

ВИТАМИНЫ

Исторические сведения

В 1816 г. Маже-нди ввел метод кормления мюлодых животных рационами, состоящими из очищенных веществ, для того чтобы наблюдать влияние таких рационов на их рост. Он установил, что «животные не могут оставаться здоровыми, если они получают только основные поддерживающие ж^изнь вещества—(сахар, маслообразные и альбуминоидные вещества)». В 1906 г. Ф. Г. Хопкинс рассматривал цингу и рахит как «заболевания, о которых в течение ^многих лет известно, что их развитие связано с диетическими факторами». В 1912 г. Хопкинс и Функ выдвинули витамин-ную теорию, а именно они постулировали, что некоторые специфические заболевания, такие, как бери-бери, цинга и рахит, возникают из-за отсутствия в рационе опецифических пищевых факторов.

Связь характера рациона с некоторыми заболеваниями была отмечена значительно раньше.

Гиппократ указывал на лечебное действие 'печени 'при куриной слепоте. Жир из печени трески применяли для лечения рахита с XVIII в. В книге «Трактат о цинге» Джеймс Линд в 1757 г. отмечал, что только свежие фрукты и овощи «эффektivны как факторы, предохраняющие организм от этого заболевания»; полстолетия спустя в британском военно-морском флоте стало обычным обеспечивать моряков лимонным соком. Корреляция между заболеванием пеллагрой и питанием кукурузой 'была отмечена в Италии 175 лет тому назад Марзари, который констатировал, что это заболевание является результатом какой-то формы неполноценности диеты. В 1887 г. Такаки установил, что заболевание бери-бери у японских моряков можно предотвратить, уменьшая в рационе количество полированного риса и увеличивая 'количество мяса, овощей и молока^ Спустя десять лет, скармливая полированный ри'с курам, Эйкма'н вызвал у них заболевание, подобное бери-бери, и отметил, что .полиневрит не развивается у птиц, получавших неочищенный рис, и что экстракт из рисовых отрубей излечивает развившийся у птиц 'полиневрит. Эти наблюдения позволили Грнужи'нсу утверждать, что заболевание бери-бери является следствием неполноценности диеты. Положения, выдвинутые Хопкинсом и Функом, являлись развитием этой концепции.

Концентрат вещества, эффektivно гари лечении бери-бери, был получен из рисовых отрубей Функом; это был первый эффektivный препарат, содержащий незаменимый фактор питания. По-юкольку необходимый для жизни активный фактор являлся амином, Функ ввел термин *витамин (vitamine)*. Этот термин сохраняется в настоящее время для обозначения дополнительных пищевых факторов, не являющихся аминокислотами или неорганическими веществами. Поскольку не все эти дополнительные факторы являются аминами, (последняя буква «е» в названии *vitamine* была опущена.

Первые лабораторные данные, показавшие наличие других (помимо антибери-бери) добавочных пищевых факторов,—это обнаружение 'в !1913 г. жирорастворимого фактора в сливочном масле и яичном желтке (Мак-Коллум и Девис) и двумя годами позже тер!мостабильного водорастворимого фактора в пшеничных зернах; оба фактора были необходимы для роста .молодых крыс. Они были названы *жирорастворимый фактор А* и *водорастворимый ^фактор В* соответственно.

Хотя позже было открыто много других дополнительных факторов, первоначальное разделение на группы жирорастворимых и водорастворимых витаминов сохранилось, поскольку члены каждой из групп имеют определенные общие свойства. Например, жирорастворимые витамины всасываются из кишечника вместе с липидами пищи, так что при стеаторрее возникает недостаток жирорастворимых (но не водорастворимых) витаминов. Возможно, что вследствие растворимости в липидах значительные количества жирорастворимых витаминов сохраняются в печени. Запасы же водорастворимых витаминов в организме человека незначительны. Можно поэтому однократно ввести дозу жирорастворимых витаминов, обеспечивающую потребности ортанизма в течение нескольких недель, водорастворимые же витамины необходимо вводить значительно чаще.

В первые годы при исследовании витаминов возникали недоразумения в связи с числом и природой водорастворимых витаминов группы В. Когда был известен только один витамин В, противцинготный фактор был обозначен как витамин С, а против-рахитный фактор—как витамин D. Позднее было обнаружено, что «витамин В» представляет собой комплекс компонентов; было выделено несколько факторов, обозначенных как витамины В3, В3, В4 и т. д. Большинство из обозначений не сохранилось; это обусловлено либо тем, что активный фактор был идентифицирован и получил собственное название, либо тем, что была установлена его тождественность одному .из ранее , обнаруженных факторов. Термин *комплекс витаминов В* продолжает, однако, иапользоваться, поскольку компоненты этого комплекса нередко встречаются в природе вместе. Пищевые продукты, богатые (или бедные) одним из витаминов комплекса, являются обычно богатыми (или 'бедными) некоторыми другими витаминами этого комплекса. Поэтому недостаток у человека только одного из витаминов комплекса В является

весьма редким. Более того, признаки, характерные для недостатка отдельных витаминов комплекса, в известной мере

•перекрываются. Так, у собак наблюдается глоссит с атрофией сосочков языка при недостатке одного из следующих витаминов: ниацина, рибофлавина, пиридоксина, пантотеновой кислоты и фолиевой кислоты.

КОФЕРМЕНТЫ

Введение

Ферменты, будучи белками, содержат большое число различных функциональных групп, обладающих кислотными, основными или нуклеофильными свойствами. Однако в белках отсутствуют многие специфические группировки, необходимые для осуществления таких реакций, как *окисление и восстановление, альдольная конденсация, трансаминирование, конденсация аминокислот, метилирование аминов, трансацилирование и фосфорилирование*. Вещества, которые в сочетании с белками обеспечивают протекание этих реакций, называются коферментами.

Существует множество ферментативных реакций, протекающих только в присутствии коферментов. Каталитический потенциал коферментов в полной мере раскрывается только в комплексе с соответствующими белками (*апоферментами*), хотя до некоторой степени они способны проявлять каталитическую активность даже в отсутствие апоферментов.

Таким образом, в химии коферментов наиболее важное место занимает процесс, описываемый уравнением,



где кофермент, как правило, представляет собой некоторое органическое соединение, в роли апофермента обычно выступает молекула белка, а холоферментом называется образуемый ими комплекс.

Все коферменты можно разделить на две группы—обладающие и не обладающие окислительно-восстановительными свойствами.

Таблица 1. Компоненты активного центра, участвующие в катализе»

Коферменты

Окислительно-восстановительные коферменты

- никотинамидадениндинуклеотид (NAD)
никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP)
- флавиновые нуклеотиды, такие, как флавиномононуклеотид (FMN) и флавинадениндинуклеотид (FAD)
- металлопорфириновые комплексы, как, например, присутствующие в цитохромах, кобамиде, пероксидазе и каталазе
- аскорбиновая кислота
- липоевая (тиоктовая) кислота
- кофермент Q (убихинон)
- ионы металлов, такие, как Cu^{2+}

Коферменты, не обладающие окислительно-восстановительными свойствами

тиаминпирофосфат

пиридоксальфосфат

фолиевая (птероил-L-глутаминовая) кислота

биотин
глутатион
S-аденозилметионин
кофермент А
аденозинмоно-, ди- и трифосфат (AMP, ADP, ATP)
уридинфосфат
ионы различных металлов, прежде всего Zn^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , 4'-
фосфопантотеин

Функциональные группы белка

Нуклеофилы

- ионизованная карбоксильная группа аспарагиновой или глутаминовой кислоты
- гидроксильная группа серина или треонина
- SH-группа цистеина

Общие кислоты (основания)

- карбоксильная группа (ионизованная карбоксильная группа) аспарагиновой или глутаминовой кислоты
- гидроксильная группа (феноксид-ион) фенольного остатка тирозина
- аммониевая (амино-) группа лизина
- имидазольная (имидазольная) группа гистидина
- гуанидиниевая (гуанидиновая) группа аргинина

Прочие

индольное кольцо триптофана

SCH₃-группа метионина

пептидная или амидная группа

° Из книги: Bender M. L., Encyclopedia of Polymer Science and Technology, Vol. 6, John Wiley and Sons, New York, 1967, p. 1.

Окислительно-восстановительные коферменты

Многие ферменты проявляют каталитическую активность только в присутствии окислительно-восстановительных кофакторов, в число которых входят NADH (никотинамидадениндинуклеотид) NADP (никотинамидадениндинуклеотидфосфат); флавиновые нуклеотиды, такие, как FMN (флавиномононуклеотид) и FAD (флавинадениндинуклеотид); металлопорфирины; металлопорфирины, в которых имеется металлоорганическая связь, например кобамидные коферменты (производные витамина B12); аскорбиновая кислота; липоевая (тиоктовая) кислота; кофермент Q (убихинон); ионы различных металлов, способные изменять валентность; ферридоксин.

Никотиновая кислота, или ниацин

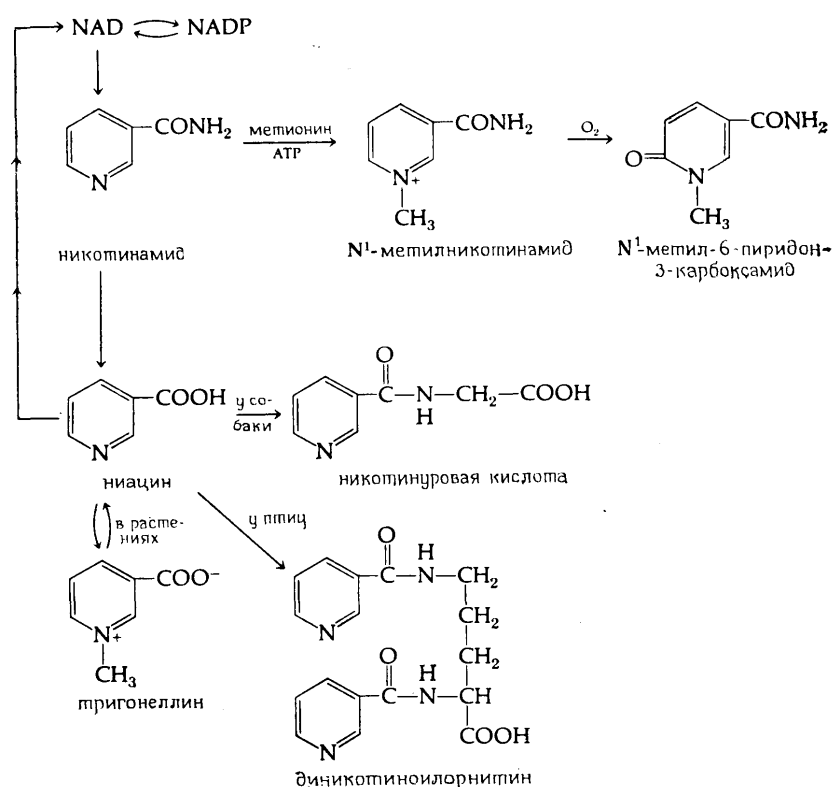
Пеллагра была распознана еще в 1735 г. Гаспаром Казалем, врачом испанского короля Филиппа V. До XX в. она была почти неизвестна «в Соединенных Штатах, однако с 1910 по 1935 г. в юго-восточных районах было зарегистрировано до 170000 случаев заболевания. Пеллагра была отнесена Гольдбергером к болезням, обусловленным недостатком необходимого фактора питания; Гольдбергер установил также ее сходство с «черным языком» собак. Это наблюдение позволило Элвехему, Вули и их сотр. идентифицировать в 1937 г. никотиновую кислоту как необходимый фактор питания. Варбургом и Эйлером соответственно в 1935 и 1936 гг. было установлено, что никотиновая кислота является компонентом NADP и NAD. Таким образом,

метаболическая роль никотиновой кислоты была выяснена до того, как было установлено ее значение в питании. Официально принятое название рассматриваемого витамина—ниацин.

Биогенез и метаболизм ниацина

Синтез ниацина происходит почти у всех организмов—от растений до человека. Путь превращения триптофана в моноклеотид никотиновой кислоты у животных обсуждался выше (разд. 23.2.15). Эффективность этого превращения у разных видов животных неодинакова. У кошек, например, происходит быстрая деградация триптофана до продуктов меньшего размера; при этом процесс протекает не по тем метаболическим путям, которые приводят к образованию хинолиновой кислоты (разд. 23.2.15), поэтому кошки нуждаются в поступлении никотиновой кислоты с пищей. У зеленых растений и многих микроорганизмов функционируют альтернативные синтетические пути, детали которых не выяснены; известно только, что исходными соединениями являются аопартат и производные триозы. Опыты с мечеными соединениями показали, что источником N-1 и C-2, C-3 и C-7 никотиновой кислоты являются соответственно азот и C-2, C-3 и C-4 аспарагиновой кислоты. Этот путь ведет к образованию хинолиновой кислоты, которая далее используется так же, как при синтезе NAD из триптофана (разд. 23.2.15).

Синтез и метаболические превращения NAD и NADP были уже рассмотрены ранее (гл. 24). В результате реакции, катализируемой *NAD-гликогидролазой (NAD-азой)*, разрывается гликозидная связь с пиридиновым кольцом и образуются никотинамид и аденозиндифосфатрибоза. Далее никотинамид может гидролизоваться *•никотинамидазой*, образуемая никотиновая кислота вновь используется для синтеза NAD. Введение больших доз никотинамида приводит к значительному увеличению концентрации NAD в печени. Введение транквилизаторов (например, резерпина или про-мазина), а также гипофизэктомия препятствуют последующему снижению содержания NAD до нормального уровня; механизмы этих эффектов не выяснены.



Метаболические превращения никотиновой кислоты.

Никотинамид подвергается в печени необратимому метилированию; в результате образуется N¹-метилникотинамид (разд. 22.3.2)—главный продукт метаболизма ниацина, экстретируемый с мочой. При введении в рацион крыс необычно больших количеств никотинамида наблюдаются ожирение печени и задержка роста, вероятно, в результате интенсивного использования метильных групп для образования N¹-метилникотинамида. Введение метионина предотвращает ожирение печени и нормализует скорость роста; введение холина также предотвращает ожирение печени, но не восстанавливает процесс роста. В печени

многих видов млекопитающих (включая человека) N'-метилникотинамид окисляется альдегидоксидазой (разд. 13.6.2) с образованием соответствующего 6-пиридона (рис. 50.3), который далее экскретируется с мочой. Мыши экскретируют также 2- и 4-пиридоны.

Введение ниаина собакам приводит к экскреции никотиноуровой кислоты (никотиноилглицина); у человека такое превращение не происходит. При введении ниаина птицы экскретируют диникотиноилорнитин, подобно тому как после введения бензойной кислоты они экскретируют орнитуровую кислоту (разд. 22.1.3).

Тригонеллин, находящийся в семенах многих растений, не способен заменять ниаин и количественно экскретируется при введении собакам, а также людям. Тригонеллин образуется в растениях в результате переноса метильных групп от S-аденозилметионина на никотиновую кислоту. В период прорастания семян тригонеллин деметилируется путем окисления его метильных групп (реакция аналогична окислительному деметилированию саркозина; разд. 22.3.2). Некоторые превращения, происходящие в ходе метаболизма ниаина и родственных соединений, суммированы на рис. 50.3

. Недостаточность

Заболевание пеллагрой обусловлено, вероятно, недостатком в рационе не только ниаина, но и ряда других компонентов комп-А'еКса витаминов В, а также белков. Заболевание характеризуется дерматитом на участках кожи, доступных солнечному свету; стоматитом; атрофией, болезненностью языка, который имеет фуксиноподобный цвет; нарушением пищеварения; диарреей. В тяжелых случаях могут наблюдаться геморрагии на протяжении всего желудочно-кишечного тракта. Часто наблюдается нарушение функции центральной нервной системы, приводящее к слабоумию.

Основные симптомы «черного языка» у собак, находившихся на радионе, состоявшем из кукурузы, связаны с нарушениями функций желудочно-кишечного тракта; у животных наблюдаются стоматит, гингивит, выделение густой, липкой слюны; сильная диаррея (с кровью) и значительное обезвоживание. Тяжесть этого синдрома можно значительно уменьшить путем парентерального введения больших количеств физиологического раствора. В этих условиях у собак в течение нескольких месяцев наблюдается потеря веса, развивается выраженная анемия, и они погибают, не обнаруживая, однако, характерных признаков «черного языка». В экспериментах на крысах не только бедный белком кукурузный рацион, но и несбалансированная смесь аминокислот или большое количество глицина также вызывают остановку роста или уменьшение веса; эти нарушения не развиваются при введении в рацион ниаина или триптофана. Таким образом, по крайней мере отчасти развитие ниациновой недостаточности связано с потреблением несбалансированной смеси аминокислот, содержащей неадекватное количество триптофана. Действительно, хотя пеллагра впервые была обнаружена у людей, в рационе которых главным злаком являлась кукуруза, это заболевание наблюдается также в тех областях Индии, где кукуруза не употребляется, а главный хлебный злак в питании—сорго. Было высказано предположение, что высокое отношение лейцина к изолейцину в этих злаках является существенным фактором, усиливающим проявления недостаточности. Принято считать, что 60 мг триптофана в радионе эквивалентны 1 мг ниаина.

Основная функция ниаина—участие в образовании NAD и NADH. Однако серьезных нарушений окислительных реакций в тканях животных с недостаточностью ниаина не наблюдалось, и в настоящее время не представляется возможным установить корреляцию между симптомами недостаточности и известными метаболическими функциями коферментов. У млекопитающих не были показаны участие NAD в репликации и репарации ДНК (разд. 25.3.2), а также роль мононуклеотида никотиновой кислоты в образовании диметилбензимидазольнуклеотида, входящего в состав витамина 812 (разд. 50.9.1); NAD является, однако, субстратом для реакции синтеза N'ОАН-ADP-рибозы, протекающей в тканях млекопитающих (разд. 25.3.5). Эти данные свидетельствуют о том, что ниацин или его производные могут участвовать и в других окислительных реакциях.

Потребность

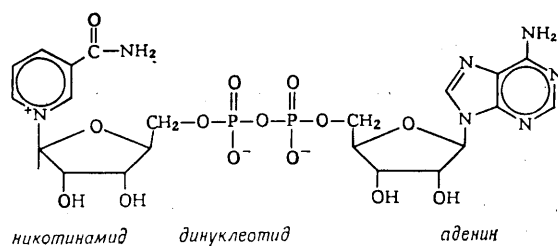
Установить потребность в ниацине весьма трудно. При оценке потребности необходимо учитывать состав диеты, а именно содержание кукурузы, содержание триптофана и ряда других компонентов. Без этих данных величины, приведенные в табл. 49.2, следует рассматривать как дозы, обеспечивающие «безопасность».

Ниацин широко распространен в тканях растений и животных; наиболее богатым источником являются мясные продукты, особенно печень. Молоко и яйца почти не содержат ниаина; антипеллагрическое действие этих продуктов обусловлено, вероятно, относительно высоким содержанием триптофана. При помоле зерна в процессе получения белой муки удаляется большая часть ниаина; эту потерю возмещают, добавляя синтетическое соединение. Зерна злаков, в том числе кукурузы, содержат неидентифицированные вещества, которые при обработке щелочью превращаются в ниацин: это обстоятельство имеет значение в питании населения ряда районов, например Мексики и Центральной Америки, в которых кукурузу по традиции обрабатывают известью, перед тем как выисать из нее лепешки.

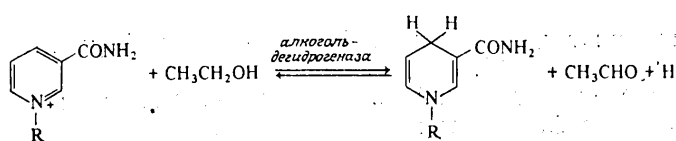
Никотинамидадениндинуклеотид (NAD⁺)

В комплексе с соответствующими апоферментами NAD⁺ (или NADH) катализирует самые разнообразные окислительно-восстановительные реакции: окисление (восстановление) спиртов (кетонов), α-гидроксикарбоновых кислот (α-кетокислот), α-ами-нокислот (α-аминокислот) и дигидрофлавинов (флавинов), а также окисление 3-гидроксиацил-CoA. Раньше для обозначения NAD⁺ использовалось сокращение DPN (дифосфопиридиннук-леотид), а до того CoI (кофермент I). Этот кофермент, обладающий противопелларгическим профилактическим действием, имеет высокую пищевую ценность и содержится во многих продуктах питания.

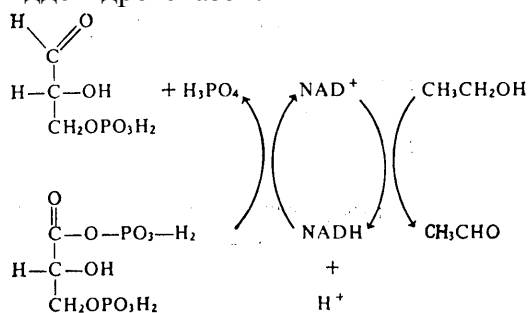
Молекула окисленной формы (NAD⁺), структура которой изображена ниже на схеме 8.1, содержит остатки никотинамида и адеина, а также два остатка рибозы и две фосфатные группы.



Окисление этанола под действием NAD⁺ (в присутствии фермента алкогольдегидрогеназы) приводит к образованию ацетальдегида и NADH, при этом от этанола на молекулу NAD⁺ переносятся два электрона и протон. В уравнении символом R обозначена остальная часть молекулы NAD⁺, изображенной на схеме. Видно, что NAD⁺ принимает непосредственное участие в реакции, расходуясь стехиометрически, причем имеет место *прямой перенос протона*. Изучению NAD⁺-зависимых ферментов посвящено огромное количество работ, что обусловлено не только важным значением этих ферментов, но и простотой методов слежения за протеканием катализируемых ими реакций. Окислительно-восстановительные реакции с участием NAD⁺ сопровождаются сильным изменением оптического поглощения на длине волны 340 нм, связанным с восстановлением пиридинового цикла в молекуле NAD⁺ до дигидропиридина.



Вслед за реакцией происходит повторное окисление NADH 1,3-дифосфоглицериновой кислотой, катализируемое флавиновым ферментом 3-фосфоглицеральдегиддегидрогеназой:

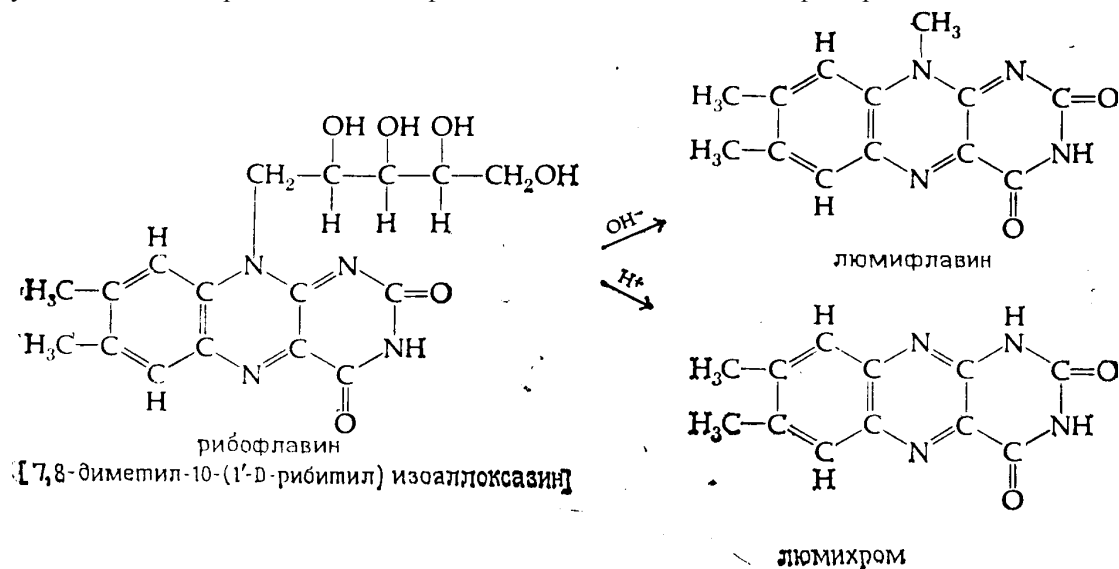


Для алкогольдегидрогеназы, протон переносится непосредственно от субстрата к коферменту, а перенос протона от растворителя отсутствует. При использовании избытка $\text{CH}_3\text{CD}_2\text{OH}$ происходит специфическое включение одного атома дейтерия в молекулу кофермента с образованием NADD . Это означает, что ферментативная реакция является стереоспецифической по отношению к NAD^+ (или NADH), в молекуле которого содержится асимметрический атом углерода.

Рибофлавин

Три направления исследований привели к идентификации рибофлавина: выделение флуоресцирующего вещества из сыворотки молока, (выделение из последней необходимого для крыс фактора питания, названного первоначально витамином B2, и выделение кофермента желтого фермента (разд. 13.2) из эритроцитов.

При облучении желтого фермента в щелочном растворе ультрафиолетом образуется производное желтого цвета *люмифлавин*. Поскольку *люмифлавин* был получен в тех же условиях из выделенного примерно в то же время витамина, то структурное родство витамина и протестической группы фермента стало очевидным. При облучении в кислой среде вместо *люмифлавина* образуется *люмихром*, обладающий сильной голубой флуоресценцией. Эти превращения показаны на схеме. Таким образом, коферментная функция рибофлавина была установлена одновременно с идентификацией его как необходимого фактора питания.



Биогенез и метаболизм

Синтез рибофлавина осуществляется всеми зелеными растениями, а также большинством бактерий и грибов, однако, насколько известно, он не происходит в организме животных. Для синтеза рибофлавина используются все атомы углерода и азота гуанозина (за исключением C-5 гуанозинового кольца).

На рис. 50.2 показан путь синтеза рибофлавина, который основан на данных биохимических исследований, проведенных на различных плесневых грибах, и генетических исследований, осуществленных на дрожжах. Степень фосфорилирования производного гуанозина (1) неизвестна. (Следует отметить, что в сходном процессе раскрытия кольца при образовании птеридино^v и фолиевой кислоты (разд. 50.8) субстратом, из которого удаляется атом C-8, всегда является гуанозинтрифосфат.)

Природа R_2 в производном 6-окси-2,4,5-триаминоптеридина (11) неизвестна. При замене аминогруппы на -кетогруппу образуется 5-амино-2,6-диокси-4-(O-рибитиламино)птеридин (IV): последний, так же как и III, накапливается в культурах, нуждающихся в рибофлавине мутантов дрожжей. Стадия или стадии, ведущие к образованию 6,7-ди-метил-8-

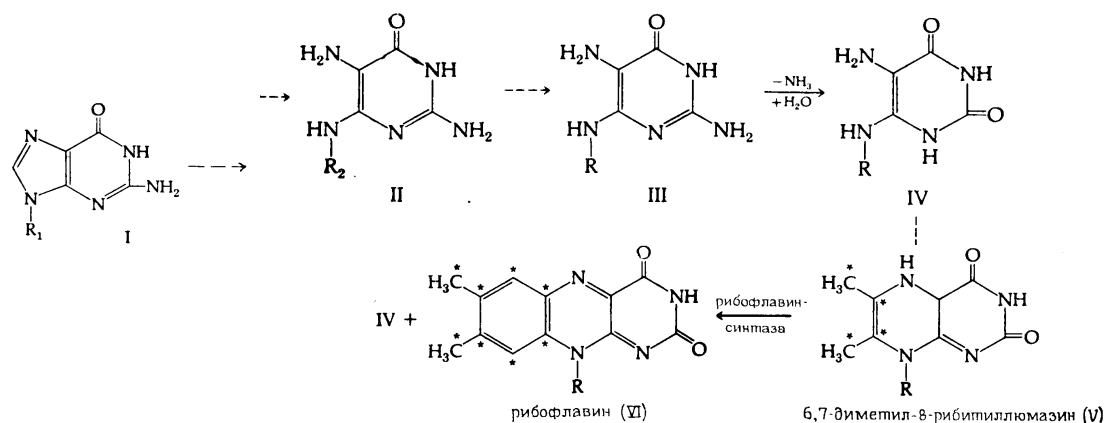
рибигиллюмазина (V), неизвестны, но могут, вероятно, включать реакцию с соединениями, соответствующими по уровню окисления диацетилю ($\text{CH}_3\text{—CO—CO—CH}_3$) или ацетиону ($\text{CH}_3\text{—CO—CHO—CH}_3$). Последний образуется некоторыми микроорганизмами в результате реакции 2-оксиэтильного производного тиаминпирофосфата (разд. 12.2.1) с ацетальдегидом.

Образование рибофлавина завершается рибофлавинсинтазой, которая имеет связывающие участки для двух молекул люмазина (V). В ходе необычной реакции диазиновое кольцо одной молекулы раскрывается, и четырехуглеродный фрагмент присоединяется ко второй молекуле люмазина, как это следует из распределения ^{14}C , указанного звездочками. Другой продукт реакции (IV)

сохраняется и вновь используется для образования люмазина (V).

Синтезы FMN и FAD из рибофлавина приведены в разд. 24.1.9. Все известные биологические функции рибофлавина осуществляются именно этими двумя коферментами. У человека поступивший с пищей рибофлавин экскретируется в основном либо в неизменном виде, либо в виде фосфорного эфира—рибофлавин-5'-фосфата.

Не все бактерии могут синтезировать рибофлавин, он является необходимым фактором роста для ряда видов микроорганизмов, в первую очередь *Lactobacilli*. Зависимость скорости образования этими организмами кислоты от количества витамина в среде является основой количественного метода определения рибофлавина. В простейшем методе определения измеряют флуоресценцию растворов рибофлавина.



Предполагаемая схема биосинтеза рибофлавина. В исходном производном гуанозина (I) состояние фосфорилирования заместителя (R_1) неизвестно. В соединении (II) не охарактеризован остаток сахара (R_2), не установлено также, фосфорилирован ли он. В производных III—VI—это D-рибитил. В образовании рибофлавина, катализируемом рибофлавинсинтазой, участвуют две молекулы люмазина (V). Звездочками показано распределение ^{14}C в предшественнике (V) и продукте (VI).

Недостаточность

Хотя нет данных о том, что недостаток рибофлавина является основным этиологическим фактором тяжелого заболевания человека, однако у больных пеллагрой, бери-бери и квашиоркором наблюдается также недостаток рибофлавина. Неосложненная недостаточность рибофлавина у человека характеризуется фукусиноно-добным цветом языка, образованием трещин в углах рта и на губах (кейлозис), себорейным дерматитом, особенно в области носогубных складок, и васкуляризацией рога виццы. По существу, все эти признаки могут наблюдаться и при других состояниях недостаточности, особенно тех, которые обусловлены недостатком яаина и железа; трудно поэтому установить, в какой мере наблюдаемые у человека симптомы обусловлены именно недостатком рибофлавина.

Несмотря на фундаментальную роль флавиновых ферментов, недостаток рибофлавина не проявляется в каких-либо характерных химических изменениях, которые можно было бы использовать для диагностики. Обычно концентрация FMN снижается быстрее, чем FAD, и концентрации обоих коферментов снижаются быстрее в печени и почках, чем в сердце и мозге. Изменение концентрации рибофлавина в эритроцитах является, вероятно, наиболее чувствительным показателем недостаточности. В норме концентрация рибофлавина в цельной крови составляет 20 мкг/100 мл.

Рекомендованная ежедневная доза рибофлавина была рассчитана по количеству рибофлавина, потребляемого и экскретируемого людьми, находящимися на полноценной диете. Кроме того, расчет

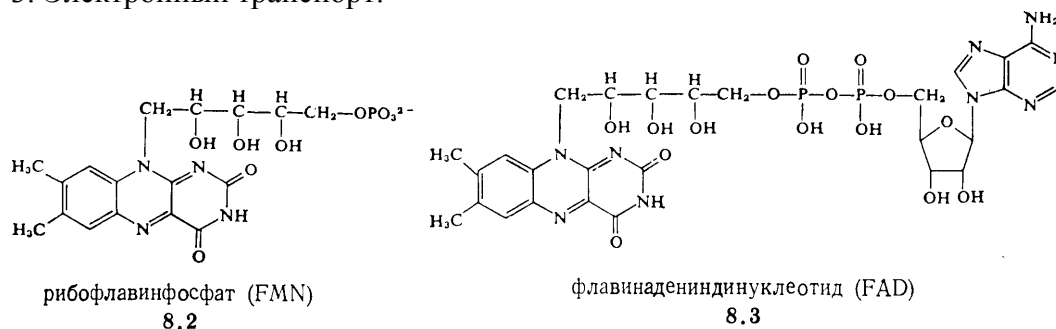
дозы для человека был проведен путем экстраполяции, учитывая соотношение рибофлавина и тиамин в рационе крыс. Нарушения, обусловленные недостатком рибофлавина, наблюдались у взрослых людей (добровольцев), которые получали рацион, содержащий 0,25 мг (или меньше) рибофлавина в расчете на 1000 ккал рациона.

Среди обычно употребляемых пищевых продуктов лишь небольшое число богато рибофлавином; в первую очередь следует отметить печень, дрожжи и пшеничные зерна; однако в диете жителей США большая часть рибофлавина поступает за счет молока и куриных яиц. Источником рибофлавина для препаративного получения обычно является культуральная жидкость некоторых плесневых грибов, которые продуцируют большое количество витамина.

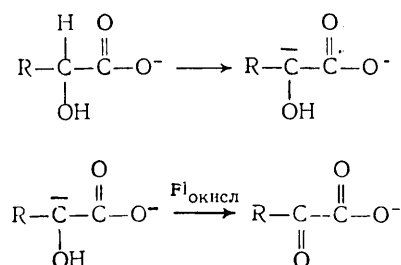
Флавиновые коферменты

Существуют два основных флавиновых кофермента—флавиномононуклеотид (FMN) и флавинадениндинуклеотид (FAD). Строение этих соединений показано на схемах. Флавинзависимые ферменты можно разделить на три группы в соответствии с выполняемыми ими функциями:

1. Биологическое дегидрирование.
2. Активация молекулярного кислорода и перенос одного или двух кислородных атомов от $^3\text{O}_2$ на молекулу субстрата.
3. Электронный транспорт.

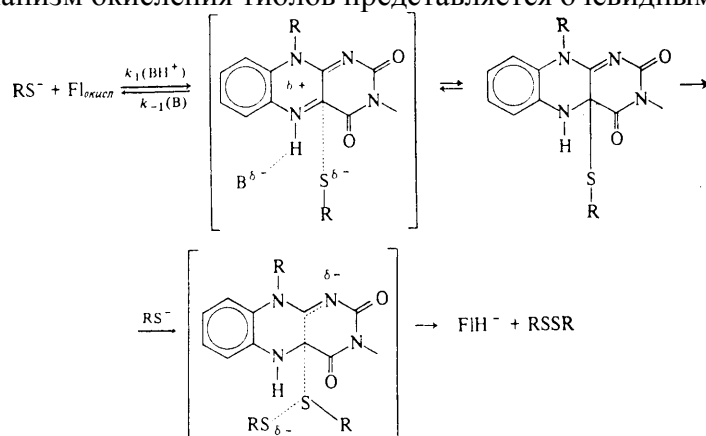


Несмотря на большое число работ, посвященных флавинзависимым ферментам и модельным флавинсодержащим системам, установлены лишь немногие из реакционных механизмов. Остановимся на некоторых из них. Окисление α -спиртовой группы до карбонильной, которое наблюдается, например, в ходе превращения молочной кислоты в пировиноградную под действием флавинзависимого фермента оксидазы молочной кислоты, протекает в две стадии:



На первой стадии под действием ферментативного общего основания лактат превращается в соответствующий анион, который затем окисляется до пировиноградной кислоты. Механизм стадии окисления остается неясным. В качестве объяснения был предложен одноэлектронный перенос, однако возможен также механизм с переносом гидрид-иона без участия радикалов.

Если механизм окисления α -спиртовой группы до карбонильной еще во многом неясен, то механизм окисления тиолов представляется очевидным:



Реакция протекает по механизму общего кислотного катализа. Образование 4а-мостикового тиолового аддукта было доказано спектроскопически на примере реакции, катализируемой липо-амиддегидрогеназой.

Как и в случае окисления спиртов, механизм активации фла-вина и отщепления кислорода до конца не установлен. Известно, однако, что кинетика N^5 -алкил-4а-гидропероксидного окисления удовлетворяет схеме:

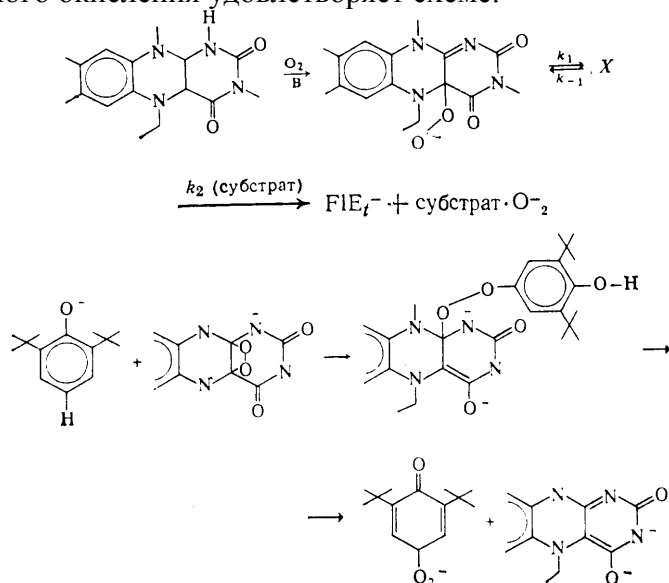


Схема (нижняя половина) отражает современные представления о строении промежуточного соединения X и механизме, в соответствии с которым оно осуществляет перенос кислорода. Недавно на основании модельных исследований для фермента глиоксалазы I был предложен ендиольный механизм.

Пируватоксидаза, которая использует в качестве кофактора FAD и тиаминпирофосфат, катализируя превращение пирувиноградной кислоты в уксусную, катализирует реакцию с нулевым порядком вплоть до степени конверсии 60%, что указывает на высокую эффективность флавина при внутримолекулярной реакции.

Окисление ионизируемых карбокислот под действием окисленной формы флавина происходит, согласно имеющимся данным, по свободнорадикальному механизму. Активация молекулярного кислорода восстановленным флавином осуществляется путем образования 4а-гидропероксифлавина, который -в

зависимости от условий и природа субстрата способен переносить один или 2 кислородных атома.

Путем ковалентной модификации гидролитических ферментов аналогами коферментов можно получить новые ферменты, обладающие окислительно-восстановительным действием. Среди изученных к настоящему времени полусинтетических ферментов такого типа наиболее эффективным является ковалентный флавин-папаиновый комплекс, получаемый путем ковалентной модификации сульфгидрильной группы Cys-25 в активном центре фермента 7-бромацетил-10-метилизаллоксазинном. Кинетическое исследование катализируемого флавопапаином окисления дегидроникотинамидов показало, что насыщение достигается при низких концентрациях субстрата, а величина ускорения более чем на порядок выше, чем в модельных системах. Результаты стереохимического изучения окисления меченых производных NADH свидетельствует о том, что отрыв протона под действием флавопапаина происходит преимущественно из положения 4А. На основании этих данных можно заключить, что весьма существенные изменения в активном центре фермента могут быть достигнуты без разрушения его каталитически активной конформации.

ВИТАМИН В12.

После того как Уипл установил, что введение печени в рацион анемичных собак усиливает гемопоэз, Мино и Мерфи показали в 1926 г., что большие количества печени являются лечебным средством при пернициозной анемии. В 1948 г. был выделен кристаллический витамин В12. Положительные гемшозитические реакции были получены при столь малых дозах, как 3 мкг витамина В12. Коферментная форма витамина была впервые выделена Баркером. Одна из коферментных форм витамина В12 (*кобамидный ко-фермент*) показана на рис. 50.7. Центральной структурой является

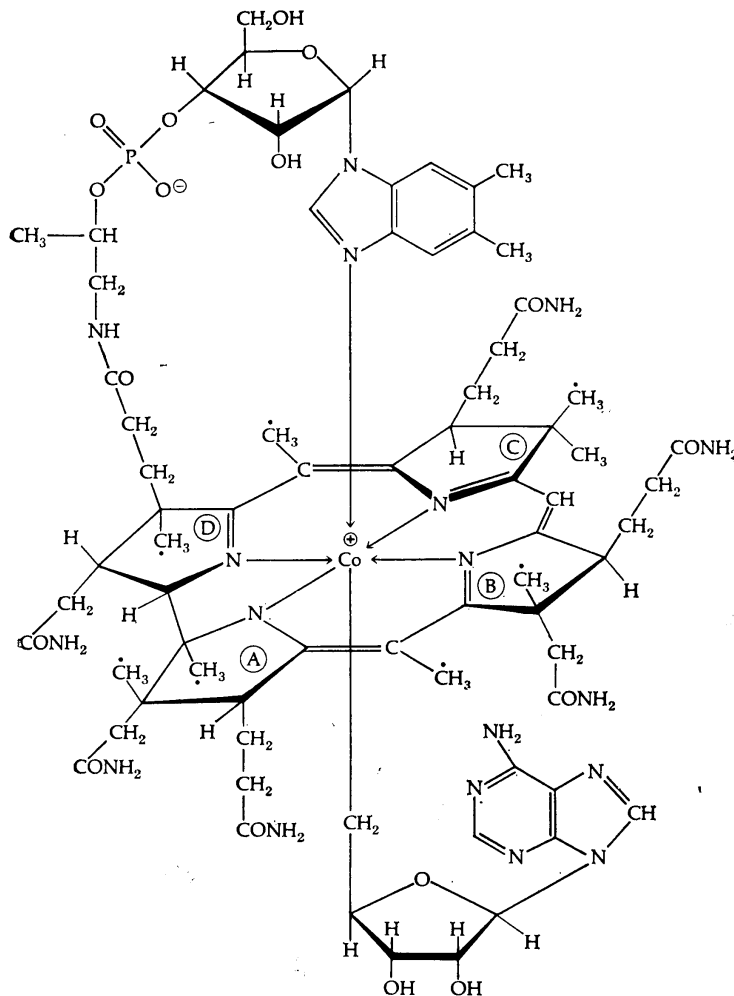
- порфириноподобная *корриновая* кольцевая система, в которой одна пара пиррольных колец связана между собой непосредственно, а не через метеновый мостик, как остальные пары колец и вообще пиррольные кольца в порфиринах. Кобальт находится в положении, которое в геме занимает железо. В приведенном кобамидном ко-ферменте кобальт двухвалентен. За исключением двух, все связи кобальта имеют координационный характер. Одна из координационных связей образуется с азотом молекулы 5,6-диметилбензимидазола, расположенного над плоскостью корринового кольца, которое связано α-гликозидной связью с рибозо-3-фосфатом. Последний в свою очередь образует сложноэфирную связь с о-1-амино-2-пропанолом, азот которого образует амидную связь с карбоксильной группой пропионовой кислоты, являющейся одним из заместителей корринового кольца. Снизу, под плоскостью коррино-вой системы, находится связанная с кобальтом молекула 5'-дезок-

- аденозина; следует отметить, что кобальт связан с 5"-углерод-ным атомом (это' редкий случай среди металлоорганических соединений, встречающихся в биологических системах). В меньших количествах встречаются кобамидные коферменты, в состав которых вместо 5,6-диметилбензимидазола входят либо аденин, либо 5-оксибензимидазол. Кобамидные коферменты могут быть выделены только в специальных условиях. В присутствии анионов, особенно

- цианида, и на свету кобальт окисляется до трехвалентного состояния, и 5'-дезоксаденозин замещается атакующим анионом. Реакция легко прослеживается спектрофотометрически, поскольку цианкобаламин характеризуется пиком поглощения при 360 нм, отсутствующим у коферментных форм. Цианкобаламин—это та форма, в которой обычно доступен витамин В12, однако ион цианида может быть замещен другими анионами, например гидроксидом, нитритом, хлоридом и сульфатом. Все эти производные одинаково активны.

Ни животные, ни высшие растения не могут синтезировать витамин В12. Источниками этого витамина являются почва, вода и кишечные микроорганизмы; к числу наиболее богатых

источников относятся осадок сточных вод (50 мкг/г), навоз (0,1 мкг/г) и высушенный речной ил (3 мкг/г). Витамин В12 необходим для роста многих микроорганизмов. Это является основой микробиологического метода определения витамина.

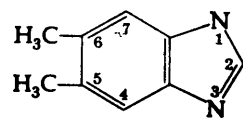


Структура 5,6-диметилбензимидазолкобамидного кофермента. Точкой показаны СН₃-группы, поступившие в процессе биосинтеза от S-аденозилметионина

Биосинтез

Синтезирующие витамин В12 *актиномицеты* образуют корриновую часть молекулы витамина из уропорфириногена III. Семь метильных групп поступают от S-аденозилметионина (рис. 50.7).

Эксперименты с использованием изотопов показали, что источником всех углеродных атомов 5,6-диметилбензимидазола является 7,8-диметил-10-рибитиллюмазин—предшественник рибофлавина



5,6-диметилбензимидазол

Источником C-2-углеродного атома служит C-1' рибитильного фрагмента люмазина. Рибофлавин является, по-видимому, обязательным интермедиатом в биосинтезе диметилбензимидазола.

Ферментативная реакция образования диметилбензимидазол-нуклеотида необычна в том отношении, что при переносе (по типу замещения) рибозофосфата от мононуклеотида никотиновой кислоты образуется α-N-гликозидная связь.

никотиновая кислота-β-N-5'-мононуклеотид + диметилбензимидазол →

→ никотиновая кислота + диметилбензимидазол- α -N-5'-нуклеотид

Опыты с мечеными соединениями показали, что D-1-амино-2-пропанол образуется из L-треонина, по-видимому, в результате декарбок্সилирования.

На завершающих стадиях синтеза В12 происходят фосфорилирование 5[^]-дезоксиаденозилкобаламида и конденсация с GTP; в результате образуется ООП-(5[^]-дезоксиаденозил)кобаламид. Последний соединяется с диметилбензимидазолнуклеотидом с образованием 5[^]-дезоксиаденозилкобаламинфосфата, при этом освобождается GMP; затем отщепляется фосфат и образуется кофермент В12

Недостаточность

По сравнению с тканями животных высшие растения являются бедным источником витамина. Принимая во внимание тот факт, что потребность в витамине очень незначительна (примерно около 1 мкг в сутки), а также его широкое распространение в пищевых продуктах и задержку в организме животных, пищевая недостаточность, по-видимому, не наблюдается у здоровых людей. Недостаточность наблюдали, однако, у людей, которые воздерживались от потребления продуктов животного происхождения (уровень В12 в их крови находился в пределах 40—200 пг/мл, в то время как в норме он составляет 200—300 пг/мл). Иногда у этих лиц развивается гематологический и неврологический синдром, характерный для пернициозной анемии, при отсутствии нарушений функции желудка, обычно являющихся причиной этого заболевания (см. ниже). *Пернициозная анемия* не является следствием недостаточного

• потребления витамина В12, она обусловлена («неполноценностью» желудочной секреции (разд. 32.5.3). Для эффективного всасывания поступающего с пищей витамина В12 необходим *внутренний* фактор желудочного сока (если только витамин не поступает в чрезмерно большом количестве). Действительно, фекалии пациентов с пернициозной анемией являются «богатым» источником витамина; кобаламин, принятый такими пациентами перорально, может быть количественно выделен из фекалий, если больные не получали одновременно внутреннего фактора. Это служит основой для важного диагностического теста на пернициозную анемию. Меченный ⁵⁷Со кобаламин с целью диагностики вводят перорально; у пациентов с ненарушенным всасыванием, в частности при спру (гл. 17.2.2), более 12% введенной радиоактивности экскретируется с мочой в течение 24 ч. Однако у пациентов с пернициозной анемией за такой же период с мочой экскретируется менее 3% меченого цианкобаламина. Если же этим больным давать меченый цианкобаламин вместе с внутренним фактором, то всасывание протекает нор-

• мально. Увеличение приема внутреннего фактора не может существенно усилить всасывание витамина в кишечнике по сравнению с тем, которое происходит у здоровых людей.

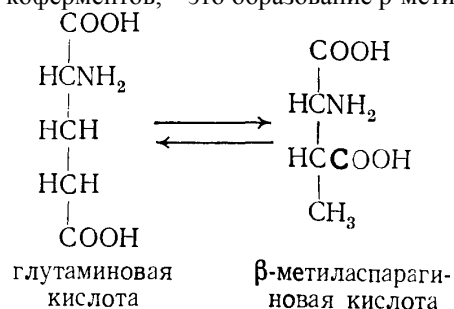
Внутренний фактор человека был описан выше (разд. 32.5.3); обкладочные клетки желез желудка являются источником как внутреннего фактора, так и HCl. Комплекс В12—внутренний фактор поступает в клетки слизистой подвздошной кишки; затем В12 медленно переходит в кровь портальной системы, в то время как внутренний фактор либо гидролизует, либо возвращается в просвет кишечника. Точная роль внутреннего фактора в ускорении всасывания В12 не ясна. В ткани пациентов с пернициозной анемией, бедные витамином В12, последний поступает из плазмы медленнее, чем в ткани здоровых людей; препараты внутреннего фактора ускоряют транспорт витамина В12 в клетки срезов печени *in vitro*.

Витамин В12 поступает в кровь портальной системы в комплексе с В12-связывающим белком (транскобаламином II, глобулином с M_r 35 000). Другой В12-связывающий белок, транскобаламин I (α-глобулин с M_r 121000), является переносчиком большей части В12 в плазме. Было высказано предположение, что транскобаламин I выполняет функцию депо, поскольку он связывает В12 более прочно, чем транскобаламин II, и при полном отсутствии транскобаламина I гематологических нарушений не наблюдается.

Трудности установления ежедневной потребности в цианкобаламине с очевидностью вытекают из того обстоятельства, что у лиц, подвергнувшихся операции почти тотальной гастрэктомии, у которых не происходит, следовательно, секреции внутреннего фактора, самые ранние признаки пернициозной анемии появляются только через 3—5 лет после операции. При достаточно высоком содержании витамина В12 в рационе (например, 200 мкг в сутки) он может всасываться в количестве, достаточном для предупреждения развития пернициозной анемии даже в отсутствие внутреннего фактора.

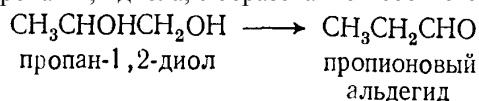
Метаболическая роль кобаламиных коферментов

Реакция, протекающая у *Clostridium tetanomorphum*, которая привела к открытию кобамидных коферментов,—это образование β -метиласпарагиновой кислоты из глутаминовой кислоты

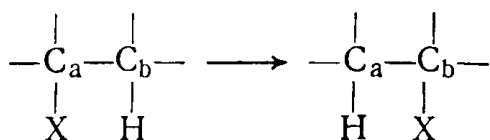


Аналогичной реакцией является взаимопревращение сукцинил-CoA и β -метилмалонил-CoA (разд. 17.5.9). В результате превращения атом С-2 метилмалонил-CoA становится атомом С-3 сукцинил-CoA, следовательно, мигрирует не углерод свободной COOH-группы, а, как указывалось выше, (разд. 17.5.9), целиком группа —CO—S—CoA.

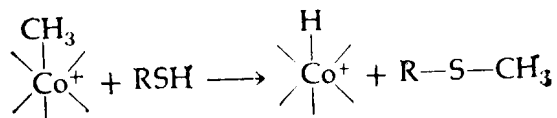
Кобамидные коферменты участвуют также в дисмутации вицинальных диолов, например пропан-1,2-диола, с образованием соответствующего альдегида:



Каждая из этих реакций протекает по схеме



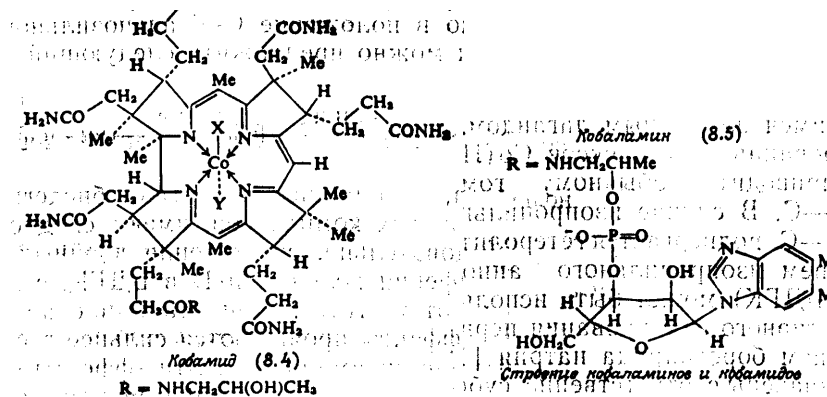
рассмотренных выше реакций X может быть соответственно : —CHNH₂—COOH, —CO—S—CoA или —OH. Ни в одном из случаев мигрирующий водород не обменивается с протонами среды; очевидно, что этот водород переносится сначала на кофермент, а затем возвращается к субстрату. Если, например, меченный тритием пропандиол и немеченый этиленгликоль инкубировать с ферментом и коферментом, то тритий равномерно распределится между образующимися пропионовым альдегидом и ацетальдегидом. Временной акцепторной группой является, вероятно, дезоксириби-тильный фрагмент дезоксиадекозина. Подобным же образом, по-видимому, функционирует кофермент В12 в системе, в которой происходит восстановление рибонуклеозидтрифосфатов до соответствующих дезоксирибонуклеозидтрифосфатов; образующийся в реакции карбанион затем легко восстанавливается тиоредоксином (разд. 24.1.7). По совершенно другому механизму должно происходить осуществляющееся при участии кофермента В12 метилирование гомоцистеина в метионин (разд. 20.4.1.4); в данном случае реактивная форма кофермента образуется в результате двухэлектронного восстановления, образуя структуру, известную как витамин В12_s, в которой кобальт одновалентен. В этой форме витамин легко алкилируется такими агентами, как метилиодид, образуя метил-В12. Это же производное, образующееся в соответствующих ферментных системах в результате переноса метильной группы от β -метил-Н4-фолату, является непосредственным алкилирующим агентом для гомоцистеина (разд. 21.4.29). Участие витамина В12 в этих реакциях объясняет способность крыс расти на рационах, в которых нет метионина, но имеются гомоцистеин (или гомоцистин) и витамин В12.



Следует отметить, что в настоящее время у млекопитающих известны только две реакции, в которых участвует В12-кофермент: метилирование гомоцистеина и превращение метилмалонил-CoA в сукцинил-CoA. Количество метилмалоната, экскретируемого с мочой, является важным показателем недостаточности витамина В12

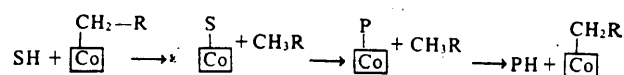
Кобамиды и кобаламины (витамины В12)

Кобамид и кобаламин представляют собой крупные кобальтовые комплексы, строение которых показано ниже, соответственно. В этих комплексах атом кобальта располагается в центре корриинового кольца, где удерживается за счет координационных связей с четырьмя атомами азота



. Кроме того, атом кобальта имеет один или два аксиальных лиганда :X и Y. Если в роли лиганда Y выступает основная бензимидазольная группа входящего в состав молекулы нуклеотидного фрагмента, то семейство соответствующих комплексов носит название кобаламинов. В кобамидах (первый рисунок) нуклеотидное основание удалено гидролизом, так что Y=H₂O.

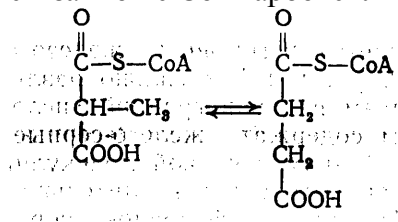
Одна из интересных реакций с участием витамина В12—это классическая органическая реакция превращения 1,2-пропандиола в пропионовый альдегид [10]. Обычно она осуществляется при воздействии серной кислоты, однако при использовании витамин В12-зависимого фермента ее удается провести в мягких условиях. Для этой окислительно-восстановительной реакции, протекающей по внутримолекулярному механизму, присутствия витамина В12 совершенно «необходимо, поскольку при его удалении путем обработки активированным углем фермент теряет активность, но» полностью восстанавливают ее при последующем добавлении новой порции витамина В12. При окислении *d,l*-1,2'-пропандиола-1-т в пропионовый альдегид в присутствии кобаламин-зависимого фермента диолдегидратазы атом трития переносится на молекулу кофермента, причем тритиевая метка попадает исключительно в положение С-5' аденозильного остатка. На этом основании можно предложить следующий механизм:



Атомы кобальта, входящие в состав бисдегидрокоррина (БДГК) и корриноидных комплексов, имеют сходное электронное строение. Следовательно, сопряжение двойных связей, находящихся на периферии колец А и D в БДГК, с внутренними двойными связями отсутствует. При реакции с алкилгалогенидами стерические эффекты проявляются сильнее в случае Со (I) (БДГК), чем в случае витамина В12s. Эти эффекты обусловлены взаимодействием 1,3-диаксиального типа между ангулярными метильными группами БДГК, находящимися в положениях С-1 и

C-19, и приближающимся алкильным лигандом. Фотолиз метилированных и этилированных комплексов Co (III) (БДГК) в анаэробных условиях приводит к обычному гомолитическому расщеплению связи Co—C. В случае изопропильных производных, напротив, связи Co—C. подвергается гетеролитическому расщеплению с образованием изопропильного аниона и Co (III) (БДГК). Комплекс Co(БДГК) может быть использован в качестве катализатора селективного гидрирования первичных алкил-галогенидов под действием борогидрида натрия]. Символами SH, PH и CH₃R обозначены соответственно субстрат, продукт и 5-дезоксадециозин. В ходе этой реакции атом водорода отщепляется из положения C-1 в молекуле ...пропандиола и переносится на кофермент, где присоединяется к углеродному атому C-5' и становится эквивалентным по крайней мере одному, а возможно и обоим уже имеющимся там водородным атомам. В результате кофермент переходит в восстановленную форму, а молекула субстрата окисляется. На следующей стадии происходит перенос атома водорода от восстановленного кофермента на промежуточный продукт окисления субстрата с образованием гидратированного пропионового альдегида. - . . .

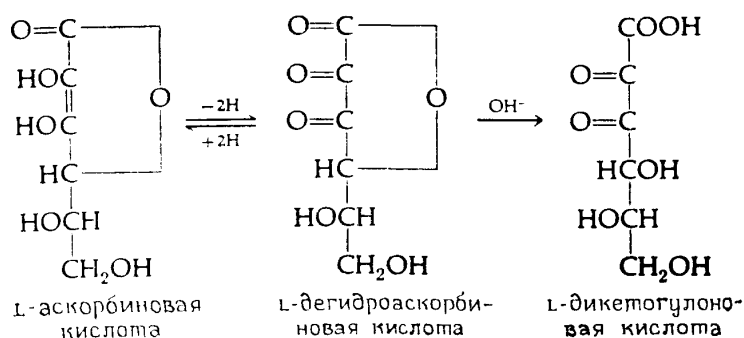
Другая важная реакция, протекающая с участием витамина B12 (и соответствующего фермента), — изомеризация метилмалонил-CoA в сукцинил-CoA, эквивалентная внутримолекулярной органической реакции, 1,2-переноса связанной с CoA карбоксильной группы.



Аскорбиновая кислота (Витамин С)

Наиболее характерными химическими свойствами аскорбиновой кислоты (ранее называвшейся витамином С) являются ее кислотность, обусловленная енольным водородом при C-3, и легкое окисление до дегидроаскорбиновой кислоты, катализируемое ионами металлов (в небольших концентрациях). Дегидроаскорбиновая кислота нестабильна в щелочной среде, в которой происходит гидролиз лактонного кольца с образованием дикетогулоновой кислоты.

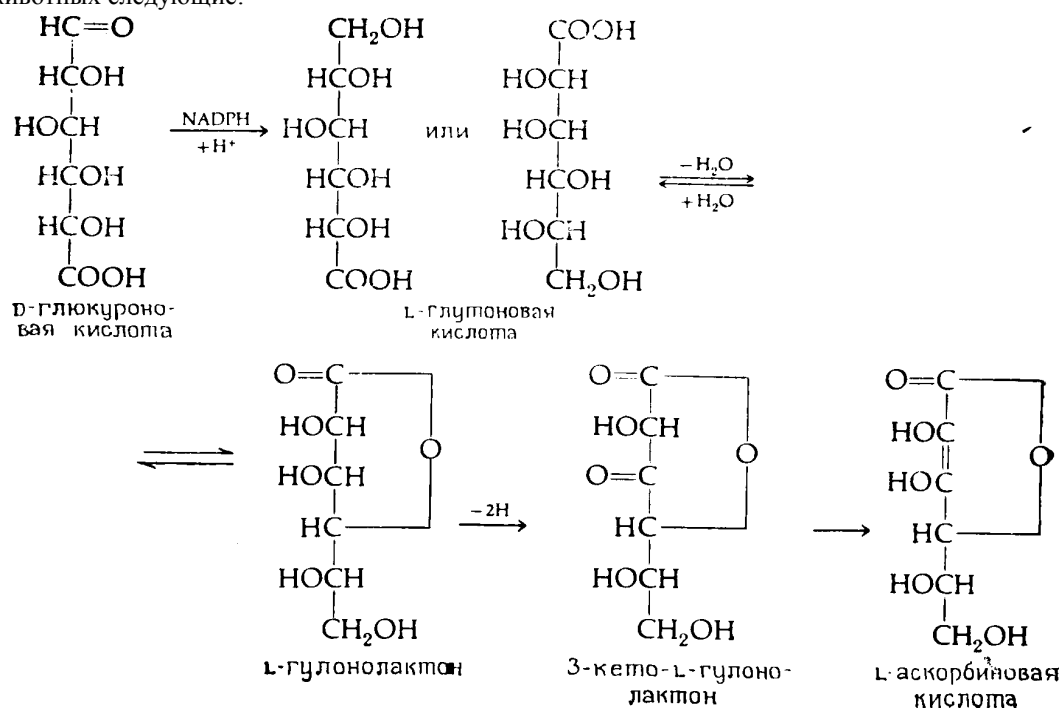
Дегидроаскорбиновая кислота легко восстанавливается такими агентами, как HgS, цистеин и глутатион. Восстанавливающая способность аскорбиновой кислоты является основой большинства количественных аналитических методов ее определения (например, титрование красителем 2,6-дихлорфенолиндофенолом).



Биогенез и метаболизм

Аскорбиновая кислота относится к числу незаменимых компонентов пищи для человека, других приматов, а также морских свинок, но может синтезироваться у всех других видов животных,

которые были исследованы в этом отношении. Главные стадии синтеза аскорбиновой кислоты у животных следующие:



Следует отметить, что обе формы L-гулоновой кислоты, получаемой из D-глюкуроновой кислоты,—по существу одна структура, повернутая на 180°. Приматы и морские свинки не способны пре-вращать гулонолактон в аскорбиновую кислоту. Введенная морским свинкам ¹⁴C-аскорбиновая кислота легко окисляется до ¹⁴C02, вто время как у человека обнаружены только ¹⁴C-дикетогулонат и ¹⁴C-оксалат. Окисление до дегидроаскорбиновой кислоты катализи-руется специфич.еской медьсодержащей аскорбатоксидазой, содержащейся в растениях, но не в тканях животных

Метаболическая роль

Аскорбиновая кислота необходима для различных биологических окислительных процессов. Витамин активирует окисление /г-оксифенилпировиноградной кислоты гомогенатами печени крысы (.разд. 23.2.11), однако другие восстанавливающие агенты столь же эффективны, а действие частично очищенного препарата фермента не зависит от аскорбиновой кислоты. В присутствии кислорода растворы, содержащие ферро-ионы и аскорбат, катализируют гидроксирование ряда соединений. Так, из п-оксифенилуксусной кислоты образуется гомогентизиновая кислота, а из триптамина— 5-окситриптамин (серотонин). Как указывалось выше-(разд. 38.1.2), гидроксирование остатков пролина и лизина при синтезе коллагена и гидроксирование у-бутиробетаина, приводящее к образованию карнитина (разд. 22.3.1), также катализируются ферментами, требующими Fe²⁺, а-кетоглутарата и аскорбата.

Аскорбиновая кислота ускоряет удаление железа из ферритина, это очень важно для предотвращения развития анемии, поскольку содержание железа в плазме анемичных, больных цингой обезьян составляет лишь 30% нормального уровня. Дегидроаскор-биновая кислота может быть ферментативно восстановлена в животных тканях; при этом восстанавливающим агентом выступает глутатион. В животных тканях аскорбиновая кислота находится как в свободной, так и в связанной формах; при недостатке витамина в пище еще до того, как происходит уменьшение содержания в тканях связанной формы аскорбиновой кислоты, наблюдается снижение содержания ее свободной формы.

50.12.3. Недостаточность

Проявление недостаточности аскорбиновой кислоты обусловлено главным образом нарушениями функции мезенхимальных клеток. Цинга у взрослых характеризуется болезненностью и разрыхлением десен, расшатыванием зубов, нарушением целостности капилляров (сопровождающимся подкожными кровоизлияниями), а также отеками, болью в суставах, анорексией и анемией. Это заболевание редко встречается в западных странах. Однако иногда цинга развивается у детей в результате неправильного питания. Наблюдается ряд

симптомов — болезненность и опухание суставов, ограничение движений, точечные кровоизлияния, неправильное развитие зубов, замедленное развитие скелета с характерным поражением костей, нарушение заживления ран и анемия. Основой всех этих изменений, за исключением анемии, является нарушение образования коллагена и хондроитинсульфата. Образующийся коллаген оказывается обедненным оксипролином. При тяжелой цинге нарушается образование основного вещества соединительной ткани, происходит деполимеризация и растворение основных структур этой ткани, что приводит к вскрытию старых залеченных ран. Анемия при цинге может быть связана с нарушением способности использовать запасы железа, а также с вторичными нарушениями метаболизма фолиевой кислоты.

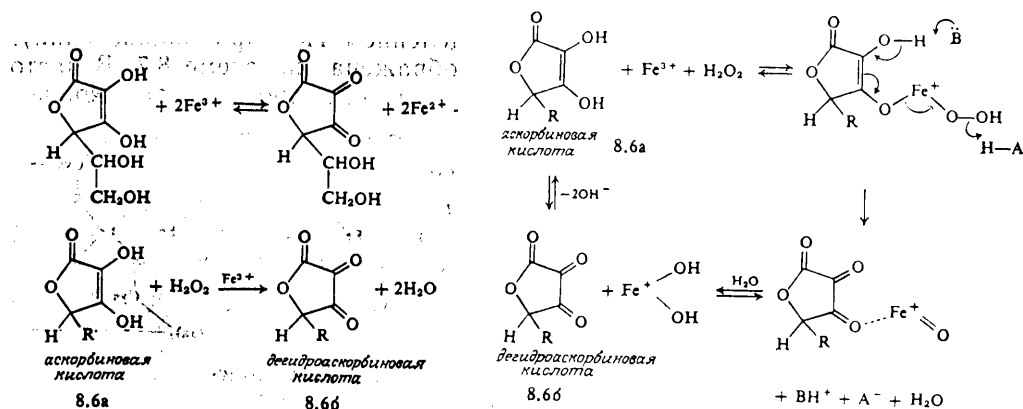
Проявления недостаточности аскорбиновой кислоты у человека были изучены в контролируемых условиях. Через 17—20 недель появлялись увеличенные ороговевшие волосяные фолликулы, еще через несколько недель они становились геморрагическими. Первые поражения появлялись на ягодицах и икрах, позже они распространялись по всему телу. Через 26 недель становились отчетливыми кровоизлияния в деснах, снижалась скорость заживления ран. Концентрация аскорбиновой кислоты в плазме в течение немногих недель снижалась с 0,55 мг до менее чем 0,05 мг (на 100 мл), а содержание ее в лейкоцитах медленно снижалось с 16 мг до менее чем 1 мг (на 100 мл). В общем цинготные проявления становилось заметными примерно через 1 месяц после того, как концентрация витамина в лейкоцитах снижалась до низшего уровня. Доза аскорбиновой кислоты 10 мг/сут предупреждает рассмотренные выше изменения; при приеме пациентами, не имеющими признаки цинги, 20 мг витамина в сутки полное исчезновение проявлений болезни происходит в течение 3 недель. Наиболее высокие рекомендованные дозы (табл. 47.2) предусматривают, однако, не только предупреждение проявления цинги, но и обеспечение хорошего состояния здоровья. По-видимому, рекомендованные в табл. 47.2 дозы обеспечивают достаточную «безопасность» организма.

В норме концентрация аскорбиновой кислоты в плазме человека составляет 0,7—1,2 мг/100 мл. Эта концентрация отражает поступление витамина с пищей; она, по-видимому, не указывает на границу потенциальной недостаточности, поскольку концентрации ниже 0,5 мг/100 мл нередко встречаются у лиц, потребляющих ежедневно 30 или 40 мг аскорбиновой кислоты, т. е. количество, которое является адекватным для здоровья человека. В опытах по насыщению организма витамином вводили дозы порядка 500 мг (в сутки); у здоровых людей 50% дозы экскретируется за 24 ч, в то время как у пациентов с большой недостаточностью экскретируется лишь очень небольшая доля введенного витамина. В норме у взрослых людей суммарный пул аскорбата составляет ~1,5 г (как это следует из результатов исследований с ¹⁴C-аскорбатом). Пул такой величины поддерживается при потреблении ежедневно 30 мг аскорбата. Нет достаточно убедительных данных о том, что значительно большие дозы оказывали благоприятное физиологическое действие.

Свежие фрукты и овощи являются важными пищевыми источниками аскорбиновой кислоты. Кипячение, консервирование и некоторые другие процедуры приготовления пищи могут разрушить часть аскорбиновой кислоты в продуктах. Поэтому данные таблиц, показывающих содержание аскорбиновой кислоты в различных пищевых продуктах, следует использовать с учетом способа приготовления пищи. В общем овощи с зелеными листьями — прекрасный источник аскорбиновой кислоты; относительно большие количества ее содержит свежий картофель. Поскольку картофель потребляется в большом количестве, он служит важным источником витамина в пище населения западных стран. Высокое содержание витамина во фруктах цитрусовых растений хорошо известно. Некоторое количество аскорбиновой кислоты может быть потеряно при получении консервированных фруктовых соков, однако она хорошо сохраняется в замороженных фруктах. Содержание аскорбиновой кислоты в мясных продуктах относительно низкое, и при варке мяса витамин разрушается.

АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА КАК КОФЕРМЕНТ.

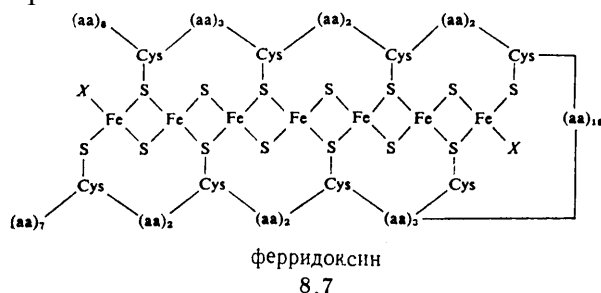
Аскорбиновая кислота обладает свойствами сильного восстановителя. При окислении она превращается в дегидроаскорбиновую кислоту (см. Ниже). Для реакции предложен механизм, в котором ион металла, обеспечивая свободный обмен электронами, играет роль связующего звена между окислителем и восстановителем.



Ферридоксин

Ферридоксин является негемовым железосодержащим коферментом. Он участвует в таких сильно различающихся процессах, как метаболизм пировиноградной кислоты и фиксация азота. Ферридоксины содержат железосерные группировки; они присоединены к белкам с низкой молекулярной массой и обладают сильным отрицательным окислительно-восстановительным потенциалом.

Источником ферридоксинов могут служить многие зеленые растения, а также некоторые фотосинтезирующие и другие бактерии. В состав молекулы ферридоксинов входит от 4 до 7 атомов железа в зависимости от источника выделения (например, ферридоксин, получаемый из *Clostridia*, содержит 7 атомов железа), которые, по-видимому, соединены с равным числом цистеиновых остатков белка. Кроме того, молекула ферридоксина содержит столько же атомов серы, неустойчивых к действию кислоты (в виде неорганического сульфида или очень нестабильных органических группировок, разлагающихся с выделением H_2S при подкислении). Модель активного центра изображена на схеме. В настоящее время известны и хорошо изучены простые неорганические модели этой железо-серной системы, сходные с рассматриваемыми ко-ферментами как по структуре, так и по электронному строению



Для выяснения последовательности стадий и идентификации промежуточных соединений методами спектрофотометрии и 1H -ЯМР-спектроскопии были изучены две реакционные системы I и II, в которых из простых реагентов образуется имеющий биологическое значение комплекс $[Fe_4S_4(SPh)_4]^{2-}$. Мольные соотношения реагентов в системах I и II составляют $PhS^- : FeCl_3 : S = 3,5:1:1$ и $>5:1:1$ соответственно, а в качестве реакционной среды используются ацетонитрил и метанол. В системе I первое идентифицируемое промежуточное соединение представляет собой адамантаноподобный комплекс $[Fe_4(SPh)_{10}]^{2-}$, который в обоих растворителях взаимодействует с серой по принципу «все или ничего» с образованием I. Других

промежуточных продуктов в этой системе не обнаружено. В системе II вначале образуется тетраэдрический комплекс $[\text{Fe}(\text{SPh})_4]^{2-}$, который затем, реагируя с серой в среде ацетонитрила, превращается в двухъядерный кластер $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{SPh})_4]^{2-}$?. Таким образом, система II представляет собой первый пример процесса, приводящего к образованию четырехъядерного кластера через промежуточные одно- и двухъядерные комплексы. В среде метанола образование I из исходных реагентов протекает количественно, что было показано спектрофотометрическими измерениями.

Коферменты, не обладающие окислительно-восстановительными свойствами

Существует большое число коферментов, не обладающих окислительно-восстановительными свойствами. К ним относятся

- 4'-фосфопантотеин
 - тиаминпирофосфат (витамин В1),
 - пиридоксальфосфат (витамин В6),
 - фолиевая кислота (птероилглутаминовая кислота),
 - биотин,
 - S-аденозилметионин,
 - витамины А, D, Е и К,
 - кофермент А,
 - ионы металлов, такие, как Zn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} и Co^{2+} (большинство из которых неспособно выступать в роли эффективных переносчиков электронов),
 - «ацилпереносящий белок»,
 - аденозинмоно-, ди- и трифосфат,
 - глутатион и другие.
- Большинство этих коферментов рассматривается ниже.

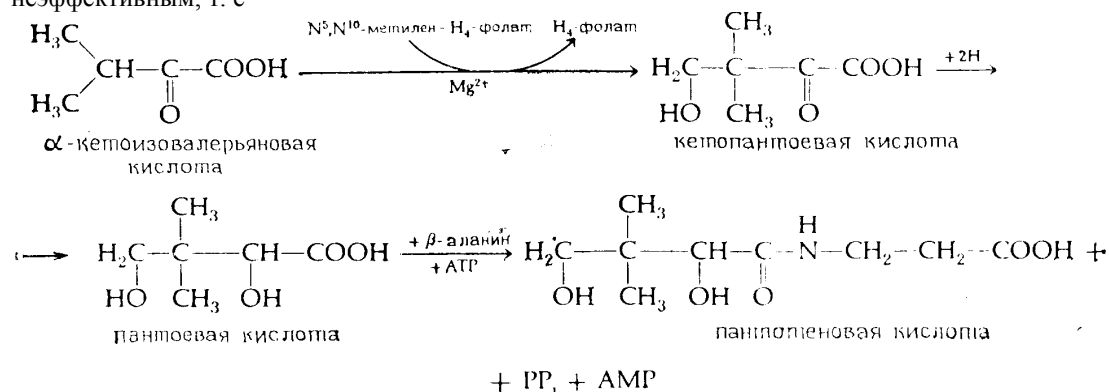
Пантотеновая кислота

Этот витамин был впервые обнаружен Р. Д. Уильямсом и его сотрудниками как компонент комплекса «биос». Значение его в питании животных было установлено Джуксом, Вули и их сотрудниками



Метаболизм

Пантотеновая кислота синтезируется зелеными растениями и большинством микроорганизмов по биосинтетическому пути, приведенному на рис. 50.4. Синтез начинается с α-кетоизовалерьяновой кислоты, которая является также непосредственным предшественником валина; (β-аланин образуется при декарбоксилировании аспарагиновой кислоты или путем переаминирования из малонового полуальдегида (разд. 22.5.2). Пероральное введение пантотеновой кислоты вместе с β-аланином животным с недостаточностью пантотеновой кислоты оказывается неэффективным, т. е.



Биосинтез пантотеновой кислоты

не устраняет симптомов недостаточности. Поскольку при пероральном введении для обеспечения минимальной потребности в витамине требуется такое же количество пантотената, как и при парентеральном, можно сделать заключение, что амидная связь устойчива к гидролизу в желудочно-кишечном тракте. Метаболические

функции пантотеновой кислоты связаны с вхождением ее в состав кофермента А и ацилпереносящего белка (АПБ). В настоящее время известно более 70 ферментов, при функционировании которых используются производные СоА или АПБ.

Дегградация молекулы СоА изучалась главным образом в опытах с препаратами печени и почек крысы и почек лошади. В результате превращений образуются пантотеновая кислота и цистеамин; последний превращается в гипотаурин (разд. 23.2.7.2).

дефосфо-СоА

СоА → дефосфо-СоА → 4'-фосфопантетеин → пантотеновая кислота + цистеамин

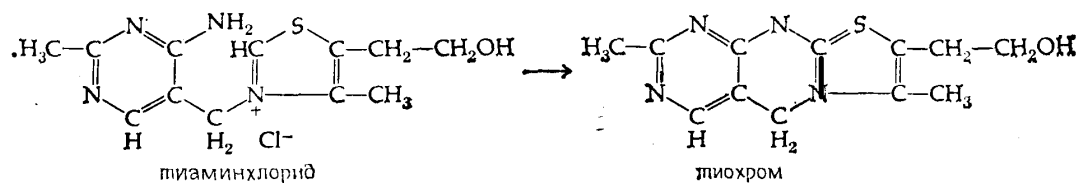
Недостаточность

Необходимость пантотеновой кислоты в рационе человека не установлена, однако она является незаменимым фактором питания для всех исследованных видов животных. У крыс при недостатке пантотеновой кислоты наблюдается задержка роста, нарушение функции размножения, поседение волос (у черных крыс) и геморрагический некроз коры надпочечников, приводящий к ее гипотензивной функции. Продолжительность жизни крыс при недостаточности пантотеновой кислоты может быть значительно увеличена путем введения адекватных количеств соли или кортикостероидов. Эти наблюдения согласуются с данными об увеличении у нормальных животных синтеза СоА из свободной пантотеновой кислоты в коре надпочечников после введения АСТН и об уменьшении на 50% стимулируемой АСТН секреции кортикостерона у крыс с недостаточностью пантотеновой кислоты. Незадолго до гибели крыс с недостаточностью пантотеновой кислоты печень их содержит только 50% (по сравнению с нормой) СоА и утрачивает способность утилизировать пируват и ацетилировать п-аминобензойную кислоту. Распространение пантотеновой кислоты сходно с таковым других витаминов группы В; дрожжи, печень и куриные яйца относятся к числу наиболее богатых источников. Важными источниками являются мясные продукты и молоко, учитывая концентрацию витамина в этих продуктах и потребляемое количество последних. Большинство фруктов и овощей относятся к числу относительно бедных источников. Адекватная ежедневная доза витамина составляет около 5—10 мг.

Тиаминпирофосфат (витамин В₁)

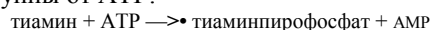
Тиаминпирофосфат, широко распространенный в живых организмах, был впервые обнаружен как компонент питания, необходимый для предупреждения полиневрита у птиц и болезни бери-бери у человека.

Структура тиамина, впервые выделенного в кристаллической форме Янсенем в Голландии и Виндаусом в Германии, была установлена Р. Р. Вильямсом и его коллегами. Тиамин легко превращается в *тиохром* при действии мягких окислителей; голубая флуоресценция тиюхрома служит основной метод определения концентрации тиамина. Тиамин относительно стабилен в кислой среде, но быстро инактивируется при нагревании в нейтральных или щелочных растворах:



Биогенез

Синтез тиамина в экстрактах пекарских дрожжей из 4-амино-5-оксиметил-2-метилпиримидина и 5-(p-оксиэтил)-4-метилтиазола показан на рис. 50.1. *Оксиметилпиримидинкиназа*, *оксиметилпиримидинфосфокиназа*, *тиазолкиназа* и *тиаминфосфатпирофосфорилаза* катализируют реакции, обозначенные на рисунке цифрами от 1 до 4 соответственно. Фосфатаза катализирует отщепление фосфата, завершая синтез тиамина. Тиаминпирофосфат, коферментная форма тиамина, синтезируется путем прямого переноса пирофосфатной группы от АТР:



4-Аминоокси-метилпиримидин образуется из 5-аминоимидазол-рибонуклеотида, который является также предшественником пуриновых нуклеотидов. Биогенез тиазола неизвестен.

Роль тиаминпирофофата в окислительном декарбоксилировании α -кетокислот и в транскетолозной реакции уже обсуждалась ранее (разд. 12.2.1 и 14.8)

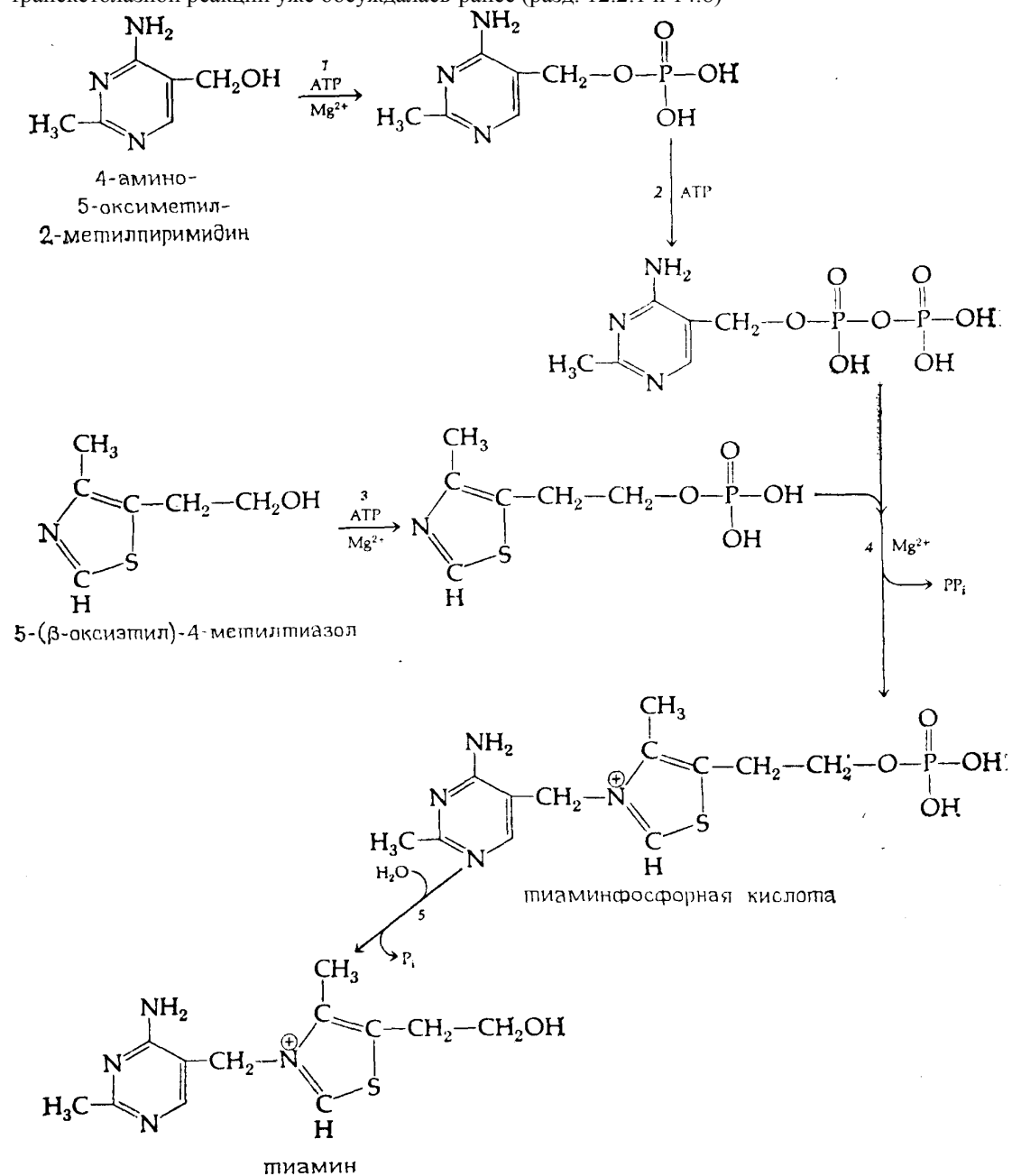


Рис. 50.1. Биосинтез тиамина.

Метаболизм

После введения животным тиамина часть его экскретируется с мочой в неизменном виде, а другая часть экскретируется в виде пирамидина (4-амино-5-оксиметил-2-метилпиримидин). Последний образуется из тиамина, по-видимому, в результате действия *ти-*аминазы, находящейся в микроорганизмах кишечника, а не в тканях хозяина. В норме человек потребляет ежедневно от 0,5 до 1,5 мг, а экскретирует с мочой от 50 до 250 мкг тиамина. На потребность в тиамине влияет степень активности тиаминазы.

Недостаточность

Все животные, за исключением жвачных, нуждаются в поступлении тиамина в составе рациона. «Сухая» и «влажная» формы бери-бери у человека уже давно известны как эндемические заболевания в областях, в которых основным продуктом питания является полированный рис. Сухая форма заболевания характеризуется быстрой потерей веса, атрофией

мышц, выраженными периферическими невритами и мышечной слабостью. Глубокие рефлексы утрачиваются, могут наблюдаться нарушения чувствительности, состояние невроза, страха, нарушения интеллекта. Размеры сердца увеличиваются. При влажной форме бери-бери обширные отеки могут маскировать мышечную атрофию. Быстро развиваются признаки острой сердечной недостаточности. При этой форме заболевания очень эффективно действует введение тиамин— улучшается деятельность сердца, наблюдается обильный диурез. В экономически развитых странах тиаминная недостаточность встречается редко; она наблюдается, однако, у хронических алкоголиков при синдроме Вернике; наблюдаемые в этом случае нарушения сердечной и дыхательной функций связаны с геморрагиями в области третьего и четвертого желудочков мозга; эти поражения сходны с теми, которые возникают у голубей при тиаминной недостаточности и у лисиц при параличе Чапмена. Характерным признаком недостатка тиамин у птиц является запрокидывание головы (опистотонус), которое быстро проходит при введении небольших количеств тиамин.

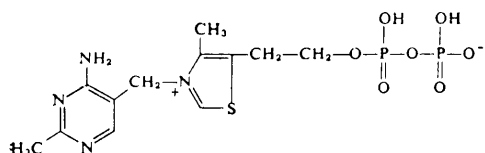
Лабораторная диагностика тиаминной недостаточности не совершенна. Важным показателем является выделение ^{14}C при инкубации 2- ^{14}C -глюкозы с эритроцитами, в которых образуется из глюкозы только в результате реакций фосфоглюкокатного пути. При тиаминной недостаточности образование ^{14}C из 1- ^{14}C -глюкозы не нарушается, но атом $C-2$ может появиться в составе ^{14}C только при функционировании всего комплекса реакций, включая зависимую от тиаминпирофосфата транскетотазную реакцию (разд. 14.8). Как сообщалось, активность транскетотазы в эритроцитах является наиболее характерным показателем функционального уровня тиамин у человека.

Распространение

Поверхностные слои семян особенно богаты тиамин. Хлеб из непросеянной муки является прекрасным источником витамина, в то время как обычный белый хлеб оказывается бедным источником, поскольку большая часть тиамин удаляется в процессе помола. Обогащение пшеничной муки тиамин восстанавливает первоначальное содержание тиамин и при значительном количестве потребляемого хлеба обогащенный хлеб служит важным источником тиамин в рационе. Большинство тканей животных также является важным источником тиамин, особенно богаты им продукты из свинины. Концентрация тиамин в молоке относительно невелика; оно, однако, оказывается важным пищевым источником этого витамина, если потребляется в большом количестве, как это имеет место в США. Как показано в табл. 49.2, рекомендуемое ежедневное потребление тиамин составляет примерно 0,5 мг/1000 ккал диеты. При этом предполагается питание нормальной разнообразной пищей. Потребность в тиамине изменяется в зависимости от состава диеты. Липиды и белки проявляют тиаминсберегающее действие. Высказано предположение, что сберегающее действие липидов отражает меньшую потребность в тиамине в процессах метаболизма липидов. Однако содержание тиаминпирофосфата в тканях животных, находившихся на богатой липидами диете, значительно выше, чем у животных, получавших диету, богатую углеводами; можно, следовательно, полагать, что липиды каким-то образом препятствуют разрушению тиамин.

Обследования состояния питания в США показывают, что большинство населения получает такое количество тиамин, которое находится на границе минимума; лишь небольшая доля взрослого населения потребляет более 0,8 мг витамина в сутки, большинство же— существенно меньше. Поступление тиамин может быть относительно легко увеличено при включении в рацион гороха, фасоли, хлеба из непросеянной муки или обогащенного витамином, а также за счет совершенствования процесса приготовления пищи. При продолжительной варке гороха и фасоли в содовом растворе разрушается до 60% исходного тиамин; чрезмерно длительная варка приводит к выходу водорастворимого тиамин из многих пищевых продуктов.

Структура этого кофермента показана на схеме, из которой видно, что его молекула содержит два гетероцикла—пиримидиновый и тиазолиевый. В кристаллическом состоянии витамин В₁ был получен впервые в 1925 г. Он принимает участие в самых разнообразных ферментативных реакциях, таких, как окислительное и безокислительное декарбоксилирование α -кетокислот и образование α -кетолов (ацилоинол). Более подробно механизм его действия рассмотрен в гл. 7.

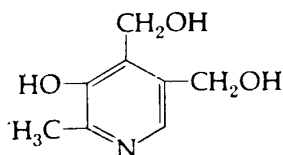


тиаминпирофосфат

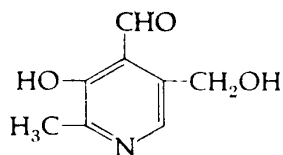
Вначале катализируемого тиамином декарбоксилирования пировиноградной кислоты образуется метил-2-гидрокси-2-(2-тиамин)этилфосфонат (фосфалактилтиамин) — фосфонат-ный аналог 2-(1-карбокси-1-гидроксиэтил)тиамина. Структурное исследование фосфалактилтиамина показало, что тиаминовая часть его молекулы находится в S-конформации, характерной для других С (2)-замещенных тиаминов. Однако в отличие от ранее изученных производных фосфалактильный фрагмент находится в такой конформации, что его гидроксильная группа располагается вблизи мостиковой метиленовой группы, а не атома серы тиазолиевого кольца, и связь с фосфонатной группой ориентирована перпендикулярно плоскости цикла. Этот результат согласуется с данными, полученными методом ЯМР. На основании структуры можно заключить, что при катализируемом тиамином декарбоксилировании пирувата действуют принципы наименьшей подвижности и максимального перекрытия орбиталей, поскольку наблюдаемое строение соответствует теоретическим представлениям о структуре 2-(а-лактил)тиаминдифосфата

Витамин В6

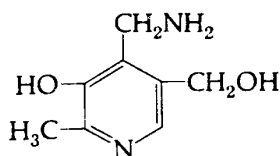
Витамин В6 был первоначально обнаружен как компонент комплекса витаминов В, который приводит к излечению дерматита (акродинии, см. ниже), развивающегося у молодых крыс при рационе без витаминов комплекса В, но с добавлением тиамина и рибофлавина. *Пиридоксин* был выделен из печени и из дрожжей в 1938 г. и в том же году был синтезирован. Природные источники содержат две другие формы этого витамина—*пиридоксаль* и *пи-ридоксамин*. Все эти три вещества объединяются в группу, называемую витамином В6, поскольку каждое из них одинаково эффективно как компонент радиоло животных. Однако у многих бактерий, особенно у *Lactobacilli*, пиридоксаль и его фосфатный эфир стимулируют рост в значительно большей степени, чем пиридоксин. Именно это наблюдение привело к открытию пиридоксаля и пиридоксамина:



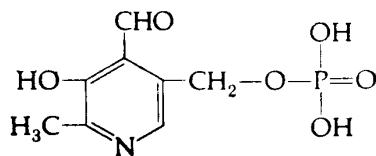
пиридоксин



пиридоксаль



пиридоксамин



пиридоксальфосфат

Метаболизм витаминов группы В6

Пиридоксин синтезируется зелеными растениями и многими микроорганизмами из трехуглеродных промежуточных продуктов гликолиза, например 3-фосфоглицеринового

альдегида, фосфоди-оксиацетона и пирувата; пути синтеза еще не установлены. Поступивший с пищей пиридоксин фосфорилируется в печени специфической киназой, а затем окисляется до пиридоксальфосфата специфическим флавопротеидом. Роль пиридоксальфосфата в метаболизме аминокислот (разд. 20.3.2) и механизм его действия уже обсуждались ранее (разд. 9.2.6 и 20.3.2). Приблизительно 90% введенного человеку пиридоксина окисляется до 4-пиридоксовой кислоты и экскретируется в этой форме.



Метаболическая роль пиридоксала

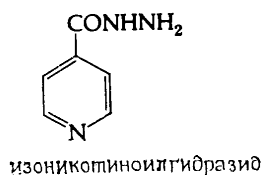
Пиридоксальфосфат играет центральную роль в реакциях, в результате которых клетка трансформирует поступающие с пищей аминокислоты в смесь аминокислот и других азотсодержащих соединений, необходимых для ее жизнедеятельности. Наиболее ярко это иллюстрируется различиями в потребности в витамине В₆ у определенных бактерий. Некоторые из них, нуждающиеся в пиридоксине, могут расти на относительно простой среде, содержащей лишь небольшое число аминокислот. Если же в среду внести полный набор аминокислот, то потребность в пиридоксине (для обеспечения максимального роста) может снизиться почти на 90%. У млекопитающих ситуация оказывается более сложной. В отличие от бактерий, которые поглощают из окружающей среды только те аминокислоты, которые им необходимы, животные могут потреблять и метаболизировать значительно большие количества аминокислот, чем им необходимо для роста или поддержания азотистого равновесия. Вследствие этого потребность животных в пиридоксине изменяется в зависимости от содержания белка в рационе. На ранней стадии пиридоксина недостаточности в печени возникает избыток апоферментов, функционирующих с пиридоксальфосфатом. Введение больших доз витамина стимулирует синтез дополнительного количества апофермента.

Недостаточность

Недостаток пиридоксина у крыс характеризуется остановкой роста и *акродинией*—дерматитом на хвосте, ушах, вокруг рта и на лапках, сопровождающимся отеком и шелушением кожи в этих областях. Недостаток некоторых других веществ приводит к сходным поражениям; так, у крыс только наличие отека отличает акродинию от дерматитов, связанных с недостатком незаменимых жирных кислот. Пиридоксина недостаточность у молодых свиней, собак и крыс приводит к микроклеточной гипохромной анемии, увеличению содержания железа в плазме и гемосидерозу печени. Серьезно страдает также нервная система. Крысы с недостаточностью В₆ особенно чувствительны к шуму; у них наблюдаются эпилептиформные припадки; происходит демиелинизация периферических нервов и спинного мозга. Выраженные неврологические изменения наблюдались также у обезьян с недостаточностью В₆, у последних развивались также атеросклеротические изменения.

Пиридоксина недостаточность у младенцев, получающих неадекватное искусственное питание, вызывает приступы конвульсий. Подобные же явления наблюдались у младенцев с врожденным нарушением, характеризующимся увеличенной потребностью (2—10 мг/сут) в пиридоксине. Конвульсии прекращались после введения пиридоксина или у-аминомасляной кислоты. Это врожденное нарушение связано, по-видимому, с функционированием мутантной формы глутаматдекарбоксилазы (разд. 22.5.1), для активности которой необходимы необычно высокие концентрации пиридоксальфосфата.

У взрослых людей специфический патологический синдром, обусловленный недостатком пиридоксина, не развивается. Проявления недостаточности, однако, возникают при введении изоникотиноилтидразида (изониазида)—лекарства, применяемого при лечении туберкулеза.



Изоникотиноилтидразид образует гидразон пиридоксала (и его фосфорного эфира), исключая таким образом возможность его участия в ферментативных реакциях; гидразон экскретируется с мочой. Большинство симптомов и нарушений, вызываемых этим соединением

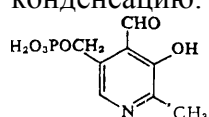
(тошнота, рвота, утрата аппетита, себоррейный дерматит, кейлозис, конъюнктивит, глоссит, полиневрит и пеллагро-идный дерматит), наблюдаются и при некоторых других состояниях; все эти проявления исчезают при введении пиридоксина.

Потребность человека в витамине В6 не установлена, но она увеличивается при богатой белком диете и, по-видимому, также с возрастом. Экскреция с мочой 4-пиридоксовой кислоты может превышать суммарное количество поступившего витамина В6. Не известно, что отражает это явление—синтез витамина бактериями кишечника или же синтез его организмом хозяина.

Витамины группы В6 широко распространены в природе, и продукты, богатые другими витаминами комплекса В, являются прекрасными источниками В6, например зародышевая часть различных зерен и семян, куриные яйца, дрожжи, мясо и особенно печень и почки.

Пиридоксальфосфат (витамин В6)

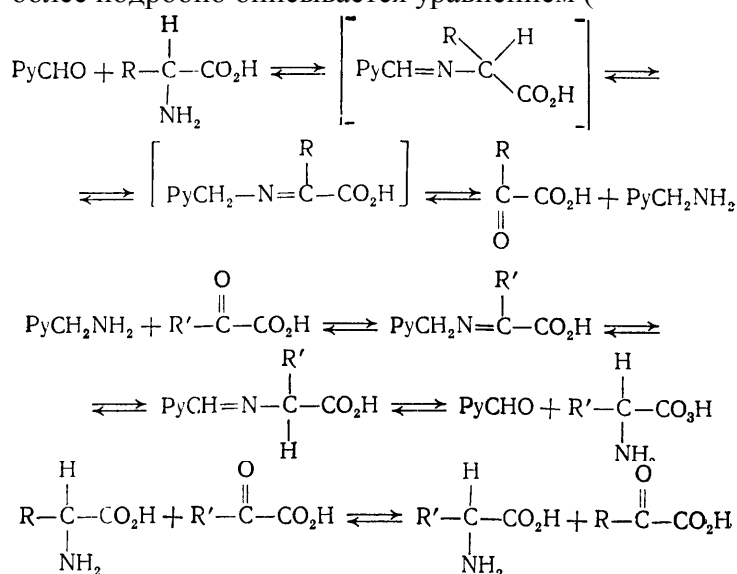
Пиридоксальфосфат 8.9 (витамин В6, PyCHO) принимает участие во многих реакциях превращения аминокислот, включая рацемизацию, декарбоксилирование, трансаминирование, α -замещение, элиминирование и конденсацию.



пиридоксальфосфат

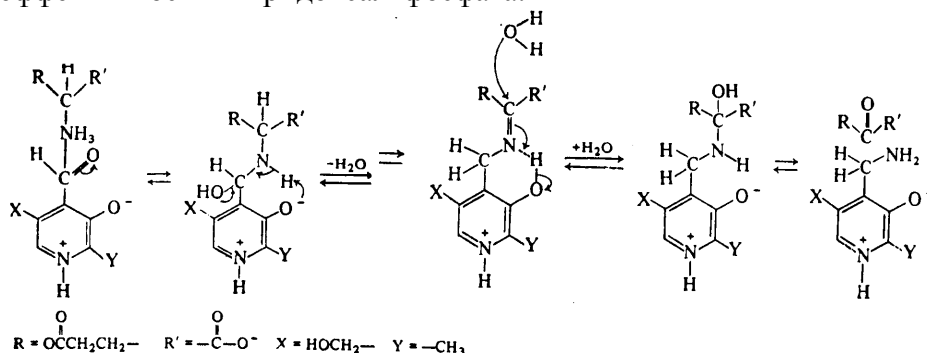
Этот кофермент существует также в форме спирта (п'ридоксин или пиридоксол) и соответствующего амина (пиридоксамин, PyCH_2NH_2). В катализе принимают участие альдегидная и гидроксильная группы пиридоксальфосфата, а фосфатная группа служит только для электростатического связывания с ферментом. При нейтральных значениях рН гидроксильная группа находится в анионной форме. •

Сам по себе пиридоксаль также обладает способностью катализировать те же реакции, что и пиридоксальфосфат-зависимые ферменты, однако скорость в последнем случае в миллион раз выше [17]. Катализируемая пиридоксалем реакция транс-аминирования протекает по механизму (8.13), включающему изомеризацию двух оснований Шиффа [18]. Механизм первой из представленных на схеме (8.13) реакций (реакции образования пиридоксамина) более подробно описывается уравнением (

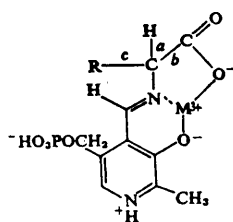


Видно, что гидроксильная группа (или ее анионная форма) выступает в роли внутримолекулярного общего кислотного (или общего основного) катализатора.

Положительный заряд на атоме азота пиридоксаль усиливает электрофильность карбонильного атома углерода, способствуя тем самым образованию основания Шиффа. Кроме того, энергия активации реакции снижается благодаря делокализации положительного заряда в пиридиновом цикле всех 'промежуточных продуктов. Эти три факта" ра играют важную роль в катализе пиридоксалем и, вероятно составляют основу высокой каталитической эффективности пи-ридоксальфосфата.



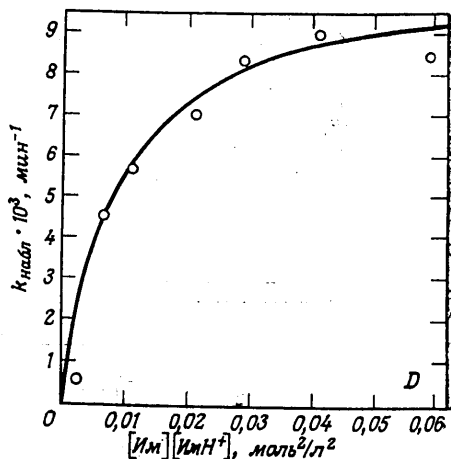
Существуют модельные 'системы, в которых реакции транс-аминирования катализируются ионами металлов (алюминия или железа) [18] или имидазолом [19]. Роль иона металла сводится к дестабилизации я-электронной системы. Из схемы 8.10 видно, что направление реакции определяется характером 'расщепляемых в хелатном комплексе связей: разрыв связей *a*, *b* или *c* приводит соответственно к трансаминированию, декарбоксилиро-^аниюили конденсации. Все эти реакции, за исключением де-карбоксилирования, действительно были обнаружены в модельных системах.



хелатный комплекс иона металла, пиридоксальфосфата и аминокислоты

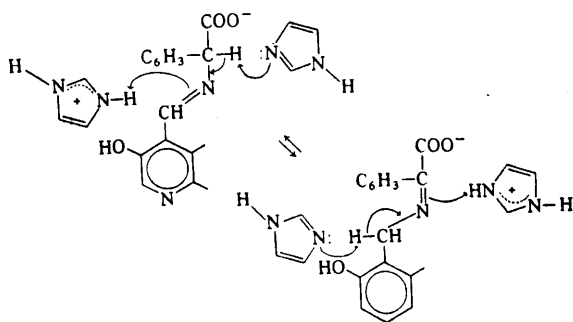
При катализе имидазолом константа скорости реакции транс-аминирования зависит от произведения концентраций имидазо-ла и иона имидазолия. Эта зависимость, полученная путем варьирования. pH реакционной среды, представлена на рис.8Л./т

На основании pH-зависимостей типа представленной на рис. 8.1 'можно сделать вывод о постоянстве константы образования комплекса альдими́на (или кетими́на) с одной молекулой имидазола и одним ионом имидазолия. Из данных по растворимости следует, что а-аминофенилуксусная кислота также способна давать комплекс с имидазолом. Константы образования этого комплекса очень-близки к значениям, определенным из кинетических экспериментов для имино-вых комплексов, если считать, что в состав комплекса входят одна молекула имидазола, один ион имидазолия и одна молекула аминокислоты в форме цвиттер-иона. На основании этих данных для прототропно- го сдвига был предложен механизм согласованного катализа (см. гл. II) под действием имидазола и иона имидазолия

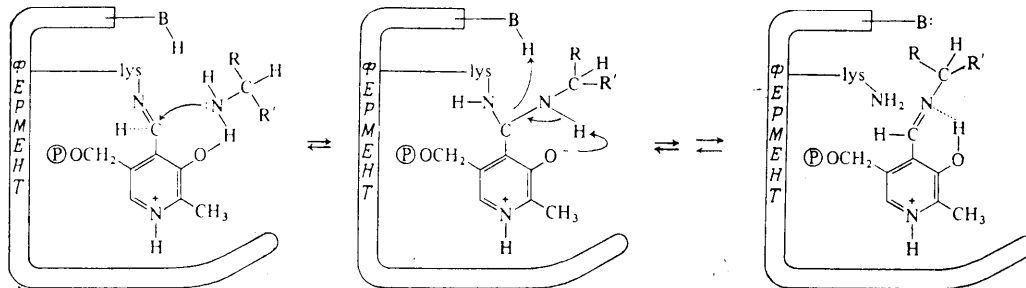


Зависимость константы скорости реакции

трансаминирования от концентрации имидазола и ионов имидазолия.



Различие между реакциями, катализируемыми пиридоксалем [схемы (8.13) и (8.14)] и ферментами, состоит в том, что в последнем случае на первой стадии пиридоксальфосфат и аминогруппа лизина молекулы фермента образуют основание Шиффа, которое затем подвергается нуклеофильной атаке со стороны аминогруппы реагирующей аминокислоты. В результате происходящего трансиминирования образуется второе основание Шиффа [схема ниже)

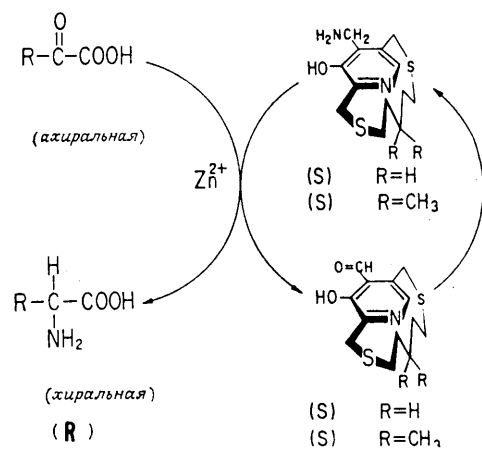


Характер проявляемой пиридоксальфосфатом каталитической функции определяется природой фермента, в сочетании с которым он действует. Так, из схемы (8.17) следует, что пиридоксальфосфат служит коферментом в таких процессах, как декарбоксилрование, трансиминирование, рацемизация и синтез аминокислот.

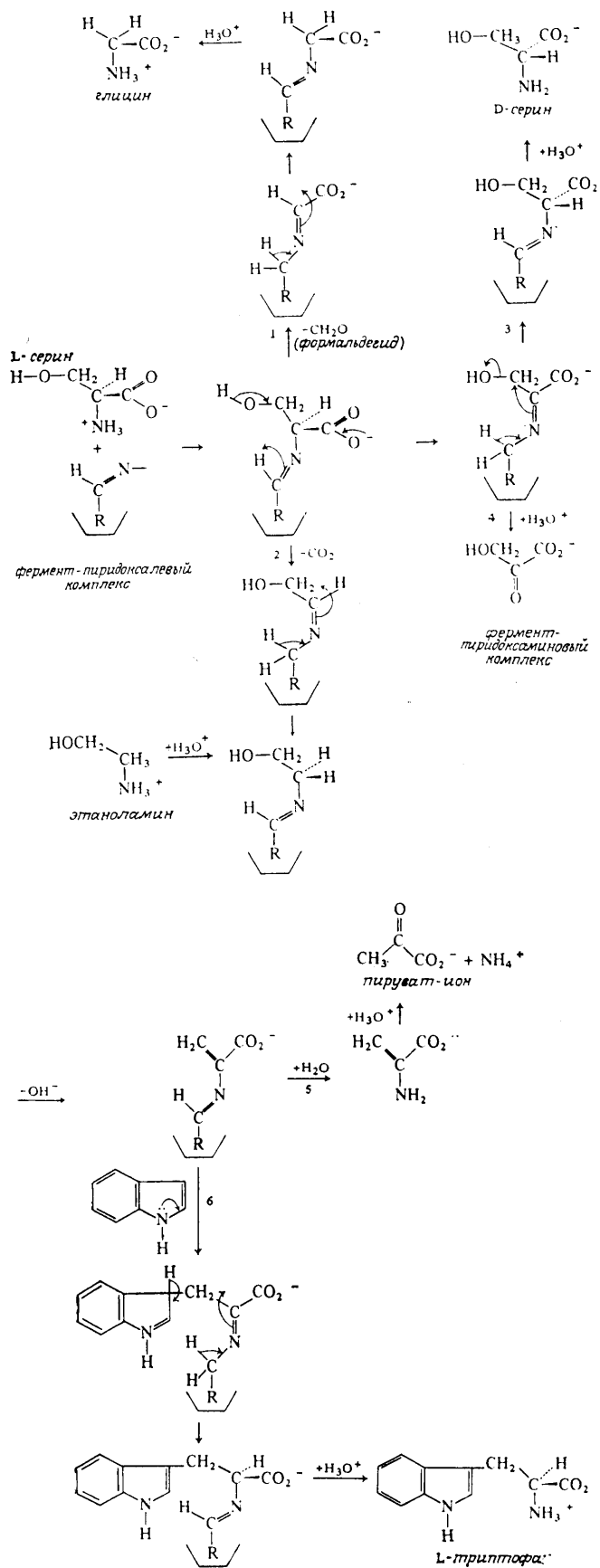
Реакция трансиминирования с участием ахирального пиридоксамина и α-кетокислоты приводит к образованию D,L-аминокислоты. Если, однако, использовать оптически активный аналог пиридоксамина (R- или S-8-15-аминометил-14-гидрокси-5,5-диметил-2,8-дигидро[9](2,5)пиридинофан) в сочетании с ионами Zn²⁺, то в результате трансиминирования α-кетокислоты превращаются в соответствующие D- или L-аминокислоты. Эта система, изображенная на рис. 8.2, может служить хорошей моделью ферментативного трансиминирования. Наиболее высокий выход оптически активного изомера (23—61%) был достигнут в катализируемой хиральным пиридоксамином реакции трансиминирования фенилпиридиноградной кислоты с образованием R-фенилаланина [20].

В соответствии с давно принятым постулатом в активном центре пиридоксальфосфат-зависимых ферментов, таких, как α-аминотрансферазы (трансминазы), конъюгат аминокислоты с пиридоксальфосфатом ориентирован таким образом, чтобы связь α-водородным атомом располагалась почти перпендикулярно плоскости пиридинового цикла. Фермент способен

катализировать реакцию образования α-кетокислоты, исходя только из одного оптического изомера аминокислоты. Следовательно, при протекании реакции в обратном направлении из α-кетокислоты образуется та же самая энантиомерная форма аминокислоты. Во всех изученных к настоящему времени ферментах протонирование промежуточного имина всегда осуществляется со стороны *si'* по положению C-4[^] молекулы кофактора, так что присоединяется или отрывается *pro-S* атом водорода (H_g) пиридокс-аминфосфата. Под действием аланинаминотрансферазы значительное количество α-водородных атомов β-аланина присоединяется в положение C-4[^]. Это свидетельствует о том, что внутримолекулярное поверхностное прототропное 1,3-смещение происходит с участием одной основной группы фермента. Трансаминирование ферментного конъюгата L-аланином приводит к высвобождению в активном центре ε-аминогруппы лизина. Однако в случае другого родственного фермента — аспаратаминотрансферазы — эта группа, по-видимому, не играет существенной роли в определении стереохимии протонирования. По имеющимся данным, в состав активного центра аспаратаминотрансферазы входит остаток гистидина.--



Образование оптически активной аминокислоты путем трансаминирования оптически неактивной α-кетокислоты под действием хирального производного пиридоксамина



Если конъюгат аминокислоты и пиридоксальфосфата ориентирован в активном центре фермента таким образом, что карбоксильная группа располагается

перпендикулярно плоскости конъюгата, то пространственные и электронные факторы благоприятствуют протеканию реакции декарбоксилирования. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что при катализе si -декарбоксилазами пространственное расположение атомов вокруг связи $\alpha\text{-C—N}$ определяется связыванием периферической группы в полностью вытянутой боковой цепи аминокислотного остатка. Промежуточное иминосоединение обычно протонируется по α -углеродному атому, что в конечном итоге приводит к высвобождению амина. Теоретически это протонирование может осуществляться с обеих сторон плоскости имина, однако было установлено, что декарбоксилирование L-тирозина, L-лизина, L-глутамата и L-гистидина под действием соответствующих декарбоксилаз протекает с сохранением конфигурации. Иногда наблюдается частичное протонирование положения C-4' молекулы кофактора, что приводит к образованию неактивного конъюгата фермента с пиридоксаминфосфатом.

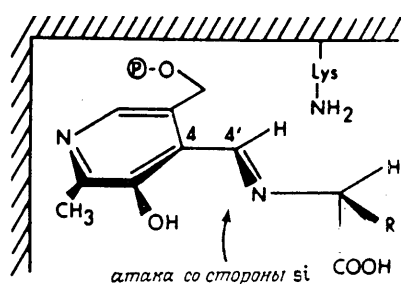
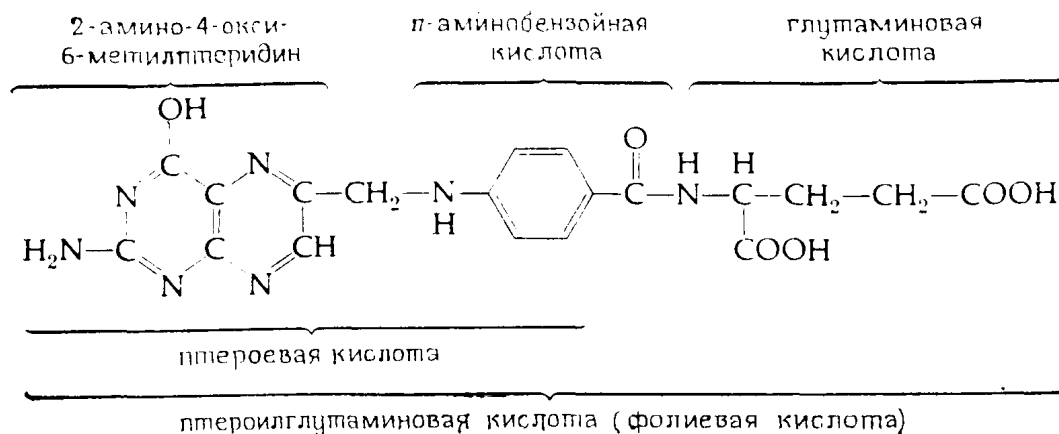


Рис. 8.3. Предпочтительное протонирование иминового промежуточного соединения в активном центре пиридоксальфосфат-зависимых ферментов.

В случае глутаматдекарбоксилазы протонирование положения C-4' молекулы кофактора осуществляется со стороны *si*, так же как это имеет место при катализе трансаминазами. Таким образом, все реакции протекают только с одной стороны плоскости кофермент-субстратного конъюгата, а другая сторона остается недоступной (рис. 8.3)

Фолиевая кислота (фолацин)

Этот фактор питания был открыт Дейем, который установил, что дрожжи оказывают лечебный эффект при пищевой цитолении у обезьян, вызванной содержанием последних на «кукурузном» рационе такого же типа, который вызывает «черный язык». Эффективные концентраты витамина были получены из шпината, и это привело к названию «фолиевая кислота» (*folium*). Строение фолиевой кислоты приведено ниже.



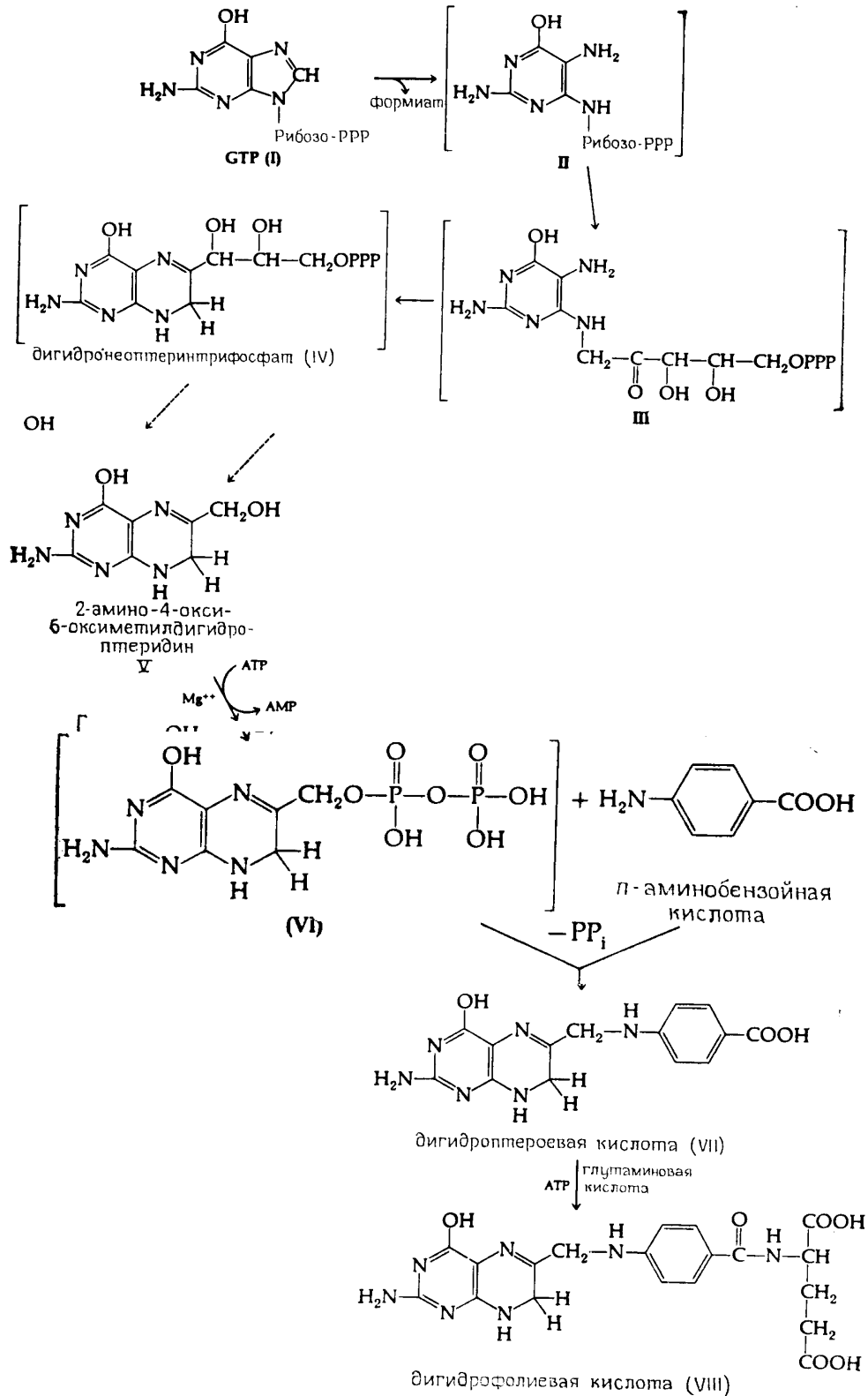
Молекула содержит глутаминовую кислоту, п-аминобензойную кислоту и птерин; соединение, содержащее птерин и п-аминобензойную кислоту, называется *птероевой кислотой*. Приведенная структура является птероилглутаминовой кислотой (из печени). Фолиевая кислота бактерий содержит три остатка глутаминовой кислоты, соединенные γ -глутамильными связями. Многие ткани животных содержат птероилглутаминовую кислоту, остатки глутаминовой кислоты которой также соединены γ -глутамильными связями. Синтетические птероилглутаминовые кислоты, у которых остатки глутаминовой кислоты соединены α -глутамильными связями, способны поддерживать рост бактерий; птероил- γ -глутаминовые кислоты оказываются эффективными и как компоненты среды, обеспечивающей рост бактерий, и как терапевтическое средство при лечении макроцитарной анемии у человека. В тканях животных имеется фермент, гидролизующий [встречающиеся в природе птероилполиглутаматные соединения до птероилглутаминовой и свободной глутаминовой кислот.

Биогенез

Гуанозинтрифосфат (I) непосредственно участвует в синтезе птеридина, как показано на рис. 50.6. Фермент из *E. coli* (M210000) катализирует раскрытие кольца с уходом атома C-8 пурина в составе формиата и образованием *дигидронеоптеринтрифосфата* (IV). Постулируемые интермедиаты II и III не были выделены. {Отметим, что перегруппировка, приводящая к включению части рибозы в кольцевую структуру, подобна той, которая происходит при образовании триптофана и гистидина (гл. 20).} 2-Амино-4-окси-6-оксиметилдигидроптеридин (V) и его пиррофосфорный эфир (VI) могут служить предшественниками дигидроптероевой кислоты (VII). Сульфонамиды конкурируют с п-аминобензойной кислотой в реакции конденсации, приводящей к образованию VII. п-Аминобензойная кислота образуется из хоризмовой кислоты (разд. 20.4.1); источником аминогруппы является глутамин.

Птерины широко распространены; *ксантоптерин*, находящийся во многих источниках, был впервые выделен из крыльев бабочек. У насекомых обнаружено большое число различных птеринов; у *дрозофилы* по крайней мере пять птеринов входят в число зрительных пигментов





Метаболическая роль

Метаболическая роль этого витамина как переносчика одноуглеродных фрагментов - рассматривалась раньше (разд. 21.4.2).

Недостаточность фолиевой кислоты проявляется в неспособности к образованию пуринов, а также тимина, требуемых для синтеза ДНК. *Streptococcus faecalis*, для роста которого необходима фолиевая кислота, может, однако, хорошо расти на среде, не содержащей этого

витамина, если в ней имеются аденин и тимин. Клетки, растущие на этой среде, имеют нормальное количество ДНК, но не содержат определяемых количеств фолиевой кислоты; это показывает, что фолиевая кислота требуется для синтеза пуринов и тимина. Как тимин, так и фолиевая кислота выступают у бактерий как антагонисты аналогов тимина, например 5-бромурацила. Установлено также, что торможение роста бактерий антиметаболитами фолиевой кислоты, такими, как *аминоптерин* (4-аминоптероилглу-таминовая кислота), снимается аденином и тиминном. При введении больших количеств тимина больным пернициозной анемией или спру наблюдается непродолжительная ответная гемопозитическая реакция. Культуры бактерий, рост которых заторможен действием сульфонамидов или аминоптерина, накапливают в среде 6-аминоимидазол-4-карбоксамид (разд. 24.1.1.9).

Недостаточность

Недостаточность фолиевой кислоты характеризуется задержкой роста, анемией, лейкопенией (или панцитопенией). Недостаточность не всегда можно вызвать у животных, если содержать их на рационе, лишенном фолиевой кислоты. У крыс недостаток фолиевой кислоты можно вызвать путем [включения в рацион сульфонамидов; при этом, вероятно, тормозится синтез фолиевой кислоты из л-аминобензойной кислоты бактериями кишечника. Симптомы недостаточности при введении антиметаболитов развиваются и у других видов животных.

Развитие тяжелой анемии у животных при недостатке фолиевой кислоты явилось основанием для исследования лечебного действия птероилглутаминовой кислоты при макроцитарной анемии, которая наблюдается при спру, беременности и у младенцев. У пациентов, больных спру, обычно наблюдается выраженная ремиссия всех симптомов, включая стеаторрею, ретикулоцитоз; картина крови возвращается к норме. Сходные ответные реакции часто (но не всегда) наблюдали при введении птероилглутаминовой кислоты младенцам и беременным с мегалообластической анемией.

Следовательно, при трех рассмотренных состояниях, сопровождающихся анемией, проявляются, по-видимому, симптомы истинной недостаточности фолиевой кислоты. Мегалообластическая анемия возникает вследствие нарушения синтеза ДНК; отношение РНК к ДНК в макроцитах примерно 0,85 (в нормальных клетках оно составляет 0,3). Стеаторрея при спру является результатом атрофических изменений в тощей кишке, которые обусловлены недостатком пуринов и пиримидинов для синтеза ДНК в постоянно делящихся клетках слизистой оболочки.

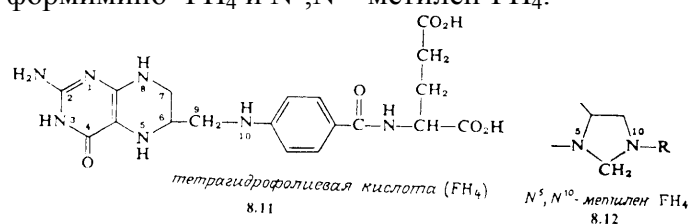
Ряд антиметаболитов фолиевой кислоты был применен с целью терапии при лейкемии у человека, поскольку недостаточность фолиевой кислоты характеризуется лейкопенией. Аминоптерин и его метилпроизводное тормозят рост почти всех организмов, которые нуждаются в фолиевой кислоте; торможение роста может быть снято относительно большими количествами фолиевой кислоты. Введение в рацион аминоптерина (1 часть на 1000000) вызывает гибель крыс и мышей в течение одной недели. У животных развивается водная диарея и аплазия костного мозга. Сообщалось, что применение аминоптерина вызывает временные ремиссии при острой лейкемии у детей, а иногда и ремиссии в развитии лимфоидных опухолей у взрослых.

Фолиевая кислота широко распространена у животных и растений, и поэтому недостаточность ее, обусловленная набором продуктов питания, казалось бы, должна встречаться редко. Тем не менее недостаточность фолиевой кислоты, по-видимому, является существенным фактором в этиологии спру, а также в развитии макроцитарной анемии у беременных и некоторых форм макроцитарной анемии у детей. Это обусловлено, вероятно, либо неспособностью гидролизовать природные полиглутаматные формы витамина, либо его избыточной экскрецией, поскольку мегалообластическая анемия сохранялась у лиц, получавших перорально 1 мг витамина (ежедневно), но успешно излечивалась дозами витамина всего лишь 25 мкг (в сутки) при парентеральном введении. Средняя нормальная суточная потребность в фолиевой кислоте составляет, вероятно, около 50 мкг; однако вследствие плохой всасываемости рекомендуется суточная доза 400 мкг.

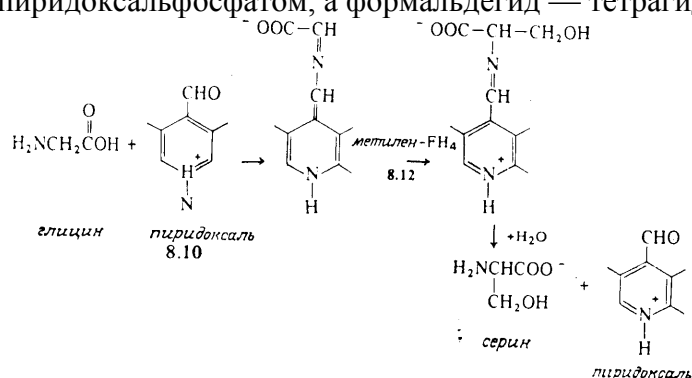
Тетрагидрофолиевая кислота как кофермент

Молекула тетрагидрофолиевой кислоты (FH₄) образована остатками восстановленного птерина, *n*-аминобензойной и L-глутаминовой кислот. Ее строение показано на схеме 8.11. Коферменты на основе FH₄ участвуют в реакциях переноса одноуглеродных фрагментов, соответствующих по

состоянию окисления формату, формальдегиду и метанолу. При переносе формальдегидного фрагмента соответствующий аддукт может существовать в четырех структурных формах: N^{10} -формил- FH_4 , N^5 -формил- FH_4 , N^5 -формимино- FH_4 и N^5, N^{10} -метилден- FH_4 .



Под действием пиридоксала (8.10) и FH_4 (8.11) глицин превращается в серин. В этой реакции активации подвергаются оба реагента: глицин активируется пиридоксальфосфатом, а формальдегид — тетрагидрофолиевой кислотой.



Соответствующим образом замещенные имидазолиновые и имидазолидиновые производные также способны выступать в качестве переносчиков углерода, действуя по механизмам, аналогичным наблюдаемым в случае N^5, N^{10} -метин- и N^5, N^{10} -метилден-тетрагидрофолатных коферментов соответственно. Если в биологических процессах роль тетрагидрофолатных коферментов ограничивается переносом одноуглеродных фрагментов различной степени окисления, то использование модельных систем позволяет осуществлять перенос сложных углеродных фрагментов, содержащих различные функциональные группы. Для проведения подобных реакций был синтезирован ряд соединений, моделирующих фолиевую кислоту.

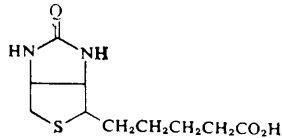
Дигидробиоптерин, являющийся производным фолиевой кислоты, играет роль кофермента при гидроксировании фенилаланина.

Биотин

Биотин, представляющий собой фактор роста дрожжей и человека (витамин H), был впервые выделен Коглем; его структура показана на схеме 8.13.

В 1936 г. Кегль и Теннис выделили в кристаллическом виде из яичного желтка фактор роста дрожжей, который они назвали биотином. За несколько лет до этого фактор, необходимый для

роста и дыхания *Rhizobium*, был назван *коферментом R*. После выделения биотина было установлено, что эти факторы идентичны. Батеман установил, что включение в рацион крыс большого количества сырого яичного белка вызывает у животных симптомы токсикоза, а в 1926 г. Боас описала вызываемый яичным белком у крыс синдром, при котором наблюдаются дерматит, выпадение волос и нарушение координации движения мышц. Она отметила также, что дрожжи, печень и некоторые другие пищевые продукты содержат фактор, который защищает крыс от нарушений, вызываемых «яичным белком»; в 1940 г. Гьорги и Дю-Виньо и их сотрудники установили, что этот фактор и биотин являются идентичными; была установлена структура биотина

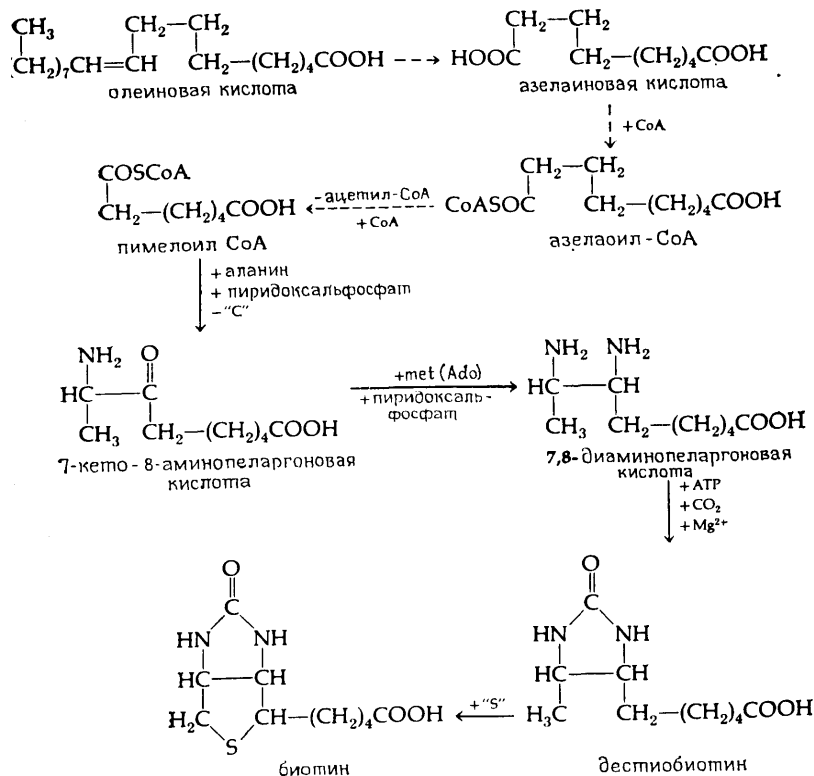


Биогенез

Биосинтез биотина изучали у различных плесневых грибов и бактерий. Путь биосинтеза, который, по-видимому, наилучшим образом объясняет результаты исследований, проведенных на *E. coli* и других микроорганизмах, приведен на рис. 50.5.

Все углеродные атомы пимелиновой кислоты включаются в биотин; эта дикарбоновая кислота, а также олеиновая и азелаиновая кислоты могут заменять биотин в культуральной среде ряда микроорганизмов. Можно полагать, что окислительное расщепление олеата по 9,10-двойной связи приводит к образованию азелаиновой кислоты. Из CoA-производного последней образуется ацетил-CoA и пимелоил-CoA по обычному пути процесса (3-окисления). Оба производных пеларгоновой кислоты (рис. 50.5) поддерживает рост ряда мутантов *E. coli*, не способных синтезировать биотин. Аминотрансфераза из *E. coli* использует при образовании 7,8-диаминопеларгоновой кислоты в качестве донора аминокетильной группы исключительно 3-аденозил-5-метионин [met (Ado)]. Продукт реакции 8-аденозил-2-оксо-4-метилтиомасляная кислота распадается с образованием 2-оксо-3-бутеновой кислоты и 5-метилтиоаденозина. Источник атома серы остается неизвестным. Рассматриваемый путь биосинтеза тормозится при наличии в среде биотина.

В ферментах, содержащих биотин, последний ковалентно связан (амидной связью) с ε-аминогруппой остатка лизина. Присоединение осуществляется в результате активации биотина АТФ и последующего взаимодействия с белком, катализируемого синте-тазой холокарбоксылазы:



Предполагаемый путь биосинтеза биотина в бактериях и плесневых грибах
Метаболизм

Из биотиновых холоферментов в результате протеолиза освобождается *биоцитин* (ϵ -биотиниллизин). Из последнего под действием *биоцитиназы* печени и крови образуются биотин и лизин. У млекопитающих боковая цепь биотина подвергается обычному α -окислению; при этом образуются 2 моля ацетил-CoA, судьба кольцевой структуры неизвестна.

Биотин является протетической группой различных ферментов, катализирующих включение CO₂ в органические соединения, в частности ацетил-CoA—карбоксилазы, пропионил-CoA—карбоксилазы, метилмалонил-транскарбоксилазы и пируваткарбоксилазы. В связи с этим понятно, почему ткани животных с недостаточностью биотина характеризуются пониженной способностью включать CO₂ в оксалоацетат и синтезировать жирные кислоты.

Недостаточность

Недостаточность биотина у животных не может быть вызвана просто содержанием их на рационе без витамина, по-видимому, вследствие того, что синтез биотина осуществляется кишечными бактериями. Недостаточность наблюдается либо при стерилизации желудочно-кишечного тракта, либо при потреблении сырого яичного белка, либо после введения антиметаболитов биотина.

Вскоре после того как были обнаружены последствия потребления сырого яичного белка, было установлено, что в последнем содержится гликопротеид *авидин*, который взаимодействует с биотином и препятствует его всасыванию из кишечника. Авидин ($M = 70000$) состоит из четырех идентичных субъединиц, каждая из которых содержит 128 аминокислотных остатков; последовательность аминокислот установлена. Каждая из субъединиц связывает биотин ($K_a = 10^{15} M^{-1}$). При денатурации авидина его биотинсвязывающая способность утрачивается. Исключительно сильное необратимое связывание биотина дает основание полагать, что оно имеет существенное значение для физиологической функции авидина в яйце; последняя, однако, еще не выяснена. Авидин применяется в экспериментах в качестве ингибитора биотинсодержащих ферментов.

Оксибиотин, в молекуле которого вместо серы находится кислород, может заменять биотин в питании большинства нуждающихся в последнем животных, в том числе крыс и кур; оксибиотин, по-видимому, сам функционально активен и действует, не превращаясь в биотин. В обычных условиях млекопитающие получают достаточное количество биотина в результате бактериального синтеза в кишечнике; у человека суммарное выведение биотина с мочой и фекалиями обычно превышает потребление его с пищей. Биотин широко распространен; к числу наиболее богатых им продуктов относятся говяжья печень и дрожжи, однако большинство животных тканей бедны этим витамином. Арахис, шоколад, и яйца содержат значительные количества биотина. На основании изучения потребности крыс было высказано предположение, что ежедневная потребность человека составляет приблизительно 10 мкг биотина; возможно, однако, что нет реальной необходимости в поступлении биотина с пищей.

БИОТИН КАК КОФЕРМЕНТ РЕАКЦИЙ КАРБОКСИЛИРОВАНИЯ.

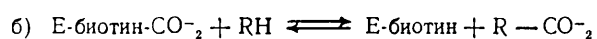
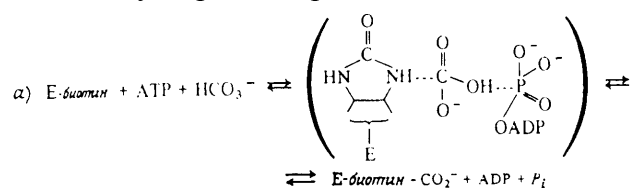
Биотин выполняет функции кофермента в реакциях карбоксилирования:

Биотин присоединяется к ферменту амидной связью, образованной карбоксильной группой биотина и аминогруппой входящего в состав фермента остатка лизина. Реакция карбоксилирования, катализируемая биотином, протекает в соответствии со схемой (8.19), где в роли RН обычно выступает ацильная группа ацилированного кофермента А. Биотин-зависимое ферментативное карбоксилирование может обладать определенными преимуществами по сравнению с прямой реакцией ацилированного кофермента А с диоксидом углерода и бикарбонатом, активированными АТФ.

Для выяснения влияния предварительного протонирования циклической системы биотина на способность N'-карбоксильной группы переносить CO₂ недавно были синтезированы три необратимо протонированных модельных соединения на основе N'-карбоксибиотина. Два из них были использованы для моделирования N'-карбоксибиотина, протонированного по карбонильному

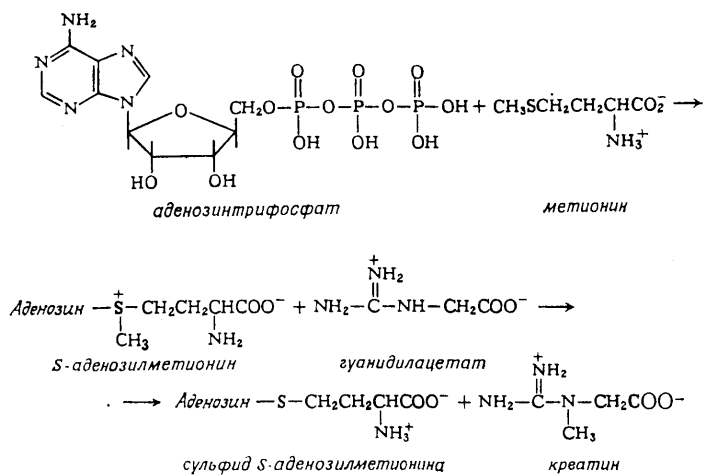
атому кислорода уридогруппы, а третье—для моделирования ситуации, когда протонируется атом азота N'. Была изучена реакционная способность каждого из этих соединений по отношению к различным нуклеофилам. Из трех модельных соединений только одно обеспечивает эффективный перенос карбометоксильной группы при взаимодействии с азотсодержащими нуклеофилами (морфолином, циклогексиламином и диизопропиламином). В случае нуклеофилов меньшего размера (таких, как вода и метанол) реакция осуществляется по кольцевому атому углерода С-2. Характер продуктов, образующихся при взаимодействии с нуклеофилами (например, спиртами и аминами) другого модельного соединения, позволяет сделать вывод «о наличии двух конкурирующих между собой механизмов. Один из них включает нуклеофильную атаку по углеродному атому

•С-2 катиона имидазолия (механизм $A_{Ac}2$) с образованием тетраэдрического промежуточного соединения, которое затем распадается с образованием либо продуктов, либо исходных реагентов. Конкурирующий механизм состоит в необратимом S_N2 -замещении при метиленовом атоме углерода в О-алкильной боковой цепи (механизм $A_{Al}2$). В описываемой работе обсуждаются также факторы, которые обуславливают общий характер распределения продуктов, образующихся в результате этих реакций. Что касается взаимодействия с нуклеофилами (такими, как спирты и амины) третьего из рассматриваемых модельных соединений, то характер образующихся продуктов можно объяснить только исходя из предположения о нуклеофильной атаке по кольцевому углеродному атому С-2 (механизм $AAc2$). Соответствующий S_N2 -механизм для данного субстрата неприемлем.



S-Аденозилметионин

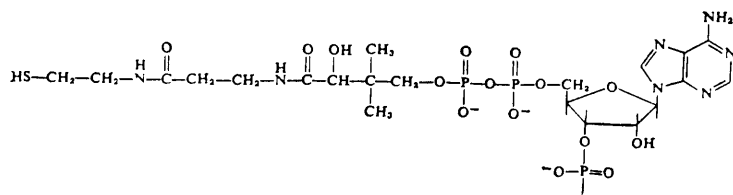
Давно известно, что в биохимических процессах роль пере-здохчика метильных групп выполняет метионин. Осуществляя перенос, метионин находится в «активной» форме, в качестве которой выступает сульфониевая соль S-аденозилметионина (8.14). Именно это соединение обеспечивает перенос метильной группы на различные нуклеофилы. Типичным примером может служить синтез креатина из гуанидилуксусной кислоты, представляющий собой ферментативную реакцию нуклеофильного замещения:



С точки зрения органической химии эта реакция 'представляет' собой взаимодействие между нуклеофилом (амином) и сульфониевой солью, приводящее к образованию сульфида и замещенного амина. Аналогичным образом S-аденозилметионин реагирует со многими другими нуклеофилами: никотинамидом, имидазолом, гистамином и катехинами эпинефринового типа. Для исследования стереохимических закономерностей ферментативной реакции 'был использован S-аденозилметионин, в котором содержится обладающая хиральными свойствами метильная группа. Хиральность обеспечивается за счет асимметричного расположения имеющихся в метильной группе атомов ^1H , ^2H и ^3H [21]. Инкубация двух диастереомерных форм субстрата с акцептором металлической группы (эпинефрином или протокатеховой кислотой) в присутствии фермента катехин-О-метилтрансферазы приводит к образованию соответствующих метилированных катехинов, причем наблюдается обращение кон фигурации. Последний результат свидетельствует о том, что имеет место прямая реакция, 'протекающая по механизму S^2 'без участия промежуточной метилированной формы фермента [24]'

Кофермент А

Функция кофермента А состоит в переносе ацильных групп. Впервые он был идентифицирован как устойчивый к нагреванию кофактор, необходимый для осуществления некоторых реакций ацетилирования, в частности для введения ацетильной группы в ацетоацетат и цитрат. Строение кофермента А показано на схеме 8.15. Его молекула содержит большое число функциональных групп, однако наиболее важную роль в проявлении активности играет сульфгидрильная группа. Именно она ответственна за образование ацетилированной формы кофермента А. Иначе говоря, ацильные производные кофермента А представляют собой сложные тиоэфиры. В связи с этим для обозначения кофермента А часто применяется сокращение CoASH. Может возникнуть вопрос: каким же специфическим свойством сложные тиоэфиры отличаются от кислородных сложных эфиров?

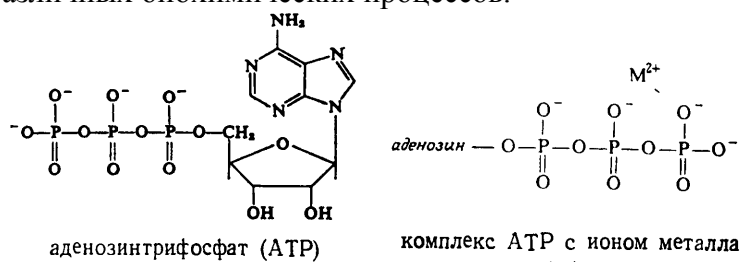


Скорость щелочного гидролиза в обоих случаях одинакова, однако под действием кислот тиоэфиры гидролизуются быстрее. Кроме того, тиоэфиры обладают более высокой реакционной способностью в реакциях конденсации с участием карбанонов. Ацильные производные CoASH обычно образуются в результате АТР-зависимых реакций и могут принимать участие в следующих превращениях.

- 1) Нуклеофильная атака на атом углерода ацильной группы с переносом последней на молекулу нуклеофила и высвобождением CoASH
- 2) Присоединение к молекулам, имеющим двойную связь в ацильной части.
- 3) Конденсация по α -углеродному атому сложного тиоэфира.
- 4) Реакции, сопровождающиеся обменом ацильными группами. Одной из причин предпочтения, которое природа отдает в данном случае тиоэфирам, может служить то обстоятельство, что свободная энергия гидролиза сложного тиоэфира выше, чем соответствующего кислородного соединения

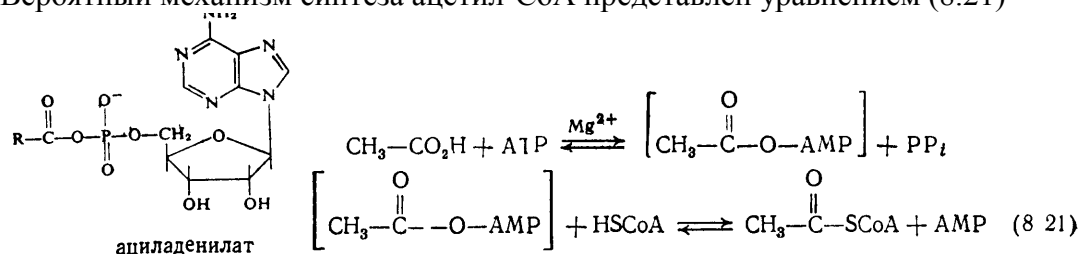
Пуриновые фосфаты

С точки зрения нашего обсуждения представляют интерес два класса пуриновых фосфатов — гуанозинфосфаты и аденозинфосфаты. Остановимся более подробно на последнем из них. Строение аденозинтрифосфата (АТР) «показано на схеме 8.16. Существуют также соответствующие монофосфат и дифосфат. Аденозинтрифосфат служит в качестве кофермента, субстрата или источника энергии для огромного числа различных ферментов. Это вещество участвует во многих реакциях биологического окисления, поэтому его рассмотрение можно было бы с равным успехом включить в раздел, посвященный окислительно-восстановительным системам. Фундаментальная роль АТР состоит в том, что энергия, которая выделяется при гидролизе имеющихся в его молекуле пирофосфатных связей, служит движущей силой различных биохимических процессов.



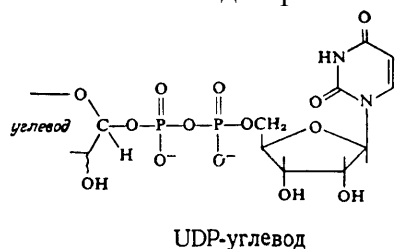
АТР и АДФ представляют собой «высокоэнергетические» соединения. Это означает, что гидролиз АТР до АДФ и гидролиз АДФ до АМФ сопровождаются сильным понижением свободной энергии ($-7,3$ и $-6,5$ ккал/моль при рН 7,0 соответственно), выделяющаяся энергия может быть использована для осуществления других биологически важных реакций, протекающих с поглощением энергии. Гидролиз АТР и АДФ катализируется ионами двухвалентных металлов, например Mg^{2+} и Zn^{2+} за счет образования хелатного комплекса, изображенного на схеме 8.17 (см. гл 9).

Во всех АТФ-зависимых биосинтетических процессах образование ковалентной связи между двумя молекулами субстрата сопряжено с расщеплением одной из пирофосфатных связей в молекуле АТФ. Многие АТФ-зависимые реакции включают активацию карбоксильной группы. Расщепление АТФ может приводить к образованию АДФ и фосфат-иона или АМР и пирофосфат-иона. В последнем случае возникает связанный с ферментом ациладенилат (схема 8.18). Вероятный механизм синтеза ацетил-СоА представлен уравнением (8.21)



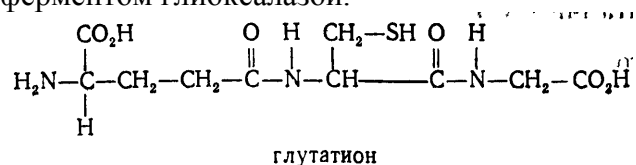
Пиримидиновые фосфаты

Существует несколько классов пиримидиновых фосфатов: уридин-, цитозин- и инозинфосфаты. Уридиновые нуклеотиды играют важную роль в метаболизме углеводов. Общее строение UDP-углеводов показано на схеме 8.19 [25]. UDP-углеводные ко ферменты выполняют двойную функцию. Во-первых, они принимают участие в различных реакциях гликозильного переноса и, во-вторых, сама углеводная часть может подвергаться превращениям путем окисления или окислительного декарбоксилирования.

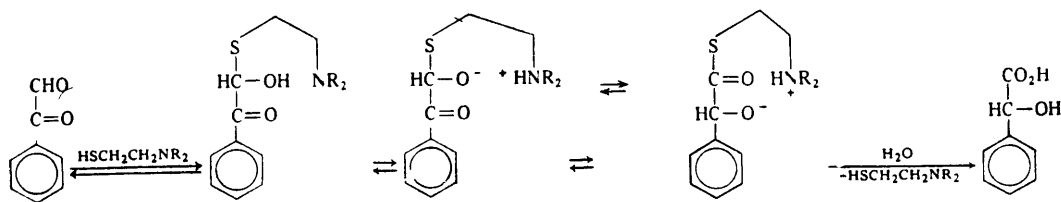


Глутатион

Строение глутатиона, представляющего собой трипептид L-глутамил-L-цистеинил-L-глицин, показано на схеме. Биохимические функции глутатиона чрезвычайно разнообразны, однако известно лишь небольшое число процессов, в которых глутатион выступает в роли кофермента. Наиболее хорошо изученным процессом такого рода является реакция, катализируемая ферментом глиоксалазой.



Была предложена остроумная система, моделирующая действие глиоксалазы

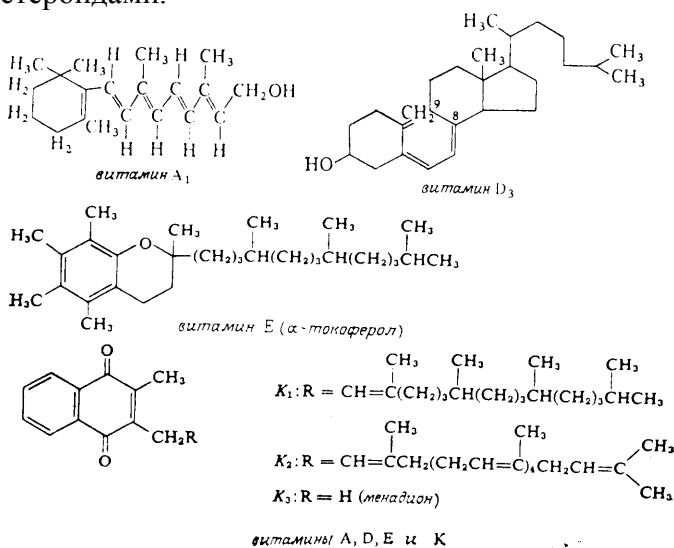


В присутствии N,N,-диметил-β-меркаптоэтиламина фенолгли-оксаль в водном растворе при комнатной температуре легко превращается в миндальную кислоту. Присутствие тиоловых соединений и аминов, взятых по отдельности, не приводит к ускорению этой реакции, хотя их смесь обладает определенным каталитическим эффектом. Для катализа необходима свободная тиольная группа, поскольку S-метильное производное не обладает каталитической активностью. Неактивным является также триметиламмониевое производное, и, следовательно, для проявления каталитической активности в молекуле катализатора должна присутствовать основная группа. В модельной реакции, как и при катализе глиоксалазой, имеет место внутримолекулярный перенос протона. На основании этих данных можно заключить, что механизм (8.23) адекватно описывает реакцию в модельной системе.

Витамины А, D, Е и К

В дополнение к уже рассмотренным коферментам необходимо упомянуть также витамины А, D, Е и К, которые принимают участие в функционировании электронно-транспортных (окислительно-восстановительных) систем. Строение этих витаминов показано на схеме 8.21.

Термин «витамин D» первоначально использовался для обозначения обладающего противорахитным действием компонента «жирорастворимого фактора А». Однако еще до того, как это вещество (которое теперь получило название витамин D₃, или холекальциферол) удалось выделить из жира печени рыб, было показано, что обладающее противорахитным действием соединение (витамин D, кальциферол, или эргокальциферол) можно синтезировать в лабораторных условиях путем радиационной обработки растительного стероида эргостерина. Название «витамин D₁» в настоящее время не используется, поскольку вещество, для обозначения которого оно применялось, представляет собой, как выяснилось, смесь кальциферола с другими стероидами.



Витамин А играет важную роль в различных биохимических и физиологических процессах. В виде фармакологического препарата он применяется для лечения некоторых форм дерматита. Еще более эффективны его синтетические производные, известные под названием «ретиноиды». Значительный интерес к этим соединениям вызван также тем обстоятельством, что они, по-видимому, обладают способностью препятствовать образованию раковых опухолей.

Недостаток витамина Е у животных приводит к возникновению отклонений в деятельности различных органов и систем организма, что связано, по-видимому, с нарушениями метаболизма жирных кислот и многих других ферментативных процессов. Примечательно, что многие признаки и симптомы, появляющиеся у животных при недостатке витамина Е, внешне напоминают болезненные состояния у людей. Однако необходимость присутствия витамина Е в пищевом рационе человека и его ценность с точки зрения терапии доказаны еще недостаточно.

Витамин К является обязательным компонентом пищевого рациона и необходим для нормального биосинтеза некоторых веществ, ответственных за сворачивание крови. Было замечено что при отклонениях от сбалансированного состава корма у цыплят развивается заболевание, основным симптомом которого является внезапное кровотечение. Причиной этого заболевания служит, по-видимому, низкое содержание в крови протромбина. В ходе дальнейших исследований выяснилось, что болезнь не поддается лечению никакими из известных витаминов, но быстро проходит при добавлении в корм некоего жиро-подобного вещества, которому было присвоено наименование «витамин К» (витамин коагуляции).

Недостаток витамина D в организме высших животных приводит к нарушениям кальций-фосфатного метаболизма, что вызывает структурные изменения костей и зубов. Заболевание, вызванное резким недостатком витамина D, носит название рахита у детей и остеомаляции у взрослых. С другой стороны, потребление избыточного количества этого витамина также оказывает токсическое действие. Вслед за первоначальным повышением содержания кальция в крови происходят метастатическая кальцинация различных внутренних органов и в конечном итоге декальцинация скелетных структур..

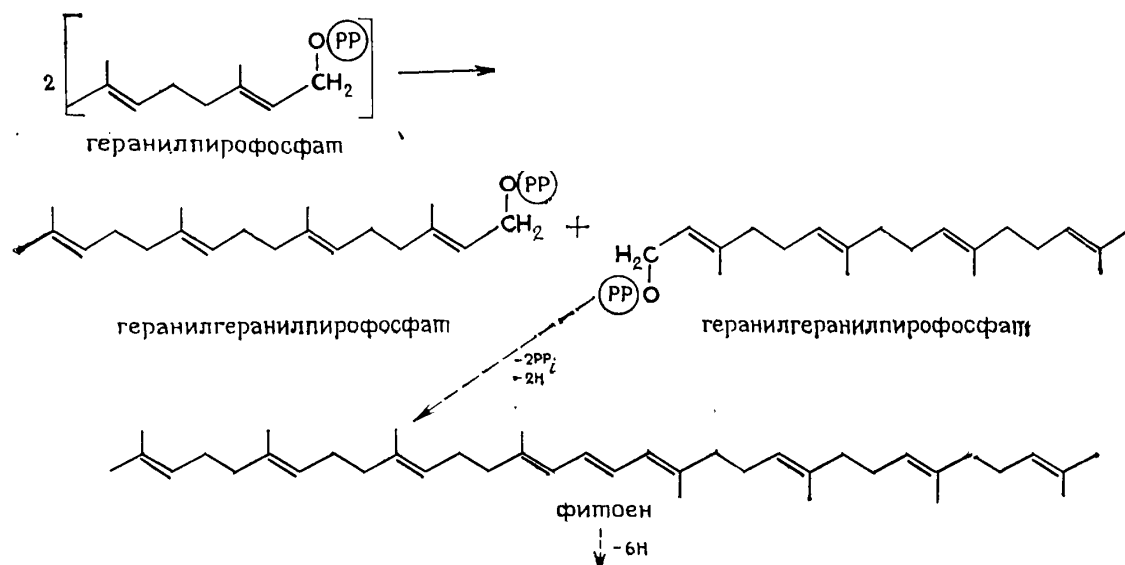
Витамины группы D стимулируют всасывание из кишечного тракта ионов кальция, но не оказывают, по-видимому, прямого воздействия на процесс поглощения фосфата. Пониженная скорость накопления костных солей у авитаминозных животных обусловлена главным образом нарушением способности к усвоению кальция. Витамин D имеет важное значение также для жизнедеятельности внутренних тканей организма. Например, содержание цитрата в костях и внутренних органах (почках, сердце) крыс, страдающих от недостатка витамина D, быстро возрастает при добавлении в корм этого витамина. В целом можно констатировать, что, несмотря на общепризнанную важную роль, которую играют витамины группы D в процессах роста и особенно в образовании и обеспечении жизнедеятельности костной ткани, биохимические функции этих веществ остаются во многом неясными.

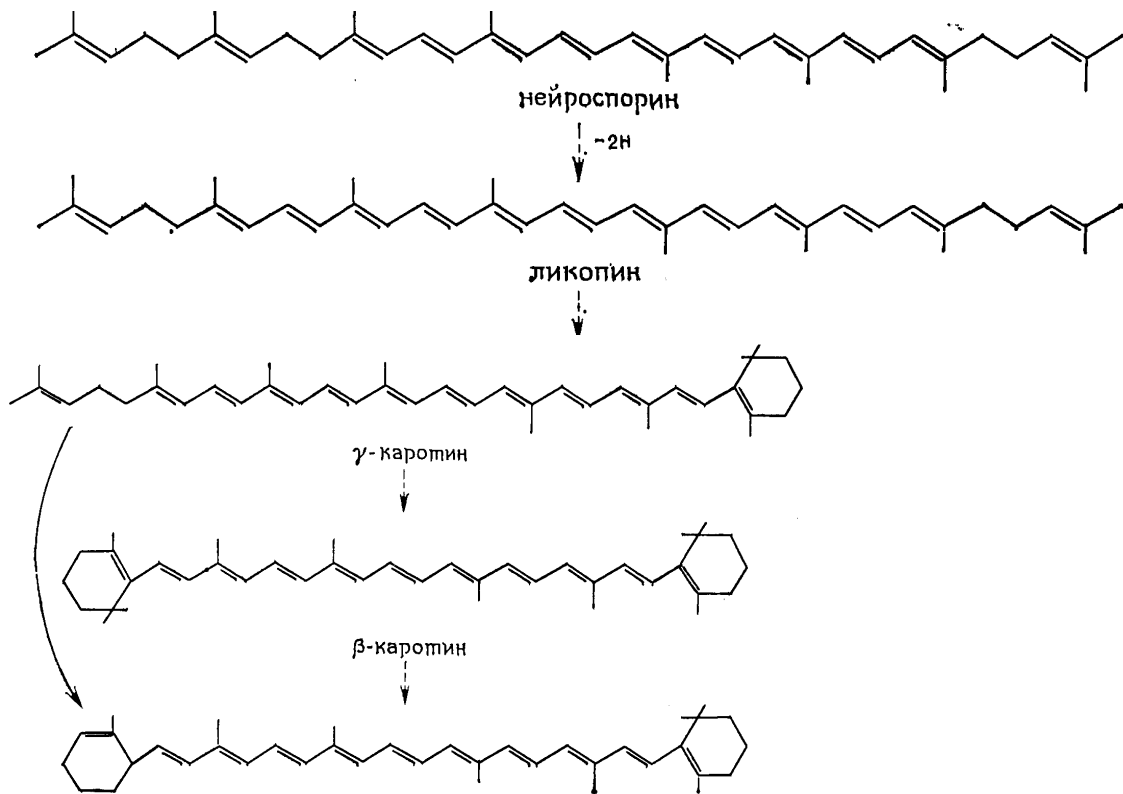
Витамин А

Структуры витамина А (ретинола) и β-каротина приведены в разд. 3.3.2 и 40.2.1.1. Активностью витамина А у млекопитающих обладают α-, β- и γ-каротины, ретинол & ретинол₂ (гл. 40) и небольшое число других каротиноидов. Каротины эффективны при потреблении с пищей, если только они могут превратиться в ретинол. Из симметричного β-каротина в физиологических условиях образуются две молекулы ретинола. α-Каротин и γ-каротин, так же как и криптоксантин, имеют только одно такое кольцо, которое находится в ретиноле; при поступлении с пищей они в два раза менее эффективны (в расчете на вес), чем ретинол или (З-каротин. Другие каротиноиды, такие, как *ликопен* или *ксантофилл*, которые не имеют кольца или же имеют кольцо, отличное от такового у ретинола, не обладают активностью витамина А. Обнаруженный у пресноводных рыб ретинол₂, ионное кольцо (разд. 40.2.1.2) которого содержит дополнительную двойную связь, столь же активен, как ретинол, в качестве стимулятора роста животных с недостаточностью витамина А. В общем случае витамин А имеет полностью транс-конфигурацию, однако некоторые морские ракообразные содержат *neo b* (11-цис)-форму. Хотя, в качестве стандартов могут быть использованы чистые ретинол и каротин, активность витамина А в пищевых продуктах выражают в международных единицах; одна международная единица (МЕ) витамина А эквивалентна 0,6 мкг β-каротина. Система двойных связей всех каротиноидов легко окисляется атмосферным кислородом: при этом утрачивается активность витамина А. В натуральных пищевых продуктах окисление предотвращается благодаря наличию *антиоксидантов*, таких, как витамин Е (разд. 51.3).

51.1.1. Биогенез

Распределение углеродных атомов в ретиноле и каротинах согласуется с ожидаемым при образовании этих молекул путем полимеризации изопреноидных единиц. У тех видов, у которых происходят эти синтезы, например у всех фотосинтезирующих бактерий, в процессе участвуют те же структурные единицы, которые используются в синтезе стероидов, а именно мевалоновая кислота, диметилаллилпирофосфат, изопentenилпирофосфат и геранилпирофосфат (рис. 18.4). Как показано на рис. 51.1, две молекулы *геранилпирофосфата* конденсируются с образованием *геранилгеранилпирофосфата*, а две молекулы последнего конденсируются, образуя *фитоен*. Последовательное образование четырех дополнительных двойных связей приводит к *ликопену*, в результате последующего образования кольца ^получаются обычные каротины. Известны три дополнительных альтернативных пути, в ходе которых образование кольца предшествует некоторым из стадий образования двойных связей.

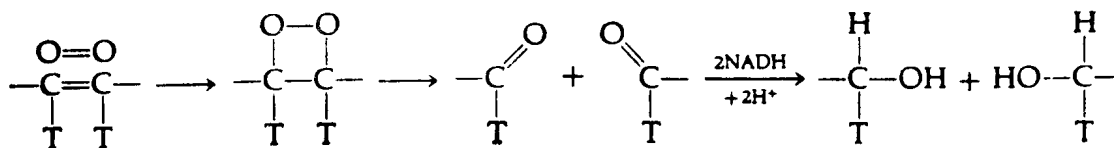




51.1.2. Метаболизм

Быстрое увеличение количества ретинола в печени экспериментальных животных после введения α -каротина и очевидная недостаточность соответствующего превращения у пациентов с тяжелыми поражениями печени позволяют предположить, что печень — главный орган, в котором происходит образование ретинола из каротина. В действительности же главным местом превращения α -каротина в ретинол является слизистая кишечника, однако расщепляющий фермент имеется также в печени некоторых видов животных.

В опытах на крысах было показано, что при превращении в ретинол α -каротина, у которого два центральных углерода боковой цепи, соединяющей ионные кольца, связаны с тритием, последний сохраняется в продукте. Процесс катализируется железосодержащей β -каротин-15,15'-диоксигеназой, на первой стадии образуется ретиналь, который далее восстанавливается NADH или NADPH.

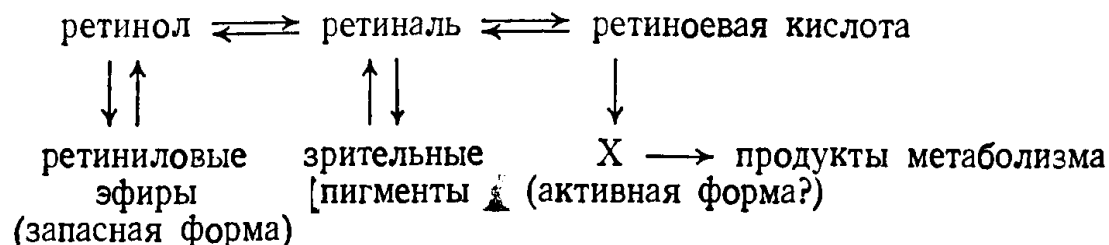


Растворимая диоксигеназа из слизистой кишечника крысы проявляет максимальную активность в присутствии детергентов; она ингибируется реагентами, которые связывают железо, и реагентами, взаимодействующими с SH-группами; этот фермент сходен со многими другими диоксигеназами (разд. 13.6.4). В слизистой кишечника ретинол образует сложные эфиры с длинноцепочечными жирными кислотами. Эти ретиноловые эфиры транспортируются, будучи ассоциированы с хиломикронами, по лимфатической системе в печень.

Ретиноловые эфиры (именно эти соединения находятся в употребляемой в качестве продукта питания печени и в рыбьем жире) гидролизуются в кишечнике, ретерифицируются с пальмитатом, транспортируются из кишечника с хиломикронами и сохраняются в купферовских клетках печени. Многие ткани содержат относительно тельно специфическую ретидилэстеразу. Ретинол транспортируется в плазме человека специфическим ретинолсвязывающим белком (РСБ), входящим во фракцию агглобулинов (M 20000); его концентрация в плазме 4—5 мг/100 мл. РСБ связывается с преальбумином плазмы в отношении 1 : 1. Комплекс РСБ—ретинол специфически связывается хориоидальной поверхностью пигментных эпителиальных клеток сетчатки и, по-видимому, поставляет ретинол специфическим рецепторам.

В процессе зрения функционирует ретинол (разд. 40.2.1.1); другие химические формы витамина А, участвующие в физиологических процессах, неизвестны. Ретиноевая кислота (образующаяся

при O'кислении спиртовой группы ретинола до карбоксильной) может частично заменять ретинол в рационе к.рыс; эта кислота стимулирует рост костей и мягких тканей, а также образование спермы; она, однако, не может функционировать в зрительном процессе и не обеспечивает развитие эмбрионов. У к.рыс ретиноевая кислота превращается в неохарактеризованное соединение, которое в несколько раз активнее, чем исходная кислота в обычных тестах по определению витамина А в пищевых продуктах. Избыток ретиноевой кислоты не может накапливаться в организме и выделяется с желчью в форме соответствующих глюкозидуронидов. Конечная метаболическая судьба ретинола и его производных неизвестна. Рассмотренные выше сведения можно суммировать в виде следующей схемы:



Недостаточность витамина А оказывает выраженное влияние практически на все органы. Однако, за исключением участия в зрительном процессе (гл. 40) и, возможно, в синтезе хондроитин-сульфата (см. ниже), метаболические функции витамина А неизвестны.

51.1.3. Недостаточность

Проявления недостаточности витамина А мало отличаются у различных видов. У молодых животных наблюдается остановка роста и кератинизирующая метаплазия эпителиальных клеток всех органов. Хорошо известны поражения глаз, приводящие к *ксерофтальмии* — важной причине слепоты у плохо питающихся детей в развивающихся странах тропических областей. Часто наблюдается повышенная восприимчивость к инфекциям дыхательных путей. Могут происходить метаплазия клеток мозгового слоя почек и образование почечных камней. Протоки желез различных типов могут закупориваться, а сами железы атрофироваться. У самцов атрофия эпителия семенников приводит к стерильности. В мазке из влагалищного отделяемого видны метаплазированные клетки; тем не менее овуляция не нарушается, и может происходить имплантация; следует, однако, отметить, что у животных с недостаточностью витамина А редко рождаются нормальные детеныши из-за поражений плаценты. Ткань молочной железы у животных с недостаточностью витамина А проявляет повышенную чувствительность к эстрогенам.

Наиболее ранним признаком недостаточности витамина А у людей и экспериментальных животных является «куриная слепота». Не наблюдается непосредственной взаимосвязи между нарушением зрения при куриной слепоте и общими поражениями (ксерофтальмией). Последствия недостаточности витамина А для сетчатки наблюдали на крысах, которым давали ретиноевую кислоту, предотвращающую поражения других тканей. Через 5 месяцев зрительный порог (минимальная яркость вспышки продолжительностью 0,02 с, вызывающая заметное изменение на электро-ретинограмме) увеличивается в 2500 раз по сравнению с нормой. Через 10 месяцев крысы слепнут. Число зрительных клеток уменьшается; наружные сегменты палочек дегенерируют, а затем исчезают. На этой стадии введение витамина А не может устранить повреждения.

Прекращение роста костей является ранним проявлением недостаточности витамина А; кости становятся такими же, как у животных, у которых остановка роста вызвана голоданием. Прекращение роста костей является, по-видимому, следствием нарушения синтеза хондроитинсульфата, которое, по имеющимся данным, обусловлено отсутствием фосфаденозинфосфосульфата (разд. 20.4.1) и связано, как полагают, со значительным увеличением сульфатазной активности в лизосомах. Ранние нарушения роста костей черепа приводят к повреждению тканей центральной нервной системы, поскольку эти ткани продолжают расти после остановки роста «костей». Еще до появления других признаков наблюдается повышение давления спинномозговой жидкости.

Характерным признаком недостаточности витамина А у людей считается образование гиперкератозных папул вокруг волосяных фолликулов; в тяжелых случаях наблюдается «жабья кожа». Подобные изменения кожи не возникают у животных, лишенных витамина А, но получающих по остальным показателям полноценную диету; если, однако, молодых к.рыс содержать на диете, лишенной не только витамина А, но и большинства витаминов комплекса В, у них на коже развиваются аналогичные изменения вследствие атрофии внутренних слоев дермы. Поражение кожи при недостаточности витамина А у человека наблюдается только при сопутствующем недостатке витаминов комплекса В.

Проявления недостаточности витамина А у молодых животных наблюдать легче, чем у взрослых; это обусловлено двумя обстоятельствами: 1) характерные для недостаточности витамина А изменения, особенно в скелете и нервной системе, можно наблюдать только у

растущих животных; 2) запасы витамина А в печени нормальных хорошо питающихся взрослых животных могут быть достаточными для удовлетворения потребностей в течение нескольких лет. В печени новорожденных нет запаса витамина А. Вследствие этого ксерофтальмия наблюдается у значительного числа детей, однако относительно редко встречается у взрослых. Так, ежегодно десятки тысяч детей в возрасте 18—36 месяцев, главным образом в тропических странах, теряют зрение из-за ксерофтальмии. У многих из этих детей наблюдается также квадпиоркор; возможно, что именно комбинация рассматриваемых заболеваний, вызванных недостатком витаминов, обуславливает повышенную восприимчивость к инфекциям.

У добровольцев, находившихся на бедной витамином А диете более двух лет, наблюдалось только нарушение темновой адаптации. В ряде сообщений приводятся противоречивые данные даже в отношении появления нарушений темновой адаптации. Так, согласно одному из сообщений стойкое нарушение темновой адаптации наблюдалось только у одного из 71 обследуемых, находившихся под наблюдением в течение двух лет; у других обследуемых нарушения темновой адаптации были выражены в различной степени. Иногда адаптация сначала сильно снижалась, а затем возвращалась к норме, хотя обследуемый постоянно получал диету с уменьшенным содержанием витамина А.

51.1.4. Токсичность

Если молодым крысам давать увеличенные дозы витамина А, то кости у них становятся чрезвычайно ломкими, что приводит к многочисленным спонтанным переломам. У детей, получавших ежедневно большие дозы (до 500000 единиц) витамина А в течение продолжительного времени, столь серьезных нарушений обнаружено не было; у них наблюдали болезненную припухлость вдоль длинных костей, некоторое ограничение подвижности, а также гиперостоз (разрастание кости). У взрослых людей, принимавших ежедневно 500000 единиц, был обнаружен кальциноз периферических связочных и поднадкостничных структур, подобный тому, который возникает у крыс. При еще более высоких дозах витамина уже через несколько дней возникали сильные головные боли, тошнота, слабость, развивался дерматит. При изучении влияния витамина А на зачатки конечностей в культуре ткани наблюдали остановку образования кости, а уже образовавшийся хрящ разрушался под действием гидролитических ферментов, освобождавшихся из лизосом хрящевых клеток. По-видимому, подобными процессами объясняется выраженное уродство потомства, наблюдаемое после введения беременным крысам больших доз витамина А. Эти проявления избытка витамина А, подобно проявлениям избытка железа (разд. 32.7.3) и витамина D (см. ниже), являются «наказанием» животному за его неспособность экскретировать избыточные количества этих веществ.

51.1.5. Роль в питании человека

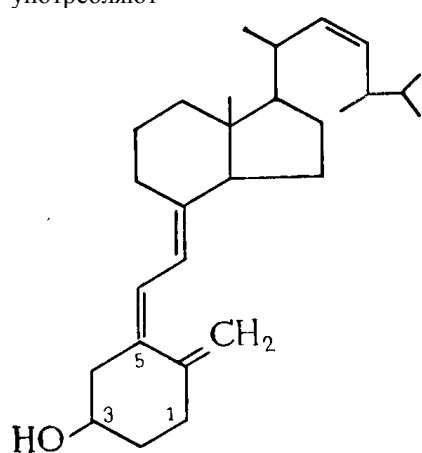
Житель США получает около 65% витамина А с фруктами и овощами. Примерно половина этого количества поступает за счет овощей зеленого и желтого цвета; салат, шпинат, свекла, салат эскариоль, морковь, сладкий картофель являются особо богатыми источниками каротиноидов. Эффективность всасывания этих каротиноидов у человека и степень превращения их в ретинол неизвестны. При стеаторрее с фекалиями экскретируется значительная доля поступающих с пищей витамина А и каротиноидов. Воздействия, увеличивающие всасывание липидов в кишечнике, например эмульгирование, улучшают также всасывание витамина А.

Причиной значительного снижения содержания витамина А и каротинов в обычной диете может явиться их окисление; оно может быть предотвращено при наличии адекватного количества витамина Е (см. ниже). Наиболее богатым природным источником витамина А является рыбий жир; в зависимости от вида рыб и от времени, прошедшего после улова, печень рыбы содержит от 2000 до 100000 МЕ/г (МЕ—международная единица). В то же время печень человека содержит от 500 до 1000 МЕ/г. Содержание витамина А в потребляемых препаратах рыбьего жира различно; оно наименьшее в жире трески и наибольшее в жире акулы и палтуса. Исследования, проведенные с целью установления потребности в витамине А для взрослого человека, показали, что минимальная ежедневная доза, обеспечивающая поддержание адекватной концентрации витамина в крови и препятствующая появлению симптомов недостаточности, составляет 600—750 мкг (2000—2500 МЕ) ретинола или удвоенное количество β-каротина. Дозы, приведенные в табл. 49.2, несколько завышены.

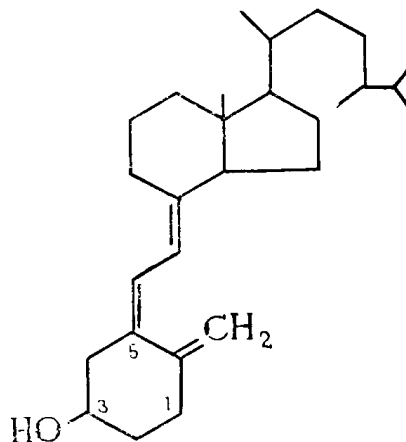
51.2. Витамин D

Давно было отмечено, что у детей рахит наблюдается преимущественно в тех климатических зонах, в которых относительно мало солнечных дней. Экспериментальный рахит можно вызвать у крыс с помощью диеты из «натуральных продуктов, бедных кальцием. Ультрафиолетовое облучение продуктов, входящих в состав диеты, предупреждает развитие рахита. Чувствительное к ультрафиолету соединение было идентифицировано; им оказался 7-дегидрохолестерин. При облучении эргостерина (из дрожжей) образуется ряд изомерных производных, одно из которых, *кальциферол*, обладает выраженным антирахитным действием;

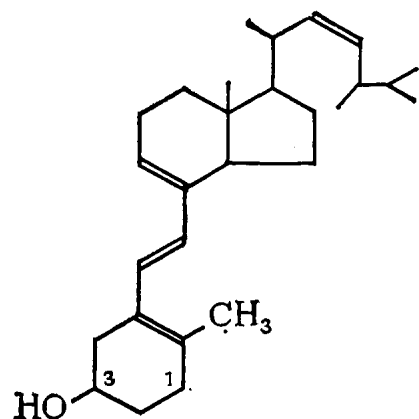
оно получило название *витамин D2*. При дальнейшем облучении кальциферол инактивируется. Продукт, образующийся при облучении 7-дегидрохолестерина, получил название *витамин D3* или *холекальциферол*. Продукт, который первоначально называли витамином D1, оказался смесью кальциферолов и других стероидов; в настоящее время название *витамин D1* не употребляют



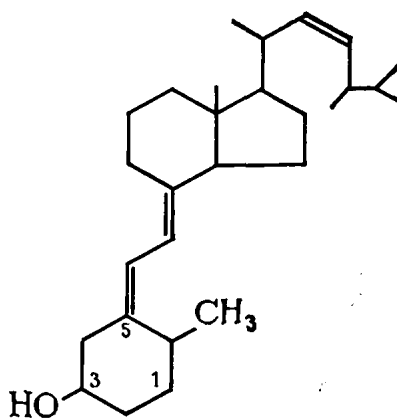
кальциферол (D₂)



холекальциферол (D₃)



тахистерин



дигидротрахистерин

Из ряда соединений, полученных при облучении эргостерина, только кальциферол (витамин D₂) обладает противорахитной активностью. Однако одно из соединений, *тахистерин*, можно каталитически восстановить до *дигидротрахистерина*, который обладает противорахитным действием. Превращения находящегося в коже 7-дегидрохолестерина при облучении позволяют объяснить противорахитное действие солнечного света и ультрафиолетового облучения. Коммерческие препараты витамина D получают путем облучения эргостерина. Согласно принятому соглашению, одна международная единица активности (1 ME) витамина D—это активность 0,01 мл усредненного медицинского трескового жира; она эквивалентна 0,05 мкг (кальциферола). Рекомендованная ежедневная доза составляет 400 ME. Наличие витамина D в жире печени рыб не получило объяснения. Если исходить из допущения, что витамин D может образовываться только при облучении стероидов

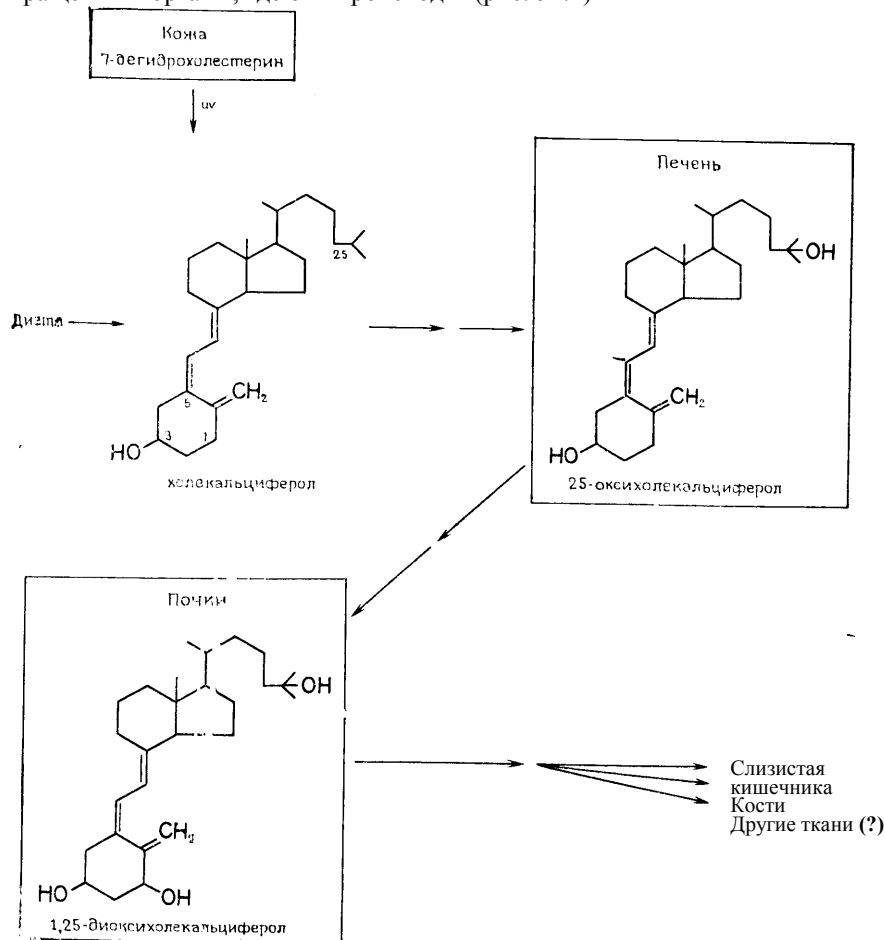
солнечным светом, то в печень рыб витамин может попадать только из пищи. Источником витамина в жире печени рыб в таком случае должен был бы служить растительный и животный планктон, находящийся около поверхности морской воды. Однако при исследовании этого материала на содержание витамина D всегда получали отрицательный результат; так что проблема остается неразрешенной.

Поскольку молоко является главным источником кальция в диете и широко используется в питании детей, оно было выбрано для обогащения витамином D; обогащение может быть осуществлено либо путем облучения ультрафиолетом (такое облучение обычно проводится при получении молочного порошка), либо путем добавления концентратов витамина. В первом случае (при облучении) происходит образование холекальциферола, во втором—кальциферол добавляется. Содержание витамина D в молоке можно также повысить, добавляя в рацион коров облученные дрожжи; при этом часть кальциферола попадает в молоко. Поскольку обычно рыбий жир не входит в состав диеты, а другие пищевые продукты не содержат достаточного

количества витами-на D, растущий организм ребенка для обеспечения витамином .нуждается в облучении солнечным светом. Раньше, когда дети не получали рыбий жир или концентраты витамина D, рахит часто встречался в северных районах, где зима продолжительна и почти не бывает солнечных дней в течение нескольких месяцев.

51.2.1. Участие в метаболизме

Большая часть проявлений недостаточности витамина D (а возможно, и все проявления) связаны с нарушением образования костей. Как указывалось выше (разд. 39.1.1), витамин D влияет на всасывание Ca^{+} из кишечника и мобилизацию Ca^{+} из костей. Поскольку сам витамин действует медленно, очевидно, что он превращается в более активно действующие вещества. Используя меченый холекальциферол, удалось установить природу этих превращений и органы, где они происходят (рис. 51.2)



Схематическое изображение локализации и характера превращений холекальциферола (витамина D₃)

Холекальциферол (витамин D₃) транспортируется в печень, где он превращается в 25-оксихолекальциферол под действием митохондриальной ферментной системы, функционирующей при участии NADH и молекулярного O₂. Превращение сильно тормозится продуктом реакции; в результате, с одной стороны, уменьшается расход витамина, а с другой — концентрация продукта не достигает токсического уровня (см. ниже). 25-Оксихолекальциферол в свою очередь гидроксилируется затем в почках с образованием 1,25-дигидроксиохолекальциферола. Поскольку эту стадию можно блокировать предварительным введением актиномицина D или цикло-гексимида, то следует предполагать, что 25-оксихолекальциферол индуцирует образование фактора (фермента?), необходимого для трансформации.

1,25-Дигидроксиохолекальциферол усиливает транспорт Ca^{+} в кишечнике. Под влиянием этого стерина происходит также превращение соответствующего белка клеток слизистой кишечника в кальцийсвязывающий белок; последний функционирует в зоне кишечной каймы (на микроворсинках). Кальцийсвязывающий белок слизистой кишечника быка ($M 10000$) связывает одну молекулу Ca^{+} ; $La^{+} \cdot 6 \cdot 10^{-4} M^{-1}$. Предполагают, что кальцийсвязывающий белок и Ca^{+} -зависимая АТРаза участвуют в процессе транспорта Ca^{+} в кишечнике; этот процесс зависит также от Na^{+} . Через 24 ч после введения диоксипроизводное в 4—5 раз, а 25-оксипро-изводное в 2 раза эффективнее, чем холекальциферол, стимулируют транспорт Ca^{+} в кишечнике; через 9 ч после введения диоксипроизводное стимулирует транспорт по крайней мере в 13 раз сильнее,

чем холекальциферол. 1,25-Диоксихолекальциферол значительно быстрее, чем холекальциферол или 25-Оксихолекальциферол, вызывает мобилизацию Ca^{+} из костной ткани. Поскольку это действие блокирует актиномицин D, можно предполагать, что диоксипроизводное предварительно модифицируется с образованием другой метаболически активной формы.

Было высказано предположение, что случаи рахита, не поддающиеся лечению витамином D, обусловлены неспособностью почек синтезировать адекватные количества 1,25-диоксихолекальциферола. Действительно, в условиях, когда почки выключены (у пациентов с искусственной почкой), наблюдается значительное снижение всасывания Ca^{+} , по-видимому, из-за прекращения гид-роксилирования хол[^]кальциферола по положению 1. Введение 1-окси- или 1,25-диоксихолекальциферола в дозах 2,5—5,0 мкг/сут повышает всасывание Ca^{+} до нормы.

Рахит—заболевание растущих костей. При этом не осуществляется последняя стадия образования кости—отложение минеральных веществ на вновь образовавшемся матриксе (образование же последнего продолжается). Зона кальцификации четко не локализована, она не сплошная и значительно деформирована. У детей, страдающих рахитом, наблюдаются различные деформации скелета—саблевидные голени, вывернутые внутрь колени, рахитические четки на ребрах и «птичья грудь».

Следует отметить, что стимуляция транспорта Ca^{+} в кишечнике 1,25-диоксихолекальциферолом не дает полного объяснения эффективности последнего при лечении и предупреждении рахита. Хрящ животного, больного рахитом, не кальцифицируется, если его инкубировать в сыворотке крови этого же животного даже при добавлении кальция и фосфата, в то время как в сыворотке здорового животного при таких же концентрациях кальция и фосфата кальцификация происходит весьма эффективно. Обусловлено ли это наличием в нормальной сыворотке продукта метаболизма холекальциферола, неизвестно. Далее, при лечении рахита витамином D терапевтический эффект наблюдается быстрее, чем можно было бы ожидать, учитывая количества дополнительного абсорбированного в течение первых нескольких дней кальция. В настоящее время можно констатировать только, что при поступлении с пищей витамина D происходит кальцификация матрикса кости, в то же время при недостаточности витамина D этот процесс нарушается.

Хотя тяжелые формы рахита редко встречаются в США, легкие формы этого заболевания, вероятно, весьма распространены. Гистологические изменения, характерные для рахита, были обнаружены почти у 50% из 700 детей, скончавшихся от различных причин в больнице Джонса Гопкинса за 1940—1942 гг. Поскольку новорожденные младенцы практически не имеют резервных запасов витамина D, они нуждаются либо в самом витамине, либо в адекватном облучении солнечным светом.

Способность млекопитающих накапливать витамин D ограничена. Однако однократное введение витамина может обеспечить потребности организма в течение нескольких недель или даже месяцев. Судьба введенного витамина D и продуктов его метаболизма не ясна. Некоторое количество метаболитов экскретируется с желчью; однако суммарное количество метаболитов, экскретир-руемых с мочой и фекалиями, обычно значительно меньше, чем количество поступившего в организм витамина. После введения [^]C-кальциферола примерно 15% его обнаруживается в печени, существенно меньшие количества—в других тканях; значительная часть витамина деградирует до неидентифицированных продуктов.

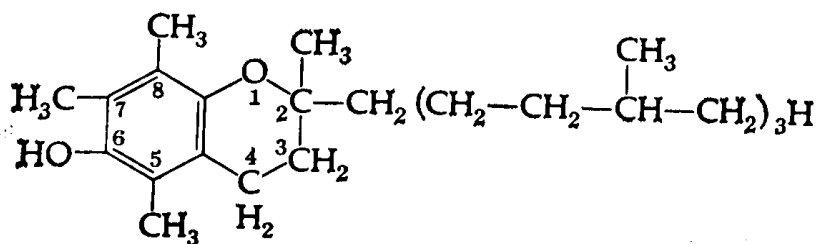
51.2.2. Токсичность

При приеме в течение продолжительного периода времени избыточных количеств кальциферола (в 10 раз превышающих нор-мальную ежедневную дозу) у детей и у взрослых происходит де-минерализация костей; незначительные травмы могут сопровождаться множественными переломами костей. В сыворотке крови значительно повышаются концентрации Ca^{2+} и P_i, это приводит к «метастатической» кальцификации многих мягких тканей и об-

разованию камней в почках. Камни могут закупоривать почечные каналцы, что приводит к вторичному гидро-нефрозу; часто пациент обращается к врачу именно по поводу заболевания почек. Механизм развития этих нарушений при передозировке витамина D не выяснен.

51.3. Витамин E

Крысы, рацион которых состоит только из коровьего молока, оказываются неспособными приносить потомство. Фактор, находящийся в растительных маслах, особенно в масле из зародышей пшеничных зерен, возвращающий способность к размножению у самцов и самок крыс, был назван витамином E. Этот витамин тормозит прогоркание и окислительную деструкцию витамина A в природных жирах. Однако когда начинается прогоркание, продукты окисления ненасыщенных жирных кислот разрушают витамин E.



α -токоферол (5,7,8-триметилтокол)

Витамин был выделен из масла зародышей пшеничных зерен в 1936 г. и получил название *токоферол*. Семь токоферолов, производных исходного соединения *токола* [2-метил-2-(4⁸ 12[^]-триметилтридецил)хроман-6-ол], найдены в природных источниках; среди них наибольшее распространение и наибольшую биологическую активность имеет α -токоферол. Токоферолы обозначают греческими буквами: альфа (5,7,8-триметилтокол), бета (5,8-диметилтокол), гамма (7,8-диметилтокол) и дельта (8-метилтокол).

Недостаточность

Проявления недостаточности витамина Е у лабораторных животных весьма разнообразны. Классическим проявлением у крыс является бесплодие. У самок крыс не утрачивается способность образовывать кажущуюся нормальной яйцеклетку; их матка и плацента не имеют дефектов. Однако вскоре после первой недели развития эмбрионы погибают, а затем рассасываются. Гибель эмбрионов можно предотвратить, если ввести витамин Е до 5-го или 6-го дня беременности. У самцов наиболее ранним наблюдаемым признаком недостаточности является неподвижность сперматозоидов; позднее происходит дегенерация зародышевого эпителия. Не наблюдается, однако, изменения наружных половых органов или снижения половой силы; последняя может ослабевать при продолжительной недостаточности витамина Е.

У крыс при недостаточности витамина Е наблюдается также ряд других изменений: дегенерация эпителия почечных канальцев, депигментация передних зубов (резцов) и появление в депо липидов коричневого пигмента, если в состав рациона входят ненасыщенные липиды (например, тресковый жир). У крыс, находящихся на рационе с недостатком витамина Е и белка, развивается острый некроз печени, который можно предотвратить введением цистина, метионина, токоферола или селенита (разд. 49.2.6.8). Некроз печени развивается только в том случае, если рацион содержит значительные количества ненасыщенных липидов. Другим проявлением недостаточности витамина Е является гемолиз эритроцитов *in vitro* в присутствии пероксидов или производных аллоксана (например, диалуровой кислоты). У крыс с продолжительной недостаточностью витамина Е развивается мышечная дистрофия с явлениями прогрессирующего паралича задних конечностей, понижается содержание креатина в мышцах, возникает креатурия и несколько снижается экскреция креатинина. Могут также развиваться явления недостаточности витамина А вследствие окислительной деструкции последнего из-за отсутствия в рационе витамина, обладающего антиоксидантными свойствами.

Более чувствительны (чем крысы) к недостатку витамина Е травоядные животные (например, кролик, морская свинка), даже если их рацион содержит относительно немного ненасыщенных липидов. У животных этих видов очень быстро развивается мышечная дистрофия, и через несколько недель они погибают. Подобная же картина наблюдается у телят, ягнят («заболевание белых мышц») и утят. У обезьян развивается гемолитическая анемия.

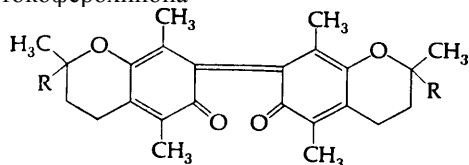
Описан случай недостаточности токоферола у взрослого человека. У женщины с хроническим ксантоматозным желчным циррозом и нарушением всасывания липидов в кишечнике содержание токоферола в сыворотке крови было снижено; у нее наблюдалась мышечная слабость, креатурия и необычно сильный гемолиз эритроцитов в присутствии диалуровой кислоты. Эти признаки недостаточности витамина Е исчезли после введения α -токоферола. Повышенную чувствительность эритроцитов к диалуровой кислоте, снижающуюся после введения токоферола, наблюдали у преждевременно родившихся младенцев и у младенцев со стеаторреей. Сообщалось о признаках недостатка витамина Е при α - и ρ -липопротеидемиях. При ρ -липопротеидемии отмечены значительные изменения в плазматических мембранах клеток слизистой кишечника. Поскольку после введения витамина ультраструктура клетки становилась нормальной, было высказано предположение о том, что витамин играет важную роль в метаболизме мембран.

Метаболизм

Большинство проявлений недостаточности токоферола зависит, по-видимому, от прекращения осуществляемого витамином ингибирующего действия на аутоокисление ненасыщенных жирных кислот. Метиленовый синий, тиодифениламин и N,N-дифенил- β -фенилендиамин (DPPD)—вещества, участвующие в обратимых окислительно-восстановительных реакциях (структурно не сходные с токоферолом), предотвращают многие проявления недостаточности витамина Е у экспериментальных животных. Было показано, что DPPD способен заменять витамин Е у трех поколений крыс. Большое число различных

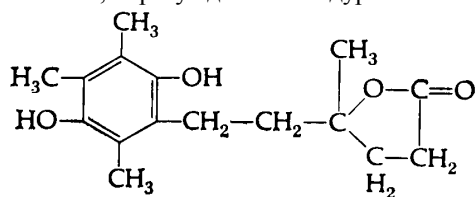
соединений, структуры которых И1 имеют некоторое сходство с токоферолом (кумарины, хроманы, фенолы, хиноны и др.), проявляют (некоторую) активность витамина Е; различные же формы убихинона (разд. 12.4), например гексагид-ро-СоQ4, по крайней мере не менее активны, чем а-токоферол. Неизвестно, коррелирует ли относительная биологическая активность этих соединений с их антиоксидантной активностью.

Печень богата не только витамином А, но содержит также значительное количество ди-а-токоферохинона



Ткани животных с недостаточностью витамина Е, особенно сердечная и скелетная мышцы, более быстро потребляют кислород, чем ткани нормальных животных. а-Токоферол нелегко подвергается обратимому окислению. При химическом окислении образуются а-токоферолхинон и а-токоферолоксид; первый может быть восстановлен в а-токоферол; неизвестно, однако, происходят ли подобные превращения в биологических системах транспорта электронов. Увеличенное потребление кислорода мышцами животных при недостаточности витамина Е связано, по-видимому, с перо-ксидным окислением ненасыщенных жирных кислот. В других тканях, например в печени, это приводит к нарушению структуры мито-'хондрий и снижению дыхания. Имеются данные о том, что перо-ксидное окисление ненасыщенных жирных кислот в эндоплазматическом ретикулуме мышечных клеток приводит к освобождению 'лизосомальных гидролаз, в результате развивается мышечная дистрофия. Все проявления недостаточности витамина Е представляют собой, по-видимому, вторичные явления, обусловленные отсутствием торможения пероксидного окисления полиненасыщенных жирных кислот.

В организме человека происходит окисление как хроманового кольца, так и боковой цепи а-токоферола; изображенный **ниже** продукт экскретируется с желчью; предварительно он конъюгируется (по обоим гидроксильным группам) с двумя молекулами И1 глюкуроновой кислоты, образуя диглюкозидуронат.



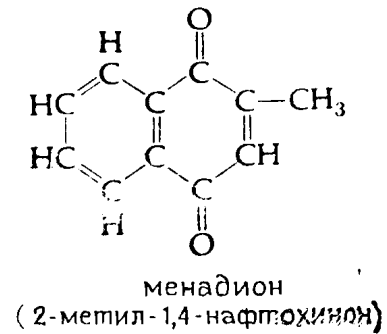
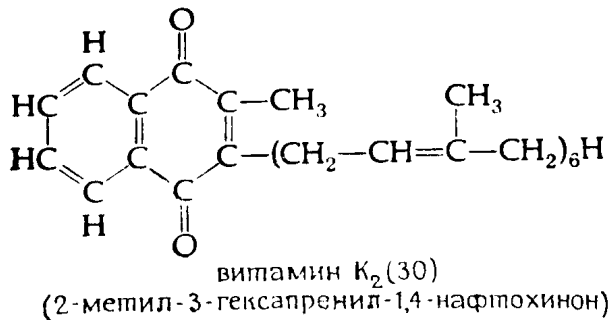
Потребность

Сообщения о наличии признаков недостаточности токоферола в случаях, когда нарушается всасывание липидов, являются единственными данными о том, что витамин Е необходим для человека. Учитывая универсальную потребность других видов животных в этом витамине, можно полагать, что токоферолы являются необходимыми компонентами диеты человека; их широкое распространение в большинстве случаев обеспечивает предотвращение проявлений недостаточности. Потребность в токофероле связана, по-видимому, с содержанием в диете полиненасыщенных жирных кислот. Наиболее богатыми природными источниками токоферола являются растительные масла, например масло зародышей пшеничных зерен, рисовое масло, мало семян хлопчатника, а также ли-пиды зеленых листьев. Рыбий жир не содержит токоферола.

51.4. Витамин К

У кур, находящихся на синтетическом рационе, развивается геморрагическое состояние, характеризующееся замедленным свертыванием крови. Вещество, находящееся в различных пищевых продуктах, обладающее превентивным действием, было названо витамином К; оно было выделено из концентратов люцерны ирыбокостной муки в 1939 г. Препарат из люцерны получил название *витамин К1*, а из рыбокостной муки— К.2.

Известен ряд аналогов витамина К2; они отличаются только длиной боковой цепи; у соединения, выделенного из рыбокостной муки, боковая цепь содержит 30 углеродных атомов. Активностью витамина К обладают многие близкие по структуре соединения. Можно отметить, например, что 2-1 метил-1,4-нафтохинон (менадион) имеет такую же активность (в расчете на моль), как и витамин К1



Восстановленная форма менадиона, 2-метил-1,4-нафтогидрохинон, почти так же активна, как исходное соединение (при тестировании на курах). Азотистый аналог, 4-имино-2-метил-1-нафтохинон, в 3—4 раза эффективнее витамина K₁ и является наиболее мощным известным соединением этой группы.

51.4.1. Недостаточность

При исключении витамина K из рациона у лабораторных животных-грызунов его недостаточность не наблюдается; это обусловлено образованием витамина кишечными бактериями, а не отсутствием потребности в нем. Если рост кишечной флоры подавлен сульфонидами, если животные содержатся в стерильных условиях или если предприняты меры, предупреждающие копрофагию, то у этих животных быстро появляются признаки недостаточности витамина K. У человека при стеаторрее, обусловленной закупоркой желчных путей, спру, поражением поджелудочной железы или другими причинами, которые затрудняют всасывание липидов, возникает недостаточность витамина K. Относительно небольшие повреждения, которые обычно не являются опасными, у животных с недостаточностью витамина K сопровождаются сильными кровотечениями, которые могут привести к шоку и гибели. Поскольку недостаточность витамина может быть следствием закупорки желчных путей, обычно перед операцией с целью удаления камней парентерально вводят витамин K.

Признаки недостаточности витамина K могут наблюдаться у новорожденных детей. Это проявляется в виде геморрагической болезни новорожденных, которая длится только до тех пор, пока в кишечнике еще нет бактериальной флоры. Введение витамина K беременным женщинам перед родами снижает число случаев рассматриваемой болезни. Других проявлений недостаточности витамина K у человека (кроме нарушения свертывания крови) не отмечено. По-видимому, не требуется введения в рацион витамина K, если не нарушено всасывание липидов из кишечника. Общее количество необходимого витамина, поступающего с пищей и за счет кишечной флоры, неизвестно.

51.4.2. Метаболическая роль

Было установлено, что функциональной основой влияния витамина K на синтез в печени четырех зимогенов системы свертывания крови является образование остатков α -карбоксиглутаминовой кислоты, необходимых для связывания Ca²⁺ (гл. 30). Такие остатки находятся также в небольшом белке из костной ткани (гл. 39). Учитывая широкое распространение витамина среди растений, животных и бактерий и роль Ca²⁺ во многих процессах, можно полагать, что процесс α -карбоксилирования осуществляется у многих организмов.

В опытах с митохондриями клеток кур (либо с недостатком витамина K, либо получавших дикумарин, разд. 29.3.2); наблюдали разобщение окисления и фосфорилирования. Дикумарин вызывает разобщение в цепи транспорта электронов как на участке от NADH до цитохрома c, так и на участке от ферроцитохрома c до кислорода. В печени имеется флавопротеид, который катализирует восстановление менадиона под действием NADH.

После введения ¹⁴C-менадиона в печени был обнаружен витамин K₁ (20). По-видимому, происходит удаление боковой цепи витамина K₂ и к кольцу присоединяется 20-углеродная боковая цепь витамина K₁. Эту реакцию, вероятно, катализирует тот же фермент, который осуществляет присоединение боковой цепи к кольцевой структуре убихинона (разд. 23.2.11). Конечная судьба витамина K неизвестна, некоторое количество менадиона экстремизируется в виде смеси моносульфата и диглюкозидуронида восстановленной формы, 2-метил-1,4-нафтогидрохинона.

51.5. Витамины: некоторые заключительные замечания

Не представляется вероятным, что с помощью классических методов, которые были использованы при обнаружении незаменимых факторов питания, будет обнаружен какой-либо новый фактор. Сохраняется, однако, возможность, что люди и животные нуждаются в определенных еще неизвестных соединениях, которые либо поставляются кишечными бактериями, либо, возможно, переносятся от матери к плоду в количестве, достаточном для

поддержания адекватного роста и здоровья в течение одного или более «поколений». Эти предположения можно проиллюстрировать на примерах открытия витамина К, биотина, фолиевой кислоты и кобаламина. Незначительные потребности в кобаламине и биотине напоминают о том, что при использовании рационов, состоящих из природных продуктов, следует учитывать вероятность присутствия в них еще неизвестных факторов.

При рассмотрении имеющихся данных о метаболической роли различных пищевых факторов и патогенезе синдромов, возникающих при недостаточности соответствующих факторов, видно, что практически ни в одном случае наблюдаемый синдром недостаточности нельзя полностью объяснить на основе сведений о характере нарушений метаболизма. Так, например, основываясь на данных о функции пиридиннуклеотидов, нельзя объяснить «три Д», наблюдаемые при пеллагре (диаррея, дерматит, деменция). При цинге поражение мезенхимальных тканей может быть связано не только с нарушением образования коллагена из-за недостатка аскорбиновой кислоты; полиневрит при бери-бери нельзя объяснить на основе снижения пируватдегидрогеназной активности. Кожные проявления при недостатке многих витаминов отражают, по-видимому, нарушения определенных видов метаболических активностей, в осуществлении которых они участвуют, однако причинные взаимоотношения еще не выяснены. К числу наиболее полно охарактеризованных примеров взаимосвязи между известной функцией витамина и характером нарушений, возникающих при его недостатке, следует отнести участие витамина А в зрительном процессе и роль витамина К в образовании зимогенов ферментов системы свертывания крови.

Далее, нет оснований быть уверенными в том, что все возможные проявления недостатка известны для каждого из витаминов. Недостаток данного витамина, вызывая глубокое нарушение функции одного органа или одного типа клеток, может привести животное к гибели, прежде чем окажется возможным выяснить влияние недостатка на другие органы или типы клеток. В то же время данный витамин может быть одинаково необходимым для функции всех клеток. Так, например, кролики с недостаточностью витамина Е быстро погибают, при этом у них обнаруживают только мышечную дистрофию и патологию скелетных и сердечной мышц. В то же время у крыс при хронической недостаточности витамина Е наблюдаются поражения и ряда других органов. Недостаточность ниацина у собак, находящихся на кукурузном рационе, приводит к «черному языку». Тяжесть этого заболевания может быть снижена, если вводить животным физиологический раствор; при -СТОМ развивается новый патологический синдром.

Животное погибает вследствие выключения жизненно важного процесса, который первым нарушается при недостатке витамина. Для того чтобы обнаружить другие процессы (реакции), которые зависят от рассматриваемого витамина, необходимо прежде всего найти такие пути воздействия, которые позволят продлить жизнь животного, компенсируя губительные первичные эффекты недостаточности. Прекрасной иллюстрацией успеха такого подхода является полная картина влияния недостаточности ретинола на сетчатку у крыс с недостаточностью витамина А, получающих ретиноловую кислоту.

51.6. Неполноценное питание

Хотя достигнуты значительные успехи в изучении вопросов питания и имеющаяся информация позволяет правильно планировать его, неполноценное питание весьма широко распространено на земном шаре. Не вполне правильное представление, согласно которому причины неполноценного питания являются чисто экономическими; во многих случаях столь же важное значение имеет неосведомленность людей. Весьма часто встречаются бери-бери, квашиоркор и ксерофтальмия; менее часто наблюдаются тяжелый рахит, пеллагра и цинга.

При обследовании состояния питания людей в экономически слаборазвитых районах часто обнаруживают крайне низкое потребление незаменимых пищевых факторов, которое, однако, не всегда приводит к заболеваниям. Объяснение этому дает одна из основных концепций питания — представление о *сбалансированной диете*. Известно, что в питании людей и при кормлении экспериментальных животных сбалансированная пищевая смесь (даже если *общее количество* ее ограничено) более предпочтительна, чем рацион, который адекватен по содержанию большинства компонентов, однако характеризуется значительным недостатком только *одного* питательного вещества. При недостаточном питании наблюдаются задержка роста, анемия, гипопроотеинемия, в то время как при несбалансированном питании возникают пеллагра, бери-бери, цинга и т. д. Известно также, что крысы, находящиеся на рационе, в котором полностью отсутствуют витамины комплекса В, способны выживать в течение неожиданно длительного периода времени, в то время как в условиях недостатка одного тиамина они погибают в течение нескольких недель.

Важное значение имеет также метаболическая адаптация. У людей, находящихся на малобелковой диете, со временем устанавливается азотистое равновесие, вероятно, благодаря снижению активности ферментов, деградирующих аминокислоты, и усилению процессов использования резерва липидов. Хотя мозг взрослого-человека использует в качестве источника энергии главным образом глюкозу, при продолжительном голодании в качестве такого источника выступает р-оксимасляная кислота.

Количественный и даже качественный состав сбалансированной пищевой смеси, обеспечивающий оптимальное состояние здоровья, может сильно отличаться у различных

индивидуумов из-за наследственных особенностей. Например, детям, страдающим галактоземией, не следует давать продукты, содержащие лактозу; лица с фенилкетонурией должны принимать минимум фенилаланина; диабетики должны тщательно балансировать в диете содержание углеводов и липидов. Весьма вероятно, что этот перечень будет в будущем расширен.

При продолжительном лечении лекарственными препаратами могут индуцироваться состояния недостаточности определенных компонентов питания вследствие либо нарушения утилизации последних, либо нарушения нормального метаболизма печени. Например, при лечении туберкулеза изониазидом (гидразид изоникотиновой кислоты) повышается потребность в пиридоксине (разд. 50.5.3). В ряде сообщений указывается на возникновение состояния недостаточности фолиевой кислоты после лечения некоторыми противосудорожными препаратами.

Усовершенствованные методы лабораторной диагностики позволяют обнаружить ранние состояния недостаточности многих незаменимых компонентов пищи. Использование этих методов, особенно при массовых обследованиях, помогло улучшить состояние питания в большей части стран Запада и одновременно выявило огромные проблемы, связанные с недостаточным питанием людей, живущих в экваториальной зоне. Термин «неполноценное питание» не всегда адекватен при рассмотрении проблем питания населения США; в классическом смысле имеется в виду недостаток одного или более компонентов рациона. Однако значительное число людей страдают от тучности из-за *нерационального питания*. Установлено, что по крайней мере 15% населения США имеет избыточный вес (по сравнению с принятым стандартом) и что не менее чем у 6 млн. человек избыток веса носит патологический характер (т. е. вес больше чем на 20% превышает принятый стандарт, учитывающий рост и строение скелета). Если гиперхолестеринемия действительно имеет важное значение в патогенезе атеросклероза, то нерациональное питание приобретает ведущую роль среди причин смертности в США и Европе. Не следует, конечно, забывать и о «классическом» недостатке питания, однако истинные масштабы недостатка питания (в широком смысле) неизвестны.

Проведено сравнительно немного исследований с целью нахождения условий «оптимального питания», однако не установлены даже критерии оптимального питания. В экспериментах на животных в качестве критерия обычно используют увеличение веса молодых крыс. Однако нет данных о том, что диета, обеспечивающая максимальный прирост веса в период детства и юности, оптимальна и для взрослого человека (т. е. обеспечивает продолжительную жизнь с хорошим состоянием здоровья). Имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что при потреблении диеты, обеспечивающей лишь минимальные потребности в

•необходимых питательных веществах, продолжительность жизни увеличивается. Если эти сведения окажутся справедливыми, то придется пересмотреть рекомендации, приведенные в табл. 49.2.

Магний

Ежедневная потребность в магнии точно не определена; считают, однако, что доза 200—300 мг/сут предотвращает проявления недостаточности (предполагается, что всасывается около 30% магния). Факторы, влияющие на всасывание магния, такие же, как и для кальция (гл. 39), но известны случаи врожденной недостаточности всасывания Mg^{2+} из кишечника; это указывает на наличие специфического механизма всасывания этого иона. Нормальная концентрация Mg^{2+} в сыворотке составляет 1,8—2,5 мэкв./л; около 80% магния ионизировано и способно к диффузии; остальная часть связана с белком. В эритроцитах $[Mg^{2+}]$ несколько выше и составляет около 3,5 мэкв./л, а в клетках тканей $[Mg^{+}]$ обычно около 16 мэкв./л. Большая часть Mg^{2+} организма человека находится в скелете. Поступивший путем всасывания или введенный парентерально Mg^{2+} быстро экскретируется с мочой. Основное количество магния выделяется с фекалиями; это магний, который не адсорбировался в кишечнике. После приема магния увеличивается его экскреция как с фекалиями, так и с мочой.

У человека недостаток Mg^{2+} , обусловленный характером питания, крайне маловероятен. Однако большие потери этого элемента могут происходить при диаррее; последствия их сказываются, если пациентам вводят жидкости, не содержащие Mg^{+} . Когда $[Mg^{2+}]$ в сыворотке снижается до примерно 1 мэкв./л, может возникать синдром, напоминающий белую горячку: у больного наступает полукомагтозное состояние, у него наблюдаются мышечная дрожь, спазмы мышц в области запястья и стопы, повышение нервно-мышечной возбудимости в ответ на звуковые, механические и зрительные раздражители. Введение Mg^{2+} вызывает быстрое улучшение состояния пациента.

Марганец

Недостаток марганца был воспроизведен на крысах, курах и свиньях. Он приводит к нарушению функции воспроизведения (дегенерации семенников, нарушение эстрального цикла, уменьшение \wedge актации и рассасывание плода). У кур недостаток марганца проявляется в форме остеодистрофии, которая получила название *перозис*; большеберцово-предплюсневые суставы увеличиваются, дистальный конец большой берцовой кости и проксимальный конец предплюсневых костей искривляются, сухожилия икроножных мышц соскальзывают со своих мышечков. Последнее обстоятельство послужило основанием для часто употребляемого названия «заболевание соскользнувших сухожилий» (slipped tendon disease). Точная потребность человека в марганце не установлена. Соли марганца плохо всасываются из кишечника. После парентерального введения марганец концентрируется в печени и почках, особенно в митохондриях; экскретируется он главным образом в толстую кишку и желчь, и лишь небольшая доля его появляется в моче. Прием больших количеств марганца затрудняет, по-видимому, всасывание железа, вызывая анемию; последняя, однако, легко предупреждается путем увеличения содержания в рационе железа.

Медь

Недостаток меди наблюдали у младенцев, получавших только молоко; основным проявлением недостатка является микроцитарная нормохромная анемия. Она наблюдается также у крыс с недостатком меди и обусловлена, по-видимому, нарушением всасывания железа из кишечника (анемия быстро проходит после парентерального введения железа). У крыс наблюдается уменьшение содержания в печени цитохрома *c* и цитохромоксидазы; железосвязывающая способность плазмы увеличивается. У младенцев, получавших молоко с добавкой железа и витамина B_{12} , наблюдали макроцитарную анемию, которая проходила после введения меди.

При длительном резко выраженном недостатке меди у крыс и свиней развивается рахитоподобный синдром и возникают неврологические нарушения. Хронический недостаток меди вызывает у самок крыс анэструс. В относительно раннем периоде недостаточности они могут забеременеть, однако беременность завершается абортom или рождением мертвого плода. У овец недостаток меди приводит к тяжелому заболеванию, связанному с демиелинизацией спинного мозга (swayback). Артерии свиней с недостатком меди становятся ломкими из-за прекращения образования десмозина и изодесмозина; в результате не может образоваться адекватная поперечно-ошитая структура эластина (разд. 38.2). Значительные отложения меди в тканях наблюдаются при *болезни Вильсона*, обусловленной гепатолентикулярной дегенерацией; при этом заболевании уменьшается количество церулоплазмينا—медьсвязывающего глобулина нормальной плазмы крови (разд. 29.2.3).

Кобальт

Недостаточность кобальта наблюдали у крупного рогатого скота и овец во многих районах земного шара. Все проявления этой недостаточности являются, по-видимому, следствием нарушения синтеза микроорганизмами рубца витамина B_{12} , компонентом которого является кобальт. Не имеется данных о недостатке кобальта (в чистом виде) у нежвачных животных (все они нуждаются в поступлении витамина B_{12} с пищей).

Цинк

У крыс 'при недостатке цинка наблюдаются задержка роста, облысение, повреждения кожи, пищевода и роговицы. При кормлении свиней арахисовой мукой, подвергнутой обработке, при которой уменьшается доступность цинка, у них (развивается си'ндром, 'называемый *паракератозом*, характеризующийся отказом от пищи и рвотой. Заболевание легко излечивается при включении в ра-цион ZnCO₃ (0,02%). Заболевание возникает только в том случае, 'если в рацион вводят дополнительное количество кальция; при очень высоком содержании кальция в рационе появляются также

- признаки недостаточности марганца. Анализ пищевых продуктов 'на содержание цинка не дает адекватных данных для суждения об их ценности как источников этого элемента. Так, соевые бобы, кунжут и арахисовая мука содержат значительные количества цинка, .который, по-видимо.му, не доступен для организма. Сообщалось о недостаточности цинка (сочетающейся в ряде случаев с недостаточностью кальция и железа) у некоторых групп населения в различных районах Среднего Востока (Иран, Египет и другие страны). Это связывает с потреблением рационов с очень высоким содержанием злаков, богатых фитиновой кислотой (разд. 39.1.1), которая препятствует всасыванию солей цинка из кишечника. Недостаточность цинка наблюдается в деревнях, где хлеб выпекается без использования дрожжей; в городах же, где хлеб изготавливают на дрожжах, в нем значительно снижено содержание фитиновой 'кислоты, так как в дрожжах имеются ферменты, гидролизующие 'ее. Недостаток цинка проявляется в замедлении роста и недоразвитии половых органов в юношеском периоде. Установлено, что
- ежедневная потребность в цинке составляет менее 5 мг. Учитывая
- широкое распространение цинка в пищевых продуктах, маловероятно, чтобы возникла недостаточность цинка у человека, если он получает рацион, не содержащий чрезмерного количества злаков.

Фтор

Роль фтора при болезнях зубов (кариес, крапчатая эмаль) рассматривалась выше (разд. 39.3.1). Данных о других биологических функциях этого' элемента не имеется. Фтор, однако, рассматривают как необходимый фактор питания, поскольку он необходим для нор.мального функционирования тканей зуба.

Молибден

Недостаток молибдена приводит у крыс к уменьшению активности ксантинооксидазы кишечника и печени, его легко вызвать, включив в состав рациона вольфрамат. Эти наблюдения позволи ли установить, что молибден является компонентом ксантинооксида-зы. Принимая во внимание функционирование Mo⁺ в составе ряда других ферментов, принято считать, что для нормального роста требуются следовые количества этого элемента.

Селен

При содержании крыс на рационах, источником белка в которых является тщательно очищенный казеин, животные примерно через .месяц внезапно погибают вследствие некроза печени. Многие природные пищевые продукты предотвращают гибель животных. ^Было установлено, что компонент этих продуктов, являющийся необходимым фактором питания, содержит селен (компонент еще не охарактеризован окончательно). Показано, что добавление к экспериментальным рационам селенита полностью предотвращает развитие некроза печени. Поскольку селен является компонентом <глутатионпероксидазы (разд. 32.5.5) и, по-видимому, некоторых других ферментов, он может рассматриваться как необходимый элемент.

В относительно больших дозах селен чрезвычайно ядовит. Поскольку этот элемент может заменять серу в цистине и 'метионине у многих растений, растущих на почвах, богатых селеном, возможность отравления селеном является одной из проблем здравоохранения и сельского хозяйства в некоторых областях северного, центрального и юго-

западного районов США.

Другие элементы

Имеются предварительные данные о том, что для роста .молодых крыс необходимы следовые количества олова и ванадия, однако какая-либо специфическая роль этих элементов в метаболизме не известна. Сообщалось, что для нормального метаболизма углеводов необходим хром; специфическая роль его не ясна. Кремний является необходимым фактором для нормального развития костей.

В заключение следует отметить, что недостаточность микроэлементов является редким явлением в питании человека. Исключения составляют недостаточность иода в районах с эндемическим зобом, недостаточность меди у младенцев, находящихся на диете, состоящей только из молока, и недостаточность железа.

ПЛАН: стоящие места.

Абзац о коферментах

Функциональные группы белков, участвующие в нуклеофильном, общем кислотном или основном катализе.

Окислительно-восстановительные коферменты

- никотинамидадениндинуклеотид (NAD)
никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP)
- флавиновые нуклеотиды, такие, как флавинмононуклеотид (FMN) и флавинадениндинуклеотид (FAD)
- металлопорфириновые комплексы, как, например, присутствующие в цитохромах, кобамиде, пероксидазе и каталазе
- аскорбиновая кислота
- липоевая (тиоктовая) кислота
- кофермент Q (убихинон)
- ионы металлов, такие, как Cu^{2+}

Ниацын,- стереоспецифичность и механизмы НАД=зависимого катализа . Для алкогольдегидрогеназы, протон переносится непосредственно от субстрата к коферменту, а перенос протона от растворителя отсутствует.

Рибофлавин,

возможные механизмы флавинзависимого катализа и три функции

1. Биологическое дегидрирование.
2. Активация молекулярного кислорода и перенос одного или двух кислородных атомов от $^3\text{O}_2$ на молекулу субстрата.
3. Электронный транспорт.

Кобамидные и кобаламинные коферменты: метаболическая роль, предполагаемые механизмы действия

Аскорбиновая кислота: биогенез и метаболизм.

Структура ферридоксина.

Коферменты, не обладающие окислительно-восстановительными свойствами

тиаминпирофосфат

пиридоксальфосфат

фолиевая (птероил-L-глутаминовая) кислота

биотин

глутатион

S-аденозилметионин

кофермент A

аденозинмоно-, ди- и трифосфат (AMP, ADP, ATP)

уридинфосфат

ионы различных металлов, прежде всего Zn^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , 4'-фосфопантотеин

Пантотеновая кислота - функции в составе кофермента А и АПБ.

Тиамин -

Пиридоксаль-фосфат. Механизм внутримолекулярного общего кислотного (или общего основного) катализатора. - переаминирование с образованием оснований Шиффа. Характер проявляемой пиридоксальфосфатом каталитической функции определяется природой фермента, в сочетании с которым он действует. Так, из схемы (8.17) следует, что пиридоксальфосфат служит коферментом в таких процессах, как декарбоксилирование, трансаминирование, рацемизация и синтез аминокислот. Различия между реакциями, катализируемыми пиридоксалем [схемы (8.13) и (8.14)] и ферментами,

Фолиевая кислота. Коферменты на основе FH_4 участвуют в реакциях переноса одноуглеродных фрагментов, соответствующих по состоянию окисления формату, формальдегиду и метанолу.

Биотин является протетической группой различных ферментов, катализирующих включение CO_2 в органические соединения, в частности ацетил-СoА—карбоксилазы, пропионил-СoА—карбоксилазы, метилмалонил-транскарбоксилазы и пируваткарбоксилазы.

S-Аденозилметионин

Давно известно, что в биохимических процессах роль переносчика метильных групп выполняет метионин. Осуществляя перенос, метионин находится в «активной» форме, в качестве которой выступает сульфониевая соль S-аденозилметионина (8.14). Именно это соединение обеспечивает перенос метильной группы на различные нуклеофилы.

Кофермент А

Функция кофермента А состоит в переносе ацильных групп. Впервые он был идентифицирован как устойчивый к нагреванию кофактор, необходимый для осуществления некоторых реакций ацетилирования, в частности для введения ацетильной группы в ацетоацетат и цитрат.

Пиримидиновые фосфаты

Существует несколько классов пиримидиновых фосфатов: уридин-, цитозин- и инозинфосфаты. Уридиновые нуклеотиды играют важную роль в метаболизме углеводов. Общее строение UDP-углеводов показано на схеме 8.19 [25]. UDP-углеводные ко ферменты выполняют двойную функцию. Во-первых, они принимают участие в различных реакциях гликозильного переноса и, во-вторых, сама углеводная часть может подвергаться превращениям путем окисления или окислительного декарбоксилирования