84
 2-Аминоэтанол 330
 — реакция с цистеином 384
 — содержание в тканях 65
 2-Аминоэтансульфиновая кислота (см. Гипотаурин)
 α -Аминоэтансульфоная кислота 141
 2-Аминоэтансульфоная кислота (см. Таурин)
 S-Аминоэтилцистеин 384
 α -Аминоянтарная кислота (см. Аспарагиновая кислота)
 Амидетин как источник α -метил-D-серина 67
 Аммиак в воротной вене 173
 — — периферической крови 173
 — использование для образования заменимых аминокислот 127
 — кетогенное действие 465
 — механизм использования 173
 — — образования 172
 — мочи 463, 464
 — нормальное содержание в крови и в тканях 464
 — при образовании гуанозин-5'-фосфата 313
 — токсичность 174, 465
 — уровень в крови, связь с печеночной комой 464
 Аммонийотеллический тип обмена 174
 Анаэробное дезаминирование аминокислот у *Clostridium sporogenes* 196
 2-Анилино-5-тиазолинон 36
 Ансерин, наличие в мышцах 71
 — образование 370
 — содержание в тканях 64
 Антагонизм аминокислот 139—156
 — — влияние на образование ферментов в дрожжах 140
 — — механизм действия 139
 — — окисление оксидазами аминокислот 151
 — — природных аминокислот 145—150
 Антибиотики 69, 76, 77
 Антитела, включение аминокислот 275
 Антраниловая кислота в синтезе триптофана 396
 — — обмен 405
 β -Антранилоил- α -аминопропионовая кислота (см. Кинуренин)
 Аргиназа 338
 Аргинин в белках 343
 — влияние недостаточности 130
 — гликогенетическое действие 181
 — дезимидирование 342
 — действие кислоты и щелочи 13
 — декарбоксилирование 203, 205
 — защитное действие 466
 — исследования в области питания 123
 — как антагонист лизина 141, 143, 145
 — — компонент основной среды для выращивания тканей 131
 — обмен 337—343
 — общая схема превращений 342
 — потребность у бактерий 134
 — — — животных 121, 122
 — — — младенцев 125
 — при трансамидировании 321
 — — трансамидировании 265
 — реакция Сакагути 13

- Аргинин, свойства α -кетокислотных аналогов 99
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 64
 — точка разложения, растворимость, значения pK' 30
 — цикл мочевинообразования 176
 — экскреция при цистинурии 468
 D-Аргинин 92
 L-Аргинин, выделение из проростков люпина и гидролизатов рога 12
 — как акцептор водорода 197
 — окисление 185
 — переаминирование 216, 217
 — удельное оптическое вращение 82
 Аргининоянтарная кислота 339
 Аскорбиновая кислота в обмене тирозина 417—420
 — — влияние на обмен тирозина у недоношенных младенцев 473
 Аспарагин как антагонист β -аланина 141
 — вкус L- и D-изомеров 96
 — С-концевой остаток в инсулине 27—29
 — обмен 311—315
 — окисление 188
 — сводная схема превращений 314
 — свойства α -кетокислотных аналогов 99
 — синтез 272
 — содержание в тканях 64
 — точка разложения, растворимость, значения pK' 30
 — цветовая реакция с нингидрином 14
 L-Аспарагин, выделение из сока спаржи 10, 13
 — переаминирование 217
 — удельное оптическое вращение 82
 Аспарагиназа 312
 Аспарагиназа II (см. L-Аспарагин, переаминирование)
 Аспарагиновая кислота, антагонисты 141, 152
 Аспарагиновая кислота в синтезе пуринов 283
 — — взаимосвязь с пиримидинами 313
 — — — вкус L- и D-изомеров 96
 — — β -гидразид 141, 152
 — — гликогенетическое действие 181
 — — — декарбоксилирование 203, 207
 — — как предшественник кофермента А 365
 — — обмен 311—315
 — — общая схема превращений 314
 — — окисление изомеров 185
 — — β -полуальдегид 334
 — — потребность у бактерий 134
 — — — — животных 122
 — — реакция с нингидрином 34
 — — — — цитруллином 339
 — — свойства α -кетокислотных аналогов 99
 — — содержание в белках 26
 — — — — тканях 64
 — — точка разложения, растворимость, значения pK' 30
 — — — фосфорилирование 333
 D-Аспарагиновая кислота в биологических объектах 67
 — — использование бактериями 139
 — — оксидаза 187
 — — переаминирование 217, 218
 L-Аспарагиновая кислота, выделение и синтез 14
 — — как донатор водорода 197
 — — переаминирование 216, 217, 230
 — — удельное оптическое вращение 82
 Аспартаза 196, 312
 Аспартат- β -декарбоксилаза, активирование α -кетокислотами 208, 258
 β -Аспартилгидроксамовая кислота 316
 β -Аспартилпептиды, образование в результате переаминирования 239

- β -Аспартилфосфат, образование и судьба 272, 333
 — получение 38
 Аспартофенон 141, 152
 Ауксин 408
 2-Ацетиламинофлуорен и возникновение опухолей 482
 N-Ацетил-L-аспарагиновая кислота из мозга кошки 14
 Ацетилглицин 32
 Ацетил- γ -глутамилфосфат 39
 Ацетилглутаминовая кислота в образовании мочевины 341
 — — — синтезе орнитина 345
 N-Ацетилглутаминовая кислота, γ -полуальдегид 217, 344
 N-Ацетилимидазол 395
 Ацелирование в присутствии цианида 267
 — глутаминовой кислоты 345
 α -N-Ацетилкинуренин 401
 α -N-Ацетил-3-оксикинуренин 401
 α -N-Ацетил-L-орнитин 217
 — превращение в орнитин 344
 Ацетилтриптофан, использование изомеров крысой и человеком 135
 α -Ацетомолочная кислота 355
 Ацилаза в биосинтезе орнитина 345
 — при разделении аминокислот 94
 Ацилирование аминокислот 34, 92—95, 266
 Аэроспорин 77

 L-Байкианн 58
 Бацитрацин 76
 Белки, аминокислотный состав 23, 28
 — биологическая ценность 128
 — всасывание через грудной лимфатический проток 165
 — гидролиз 23
 — недостаточность при карциноиде 479, 480
 — поглощение ультрафиолетовых лучей 44
 Белки, сберегающее действие углеводов 182
 — синтез 259—283
 S-Бензил- β -меркаптопировиноградная кислота, переаминирование 217
 — — свойства 99
 Бензилпенициллин 76
 S-Бензилцистеин, свойства α -кетокислотных аналогов 99
 S-Бензил-L-цистеин, переаминирование 217
 Бензоилглицилглицин, свободная энергия образования 261
 Бензоилглицин (см. Гиппуровая кислота)
 N-Бензоилтирозилглицинамид, свободная энергия образования 261
 -(2-Бензоиленил) аланин 144
 Беременность, аминоацидурия 470
 — экскреция ксантуреновой кислоты 481
 Бетанин, перенос метильных групп 371
 — реакции 330
 — синтез в растениях 371
 Бетанальдегид из холина 371
 Биотин в связанной форме с лизинном 434
 — при образовании аспарагиновой кислоты 245, 312
 ϵ -Биотинил-L-лизин (см. Биотицин)
 Биотицин 79, 245, 434
 Бромфенилаланины 145
 5-Бутилпиколиновая кислота 58
 Буфотенидин 407
 Буфотенин 407
 Буфотионин 407

 Вазопрессин 72—74
 Валин как антагонист лейцина 143
 — антагонисты 142
 — биосинтез 353—356
 — в тканевой культуре 131
 — и биосинтез пенициллина 273, 365
 — вкус L- и D-изомеров 96
 — выделение 15

- Глицин, анаэробное превращение 322
 — антагонисты 142
 — в синтезе пуринов 283
 — выделение из желатины 15
 — гликогенетическое действие 181
 — из α -аминомалоновой кислоты 202
 — — глиоксиловой кислоты 319
 — — треонина 336
 — как акцептор водорода 197
 — — антагонист аланина 141, 145
 — — предшественник кофермента А 365
 — N-концевой остаток в инсулине 27—29
 — кривая диссоциации 31
 — наличие в различных молекулах 16
 — обмен 319—333
 — первичное образование на Земле 307
 — переаминирование 216, 217
 — потребность у бактерий 134
 — — — животных 122
 — превращение в серин 325
 — реакции синтеза 319
 — роль в синтезе порфиринов 322
 — сводная схема превращений 332
 — свойства α -кетокислотных аналогов 99
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 64
 — точка разложения, растворимость, значения pK' 30
 Глицинамид в гормонах задней доли гипофиза 73
 — значения pK' 32
 Глицинамидриботид 284
 Глициногеназа 336
 Глициноксидаза 320
 — возможная роль в образовании аммиака мочи 175
 — действие на саркозин 191
 — кофермент 191
 γ -Глобулин человека, аминокислотный состав 26
 γ -Глутамилаланин 77
 β -(N- γ -L-глутамил)-аминопропионитрил 78
 γ -Глутамилгидроксамовая кислота 316
 γ -Глутамилфосфат 39, 271
 γ -Глутамильный остаток, перенос 265, 269—271
 Глутамин в биосинтезе гистидина 390
 — — — растениях 318
 — — — синтезе аргинина 318
 — — — гиалуроновой кислоты 315
 — — — пуринов 283
 — — — тканевой культуре 131
 — введение больным, страдающим фенилпировиноградной олигофренией 476
 — вкус L- и D-изомеров 96
 — влияние на гликолиз 318
 — — — потребление спирта крысами 318
 — — — токсинообразование 318
 — дезамидирование 316
 — ингибиторы синтеза 149
 — и образование глюкозамин-6-фосфата 318
 — — — рост бактерий 318
 — — — синтез гуанозин-5'-фосфата 313
 — как предшественник аммиака мочи 174
 — крови 174
 — обмен 315, 318
 — окисление 188
 — поглощение в тканях 174
 — потребность для роста в тканевой культуре 131, 132
 — превращение в аммонийную соль пирролидонкарбоновой кислоты 16
 — реакция с азотистой кислотой 16
 — сводная схема превращений 317
 — свойства α -кетокислотных аналогов 99
 — система синтеза 269

- Глутамин, содержание в тканях 64, 466
 — точка разложения, растворимость, значения рК' 30
 D-Глутамин, ферментативный синтез 269
 L-Глутамин, выделение из сока свеклы и из белковых гидролизатов 16
 — переаминирование 217
 — поглощение в коре головного мозга 167
 — удельное оптическое вращение 82
 «Глутаминаза I» 316
 «Глутаминаза II» (см. Глутамин, переаминирование)
 Глутаминаза почек, влияние ацидоза и алкалоза 464
 — роль в почках 174, 175
 Глутаминовая кислота, антагонисты 142, 149
 — — в синтезе пуринов 284
 — — вкус L- и D-изомеров 96
 — — выделение в виде хлоргидрата 17
 — — гликогенетическое действие 181
 — — декарбоксилирование 203, 205
 — — исследования в области питания 123
 — — как вкусовая приправа 17, 96
 — — обмен 315—318
 — — окисление изомеров 185
 — — γ -полуальдегид 219, 343
 — — потребность у бактерий 134
 — — — животных 122
 — — превращение в орнитин 344
 — — — пирролидон- α -карбоновую кислоту 17
 — — при лечении почечной комы 466
 — — рацемизация 243
 — — сводная схема превращений 317
 — — свойства α -кетокислотных аналогов 99
 Глутаминовая кислота, содержание в белках 26
 — — — тканях 64
 — — точка разложения, растворимость, значения рК' 30
 D-Глутаминовая кислота в биологических объектах 67
 — — — клеточной оболочке бактерий 69
 — — использование бактериями 138
 — — — *Lactobacillus arabinosus* 139
 — — переаминирование 228
 — — полипептиды 72
 — — торможение глутаминазы 150
 L-Глутаминовая кислота, выделение из клейковины 17
 — — как донатор водорода 197
 — — перенос через стенку кишечника 166
 — — торможение глутаминазы 150
 — — удельное оптическое вращение 82
 D-Глутаминовой кислоты оксидаза 187
 L-Глутаминовой кислоты дегидрогеназа 190, 191
 Глутаровая кислота, полуальдегид 217
 Глутатион, биосинтез 228
 — выделение из дрожжей 71
 — окисление 379
 — роль в обмене 315
 — содержание в тканях 64
 Глюкоза, включение углеродного атома в «незаменимые» аминокислоты 127
 Гомоаргинин и торможение роста 153
 — как антагонист аргинина 141
 — ферментативное образование 340
 Гомогентизиновая кислота 417, 419
 Гомоглутамин (см. δ -Амид- α -аминоадипиновой кислоты)
 Гомонзолимонная кислота 428
 Гомолантионин 369
 — мезо-форма 87

- L-Гомолантионин, удельное оптическое вращение 84
 Гомосерин, дезаминирование 194, 368
 — из азетидин-2-карбоновой кислоты 58
 — — каналаина 49
 — — L-цистатинина 367
 — как антагонист серина 144
 — образование 334
 — превращение в треонин 335
 — свойства α -кетокислотных аналогов 100
 L-Гомосерин в биологических объектах 46
 — удельное оптическое вращение 83
 Гомоцистеин 55
 — десульфидрирование 374
 — окисление 374
 — пересульфирование 367
 — реакция с формальдегидом 385
 Гомоцистеиновая кислота 217, 374
 Гомоцистин 55
 — удельное оптическое вращение 84
 Гопкинса — Кола реакция 21
 Горденин 193
 Гормоны, влияние на аминокислотный обмен 179, 180
 — задней доли гипофиза 72, 74
 — роста, влияние на аминокислоты плазмы крови 180
 — — растений и триптофан 408
 Грамин 411
 Грамицидин 67, 68, 77
 Гуанидинуксусная кислота 321, 372
 Гуанин, сообщение о переаминировании 238
 — экскреция у пауков 172
 Гуанозин-5'-фосфат, образование 313
 Двуокись углерода активированная 360
 Дегидробуфотенин 407
 5-Дегидрохинная кислота 412
 5-Дегидрошикимовая кислота 412
 Дезаминирование аминокислот 182—199
 — пуриновых и пиримидиновых производных 172
 Дезаминогистадаза (см. Гистадаза)
 4-Дезоксиридоксин, влияние на поглощение аминокислот 166
 4-Дезоксиридоксин-5-фосфат 250, 252
 Дезоксирибонуклеогистон 277
 Дейодирование 424
 Декарбоксилазы аминокислотные бактерий 204—210
 — — и пиридоксальфосфат 209
 — — использование при получении изомеров аминокислот 92
 — — млекопитающих 200—202
 — — рН-оптимум бактериальных ферментов 205, 206
 — — растений 204
 Декарбоксилирование аминокислот в присутствии D₂O 256
 — — механизм 257
 — — неферментативное 37
 L-Дженколовая кислота 52
 — — в биологических объектах 52
 — — удельное оптическое вращение 83
 — — ферментативное расщепление 369
 Дженколовые бобы 52
 Диабет, увеличение экскреции N'-метилникотинамида 481
 — экскреция ксантуреновой кислоты 481
 O-Диазоацетил-L-серин (см. Азасерин)
 α , δ -Диаминовалерьяновая кислота (см. Орнитин)
 2, 6-Диаминогептановая кислота 143, 154, 155
 α , γ -Диаминоглутаровая кислота, переаминирование 217
 α , ϵ -Диаминокапроновая кислота (см. Лизин)

- β, ε-Диаминокапроновая кислота (см. β-Лизин)
- Диаминоксидаза 193
- L-α,γ-Диаминоасляная кислота в биологических объектах 50
- — удельное оптическое вращение 83
- α, ε-Диамино-δ-оксикапроновая кислота (см. δ-Окси-L-лизин)
- α, ε-Диамино-β-оксипимелиновая кислота в биологических объектах 51
- α, ε-Диаминопимелиновая кислота, антагонисты 142
- — в биологических объектах 51
- — — биосинтезе лизина 428
- — — пептидах бактерий 78
- — — декарбоксилирование 203, 208
- — — мезо-форма 87
- — — окисление изомеров и производных 188
- — — разделение изомеров при помощи хроматографии на бумаге 94
- — — рацемизация 244
- — ферментативная рацемизация 209
- LL-α, ε-Диаминопимелиновая кислота, удельное оптическое вращение 83
- α, α'-Диаминопробковая кислота 142
- α, β-Диаминопропионовая кислота 50
- L-α, β-Диаминопропионовая кислота, удельное оптическое вращение 83
- α, α'-Диаминосебациновая кислота 142
- Диаминоянтарная кислота 141, 152
- α, δ-Дибензоилорнитин 79
- Дибензоилфосфат, конденсация с глицином 39
- 3,5-Дибромтирозин 55
- Дигидрооротовая кислота 314
- Дигидротимин, превращение в β-аминоизомаляную кислоту 310
- Дигидроурацил, превращение в β-аланин 310
- Дигидрофослевая кислота 327
- 3,5-Дийод-4-оксифенилпировиноградная кислота, переаминирование 218
- 3,5-Дийод-L-тирозин 424
- в биологических объектах 55
- переаминирование 218
- удельное оптическое вращение 83
- β-[3,5-Дийод-4-(3',5'-дийод-4'-оксифеноксифенил)пировиноградная кислота 101
- α,γ-Дикетоглутаровая кислота 217
- Дикетопиперазины 37
- L-γ-Диметиламид глутаминовой кислоты 218
- γ-Диметиламид α-кетоглутаровой кислоты 218
- n*-Диметиламинобензальдегид (см. Эрлиха реактив)
- N*-Диметиламиноэтанол 330
- Диметилглицин 330, 371**
- Диметилдисульфид из метионина 375
- Диметил-β-пропиотетин 372
- Диметилтетин 372**
- Динамическое состояние белков 177
- 2,4-Динитрофенил, производные аминокислот 35
- 2,4-Динитрофенилгидразоны α-кетокислот 98—102
- — *син*- и *анти*-формы 103
- 2,4-Динитрофенол, торможение переноса аминокислот 167
- 5,6-Диоксииндол 423
- 2,5-Диоксифенилаланин 418
- 3,4-Диоксифенилаланин 417
- в биологических объектах 58
- декарбоксилирование 203
- переаминирование 218
- 3,4-Диоксифенилпировиноградная кислота, переаминирование 218
- 3,4-Диоксифенилэтиламин, декарбоксилирование 201, 203, 422
- 4,8-Диоксихинолин 404
- Дипиколиновая кислота 58, 429

- β , β' -Дитиоди (α -аминопропионовая кислота) (см. Цистин)
 Дифосфопиридиннуклеотид, отношение окисленной формы к восстановленной 182
 ДОФА (см. 3, 4-Диоксифенилаланин)
 Дофахром 423
 Жиры, сберегающее влияние на белки 128
 Изатин из индола 411
 — реакция с оксипролином 19, 42
 — — — пролином 20, 42
 Изобутирил-кофермент А 361
 Изовалерил-кофермент А 359
 Изовалерьяновая кислота из валина 197
 Изовалин 84, 88, 89
 Изолейцин, антагонисты 143
 — биосинтез 353, 357
 — в тканевой культуре 131
 — вкус L- и D-изомеров 96
 — выделение 17
 — гликогенетическое действие 181
 — диокислоты-предшественники 356
 — как антагонист лейцина и валина 142, 143
 — обмен 353—366
 — окисление 4-х изомеров 185, 186, 189
 — потребность у бактерий 134
 — — — взрослых мужчин и младенцев 126
 — — — животных 121, 122
 — сводная схема превращений 362
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 64
 — стереоизомеры 86
 — точка разложения, растворимость, значения pK' 30
 D-Изолейцин 136
 — свойства α -кетокислотных аналогов 100
 D-алло-Изолейцин, свойства α -кетокислотных аналогов 100
 D-алло-Изолейцин, сообщение о наличии в актиномицине 68
 DL-Изолейцин, свойства α -кетокислотных аналогов 100
 — сообщение о наличии в актиномицине 68
 L-Изолейцин как донатор водорода 197
 — количественная потребность человека 124
 — конфигурация β -углеродного атома 86
 — переаминирование 216, 218, 230
 — свойства α -кетокислотных аналогов 100
 — удельное оптическое вращение 82
 L-алло-Изолейцин, переаминирование 218
 — свойства α -кетокислотных аналогов 100
 — удельное оптическое вращение 84
 Изолизин (см. β -Лизин)
 Изолимонная кислота из изомеров α -аминотрикарбаллиловой кислоты 89
 — расщепление 320
 Изомасляная кислота из лейцина 197
 Изоникотинилгидразид и экскреция ксантуреновой кислоты 481
 — как антагонист витамина B₆ 249
 Изопреналин 423
 Изoeлектрические точки аминокислот 33
 Имид α -аминоантарной кислоты 14
 Имидазол как антагонист гистидина 142
 Имидазолацетальдегид 194, 394
 Имидазолацетол 388
 Имидазолацетолфосфат 217, 388
 Имидазолглицерин 388
 Имидазолглицерофосфат 388
 Имидазолметанол 394
 Имидазолпропионовая кислота 392, 393

- α -Имидазолпировиноградная кислота, использование крысами 137
 — — переаминирование 217
 — — превращение в гистидин 388
 — — свойства 99
 Имидазолуксусная кислота 394
 2-Имино-4-тиазолидинкарбоновая кислота 385
 Индиго 409
 Индикан 409
 Индирубин 409
 Индоксил 409
 Индол в синтезе триптофана 396
 — как антагонист триптофана 144
 — обмен 409
 Индолакриловая кислота 144, 151
 Индолацетальдегид 408
 Индолацетонитрил 408
 Индол-3-глицерофосфат в синтезе триптофана 396
 Индолпировиноградная кислота 408
 — — использование крысами 137
 — — переаминирование 219
 — — свойства 101
 Индолуксусная кислота 408
 Инозиновая кислота, синтез 286
 Инсулин быка, аминокислотный состав 26
 — влияние на аминокислоты плазмы 180
 — последовательность аминокислот 27—29
 — разных видов животных 27
 Инфаркт миокарда, влияние на трансаминазу крови 484
 Йодная кислота, реакция 21, 39, 43
l-Йодфенилсульфонилхлорид (см. Пипсилхлорид)
 Кадаверин, возможное превращение в пиперидин 194
 — образование 203, 205
 — окисление 193
 α -Казеин, аминокислотный состав 26
 Калий, связь с поглощением аминокислот 168
 Калорийная доставка, связь с азотистым равновесием 128
 Канаваин в биологических объектах 49
 — восстановительное расщепление 340
 — гидролиз 49, 340
 — как антагонист аргинина 141
 — трансамидинирование 340
 L-Канаваин, удельное оптическое вращение 83
 Канаваоянтарная кислота 49, 87, 339
 Каналин из канаваина 49, 340
 — как антагонист орнитина 144
 Карбамидокислоты 38
 Карбамил-L-аспарагиновая кислота 314, 342
 O-Карбамил-D-серин 46, 67, 83
 Карбамилфосфат и образование карбамиласпарагиновой кислоты 312
 — — — мочевины 176
 — образование и реакции 341
 Карбобензоксигруппа, метод отщепления 34, 35
 ϵ -N-Карбобензоксиг-L-лизин, переаминирование 218
 δ -N-Карбобензоксиг-L-орнитин, переаминирование 218
 Карбоксипептидаза 37, 260
 N- α -(1-Карбоксиэтил)аргинин (см. Октопин)
 Карнозин, выделение из мышц 71
 — 1-N-метилпроизводное (см. Ансерин)
 — синтез 272
 — содержание в тканях 64
 Карнозиназа 71
 Каротиноиды 365
 Карциноид и относительная недостаточность триптофана 130, 429
 Каталаза, роль в окислении аминокислот 184

- Каучук 365
- Кератин шерсти, аминокислотный состав 26
- α -Кетоадипиновая кислота в биологических объектах 103
- — из лизина 430, 432
- — переаминирование 217
- — свойства 98
- β -Кетоадипиновая кислота 405
- α -Кето- δ -аминовалерьяновая кислота из орнитина 346
- — — пролина 346
- — переаминирование 219
- — свойства 101
- γ -Кето- α -аминоглутаровая кислота 217
- α -Кето- ϵ -аминокапроновая кислота из лизина 428
- — переаминирование 218
- — свойства 100
- — ферментативное восстановление 432
- — циклизация в Δ' -пиперидин-2-карбоновую кислоту 237
- α -Кетовалерьяновая кислота 101, 219
- α -Кетогептановая кислота 98, 217
- α -Кетоглутаровая кислота 99
- α -Кетоглутаровой кислоты γ -этиловый эфир, 99
- α -Кето- δ -гуанидиновалерьяновая кислота 137
- — переаминирование 217
- — свойства 99
- α -Кетоизовалерьяновая кислота в биологических объектах, 103
- — — обмене валина 361
- — — синтезе лейцина 357
- — использование крысами 137
- — переаминирование 217
- — превращение в пантотинную кислоту 364
- — свойства 99
- α -Кетоизокапроновая кислота в обмене лейцина 359
- — использование крысами 137
- α -Кетоизокапроновая кислота, переаминирование 218
- — свойства 100
- α -Кетокапроновая кислота 101, 219
- α -Кето- δ -карбамидовалерьяновая кислота 102, 220
- α -Кето-N-карбобензоксид- δ -аминовалерьяновая кислота 218
- α -Кето-N-карбобензоксид- ϵ -аминокапроновая кислота 218
- α -Кетокислоты 96, 104
- в биологических объектах 103
- влияние на скорость роста у крыс 137
- декарбосилирование 104
- енолизация 97
- окислительное декарбосилирование перекисью водорода 183
- ферментативное декарбосилирование 98—104
- экскреция после введения рацемических аминокислот 138
- α -Кетомасляная кислота в синтезе изолеицина 356
- — из гомосерина 368
- — — треонина 336
- — переаминирование 217
- — свойства 98
- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота 354, 363
- — использование изомеров крысами 137
- D- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота, образование 189
- — переаминирование 218
- — свойства 100
- DL- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота 100
- L- α -Кето- β -метилвалерьяновая кислота, образование 189, 363
- — переаминирование 218
- — свойства 100
- α -Кето- γ -метилглутаровая кислота 218
- α -Кето- γ -метилглютаровая кислота 103, 218

- α -Кето- γ -метилсульфонилмасляная кислота 100
 α -Кето- γ -метилтиомаляная кислота 375
 — — использование крысами 137
 — — переаминирование 218
 — — свойства 100
 α -Кето- δ -нитрогуанидиновалерьяновая кислота 101, 219
 α -Кето- γ -оксиглутаровая кислота 219
 α -Кето- β -оксизовалерьяновая кислота 355
 α -Кето- ϵ -оксикапроновая кислота 98, 219
 α -Кето- β -оксимасляная кислота 101, 219
 α -Кето- γ -оксимасляная кислота 100, 103, 337
 α -Кето- β -окси- β -фенилпропионовая кислота 219
 α -Кетопимелиновая кислота 103
 γ -Кетопролин 350
 α -Кето-N-хлорацетил- δ -аминовалерьяновая кислота 219
 α -Кето-N-хлорацетил- ϵ -аминокапроновая кислота 219
 α -Кетофенилуксусная кислота 99, 219
 α -Кето- β -циклогексилпропионовая кислота 219
 α -Кетоциклогексилуксусная кислота 219
 α -Кето- γ -этилтиомаляная кислота 102, 220
 Кинурины 237
 — в моче 481
 — образование 397
 — разделение оптических изомеров методом хроматографии на бумаге 94
 — формамидаза 398
 L-Кинурин в биологических объектах 59
 — переаминирование 218
 — удельное оптическое вращение 83
 Кинуруениназа 401
 Кинуреновая кислота 237, 404, 481
 Кишечная флора и исследование роли аминокислот в питании 123
 Коллаген, аминокислотный состав 26
 L-Конфигурация, данные для обычных аминокислот белков 80
 C-Концевые остатки в цепях A и B инсулина 27—29
 — — определение 37
 N-Концевые остатки в цепях A и B инсулина 27—29
 — — определение 36
 Кофермент 329
 Кофермент A 266, 308, 345, 365, 476
 Креатин, образование 321, 372
 Креатинин, содержание в тканях 64
 Кребса цикл 338
 Кротилаланин 143, 147, 148
 Ксантозин-5'-фосфат 313
 Ксантуруеновая кислота 404, 481
 Лактатдегидрогеназа 104
 α -Лактиламино- β -окси- ϵ -аминопимелиновая кислота 51
 Лантионин в биологических объектах 53
 — влияние на рост крыс 369
 — мезо-форма 87
 — ферментативное расщепление 369
 L-Лантионин, удельное оптическое вращение 84
 Латиризм 78
 Левомецетин (см. Хлорамфеникол)
 DL-Лейцилглицин, свободная энергия образования 261
 Лейцин, биосинтез 357
 — в тканевой культуре 131
 — взаимные окислительно-восстановительные реакции с пролином 198
 — вкус L- и D-изомеров 96
 — выделение из сыра и других источников 18
 — как антагонист валина и изолейцина 140, 141

- Лейцин, кетогенное действие 181
 — обмен 353—366
 — окисление изомеров 185
 — потребность у бактерий 134
 — — — взрослых мужчин и младенцев 125, 126
 — — — животных 121, 122
 — сводная схема превращений 362
 — свойства α -кетокислотных аналогов 100
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 64
 — точка разложения, растворимость, значения рК' 30
 D-Лейцин в биологических объектах 67
 — данные об использовании различными организмами 136, 178
 — использование бактериями 139
 — как антагонист L-Лейцина 143, 154
 — переаминирование 218, 228
 L-Лейцин как донатор водорода 197
 — количественная потребность у человека 124
 — переаминирование 216, 218, 230
 — удельное оптическое вращение 82
 трет-Лейцин, свойства α -кетокислотных аналогов 100
 L-трет-Лейцин, переаминирование 218
 — удельное оптическое вращение 84
 Лигнин как источник метоксильных групп 329
 Лизериновая кислота 74, 411
 — — диэтиламид 480
 Лизин, биосинтез 426
 — в биоцитине 432
 — — тканевой культуре 129
 — включение 275
 — влияние недостаточности 127
 — выделение из казеина 16
 — декарбоксилирование. 201, 206
 — как антагонист аргинина 141, 143, 145
 — лабильзация α -водорода 430
 Лизин, обмен 426—434
 — окисление ω -N-ацилпроизводных 186
 — — изомеров 185
 — особое положение в обмене 178
 — потребность у бактерий 134
 — — — взрослых мужчин и младенцев 126
 — — — животных 121, 122
 — превращение в глутаровую кислоту 430
 — — — гомоаргинин 340
 — — — пипеколиновую кислоту 428
 — производные ацетила 430
 — реакция с 1-фтор-2,4-динитробензолом 35
 — сводная схема превращений 433
 — свойства α -кетокислотных аналогов 100
 — связь в ε -положении в биоцитине 18
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 64
 — точка разложения, растворимость, значения рК' 30
 — экскреция при цистинурии 468
 D-Лизин 136
 L-Лизин, декарбоксилирование 203, 208
 — количественная потребность у человека 124
 — образование в результате декарбоксилирования 203
 — переаминирование 216, 218
 — удельное оптическое вращение 82
 β -Лизин 50
 Ликомаразмин 74, 155
 Люцинол (см. Мимозин)
Lactobacillus arabinosus, использование D-глутаминовой кислоты 139
Lathyrus odoratus 78, 309
 Малеилацетоуксусная кислота 420
 Малоновая кислота, полуальдегид 217

- Маннозаминная кислота, конфигурация 85
 «Матрицы» теория 280
 Мезоксалева кислота 98, 217
 мезо-Формы аминокислот 87
 Меланин, образование 423
 Меланома, обмен тирозина 130
 β-Меркаптопировиноградная кислота, десульфирование 377
 — — переаминирование 219
 — — свойства 102
 Меркаптоэтиламин 384
 Мескалин 193
 Метакрилил-кофермент 361
 Металлилглицин 140, 141, 154
 δ-Метиламид α-аминоадипиновой кислоты 218
 γ-Метиламид глутаминовой кислоты 218
 δ-N-Метиламид α-кетoadипиновой кислоты 218
 γ-Метиламид α-кетоглутаровой кислоты 218
 α-Метиламинокислоты, конфигурация 89, 90
 N-Метиламиноэтанол 330
 α-Метиласпарагиновая кислота 141, 152
 α-Метилацетоацетил-кофермент А 363
 α-Метилбутирил-кофермент А 363
 N-Метилвалин 77
 N-1-Метилгистидин 396
 — в биологических объектах 62
 — содержание в тканях 64
 N-3-Метилгистидин 396
 — в биологических объектах 62
 — содержание в тканях 64
 α-Метилглутамин, дезамидирование 316
 γ-Метилглутамин, дезамидирование 316, 318
 — переаминирование 218
 α-Метилглутаминовая кислота как антагонист глутаминовой кислоты 142
 α-Метилглутаминовая кислота, тор-можение L-глутаматдекарбок-слазы 149
 — — — глутаминазы почек собаки 150
 γ-Метилглутаминовая кислота 48, 218
 γ-Метиленглутамин в биологических объектах 47
 — дезамидирование 318
 — переаминирование 218
 γ-Метиленглутаминовая кислота в биологических объектах 47
 — — дезамидирование 318
 — — декарбоксилрование 203
 — — переаминирование 218
 «Метил-лантионин» в субтилине 53
 Метилмалоновая кислота, полуальде-гид 361
 α-Метилмасляная кислота 197
 d-α-Метилмасляная кислота 365
 β-Метилмасляная кислота 365
 Метилмеркаптан в синтезе метиони-на 373
 — из α-кето-γ-метилтиомасляной кислоты 375
 — окисление 376
 — связывание с белком 277
 Метилметионинсульфоний, использо-вание 373
 N-Метилникотинамид 403
 Метиловый спирт как предшествен-ник метильной группы 374
 α-Метил-β-окснбутирил-кофермент 363
 γ-Метил-γ-окснглутаминовая кислота в биологических объектах 48
 N-Метилпиколиновая кислота (см. Омарин)
 ω-Метилпиридоксаль 252
 ω-Метилпиридоксаль-5-фосфат 250
 ω-Метилпиридоксамин-5-фосфат 250
 N-Метил-2-пиридон-5-карбоксамид 404
 α-Метилсерин как антагонист серина 144
 α-Метил-D-серин 67

- α -Метил в биологических объектах 46
 — удельное оптическое вращение 83
 N-Метилтирозин 62
 Метилтриптофаны 144
 5-Метилтриптофан 151
 N-Метил-L-триптофан 61
 S-Метилцистеин 54
 S-Метилцистеинсульфоксид 53
 (+)-S-Метил-L-цистеинсульфоксид,
 удельное оптическое вращение 83
 Метионин, активирование 372
 — антагонисты 143, 146—148
 — биосинтез 369
 — в тканевой культуре 131
 — вкус L- и D-изомеров 96
 — влияние недостаточности 130
 — выделение из казеина 19
 — гликогенетическое действие 181
 — замена гомоцистином в рационе
 крыс 122
 — из метионинсульфоксида 373
 — липотропное действие 130
 — обмен 366—376
 — образование метионинсульфоксида 19
 — окисление изомеров 185, 375
 — переход серы 366, 368
 — потребность у бактерий 134
 — — — взрослых мужчин и младенцев 126
 — — — животных 121, 122
 — превращение в гомоцистеин 370
 — — — метилмеркаптан 376
 — при метилировании никотинамида 372
 — рацемизация 243
 — «сберегающее» влияние цистина 122
 — сводная схема превращений 386
 — свойства α -кетокислотных аналогов 100
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 64
 — точка разложения, растворимость, значения pK' 30
 D-Метионин, использование бактериями 139
 — — мышью, крысой и человеком 136
 — переаминирование 218, 228
 L-Метионин, количественная потребность у человека 124
 — переаминирование 216, 218, 230
 — торможение роста крыс 138
 — удельное оптическое вращение 82
 Метионинсульфоксид, использование 373
 — как антагонист глутаминовой кислоты 142
 — образование из метионина и восстановление до метионина 19
 — S-стереоизомеры 90, 149
 — торможение синтеза глутамината 149
 Метионинсульфоксимин как антагонист глутаминовой кислоты и метионина 142—147
 — образование при обработке пшеничной муки треххлористым азотом 148
 Метионинсульфон, свойства α -кетокислотных аналогов 100
 Метод разбавления изотопов 40
 Метоксинин 143, 147
n-Метоксифенил-L-аланин 59, 78
 Микросомы в синтезе белка 278
 Мимозин 61
 Младенцы, потребность в аминокислотах 125
 Молекулярный вес белков 26
 Моноаминоксидаза 192, 193
 Монобромтирозин 55
 Моноидтирозин 56, 424
 N-Монометил-D-аминокислоты, окисление 186
 Мочевина, использование в качестве источника азота 127
 — образование 176, 338—342
 — превращение в заменимые аминокислоты 127

- Мочевина, превращение в углекислоту 127
- Мочевины цикл 176
- Мочи аминокислоты 63
- аммиак 174
- цис*, *цис*-Муконовая кислота 405
- Муравьиная кислота в синтезе серинов 325
- — окисление 319
- Мурексин (см. Уроканилхолин)
- Мышечная дистрофия, экскреция креатина 321
- Нафтилакриловая кислота 144, 151
- Нафтилаланины 144
- β -1-Нафтилаланин 151
- β -2-Нафтилаланин 151
- Неокислительное дезаминирование аминокислот 194—199
- «Непрерывный обмен» 178
- Неферментативное переаминирование, роль ионов металлов 253
- Никотин, предшественники 329, 411
- Никотинамид, метилирование 372
- Никотинамидметилфераза 372
- Никотиновая кислота 399
- Нингидриновая реакция 14, 19, 20, 34
- Нитроаргинин 219
- свойства α -кетокислотных аналогов 101
- β -Нитропропионовая кислота 309
- Нитропруссидная реакция 23, 44
- m*-Нитротирозин 144
- n*-Нитрофенилаланин 145
- Норадреналин, метилирование 372
- образование 422
- Норвалин 89
- вкус L- и D-изомеров 96
- как антагонист валина и лейцина 142—143
- обмен 365
- переаминирование 216, 219
- свойства α -кетокислотных аналогов 101
- D-Норвалин, окисление 186
- L-Норвалин, удельное оптическое вращение 84
- Норлейцин 89
- вкус L- и D-изомеров 96
- как антагонист лейцина и метионина 143—147
- обмен 365
- свойства α -кетокислотных аналогов 101
- D-Норлейцин, окисление 186
- L-Норлейцин, переаминирование 216, 219
- — удельное оптическое вращение 84
- Обновление 274
- Обозначения 81—85
- Овальбумин (см. Яичный альбумин)
- α -Окси- γ -аминоасляная кислота 203
- 3-Оксиантраниловая кислота 400
- Оксиаспарагиновая кислота 141, 152
- α -Окси- ϵ -N-ацетиламинокапроновая кислота 427
- n*-Оксибензойная кислота 412
- β -Оксивалин 142
- β -Оксиглутаминовая кислота, декарбокислирование 205
- — как антагонист глутаминовой кислоты 142
- — стереоизомеры 88
- — торможение роста 149
- алло*- β -Оксиглутаминовая кислота, декарбокислирование 203
- γ -Оксиглутаминовая кислота в биологических объектах 62
- — декарбокислирование 203, 207
- — переаминирование 219
- γ -Оксиглутаминовая кислота, γ -полуальдегид 352
- L- α -Оксиглутаровая кислота из лизина 430
- β -Оксиизобутирил-кофермент А 361
- β -Оксиизовалерил-кофермент А 359

- α -Окси- α -изопропилянтарная кислота 357
 5-Оксиндолацетальдегид 407
 5-Оксиндолацетуровая кислота 407
 5-Оксиндолуксусная кислота 407, 479
 Оксикадаверин 203
 3-Оксикинуренамин 404
 3-Оксикинуренин 400
 — в биологических объектах 59
 — выделение 481
 — переаминирование 219
 β -Оксилейцин 143
 β -Оксилизин (5-Оксилизин) в биологических объектах 50
 — декарбоксилирование 203, 207
 — из лизина 434
 — содержание в белках 26
 — удельное оптическое вращение 83
 — фосфорилированная форма 50
алло- δ -Оксилизин (*алло*-5-Оксилизин) удельное оптическое вращение L-изомера 84
 β -Окси- β -метилглутарил-кофермент А 359
 β -3-Оксиндолаланин (см. α -Окситриптофан)
 β -Оксинорвалин 144
 β -Оксинорлейцин 143, 144
 γ -Оксиорнитин 350
 5-Оксипепеколиновая кислота 57, 87
 5-Оксипиперидин-2-карбоновая кислота (см. 5-Оксипепеколиновая кислота)
 -Оксипровиноградная кислота 101, 103, 219
 4-Оксипирролидин-2-карбоновая кислота (см. 4-Оксипролин)
 Оксипролин в *Sarcina lutea* 349
 — выделение из желатины 19
 — как антагонист пролина 144
 — обмен 349, 352
 — образование из пролина 349
 — потребность у животных 122
 Оксипролин, превращение в глутаминовую кислоту 350
 — — — пиррол-2-карбоновую кислоту 352
 — сводная схема превращений 352
 — содержание в белках 26
 — точка разложения, растворимость, значения рК' 30
 L-Оксипролин как акцептор водорода 197
 — конфигурация γ -углеродного атома 86, 87
 — удельное оптическое вращение 82
алло-Оксипролин в биологических объектах 61
 — — фаллоидине и аманитине 75
 — удельное оптическое вращение 83
 Окситоцин, действие 72—74
 — структура и синтез 72
 5-Окситриптамиин (см. Серотонин)
 α -Окситриптофан 399
 5-Окситриптофан в биологических объектах 60
 — декарбоксилирование 201, 203
 — обмен 406, 408
n-Оксифенилмолочная кислота 414, 478
n-Оксифенилпровиноградная кислота в биосинтезе тирозина 414
 — — использование крысами 137
 — — окисление тирозина 417
 — — переаминирование 219
 — — свойства 101
 — — экскреция при тирозинозе и других условиях 473—474
n-Оксифенилсерин 203
o-Оксифенилуксусная кислота 478
n-Оксифенилэтанолламин 203
 Октопин в биологических объектах 57
 — гидролиз аргиназой 338
 — конфигурация 87
 Омарин 403
 Оптическая асимметрия в результате введения изотопов 90

- Оптические изомеры аминокислот, получение 81—96
- Оптическое вращение 81
- Опухоли мочевого пузыря, вызванные введением триптофана и ацетиламинофлуорена 482
- — — — 3-оксиантраниловой кислотой 482
- сообщение о наличии D-аминокислот 67
- Орнитин, антагонисты 144
- в цикле мочевины 176
- декарбоксилирование 203, 205
- как антагонист аргинина 141
- обмен 338—343
- окисление изомеров 185
- превращение в цитруллин 341
- реакция с 1-фтор-2, 4-динитробензолом 35
- сводная схема превращений 342
- свойства α -кетокислотных аналогов 101
- связь с никотином 342
- синтез 344
- содержание в тканях 64
- экскреция при цистинурии 468
- L-Орнитин в биологических объектах 49
- как акцептор водорода 197
- переаминирование 216, 219
- удельное оптическое вращение 83
- Орнитуровая кислота (см. α , δ -Дибензонорнитин)
- Оротовая кислота 314
- Пантоиновая кислота, аминокислотный аналог 364
- — — — из α -кетонизовалерьяновой кислоты 364
- — — — превращение в пантотеновую кислоту 272, 311
- Пантотеновая кислота 79, 271, 311, 364
- Паули реакция 15
- Пеллагра 399
- симптомы при карциноиде 479—480
- D-Пеницилламин 67, 76, 83
- Пенициллин 67, 68
- синтез 271—273
- Пепсин, аминокислотный состав 26
- Пептид из трипсиногена 79
- «Пептид А» из печени 78
- Пептидазы 259
- Пептидные связи, синтез 259—283
- Пептиды в биологических объектах 70—79
- — — — крови больных, страдающих целиакией 483
- влияние на рост 155, 156
- противодействие торможению роста 155, 156
- реакция с нингидрином 34
- свободная энергия образования 261
- спорыньи, α -оксиаминокислоты 73
- экскреция в моче 469
- Переаминирование 210—239
- D-аминокислот 228, 254
- в присутствии D₂O 254
- β -дейтеро- α -кетоглутаровой кислоты 254
- значение в обмене 233—239
- между аминокислотой и соответствующей ей α -кетокислотой 254
- — — — α -кетоглутаровой и аминокислотами 213
- — — — монокарбонowymi аминокислотами 224
- механизм 247—255
- меченных N¹⁵ субстратов 255
- неферментивное 210
- пептидов 239
- пуринов и пиримидинов (сообщения) 238, 239
- с учетом ω -аминокислот и альдегидов 225
- субстраты 217—220
- — — — эффект влияния гормонов 234

- Пересульфирование 366, 367
 Печеночная кома 464—466
 Пигменты глаз насекомых 401, 404
 Пиколиновая кислота 403
 Пипеколиновая кислота в биологических объектах 57
 — — — обмене лизина 428, 431
 — — ферментативное образование 433
 L-Пипеколиновая кислота, удельное оптическое вращение 83
 Пиперидин-2-карбоновая кислота (см. Пипеколиновая кислота)
 Δ' -Пиперидин-2-карбоновая кислота в обмене лизина 428, 432
 — — ферментативное восстановление 431
 Δ' -Пиперидин-6-карбоновая кислота (см. δ -полуальдегид α -аминоадипиновой кислоты)
 Пипсиламинокислоты 40
 Пипсилхлорид, реакция с аминокислотами 36
 β -4-Пиразолилаланин 145
 β -2-Пиридилаланин 145
 β -4-Пиридилаланин 145
 Пиридоксаль (см. Витамин В₆)
 Пиридоксальфосфат в анаэробном обмене метионина 246, 375
 — — кинурениназе и трансаминазе кинуренина 246, 401, 404
 — — обмене цистатинина 246, 368
 — — — цистеина 246, 377, 382
 — — синтезе триптофана 246, 397
 — — триптофаназной реакции 246, 408
 — — цистеиндесульфгидразной реакции 246, 377
 — десульфгидрирование гомоцистеина 246, 374
 — как кофермент для аминазы 246, 379
 — преобразование серотонина 406
 — при декарбоксилировании 257
 — — переаминировании 248
 Пиридоксальфосфат в расщеплении треонина 246, 336
 Пиридоксаль-3-фосфат, однозначный синтез 250
 Пиридоксаль-5-фосфат (см. также Пиридоксальфосфат), биосинтез 252
 — изготовление 250
 Пиридоксамин (см. также Витамин В₆), переаминирование 216
 Пиридоксамин-5-фосфат 250, 252
 Пиридоксин (см. Витамин В₆)
 Пиридоксин-5-фосфат 250, 252
 Пировиноградная кислота в биологических объектах 103
 — — димер 48
 — — из аланина 308
 — — — серина 332
 — — — тирозина 425
 — — — триптофана 408
 — — — цистеина 376, 381
 — — как предшественник треонина, изолейцина и валина 353—366
 — — обмен 308
 — — переаминирование 217
 — — реакция с формальдегидом 337
 — — свойства 98
 Пироглутаминовая кислота (см. Пирролидонкарбоновая кислота)
 Пирокатехин из антралиновой кислоты 405
 β -2-Пирролаланин 145
 Пирролидин-2-карбоновая кислота (см. Пролин)
 Пирролидонкарбоновая кислота 346
 — — в фастигиатине 72
 — — использование 346
 — — образование аммонийных солей из глутамина 16
 — — — из глутаминовой кислоты 16
 2-Пирролидон-5-карбоновая кислота (см. Пирролидонкарбоновая кислота)
 Δ' -Пирролин-2-карбоновая кислота (см. α -Кето- δ -аминовалерьяновая кислота)

- Δ'-Пирролин-5-карбоновая кислота
 (см. γ-Полуальдегид глутамино-
 вой кислоты)
 Пиррол-2-карбоновая кислота из
 оксипролина 19, 352
 Плазмы белки, использование 274
 Пластинны 262
 Полиглутаминовая кислота *B. subtilis*
 и родственных организмов 67,
 72, 139
 — — D-остатки 67
 Полимиксины 67, 68
 Порфирин, синтез 322—325
 Порфобилиноген 324
 Пот, аминокислотный состав 63
 Почечная реабсорбция, исследование
 на собаках 467
 — — роль при аминокацидурии 467
 Префеновая кислота 413—415
 Пролин, антагонисты 144
 — биосинтез 343
 — выделение из казенна 20
 — гликогенетическое действие 181
 — из орнитина 347, 348
 — исследования в области питания
 123
 — N-метилпроизводные 62
 — обмен 343—349
 — окисление изомеров 185
 — превращение в α-кетоаналог орни-
 тина 346
 — потребность у бактерий 134
 — — — животных 122
 — растворимость в спирте 31
 — реакция с лейцином 198
 — сводная схема превращений
 348
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 64
 — точка разложения, растворимость,
 значения рК' 30
 D-Пролин, использование бактерия-
 ми 139
 — превращение в γ-аминомасляную
 кислоту 352
 D-Пролин, сообщение о наличии в
 алкалоидах спорыньи 68
 L-Пролин как акцептор водорода 197
 — удельное оптическое вращение 82
 Пропионовая кислота как антаго-
 нист β-аланина 141
 Протопорфирин 320
 Пурины, биосинтез 283—287
 Пуромицин 76
 «Пурпур Руэманна» 34
 Путресцин 193, 203, 205
Penicillium glaucum, действие на ра-
 цемические аминокислоты 80
 Разделение аминокислот 91—95
 Рацемизация аланина 240—242
 — глутаминовой кислоты 243
 — данные для треонина 245
 — α, ε-диаминопимелиновой кислоты
 244
 — метионина 243
 — некоторых аминокислот 239—245
 — под действием щелочей 24
 — предполагаемый механизм 256
 — функция витамина B₆ 242
 Рацемические аминокислоты (см. DL-
 Аминокислоты)
 Рибозо-5-фосфат в синтезе пуринов
 284—286
 — как источник глицина 320
 Рибонуклеиновая кислота в синтезе
 белков 279
 Рибофлавин в окислении кинуренина
 400
 Роданеза 387
 Розеоинн 60
 Сакагути реакция 13, 44
 Салициловая кислота из индола 411
 Салливана реакция для цистина 23
 Сальмин, аминокислотный состав 26
 Саркозин в актиномицинах 77
 — — биологических объектах 61
 — наличие в белках 16
 — обмен 319—333

- Саркозин, первичное образование на Земле 307
- превращение в муравьиную кислоту и формальдегид 329—331
 - предшественники 330
 - сводная схема превращений 332
 - содержание в тканях 65
- Саркозиноксидаза 330
- Свободная энергия образования пептидов 261
- Седогептулозо-1,7-дифосфат 415
- Селен в белках пшеницы 62
- Селенометионин 143, 148
- Семенники, атрофия при недостаточности аргинина 130
- Сенециоил-кофермент 359
- Серин, антагонисты 144
- в виде фосфорного эфира 20
 - в синтезе триптофана 396
 - вкус L- и D-изомеров 96
 - выделение из шелка 20
 - гликогенетическое действие 181
 - как акцептор серы 367
 - как антагонист аланина и треонина 141, 144
 - — предшественник цистина 370
 - обмен 325—333
 - окисление изомеров 185
 - переаминирование 332
 - потребность у бактерий 134
 - — — животных 122
 - превращение в глицин 325
 - — — этаноламин 325
 - разрушение щелочами 24
 - реакция с йодной кислотой 21
 - сводная схема превращений 332
 - свойства α -кетокислотных аналогов 101
 - содержание в белках 26
 - — — тканях 65
 - точка разложения, растворимость, значения pK' 30
 - участие витамина B_6 в синтезе 325
- D-Серин в биологических объектах 67
- D-Серин, использование бактериями 138
- переаминирование 219
- L-Серин в сerratamiновой кислоте 78
- как донатор водорода 197
 - — эталон (L_8) 85
 - переаминирование 216, 219, 333
 - удельное оптическое вращение 82
- O-фосфодизфир 333
- Серотонин, образование 201, 203, 406, 479
- окисление 406
 - роль в работе мозга 480
 - физиологическое действие 479
- Serratamiновая кислота 78
- Сквален, миграция алкильных групп при циклизации 357
- Сопряженные окислительно-восстановительные реакции аминокислот, механизм 198—199
- Спермидин 193
- Спермин 193
- Спинномозговая жидкость, аминокислоты 63
- Стахидрин 62, 349
- Стереохимия аминокислот 79—90
- Стикланда реакция 196
- Стирилуксусная кислота 144
- Стрептогенин, пептиды 75, 155
- Стрихнин 411
- Субтилин 67, 76
- Сукцинил-кофермент А в синтезе порфиринов 323
- Сульфат, активирование 387
- Сульфид, окисление 387
- β -Сульфинил- α -аминопропионовая кислота (см. Цистеинсульфининовая кислота)
- β -Сульфинилпировиноградная кислота 220, 381
- Сульфокислоты как антагонисты аминокислот 153
- β -Сульфонил- α -аминопропионовая кислота (см. Цистеиновая кислота)

- γ-Сульфонил-α-кетомасляная кислота 217
 Сульфонилпировиноградная кислота
 β-Сульфонилпировиноградная кислота 102, 220, 381
 3-Сульфонилтирозин, разделение методом хроматографии 94
 Сурнамин (см. N-Метилтирозин)
 Сывороточный альбумин человека, аминокислотный состав 26
 SLR-фактор (см. N¹⁰-Формилптероиновая кислота)
Streptococcus faecalis, использование D-аланина, 139

 Табачной мозаики вирус, синтез 179
 Табтоксинин 51
 Таурин в биологических объектах 53
 — из гипотаурина 383
 — образование в результате декарбоксилирования 203
 — содержание в тканях 65
 Таурохолевая кислота 384
 Теанин как антагонист глутаминовой кислоты 149
 L-Теанин в зеленом чае 47
 — удельное оптическое вращение 83
 Тетрагидрофолевая кислота 326, 327
 N¹⁰-Тетрагидрофолевая кислота 328
 Тиазолидинкарбоновая кислота, образование из цистеина 23, 385
 -4-Тиазолилаланин 145
 м-Тиазон-4-карбоновая кислота 385
 Тиглил-кофермент 363
 -2-Тиенилаланин как антагонист фенилаланина 145, 150, 151
 — переаминирование 219
 — удельное оптическое вращение L-изомера 84
 -2-Тиенил-D-аланин, биологическая инверсия 150, 151
 — окисление 186
 β-3-Тиенилаланин 145, 150
 β-2-Тиенилпировиноградная кислота 219

 Тимин 309, 328
 β,β'-Тиоди (α-аминопропионовая) кислота (см. Лантионин)
 Тиолгистидин в эрготиненне 55, 394
 5'-Тиометиладенозин 372
 Тиоцианат, образование 385
 Тирамин 193, 201, 203, 205
 Тиреоглобулин быка, аминокислотный состав 26
 Тирозин, антагонисты 144
 — биосинтез 411
 — в тканевой культуре 131
 — вкус D- и L-изомеров 96
 — выделение из белков 20
 — декарбоксилирование 205
 — как антагонист фенилаланина 145
 — кетогенное действие 181
 — обмен 411—426
 — — — при меланоме 130
 — — — некоторых заболеваниях 470—478
 — окисление изомеров 185
 — переаминирование 216, 219, 230, 418
 — поглощение ультрафиолетовых лучей 44
 — потребность при фенилпировиноградной олигофрении 126
 — — у бактерий 134
 — — — животных 122
 — при образовании адреналина 422
 — реакция с 1-фтор-2,4-нитробензолом 35
 — сводная схема превращений 425
 — свойства α-кетокислотных аналогов 101
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 65
 — точка разложения, растворимость, значения рK' 30
 D-Тирозин, использование бактериями 139
 — — крысами 136
 — сберегающее влияние на фенилаланин 135

- L-Тирозин, декарбоксилирование 203
 — удельное оптическое вращение 82
 м-Тирозин, введение внутрь при алкаптонурии 473
 о-Тирозин, введение внутрь при алкаптонурии 473
 β-Тирозиназа 424
 Тирозиноз 416, 474
 Тирозин-О-сульфат 426
 — в моче и фибриногене 21
 Тироксин, аминирование α-кетокислотных аналогов 213
 — антагонисты 142
 — в биологических объектах 54
 — образование 422
 — свойства α-кетокислотных аналогов 99
 L-Тироксин, удельное оптическое вращение 83
 Тироцидин 67, 68, 77
 Тканевые культуры, потребность в аминокислотах 131, 132
 Трансамидинирование 321, 340
 Трансамидирование 263
 Трансаминазы (см. также отдельные Аминокислоты) 210—239
 — роль в образовании мочевины 177
 — содержание в крови после инфаркта миокарда и при других условиях 484
 — терминология 213
 — *E. coli* и мутантных штаммов 229, 230, 235
 Трансметилирование 321, 370—374
 Транспептидирование 263
 Треонин, альдолаза 336
 — антагонисты 144
 — в синтезе изолейцина 357
 — — тканевой культуре 131
 — вкус L- и D-изомеров 96
 — выделение из фибрина 21
 — гликогенетическое действие 181
 — данные о ферментативной расщеплении 245
 Треонин как антагонист серина и метионина 143, 144
 — — — потребность у бактерий 134
 — — — взрослых людей и младенцев 126
 — — — животных 121, 122
 — обмен 333—337
 — общая схема превращений 337
 — окисление изомеров 185
 — особое положение в обмене 178
 — переаминирование 336
 — превращение в глицин и ацетальдегид 336
 — разрушение щелочами 24
 — реакция с йодной кислотой 21
 — сберегающее влияние на аспаргиновую кислоту 335
 — связь с изолейцином 335, 357
 — синтез 333
 — содержание в белках 26
 — — — тканях 65
 — точка разложения, растворимость, значения рК' 30
 — фосфорный эфир 21
 D-Треонин 136
 DL-Треонин, свойства α-кетокислотных аналогов 101
 L-Треонин количественная потребность у человека 124
 — конфигурация атомов β-углерода 86
 — переаминирование 216, 219
 — удельное оптическое вращение 82
 алло-Треонин, окисление D-изомера 186
 — превращение в глицин 336
 L-алло-Треонин, удельное оптическое вращение 84
 L-Треониндегидратаза 357
 Треххлористый азот, действие на белки муки 148
 3, 3', 5-Трийодтиронин 56, 424
 Триметиламин, окись 172
 Триметилпировиноградная кислота 100, 218

- Триптазан (см. α -Амино- β -3(индазол)-пропионовая кислота)
- Триптамин 408
- Триптофан, антагонисты 144, 151
- в тканевой культуре 131
- вкус L- и D-изомеров 96
- влияние недостаточности у крыс и цыплят 129
- выделение из казеина 21
- декарбоксилирование 408
- обмен 396—411
- — при заболеваниях 479—483
- — — карциониде 130
- окисление изомеров 185
- поглощение ультрафиолетовых лучей 44
- потребность у бактерий 134
- — — взрослых мужчин и младенцев 126
- — — животных 121, 122
- превращение в индол 408
- — — никотиновую кислоту 397—404
- при образовании гормонов растений 408
- разрушение при гидролизе белков 24
- реакция Гопкинса — Кола 21
- сводная схема превращений 410
- свойства α -кетокислотных аналогов 101
- синтез 396
- содержание в белках 26
- — — тканях 64
- точка разложения, растворимость, значения pK' 30
- устойчивость в кислых растворах 31
- экскреция продуктов обмена в моче 480—482
- D-Триптофан, использование бактериями 139
- — крысой 136
- переаминирование 219, 228
- L-Триптофан как акцептор водорода 197
- L-Триптофан, количественная потребность у человека 124
- переаминирование 216, 219, 230
- удельное оптическое вращение 82
- Триптофаназная реакция 196, 408
- Триптофандесмолаза 397
- Триптофанпероксидаза 398, 482
- Тучные клетки, гиперплазия при *urticaria pigmentosa* 485
- — гистамин 394
- Углеводы, сберегающие влияние на белки 128
- Ультрафиолетовые лучи, поглощение ароматическими кислотами 44
- Уреаза 123, 174
- β -Уреидоизомаасляная кислота 310
- β -Уреидопропионовая кислота 310
- Урикоделический тип обмена 174
- Уроканаза 392
- Уроканилхолин 391
- Уроканиновая кислота 390
- Urticaria pigmentosa*, повышенное образование гистамина 485
- Фаллондин 75
- Фанкони синдром, аминоацидурия 469
- Фастигиатин 72
- Фелинин 52, 65
- Фенацетуровая кислота (см. Фенилацетилглицин)
- Фенилаланин, антагонисты 145, 150, 151
- биосинтез 411
- в тканевой культуре 131
- вкус L- и D-изомеров 96
- выделение из люпина и других источников 22
- кетогенное действие 181
- N-концевой остаток в инсулине 27—29
- обмен 411—426
- — при некоторых заболеваниях 470—478
- окисление изомеров 185

- Фенилаланин, потребность у бактерий 134
- — — взрослых мужчин и младенцев 126
 - — — животных 121, 122
 - превращение в гиппуровую кислоту 421
 - — — тирозин 416
 - сберегающее действие тирозина 121
 - сводная схема превращений 425
 - свойства α -кетокислотных аналогов 101
 - содержание в белках 26
 - — — тканях 65
 - точка разложения, растворимость, значения рК' 30
 - экскреция 475
- D-Фенилаланин в биологических объектах 67
- использование бактериями 139
 - — мышью, крысой и человеком 136
 - переаминирование 219, 228
- L-Фенилаланин, декарбоксилирование 203
- как донатор водорода 197
 - потребность у человека 124
 - переаминирование 216, 219, 230
 - перенос через стенку кишечника 166
 - удельное оптическое вращение 82
- Фенилаланин-гидроксилаза 417, 476
- Фенилацетилглицин 79, 421
- Фенилацетилглутамин 421, 472, 476
- Фенилглицин как возможный предшественник фенилаланина 416
- переаминирование 216, 219
- Фенилизотиоцианат, реакция с аминокислотами 36
- Фенилпировиноградная кислота в биосинтезе фенилаланина 412
- — — из фенилаланина 421
 - — — использование крысами 137
 - — — переаминирование 219
- Фенилпировиноградная кислота, свойства 101
- — экскреция 475
 - — олигофрения 126, 474—476
- β -Фенилсерин 88
- и хлорамфеникол 76, 89
 - как антагонист фенилаланина 145
 - окисление 2L-стереоизомеров 188
 - переаминирование 219
 - расщепление 334
 - удельное оптическое вращение L-изомера 82
- алло- β -Фенилсерин, удельное оптическое вращение L-изомера 84
- Фенилтиокарбамиламино кислоты 36
- Фенилэтиламин 203
- Феохромоцитомы 478
- Фиброин шелка, аминокислотный состав 26
- Флавинадениндинуклеотид 183
- Флоридзин, влияние на всасывание аминокислот 166
- Фолевая кислота в обмене гистидина 392
- — — метильных групп 371, 373
 - — — — тирозина 419
 - — — потребность в рационе 122
 - — — распространение 71, 72
 - — — родственные соединения 71, 72
 - — — роль производных в обмене одноуглеродного остатка 286
- Формальдегид как продукт окисления 326
- конденсация с пируватом 337
- Формамид из гистидина 393
- α -L-Формаминоглютаровая кислота (см. α -Формамино-L-глутаминовая кислота)
- α -Формамино-L-глутаминовая кислота 392, 393
- Формилглицинамидинриботид 285
- Формилглицинамидриботид 285
- Формил-L-глутаминовая кислота 393
- Формилкинурины 398

- N¹⁰-Формилптероиновая кислота 327
 N-Формилцистеин 385
 3-Фосфоаденозин-5-фосфосульфат 387
 Фосфоамидные производные аминокислот 38
 Фосфоаргинин 13
 Фосфокарбоновые производные аминокислот 38
 Фосфокреатин, превращение в креатинин 322
 Фосфор, содержание в белках 26
 5-Фосфорибозиламин 285
 5-Фосфорибозилпиродифосфат в синтезе пуринов 284
 — — — триптофана 396
 Фосфосерин 20, 333
 Фосфотреонин 21
 5-Фосфошкимовая кислота 412
 Фосфоэтаноламин, содержание в тканях 65
 Фруктозоаминокислоты 279
 1-Фтор-2,4-динитробензол 27, 35
 Фтортирозины 144
 л-Фторфенилаланин 277
 Фторфенилаланины 145, 150
 Фумарил-DL-аланин 79
 Фумарилацетоуксусная кислота 418, 420
 Фумаровая кислота из аргининояктарной кислоты 339
 β-2-Фурилаланин 145
 β-3-Фурилаланин 145

 Хинная кислота 412, 413
 Хинолиновая кислота 400, 401, 403
 Хлорамфеникол, снятие торможения фенилаланином 151
 — стереохимическое отношение к β-фенилсерину 76, 89
 Хлорацетилглицин 32
 -N-Хлорацетил-L-лизин, переаминирование 219
 δ-N-Хлорацетил-L-орнитин, переаминирование 219
 δ-Хлорлейцин 143

 Хлорфенилаланины 145
 Холевая кислота, образование таурохолевой кислоты 384
 Холестерин 365
 Холин, образование и последующие превращения 330
 Холиноксидаза 371
 Хроматография 39—43, 94

 Целиакия, высокая концентрация пептидов 483
 Цефалоспорин N 67, 77
 Циклогексилаланин как антагонист фенилаланина 145
 — свойства α-кетокислотных аналогов 102
 Циклогексил-D-аланин, окисление 186
 Циклогексил-L-аланин, переаминирование 219
 Циклогексилглицин 88
 L-Циклогексилглицин, переаминирование 219
 β-Циклогексилпировиноградная кислота 102
 D-Циклосерин 60, 67, 83
 Цинк в глутаматдегидрогеназе 191
 Цинхонин 411
 Цирулин 67, 77
 Цистаминдисульфоксид 383
 Цистатионин 55
 — в питании 122
 — выделение 369
 — мезо-форма 87
 — образование и превращение 366
 — стереоизомеры 367
 L-Цистатионин, удельное оптическое вращение 83
 L-алло-Цистатионин, удельное оптическое вращение 84
 Цистеамин 384
 Цистеин, антагонисты 145
 — гликогенетическое действие 181
 — десульфирование 376
 — доказательство наличия в белках 23

- Цистеин как предшественник кофермента 365
- образование из цистина 22
 - окисление 379
 - окисление в цистин 22
 - переаминирование 216, 219, 377
 - пересульфирование 367
 - происхождение серы 370
 - разрушение щелочами 23, 24
 - реакции распада 376—387
 - реакция с формальдегидом 23, 385
 - — — 1-фтор-2, 4-динитробензолом 35
 - сводная схема превращений 386
 - свойства α -кетокислотных аналогов 102
 - содержание в белках 26
 - точка разложения, растворимость, значения рК' 30
- D-Цистеин, десульфгидрирование 378
- использование бактериями 159
- L-Цистеин как донатор водорода 197
- удельное оптическое вращение 82
- Цистеиндесульфгидразная реакция 376
- Цистеиновая кислота из цистеинсульфиновой кислоты 379
- как антагонист аспарагиновой кислоты 141, 152
 - — свойства α -кетокислотных аналогов 102
- L-Цистеиновая кислота в биологических объектах 52
- — декарбоксилирование 203, 382
 - — переаминирование 216, 220
- Цистеинсульфеновая кислота 380
- Цистеинсульфиновая кислота 380
- — в биологических объектах 53
 - — включение сульфита 382
 - — декарбоксилирование 203
 - — идентификация 381
 - — переаминирование 220, 380
 - — превращение в таурин 382
- Цистин в биосинтезе пенициллина 273
- Цистин в тканевой культуре 131
- мезо-форма 37
 - обмен 366—387
 - окисление изомеров 185
 - переаминирование 216
 - потребность у бактерий 134
 - — — животных 122
 - превращение в цистеин 22
 - разрушение щелочами 23, 24
 - сберегающее влияние на метионин 122
 - связывание в белках 277
 - содержание в белках 26
 - — — тканях 65
 - точка разложения, растворимость, значения рК' 30
- D-Цистин, использование бактериями 139
- L-Цистин, выделение 22
- удельное оптическое вращение 82
- Цистиндисульфоксид 55, 383
- Цистиноз 469
- Цистинурия 467
- Цитозин, сообщение о переаминировании 238
- Цитроворум-фактор 286, 327
- Цитруллин из орнитина 341
- обмен 338—343
 - при образовании мочевины 176
 - реакция с аспарагиновой кислотой 339
 - сводная схема превращений 342
 - свойства -кетокислотных аналогов 102
 - содержание в тканях 65
- L-Цитруллин в биологических объектах 56
- переаминирование 220
 - удельное оптическое вращение 83
- Шикимовая кислота 412
- Щавелевая кислота из глиоксильной кислоты 319

- Щавелевоуксусная кислота 99, 103, 217
dl-Щавелевоянтарная кислота 98—103
- Эзерин 411
«Экзогенный» обмен 177
Экзопептидазы 259
Эметин 411
«Эндогенный» обмен 177
Эндопептидазы 259
Энтерамин (см. Серотонин)
Эрготионеин 55
— происхождение 394
D-Эритрозо-4-фосфат 415
Эритроциты, обновление гемоглобина 276
Эрлиха мышьяная карцинома, исследование поглощения аминокислот в клетках 167
Эрлиха реактив (*n*-диметиламинобензальдегид), реакция с пиррол-2-карбоновой кислотой 19
— — — — триптофаном 44
Этаноламин (см. 2-Аминоэтанол)
γ-Этиламид глутаминовой кислоты (см. также Теанин) 142
Этилендиамин, окисление 193
- Этилмеркаптан, использование 373
γ-Этиловый эфир глутаминовой кислоты, свойства α-кетокислотных аналогов 99
5'-Этилтиоаденозин 148
Этионин, включение 277
— действие на холин- и саркозин-оксидазу 147
— использование 369, 373
— как антагонист метионина 141, 145
— обмен этильной группы 147
— переход серы в серу цистина 147
— свойства α-кетокислотных аналогов 102
— токсичность 148
D-Этионин, окисление 186
L-Этионин, переаминирование 182, 183
— удельное оптическое вращение 84
Этионинсульфоксид 149
Эфиры 3,5-дигидротирозина как антагонисты тироксина 144
Erythrogenesis imperfecta (см. Врожденная гипопластическая анемия)
- Яичный альбумин 79, 282
Янтарная кислота, полуальдегид 217

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к русскому изданию	5
Из предисловия автора	7
Глава I. Природные аминокислоты	9
Вводные замечания	9
Аминокислоты, обычно встречающиеся в белках	10
Введение	10
Аминокислотный состав белков	23
Общие свойства аминокислот	29
Физико-химические свойства аминокислот	29
Химические реакции	33
Определение аминокислот	39
Другие природные аминокислоты	44
Введение	44
Моноаминомонокарбоновые кислоты	45
Моноаминодикарбоновые кислоты	47
Диаминомонокарбоновые кислоты	49
Диаминодикарбоновые кислоты	51
Серусодержащие аминокислоты	52
Галоидсодержащие аминокислоты	55
Другие аминокислоты	56
N-Метиламинокислоты	61
Прочие аминокислоты, встречающиеся в природе	62
Распространение свободных аминокислот	63
Природные D-аминокислоты	66
Пептиды и родственные им соединения	70
Введение	70
Карнозин и ансерин	70
Глутатион	71
Фолевая кислота и родственные ей соединения	71
Полиглутамил-пептиды	72
Гормоны задней доли гипофиза	72
Пептиды спорыньи	74
Ликомаразмин	74
Пептиды <i>Amanita phalloides</i>	75
Стрепогенин	75
Антибиотики	76

Другие соединения	77
Вопросы стереохимии аминокислот	79
Получение оптических изомеров аминокислот	91
α -Кетоаналоги аминокислот	96
Литература	104
Глава II. Роль аминокислот в питании	119
Общие замечания	119
Потребность в аминокислотах у высших животных	121
Исследование роста животных при кормлении их смесями аминокислот	126
Проявления недостаточности аминокислот у млекопитающих	129
Потребность в аминокислотах у клеток, выращиваемых в тканевой культуре	131
Потребность в аминокислотах у низших животных	132
Потребность в аминокислотах у микроорганизмов	133
Использование микроорганизмами D-аминокислот	135
Антагонисты аминокислот	139
Общие замечания	139
Антагонизм между природными аминокислотами	145
Антагонисты метионина	146
Антагонисты глутаминовой кислоты	149
Антагонисты фенилаланина	150
Антагонисты триптофана	151
Антагонисты аспарагиновой кислоты	152
Антагонисты других аминокислот	153
Литература	156
Глава III. Общая биохимия и физиология аминокислотного обмена	164
Перенос аминокислот в клетки	164
Обмен аминокруппы	171
Общие замечания	171
Образование аммиака	172
Использование аммиака	173
Динамическое состояние аминокислот и белков	177
Гормональные влияния	179
Обмен углеродных цепей аминокислот	180
Окислительное дезаминирование	182
Введение	182
Оксидаза D-аминокислот	184
Оксидаза L-аминокислот	187
Практическое использование оксидаз аминокислот	189
Дегидрогеназа L-глутаминовой кислоты	190
Аланиндегидрогеназа	191
Глицинооксидаза	191
Аминоксидазы	192

Неокислительное дезаминирование	194
Декарбоксилирование аминокислот	199
Введение	199
Аминокислотные декарбоксилазы млекопитающих	200
Аминокислотные декарбоксилазы растений	204
Аминокислотные декарбоксилазы бактерий	204
Переаминирование	210
Общие замечания	210
Реакции между α -кетоглутаровой кислотой и аминокислотами	214
Реакции переаминирования между амидами аминокислот и α -кето- кислотами	221
Реакции переаминирования между монокарбоновыми амино- и кето-кислотами	224
Реакция переаминирования с участием ω -аминокислот и альде- гидокислот	225
Переаминирование D-аминокислот	228
Доказательства существования различных трансминаз	229
Значение реакций переаминирования в обмене аминокислот	233
Рацемизация аминокислот	239
Общие замечания	239
Рацемизация аланина	240
Рацемизация глутаминовой кислоты	243
Рацемизация метионина	243
Рацемизация α, ϵ -диаминопимелиновой кислоты	244
Рацемизация треонина	245
Функции витамина B ₆ в обмене аминокислот	245
Синтез пептидных связей	259
Общие замечания	259
Реакции, катализируемые гидролитическими ферментами	259
Ацилирование аминокислот	266
Синтез глутатиона	268
Синтез глутамина	269
Синтез других соединений, содержащих —CONH—связи	271
Включение аминокислот в белки	273
Биосинтез пуринов	283
Литература	287
Глава IV. Промежуточный обмен аминокислот	306
Введение	306
Аланин	308
β -Аланин	308
Аспарагиновая кислота и аспарагин	311
Глутаминовая кислота и глутамин	315
Глицин, серин и саркозин	319
Глицин	319

Синтез порфиринов	322
Взаимопревращение глицина и серина	325
Саркозин	329
Другие превращения серина	331
Треонин	333
Биосинтез	333
Превращения треонина	335
Аргинин, орнитин и цитруллин	338
Пролин	343
Биосинтез у микроорганизмов	343
Обмен пролина у млекопитающих	346
Обмен пролина у растений	349
Оксипролин	349
Изолейцин, лейцин и валин	353
Биосинтез	353
Распад моноаминокислот с разветвленной углеродной цепью	358
Метионин и цистеин	366
Образование и превращения цистатионина	366
Трансметилирование	370
Другие превращения метионина	374
Распад цистеина	376
Гистидин	387
Биосинтез	387
Распад гистидина	390
Триптофан	396
Биосинтез	396
Превращение триптофана в кинуренин и в никотиновую кислоту	397
Другие превращения кинуренина и его производных	404
5-Окситриптофан и продукты его обмена	406
Участие триптофана в образовании гормона роста у растений	408
Прочие продукты обмена триптофана	408
Фенилаланин и тирозин	411
Биосинтез у микроорганизмов	411
Обмен фенилаланина и тирозина у животных	416
Прочие реакции обмена тирозина	422
Лизин	426
Биосинтез	426
Распад лизина	429
Литература	434

Глава V. Нарушения обмена аминокислот при некоторых патологических состояниях	463
Введение	463
Обмен аммиака	463
Аминоацидурия	467

Обмен фенилаланина и тирозина	470
Общие замечания	470
Алкаптонурия	471
Экскреция <i>l</i> -оксифенилпировиноградной кислоты	473
Фенилпировиноградная олигофрения	474
Альбинизм и феохромоцитома	478
Обмен триптофана	479
Повышенное образование серотонина	479
Экскреция продуктов обмена триптофана	480
Другие нарушения обмена аминокислот	483
Литература	485
Предметный указатель	492

А. М а й с т е р
БИОХИМИЯ АМИНОКИСЛОТ

Редактор *А. Левина*
Художник *М. Цаплин*
Художественный редактор *В. Шаповалов*
Технический редактор *Л. Харьковская*

Сдано в производство 7/IX 1960 г.
Подписано к печати 30/III 1961 г.
Бумага 60×92¹/₁₆—16,6 бум. л. 33,2 печ. л.,
Уч.-изд. л. 34,5. Изд. № 4/5311
Цена 2 р. 62 к. Зак. 1778

ИЗДАТЕЛЬСТВО
ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.
Москва, 1-й Рижский пер., 2

Типография № 2 им. Евг. Соколовой
УПП Ленсовнархоза
Ленинград, Измайловский пр., 29.