

В. А. ДЕВЯТНИН

Витамины

МОСКВА ПИЩЕПРОМИЗДАТ 1948

В. А. ДЕВЯТНИН

ВИТАМИНЫ

ПИЩЕПРОМИЗДАТ

Москва—1948

ПРЕДИСЛОВИЕ

За последние годы в области изучения витаминов достигнуты замечательные успехи: определено место и значение витаминов в человеческом организме, выявлена потребность в новых дополнительных факторах питания, для многих витаминов разработаны способы количественного определения, методы синтеза и получения естественных концентратов, проведена большая плодотворная работа по изысканию богатых источников витаминов среди растительного и животного сырья, имеется обширный опыт по использованию витаминов в лечебных учреждениях и т. д. Эти работы, имеющие важное значение в деле обеспечения организма человека полноценными пищевыми средствами, проведены в ряде лабораторий, клиник, институтов и промышленных предприятий. Многие из этих работ являются краеугольным камнем современного учения о полноценном питании. Без знания этого вопроса не может быть и речи о правильном понимании современных основ биохимии, физиологии и технологии пищевого производства.

В связи с этим потребность в книге, которая могла бы служить научно-техническим руководством и справочником по теоретическим и практическим вопросам витаминологии, чрезвычайно велика.

Книга В. А. Девятнина «Витамины» и является именно таким изданием, где собраны новейшие сведения о химии, физиологическом действии, способах получения, определения и использования витаминов. В ней собраны сведения, почерпнутые из громадного количества источников, и приводятся практические указания по отдельным вопросам витаминологии. Вследствие этого книга представляет интерес для биохимика, физиолога, для работников пищевой промышленности, здравоохранения, сельского хозяйства, студентов и членов НИТО.

Особой заслугой В. А. Девятнина является то, что он, поскольку это представлялось возможным, широко осветил результаты работ наших советских витаминологов, используя для этой цели материалы, которые имели теоретическое и практическое значение.

Достоинством книги является также и то, что в ней представлены результаты экспериментальных исследований автора и его сотрудников, вследствие чего книга является не только научно-популярной сводкой, но и представляет оригинальный научный интерес.

Книга В. А. Девятнина должна стать настольным руководством и справочником для работников лабораторий, промышленных организаций и работников здравоохранения, так как те практические сведения, которые мы находим в ней, совершенно необходимы для правильной организации научной и практической работы во всех областях витаминологии.

Исходя из сказанного, нужно отметить, что выход в свет настоящей книги является отрядным событием и служит ценным вкладом в нашу витаминологическую литературу.

*Директор Института биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук Союза ССР*

академик А. И. Опарин

ВВЕДЕНИЕ

Довольно распространено мнение, что основоположником наших современных познаний в области витаминов следует считать Функа, впервые выдвинувшего в 1910—1911 гг. термин *витамина*, имеющий в настоящее время лишь историческое значение, несмотря на его широкую популярность. Между тем еще в 1881 г., задолго до обобщений Функа, наш соотечественник доктор Лунин (1), на основании экспериментальных данных, пришел к выводу, что в молочных и других естественных продуктах содержатся, кроме белков, жиров, углеводов и минеральных солей неизвестные дополнительные пищевые факторы, отсутствие которых в рационе приводит к весьма тяжелым заболеваниям животных, нередко кончающимся их гибелью.

Открытие Лунина в свое время не было уделено должного внимания; это привело к тому, что первоначальные шаги молодой науки о витаминах шли весьма трудными и запутанными путями, несмотря на то, что современная Лунину физиология чувствовала недостаточность и шаткость своих позиций в определении полноценности пищи.

Тем не менее работы Лунина послужили основанием к пересмотру укоренившихся традиций и к поискам новых путей для физиологических исследований в мировой науке. Об этом обстоятельстве, кстати сказать, принято умалчивать в иностранной литературе.

В настоящем очерке мы ставим своей задачей осветить в самой общей форме те направления, по которым шло развитие витаминологии, и дать самый общий обзор состояния этого вопроса на сегодня.

В истории изучения витаминов довольно условно намечаются три периода: период биологического изучения неполноценности синтетических диет, изыскание «дополнительных факторов питания» и получение витаминных концентратов; период параллельного получения химически чистых витаминов, их синтеза и, наконец, современный период точного их биохимического исследования.

Нельзя, однако, не отметить, что эти периоды обозначаются лишь направленностью господствующих исследовательских тенденций. Равно как в первом периоде изучения витаминов уже делались весьма поучительные попытки получения витаминов в кристаллическом виде, так и в настоящее время, пока не разрешен ряд

вопросов, связанных с получением витаминов, биологические методы их исследования еще не утратили своего практического значения.

В середине XIX века было установлено, что для питания человека и животного достаточно следующих веществ: белков, жиров, углеводов, минеральных солей и воды. Далее, в ряде опытов было показано, что из этих групп пищевых веществ безусловно необходимы для питания лишь белки и минеральные вещества, поскольку жиры и углеводы могут образоваться за счет белков. Детализируя проблему искусственного питания и изучая различные синтетические пищевые смеси, ученые занялись энергетической и термодинамической стороной этого вопроса. В результате ряда весьма обстоятельных исследований было установлено, что количество необходимых для организма пищевых веществ должно определяться количеством калорий тепла, которые эти вещества способны выделять при сжигании, и что взрослому человеку при обычных условиях существования необходимо около 2500—3000 калорий в день, получаемых из 70—100 г белка, 40—50 г жира и 400—500 г углеводов. На основании этих данных нередко сравнивали организм с паровой машиной, в которой потенциальная энергия пищевых веществ путем сжигания превращается в кинетическую. Эта примитивная концепция, разумеется, сильно тормозила развитие исследовательской мысли. Однако вскоре было доказано (2), что наряду с количеством белков решающее значение для правильного питания имеет их аминокислотный состав (качество белков). В этом отношении уже тогда животные и растительные белки были разделены на полноценные (например яичный белок), содержащие все необходимые для организма аминокислоты, и неполноценные (например желатина), не содержащие многих необходимых для питания «незаменимых» аминокислот (тирозин, триптофан, цистин).

Во всех этих тщательно проведенных экспериментах применялись либо химически чистые, либо значительно очищенные пищевые вещества. В 1881 г. Лунин экспериментально показал, что для сохранения здоровья опытных животных, кроме указанных пищевых веществ, необходимо хотя бы незначительное добавление к рациону молока; тогда было высказано Луниным положение, что в молоке содержатся какие-то питательные вещества, не принадлежащие ни к одной из известных групп и тем не менее совершенно необходимые для питания. В этот период сложилось довольно отчетливое представление, что такая болезнь, как цынга или скорбут, возникает на почве недостатка в рационе каких-то веществ, отсутствующих в сушеной, вареной и консервированной пище и находящихся в значительных количествах в свежих овощах и фруктах (особенно в лимонах, сосновых побегах, капусте и т. д.).

Таким образом, благодаря открытию Лунина проблема дополнительных факторов питания уже имела под собой некоторую почву к тому времени, когда врач голландских колоний в Индии Эйкман (3) опубликовал две свои работы. В одной из них он показал статистически, что тропическая болезнь «бери-

бери» встречается исключительно в тех районах, где население питается по преимуществу «полированным» рисом (полностью очищенным от оболочек). Эйкман заключил, что в наружном слое рисового зерна (обычно удаляемом при очистке) содержится неизвестное вещество, предохраняющее от заболевания бери-бери. В своей второй работе он описывает экспериментальное заболевание кур, питавшихся отбросами госпитальной кухни и содержавшихся на рационе из полированного риса и, следовательно, не получавших, по мнению автора, излечивающего бери-бери вещества. Этот птичий полиневрит излечивался добавлением к рациону кур рисовых отрубей.

Благодаря этому бери-бери стали изучать не только на месте ее возникновения, в тропических странах, но и в других местах. В 1912 г. Функ (4) выделил из рисовых отрубей вещество, довольно стойкое к температуре и химическим реагентам. Осаждая продукты гидролиза рисовых отрубей фосфорновольфрамовой кислотой, повторно фракционируя и перекристаллизовывая, удалось получить кристаллический биологически активный продукт, 1 мг которого было достаточно для спасения погибающего от бери-бери голубя.

Установив, что найденное вещество содержит азот, и основываясь на его жизненно-важном значении, Функ назвал его витамином. Наличием следов витамина в препаратах белков, жиров и углеводов объяснялся непонятный до того времени факт, что одним ученым удавалось выращивать животных на синтетических диетах, другим этот опыт не удавался.

Витамины так же необходимы животному, что еще отметил в свое время Лунин, как белки и минеральные вещества, но в то время как последние должны поступать в организм в больших количествах, витамины проявляют свое действие в ничтожных дозах и сами по себе не являются источником энергии.

Первая треть текущего столетия ознаменовалась рядом открытий в интересующей нас области. В 1927 г. был опубликован ряд работ о строении витамина D; в 1928 г. был выделен из капусты, красного перца и коры надпочечников кристаллический витамин, названный гексуроновой кислотой. В 1932 г. была доказана тождественность гексуроновой кислоты с витамином С; в том же году был разработан первый общепризнанный количественный химический метод определения этого витамина. В течение последующего десятилетия были открыты и изучены в физико-химическом отношении и большею частью синтезированы все наиболее известные витамины.

Биологическое изучение витаминов, послужившее исходной ступенью к их химическому исследованию, стало на вполне прочную почву лишь в результате всех этих открытий. Возможность точной дозировки и количественного определения витаминов в растениях, в тканях и выделениях животных позволила пролить свет на значение их в жизни живых существ.

Минимальные нормы суточной потребности в витаминах

Категория населения	Потребность в витаминах (в мг)				
	А	В ₁	В ₂	С	РР
1. Взрослый человек					
а) при средней затрате труда	2	2	2	50	15
б) при тяжелом труде	2	2,5	2	75	20
в) при очень тяжелом труде	2	3	2	100	25
2. Беременные (5—8 мес.)	4	2,5	2	75	20
3. Кормящие (до 7 мес.)	5	3	2	100	25
4. Дети					
а) до 7 лет	2	1	2	30—35	15
б) от 7 до 14 лет	2	1,5	2	50	15
в) свыше 14 лет	2	2	2	50	15

Суточная норма витамина D определяется в количестве 1000 и. е.

содержит в своем составе все необходимые для нормальной жизнедеятельности организма вещества, является полноценным и благоприятным для его существования.

Ни одна наука, пожалуй, не может похвалиться таким обилием литературы, как молодая наука о витаминах. Почти в каждом номере биологических и химических журналов, выходящих в разных странах мира, публикуется то или иное сообщение о витаминах. Однако было бы ошибочно оценивать успех витаминологических исследований только количеством опубликованных работ. Наряду с несомненно крупными достижениями зарубежной науки, как, например, синтез витамина А (опубликованный в 1946 г.) или выяснение строения фолиевой кислоты и т. п., печатается огромное количество незаконченных, весьма спорных работ, нередко основанных на заведомо ошибочных методах (например, вопрос о так называемом «мнимом» витамине С), часто не имеющих научного или научно-практического значения и нередко носящих только рекламный характер.

Весьма характерно, что наряду с этим крупнейшие исследования советских витаминологов (например, открытие витамина А₂, новый способ синтеза витамина В₁, вопрос об участии витаминов в дезаминировании и переаминировании аминокислот, доступный синтез рибофлавина, работы по биосинтезу аскорбиновой кислоты, синтез 7-дегидро-холестерола, синтез токоферола, работы по технологии витаминной промышленности, клинические данные по использованию так называемых мало изученных витаминов и многие другие) или замалчиваются зарубежной литературой, или интерпретируются весьма своеобразным способом

Ныне известно, что все витамины имеют лишь одно общее свойство, позволяющее довольно условно выделить их в отдельную группу органических веществ—биокатализаторов. Это свойство заключается в олигодинамическом характере их действия. Витамины практически, как правило, не являются пластическим или энергетическим материалом в живой клетке, они выполняют «каталитические» функции, участвуя в различных ферментативных системах, связанных с окислительно-восстановительными функциями организма. Несомненно, что значение их для организма как регуляторов процессов обмена веществ весьма велико, но далеко еще полностью не изучено. Так, не во всех случаях мы имеем достаточное представление о взаимосвязи между витаминами, ферментами и гормонами. Много еще неясного в вопросе о физиологическом действии витаминов, в механизме их возникновения в клетках и т. д.

Как мы увидим ниже, к витаминам относятся вещества самого разнообразного строения и характера. Изучение этих веществ, благодаря важному значению их для организма, составляет в настоящее время почти самостоятельную область естествознания—в и т а м н и о л о г и ю, где химия, технология и физика теснейшим образом переплетаются с физиологией, микробиологией и медициной. Вот почему, быть может, ни одна отрасль естествознания никогда не имела такой обширной, а зачастую и противоречивой литературы, как весьма молодая наука о витаминах.

В практику витаминологии уже вошли химические или физиологические названия витаминов: р и б о ф л а в и н, т и а м и н, а с к о р б и н о в а я к и с л о т а и т. п. Несомненно, они заменяют буквенные обозначения витаминов (А, В, С, D), так как в известной степени они характеризуют данное вещество. Но, отдавая должное истории этой науки, в своем очерке мы придерживаемся принятой классификации этих веществ.

Известно около трех десятков витаминов; из них для человека безусловно необходимы витамины А, В₁, В₂, никотиновая кислота, витамины В₆, С, D, Е, К.

Вопросу установления суточной потребности человека в витаминах посвящен ряд исследований. Специально образованная при Министерстве здравоохранения Союза ССР комиссия в 1944 г. опубликовала минимальные нормы суточного потребления витаминов (5) (табл. 1).

Указанные нормы являются минимальными и, в зависимости от условий существования, могут повышаться, о чем будет сказано ниже.

Еще нет достаточного количества данных для определения потребности человека в других витаминах (В₆, Е, К и пр.), однако несомненно, что выключение этих веществ из пищевого рациона приводит к ряду тяжелых расстройств организма; трудно поэтому определить, какие из витаминов являются более важными, а какие менее важными. Лишь тот пищевой рацион, который

Это обстоятельство, конечно, не имеет существенного значения для развития нашей отечественной витаминологии, ибо пути развития науки о витаминах за рубежом и в нашей стране различны. Задачи, которые преследует наука за рубежом, заключаются в первую очередь в отыскании еще не выявленных веществ и соединений, могущих найти свое место в витаминологии, без учета народнохозяйственной ценности полученного результата; в этих работах нередко встречается элемент, представляющий исключительно рекламный интерес; в общем и целом вся эта огромная масса работ имеет стихийный характер.

Все научные исследования, проводимые в нашей стране в этой области, все мероприятия правительства и партии имеют определенную целеустремленность: создать в нашей стране изобилие полноценных продуктов питания, широко внедрить в практику достижения научной мысли с тем, чтобы вопросы здоровья населения нашей родины были решены во всей полноте их объема.

Не лишним будет отметить, что вопросы выведения сортов растений, поставляющих высококачественное сырье (например, шиповника или моркови), вопросы использования его в натуральном и переработанном виде впервые были выдвинуты в нашей стране и получили широкое развитие не только у нас, но и за границей; что вопросы сохранения полноценности пищевых продуктов, их обогащения дополнительными факторами питания наиболее полное и всестороннее практическое разрешение получили в условиях нашей страны; что в нашей стране существуют наиболее благоприятные условия для планомерного и широкого выпуска полноценных продуктов питания.

Необходимо также отметить, что многие решающие исследования в области агротехники и селекции витаминных культур, в области изучения физиологического действия витаминов, их синтеза, методов анализа и практического использования, не только в профилактических, но и в лечебных целях, проведены нашими советскими витаминологами.

Наконец, не нужно забывать и того, что только в нашей стране существует и развивается специализированная витаминная промышленность и для нее готовятся сотни и тысячи молодых специалистов по разделам сельского хозяйства, химии, технологии, медицины и др.

Нужно учитывать, что витамины являются не только дополнительными факторами питания, но и во многих случаях весьма эффективными терапевтическими агентами, с успехом применяемыми в клинике различных заболеваний. В случае применения витаминов как лекарственных средств дозировка и способ их употребления должны быть сообразованы с характером и степенью данного заболевания.

Настоящий обзор ставит своей целью шире распространить наиболее важные сведения из области витаминологии. Нами представлены основные данные о физиологическом значении, строении

и физико-химических свойствах витаминов; приводятся данные о распространении витаминов в продуктах растительного и животного происхождения, некоторые способы получения витаминов, имеющие главным образом практическое значение; приведены также новейшие практические указания для лабораторных работников по химическому определению витаминов. В данном случае мы описываем лишь те методы, которые используются в наших лабораториях, получили широкое распространение в научных и производственных организациях или представляют в отдельных случаях известный методический интерес.

Литература по витаминам необычайно обширна. Будучи ограничены объемом издания, вряд ли мы имели возможность включить даже сотую часть материала, который опубликован к настоящему времени в различных периодических изданиях и монографиях. Необходимо было произвести жесткий отбор, вследствие чего многие интересные исследования в обзор не попали.

Некоторые дополнения мы вынуждены были сделать уже после сдачи книги в производство. Существенные дополнительные сведения помещены в виде приложений. Но все же, вследствие задержки с выходом книги в свет, многочисленные и во многих случаях интересные и важные данные, опубликованные в последнее время в отечественной и зарубежной литературе, остались не освещенными в данном обзоре. Тем не менее мы надеемся, что, не смотря на все ее недостатки, эта книга окажет некоторую помощь растущим кадрам молодых советских витаминологов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д у н и н, Z. physiol. Chemie, 5, 32, 1881.
2. F i s c h e r. Цитир. Осборн, Растительные белки, Биомедгиз, 1935.
3. E i j k m a n, Virchows Archiv, 149, 187, 1897.
4. F u n k, J. Stat. Med. 20, 341, 1912; J. Physiol. 44, 50, 1912.
5. Нормы суточного потребления витаминов. Медгиз, 1944.

ВИТАМИН А

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ

Вопрос о витамине А, как о веществе, образующемся в теле животного из каротина, был решен после того, как было доказано, что каротин может стимулировать рост А-авитаминозных крыс и что в печени животных, кормившихся каротином, откладывается витамин А.

Наряду с изучением каротина, который в связи с этим вызвал к себе большой интерес, проводились опыты по выделению витамина А в чистом виде из естественных объектов и получению его и его производных путем синтеза. В 1933 г. был осуществлен синтез пергидривитамина А (восстановленного витамина), Кун и Морис (1) в 1937 г. описали получение синтетического продукта.

По сообщению авторов, конечный продукт синтеза был активен в опытах на А-авитаминозных крысах в дозе около 1 γ. Сообщение вызвало исключительный интерес, однако в дальнейшем ни сами авторы, ни ряд других исследователей, проверявших этот способ, не смогли получить препаратов, обладавших А-витаминной активностью¹.

Долгое время попытки получения кристаллического витамина А путем выделения его из естественных продуктов терпели неудачу, и лишь в недавнее время рядом авторов получены препараты, представляющие чистейшие кристаллы витамина А. Так, в 1942 г. был получен кристаллический витамин А путем молекулярной дистилляции рыбьего жира с последующим омылением и перекристаллизацией из этил-формиата. Полученный продукт кристаллизовался в крупных кристаллах с температурой плавления 63—64°. В 1942 г. получены эфиры витамина А в кристаллическом виде. Эти соединения обладают А-витаминной активностью и, в отличие от чистого витамина, достаточно устойчивы к внешним воздействиям (окисление, температура).

Витамин А образуется в теле животного из провитамина А, каротина, путем расщепления молекулы каротина. Только растительная клетка способна синтезировать каротин, и животные, таким обра-

¹ Отметим, что Вульфсону (2) удалось, хотя и с чрезвычайно ничтожным выходом, воспроизвести выше указанный синтез, однако конечные продукты также не обладали витаминной активностью. Когда настоящая книга была сдана в производство, поступило сообщение о синтезе витамина А (64).

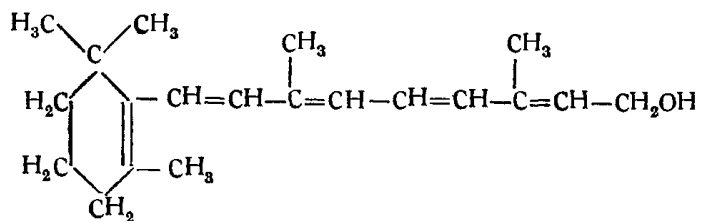
Свойства кристаллических эфиров витамина А

Название эфира витамина	Химическая формула	Цвет и форма кристаллов	Температура плавления (в °С)
Ацетат	$C_{22}H_{32}O_2$	Золотисто - желтые призматические кристаллы	57—58
Пальмитат	$C_{36}H_{60}O_2$	Желтые пластинки	27—28
Сукцинат	$C_{44}H_{82}O_4$	Желтые призмы	76—77
β-нафтоат	—	Желтые пластинки	74—75

зом, в полной мере зависят от растительного мира, так как нет пока еще вполне достоверных данных, позволяющих предполагать, что витамин А может образоваться в животном организме каким-либо иным путем¹. Следовательно, рассматривая в настоящей главе данные о витамине А, мы не можем обойти вопроса о каротине, тем более, что, помимо своего значения в качестве провитамина, он играет немалую роль как катализатор многих процессов в живой клетке, а также как вещество, представляющее большой интерес в медицинской практике.

Каротин—красный пигмент растительной клетки—в наибольшем количестве находится в моркови (*Daucus Carota*), откуда и был впервые выделен в 1831 г.; в дальнейшем свойства каротина изучались рядом авторов.

¹ В печеночном жире китов обнаружен алкоголь состава $C_{40}H_{60}O_2$, не обладающий физиологической активностью, но при нагревании до 200° превращающийся в витамин А. Вещество названо китолом. Из 1 моля китола образуется 0,9—1,2 моля витамина А. В рыбьих жирах наряду с витамином А обнаружено соединение, названное неовитамин А. По своей структуре неовитамин А отличается от витамина А конфигурацией двойных связей:



Т. пл. неовитамина А 58—60°. В большинстве рыбьих жиров содержание неовитамина достигает 32—39% от общего количества витамина А.

В настоящее время химия каротиноидов представляет хорошо разработанный раздел органической химии и по этому вопросу существует много обширных монографий как в отечественной, так и в иностранной литературе (3). Способов получения кристаллического каротина предложено много; из них заслуживающими внимания мы считаем следующие способы, применяемые на наших отечественных предприятиях в промышленных лабораториях и в практической обстановке.

1. Способ Балаховского и Розенберга (4). Полученный из моркови сок обрабатывается гидроокисью магния, для чего в 1 л нагретого до 60—70° сока добавляют 2 г хлористого магния и затем 2 мл 10%-ного аммиака; образующийся осадок гидроокиси магния адсорбирует каротин, а ксантофилл и другие пигменты вымываются из осадка спиртом. Осадок экстрагируют на водяной бане (30—40°) петролейным эфиром, эфирный раствор омыляют спиртовой щелочью и разделяют в делительной воронке добавлением небольшого количества воды. Если нужно, эфирные растворы промывают водой и высушивают безводным сульфатом натрия. Эфирный раствор каротина упаривают в вакууме, остаток растворяют в сероуглероде, каротин выделяют из раствора добавлением пятикратного объема безводного этилового спирта. Дальнейшая перекристаллизация проводится из смеси бензола с этиловым спиртом.

2. Способ Рачевского (5). Измельченную сухую морковь заливают серным эфиром (3 л эфира на 1 кг сухого материала) и время от времени тщательно взбалтывают. Через 2 часа экстракт фильтруют и упаривают на водяной бане до $\frac{1}{20}$ объема. Остаток в перегонной колбе смывают небольшим количеством петролейного эфира или бензина в пробирку, где он и кристаллизуется. Кристаллы центрифугированием отделяют от раствора, промывают спиртом и перекристаллизовывают из смеси сероуглерода со спиртом. Серный эфир, употребляемый для экстракции, должен быть свободен от перекисей¹.

3. Способ коагуляционный (6). Сок растений обрабатывают $Al_2(SO_4)_3$ или подкисляют его пищевой кислотой до рН 4—4,5 (7), или нагревают до кипения с каким-либо адсорбентом; при этом белки сока коагулируют, увлекая с собою каротин. Коагулят отделяют от раствора, выщелачивают адсорбированный каротин бензином или эфиром, переводят в растворитель, в котором он хуже растворим, и оставляют для кристаллизации.

Приводим краткое описание процесса производства каротина из моркови: морковь промывается и измельчается, мезга отпрессовывается для получения сока. Сок нагревается в коагуляторе до 85—90°, образовавшийся коагулят белка с каротином отпрессовывается. (Для облегчения последующих операций к соку добавляют 0,3—0,4% гашеной извести). Снятую с фильтрпресса белковую лепешку обрабатывают сульфатом натрия для обезвоживания, размалывают и помещают в экстрактор для извлечения из коагулята каротина. Экстракцию производят бензином или петролейным эфиром. Эфирные экстракты поступают в вакуум-аппарат, где они увариваются до содержания 25—30 г каротина в 1 л. Кристаллизация каротина наступает при охлаждении экстрактов. Полученный каротин перекристаллизовывают обычным путем.

Этот способ нашел широкое применение и используется Союзвитамином в заводской практике.

4. Способ Дронова и Манко (8). Отметим интересный способ, предложенный в 1938 г. Дроновым и Манко. Морковь или другое растительное сырье подвергается экстракции в диффузионной батарее смеси воды, спирта и бензина (или петролейного эфира). Одновременно происходит извлечение веществ, растворимых в воде и спирте, и веществ, растворимых в петролейном эфире. Экстракция протекает почти полностью, и по мере разбавления водно-спирто-эфирной смеси водой происходит разделение слоев. После дальнейшей их очистки,

¹ По Рачевскому, эфир очищают путем взбалтывания 5—6 л эфира с 1 л раствора железного купороса (1 : 1000), удалением воды и последующей сухой эфир сульфатом натрия.

упаривания и отгонки растворителей получают из петролейного эфира каротин, а из водной фракции—приятный на вкус остаток, содержащий большое количество сахара («морковный мед»). Способ этот интересен тем, что позволяет использовать для одновременного извлечения каротина и растворимых в воде веществ (например витамина С) любое растительное сырье (крапиву, люцерну, хвою и т. д.).

5. Следует также указать на способ получения каротина, предложенный Солодкий м¹. Мелко нарезанную сосновую хвою автор подвергает щелочному гидролизу; при этом в гидролизат переходит почти весь каротин. В дальнейшем щелочной раствор гидролизуют и экстрагируют бензином, а бензиновый раствор каротина подвергают обычной обработке.

6. В условиях небольших производств может иметь значение способ получения белково-каротиновых коагулятов, предложенный в 1942 г. Зубрилин и Зофрен (9). Свежескошенную зеленую массу (клевер, люцерну, ботву, злаковую траву) тщательно измельчают на мясорубке или волчке; полученную массу повторно экстрагируют водой. Соединенные экстракты нагревают до кипения; при этом белки коагулируют, увлекая в коагулят каротин. Получающийся осадок может быть отпрессован или отфильтрован и использован для пищевых или иных целей.

7. Наконец, отметим способ, описанный Линдквист-Рысаковой (10). Измельченный, высушенный материал экстрагируют петролейным эфиром и омыляют спиртовым раствором КОН; желтые пигменты отделяют от омыленного раствора водой, эфир отгоняют до получения концентрата. Достаточно однократного омыливания в течение 4 часов при 20°; для экстрагирования 1 кг высушенной хвои при этом способе затрачивается 125 г КОН в 8—15%-ном спиртовом растворе.

Извлечение каротина из растений, богатых каротином (облепиха, крапива, рябина и пр.), может также производиться путем непосредственной экстракции сырья подогретым до 110—120° маслом. При этом происходит одновременно и быстрое высушивание самого материала, который в дальнейшем может быть использован для пищевых целей. Однако экстракция маслом не приводит к полному извлечению каротина.

Методов получения концентратов и чистых препаратов витамина А из рыбьей печени предложено большое количество². Из них мы остановимся на наиболее доступном способе Розановой (13).

Печень рыбы гидролизуют 15%-ным раствором КОН в атмосфере инертного газа при 60—70° в течение 1 часа. Неомыляемая фракция разбавляется вдвое водой и извлекается эфиром, эфирный раствор промывается водой и под конец слабой HCl и сушится над безводным сульфатом натрия. Растворитель выпаривается в вакууме, и получается концентрат, в 20—30 раз более активный по сравнению с исходным сырьем³.

За последнее время в наших отечественных лабораториях разработаны способы обогащения витамином А животных жиров. По предложению Мацко, китовый или иной жир насыщают отходами рыбной промышленности, богатыми витамином А. Для этого жир нагревают до 110—120° и добавляют в него рыбные отходы. При этом вода почти моментально испаряется, и витамин А, заключающийся в отходах, экстрагируется жиром. Этот способ осваивается сейчас в промышленности и в некоторой модификации описан Колчевым, Винокуровым и Бергауз (14).

И, наконец, следует отметить еще способ перегонки рыбьего жира в высоком вакууме (разрежение до 0,00001 атмосферы). Таким путем получают препараты витамина А исключительной чистоты и активности.

¹ Солодкий, Доклад на заседании Комитета растительных ресурсов, 1943.

² Сведения по этому вопросу можно почерпнуть в сводке Вульфсон, 1940 г. (11) и монографии Зейтца (12).

³ Мосрыбкомбинатом (совместно с АН СССР) разработан гидролизный способ получения витамина А из печени рыб и налаживается массовое производство этого препарата.

Этот метод испытывается в настоящее время во Всесоюзном витаминном институте на специально сконструированной аппаратуре.

В заключение настоящего раздела приведем краткую характеристику различных препаратов каротина и витамина А, наиболее распространенных в практике.

Препараты каротина

Люцерновая мука (листья люцерны, высушенные в специальных условиях и размолотые в тонкий порошок) содержит до 40 мг% каротина. Используется как зелень к борщам, супам или вторым блюдам. Может выпускаться в форме таблеток.

Мука из крапивы (листья молодой крапивы, высушенные в специальных условиях и размолотые в порошок) содержит свыше 40 мг% каротина. Используется, как и предыдущий препарат, а также для обогащения каротином мучнистых изделий специального назначения.

Мука из рябины, получаемая по методу Шмука: рябина для удаления горечи выщелачивается горячей водой, высушивается и измельчается в порошок. По данным Шмука, содержит до 40 мг% каротина. Может быть использована, как предыдущие препараты, или для целей витаминизации пищевых продуктов.

Белково-каротиновый коагулят. Препарат, получаемый по способу Зубрилина и Зофрен (см. выше). Содержит около 10 мг% каротина. В виде пасты или пашета употребляется для бутербродов или как приправа к различным блюдам. Может быть также высушен и измельчен в порошок.

Концентрат каротина из хвои (получаемый по методу ЛТХИ)—каротин, извлеченный из хвои щелочным гидролизом. Вырабатывается в виде концентратов в масляном растворе. Применяется как наружное средство. В зависимости от степени очистки препарат может быть использован *per os*.

Масло из облепихи. Еще мало известный естественный концентрат каротина, получаемый путем прессования ягод облепихи¹. Содержит до 90 мг% каротина. Рекомендуются, как и предыдущий препарат, для лечебных и профилактических целей. Вследствие высокой кислотности может обладать несколько раздражающим местным действием, поэтому при местном применении целесообразно его разбавлять нейтральным жиром или предварительно нейтрализовать содой.

Каротон. Водно-коллоидный раствор каротина, получаемый по методу Балаховского. Выпускается в ампулах, с содержанием до 15 мг каротина в 1 мл раствора. Применяется при лечении глазных заболеваний, а также вводится парентерально при некоторых заболеваниях.

Каротоль, или концентрат каротина. Выпускается Союзвитамином в виде раствора каротина в рафинированном масле, с содержанием до 2 мг каротина в 1 мл. Применяется для профилактики и лечения авитаминоза *per os*, как добавка к готовым блюдам в чистом виде и наружно— для лечения кожных поражений.

Витадерм—мазь, составленная из масляного раствора каротина с эвкалиптовым маслом и стеарином, для получения быстро затвердевающей массы. К препарату в качестве антисептика и стабилизатора добавляется некоторое количество β-нафтола. Препарат предложен Балаховским в качестве мазевой повязки для лечения ранений и ожогов. Перед употреблением должен быть прогрет до расплавления.

Молозиво—молоко коровы в первые дни после отела является богатым источником каротина и витамина А. Этот продукт рекомендован Петряевой для лечения различных форм авитаминоза.

¹ Способ получения разработан Витаминным институтом и Союзвитамином.

Рыбий жир. Широко распространенный продукт, добываемый из печени рыб разных видов, в связи с чем наблюдаются очень большие колебания в содержании в нем витамина А (от 2,5 до 37000 мг%). В последнее время широко применяется способ молекулярной перегонки рыбьего жира в глубоком вакууме; при этом содержание витамина А повышается в 1000 и больше раз против исходного количества¹. Рыбий жир применяется не только как хорошо известное средство внутрь, но также и местно, оказывая при кожных поражениях столь же благоприятное действие, как и препараты каротина. Дозировка препарата связана с его активностью.

В о г а н—рыбий жир, обогащенный витамином А. Мацко предложен препарат китового жира, обогащенный витамином А, из печени кита и отходов рыбных промыслов. Дозировка препарата зависит от его активности.

В у л ь н о в и т а л—концентрат витамина А в парафиновом масле. Содержит до 100 инт. ед. витамина А в 1 мл. Выпускается в качестве препарата для наружного применения.

В и т а л о п о н—препарат витамина А в прованском масле, предназначен для пищевого использования и выработки витаминизированных консервов.

В и т а э м у л ь с и н—рыбий жир, смешанный с 1% лецитина, с добавлением 3,5% солей стронция.

А д е в и т а н—облученный высокоактивный концентрат печени морской камбалы. Содержит до 5000 инт. ед. витамина А и до 500 единиц витамина D в 1 мл, применяется в хирургической практике.

О р г а д е р м—мазь, в состав которой входит до 50% рыбьего жира, битуминол, дерматол и окись цинка. Рекомендована для лечения кожных поражений, чесотки, чешуйчатого лишая и сифилитических язв.

Д р а ж е и т а б л е т к и с в и т а м и н о м А, выпускаемые Союзвитамином. Активность указывается на этикетке.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КАРОТИНА И ВИТАМИНА А

Каротин относится к группе жирорастворимых пигментов, объединяемых общим названием каротиноидов—углеводородов, имеющих более или менее длинную изопреновую цепочку и общую брутто-формулу $C_{40}H_{56}$. Ниже приводится классификация наиболее изученных в настоящее время пигментов и их дериватов (табл. 3).

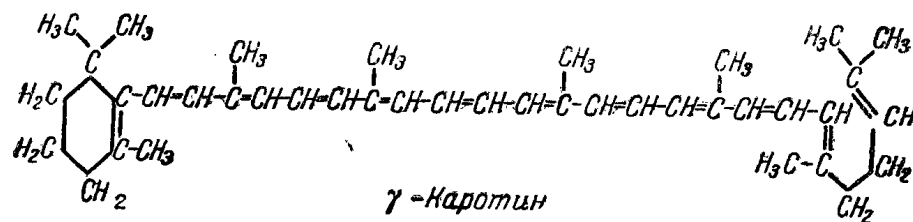
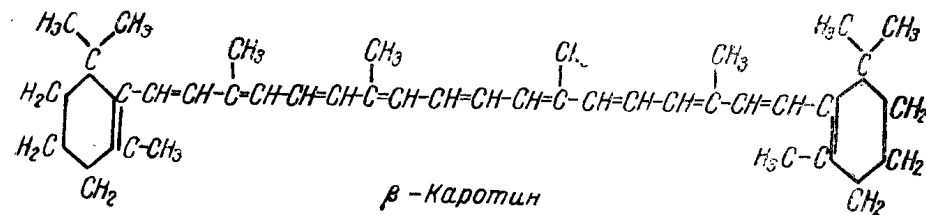
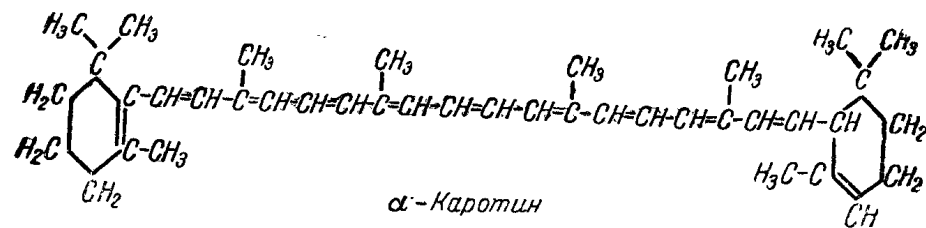
Цветность каротиноидов зависит от количества двойных связей в алифатической цепи. Чем их больше, тем интенсивнее окраска. Для примера: ликопин, имеющий 13 двойных связей, обладает интенсивной карминово-красной, каротиноиды с 11 двойными связями (α - и β -каротин)—оранжево-красной, а кроцетин с 9 двойными связями—желтой окраской.

При синтезе различных полиенов оказалось, что боковые кольца никакого участия в окраске не принимают. Она обусловлена лишь наличием сопряженных двойных связей и их количеством. Общим свойством для всех каротиноидов является их растворимость в жирах и растворителях жиров и нерастворимость в воде. Каротины легко растворяются в сероуглероде, в хлороформе и бензоле; труднее растворимы в серном эфире (1:1000) и петролейном

¹ Некоторые концентраты витамина А, полученные указанным способом, содержат от 40000 до 1000000 и. е. витамина А в 1 г.

эфире (1:1500) и почти нерастворимы в спиртоле. Дают синее окрашивание с концентрированной серной, азотной и соляной кислотами и с фенолом. Ультрафиолетовые лучи и лучи Рентгена их разрушают.

Кристаллы каротина легко окисляются на воздухе (при этом увеличиваются в весе за счет поглощения кислорода) и постепенно



обесцвечиваются (меняют цвет от лилово-красного до кирпично-красного и оранжевого). Нагревание каротина в масляном растворе до 100° разрушает его в некоторых случаях до 75%, а при более высокой температуре разрушает почти полностью¹.

¹ При высушивании на воздухе растений, содержащих каротин, происходят потери его до 70—95%. При хранении высушенных растений в вакууме при t° от 0 до +5° потери каротина за 80 дней составляют не более 1%; потери до 70% и более наблюдаются при хранении их на воздухе при комнатной температуре.

Таблица 3

Каротиноиды и их характеристика

Название	Формула	Точка плавления в °С
А. Каротиноиды с числом С-атомов 40 и больше		
1. Углеводороды		
α-каротин	$C_{40}H_{56}$	187—188
β-каротин	$C_{40}H_{56}$	182—183
γ-каротин	$C_{40}H_{56}$	178
Δ-каротин	не установл.	—
Ликопин	$C_{40}H_{56}$	175
Узокаротин	$C_{40}H_{56}$	183—185
α-псевдокаротин	$C_{40}H_{56}$	166
2. Фитоксантины		
Криптоксантин	$C_{40}H_{56}O$	169
Рубиксантин	$C_{40}H_{56}O$	160
Ксантофилл	$C_{40}H_{56}H_2$	193
Зеаксантин	$C_{40}H_{56}H_2$	201—202
Флавоксантин	$C_{40}H_{56}H_2$	184
Тараксантин	$C_{40}H_{56}H_4$	184—185
Фукоксантин I	$C_{40}H_{56}H_5$	159—161
Виолоксантин	$C_{40}H_{56}H_4$	199
Фукоксантин II	$C_{40}H_{56} + H_2$	145—176
3. Ксантоэфиры		
Физалиен	$C_{72}H_{116}O_4$	98,5—99,5
Гелениен	$C_{62}H_{116}O_2$	92
4. Оксосоединения		
Родоксантин	$C_{40}H_{50}O_2$	219
Б. Каротиноиды с числом С-атомов меньше 40		
1. Оксосоединения		
Витамин А	$C_{20}H_{30}O$	63—64
2. Карбоновые кислоты (и их эфиры)		
Кроцетин	$C_{20}H_{24}O_4$	285
Норбиксин	$C_{24}H_{26}O_1$	255
Еиксин	$C_{25}H_{30}O_4$	128
В. Оксикарбоновые кислоты		
Азафрин	$C_{26}H_{36}O_4$	212
Астацин	$C_{27}H_{32}O_3$	240—243
Сальмовая кислота	не выяснена	—
Астериловая кислота	$C_{28}H_{40}O_4$	185

Каротины α, β, γ и Δ обычно (за некоторым исключением) встречаются совместно, и разделение их возможно либо с помощью дробной кристаллизации из петролейного эфира, в котором α-каротин растворяется несколько лучше, чем β-каротин, либо хроматографической адсорбцией на фуллеровой земле, на окиси алюминия или, что лучше, на окиси кальция; применяя этот способ, можно установить, что γ-каротин задерживается в верхней секции колонки, а α- и β-каротин скопляются внизу¹.

Трихлоруксусная кислота и трихлористая сурьма в хлороформе дают с хлороформенными растворами каротина сине-зеленую окраску. Синюю окраску дают хлороформенные растворы каротина с раствором хлоралгидрата в соляной кислоте.

По своему строению каротины характеризуются наличием в молекуле изопреновой цепочки, по концам которой находятся α-ионон или β-ионон.

Помимо своих физико-химических различий, каротины различаются между собой и своей биологической активностью (табл. 4).

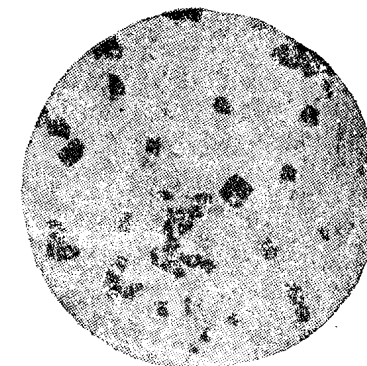


Рис. 1. Кристаллы β-каротина

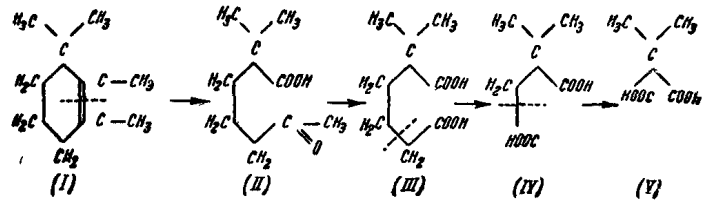
Свойства α-, β- и γ-каротина

Показатели	α-каротин	β-каротин	γ-каротин
Формула	$C_{40}H_{56}$	$C_{40}H_{56}$	$C_{40}H_{56}$
Количество двойных связей	11	11	12
Температура плавления в °С	187	184	178
Уд. вращение при 20°	+323°	0	0
Максимум поглощения (в CS_2) на длине волны (в мμ)	511, 478, 452	520, 484, 452	533, 496, 463
Активность в γ (на крысу)	5	2,5	5
Содержание в моркови (в % от общего количества каротина)	14,9	78,7	6,4

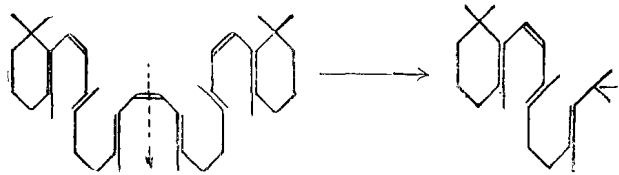
β-ионон (1), входящий в молекулу каротина, при своем окислении (например, озоном) дает следующие продукты распада: геро-

¹ В качестве отличного адсорбента для отделения β-каротина от других каротиноидов рекомендуются дикальцийфосфат, окись магния или окись алюминия.

новую кислоту (II), диметилглутаровую (III), диметилантарную (IV) и диметилмалоновую кислоту (V).



В организме каротин с симметрично построенной молекулой распадается на две молекулы витамина А. Эта реакция представляется в следующем виде: разрыв изопреновой цепочки происходит по месту двойной связи у девятого углеродного атома, остатки же, присоединяя к освободившейся двойной связи H и OH, образуют молекулы витамина А¹.



и т. д....

В молекуле витамина А, как видно, содержится β-ионное кольцо; следовательно, лишь β-каротин (с симметрично построенной молекулой), содержащий на обоих концах цепи β-ионы, способен распадаться на две молекулы витамина А, тогда как другие каротиноиды (α-каротин, γ-каротин, криптоксантин и пр.) дают соответственно одну молекулу витамина А, а ликопин в витамин А вовсе не превращается. Это и объясняет их биологическую активность. Так, если профилактической дозой витамина А для крысы является 2,5 γ витамина, то эта доза будет соответственно иной для других соединений, как это видно из табл. 5.

¹ Каротиноиды с 40 С-атомами при своем расщеплении могут давать разнообразные продукты распада, как это видно из следующего:

Каротин (40)	
Витамин А (20)	Витамин А (20)
Азафрин (27)	Ионин (13)
Кроцетин (20)	Ликокроцин (10) Ликокроцин (10)
Биксин (24)	Метиловый ионин (8) Метиловый ионин (8)
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40 Число углеродных атомов	

Схема расщепления каротиноидов с 40 углеродными атомами.

Биологическая активность витамина А и каротиноидов

Вещество	Формула	Профилактическая доза в γ для крысы
Витамин А ₁	C ₂₀ H ₃₀ O	2,5
Витамин А ₂	C ₂₂ H ₃₂ O	5
α-каротин	C ₄₀ H ₅₆	2,5
β-каротин	C ₄₀ H ₅₆	5
γ-каротин	C ₄₀ H ₅₈	не установлено
Δ-каротин	C ₄₀ H ₅₆	5
Криптоксантин	C ₄₀ H ₅₆ O	5
Эхиноенон	C ₄₀ H ₅₆ (H) ₂	5
Дигидро-α-каротин	C ₄₀ H ₅₈	5
Дигидро-β-каротин	C ₄₀ H ₅₈	5
β-каротинмоноксид	C ₄₀ H ₅₆ O	5
β-оксикаротин	C ₄₀ H ₅₈ O ₂	5
β-семикаротинон	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	5
β-семикаротинонмоноксим	C ₄₀ H ₅₇ O ₂ N	5
β-каротиндиодид	C ₄₀ H ₅₆ I ₂	40

В животном организме превращение β-каротина в витамин А, по видимому, происходит более сложным и пока еще мало изученным путем, хотя образование 2 молекул витамина А из 1 молекулы каротина и не вызывает сомнения, и этим, между прочим, объясняется, что единица биологической активности β-каротина 0,6 γ считается эквивалентной 0,3 γ витамина А. По данным Балаба (15), при инкубации каротина в течение 2 часов с тиреоглобулином при рН 7,3 из 42 γ каротина образовалось 20,8 γ витамина А.

Наличие в молекуле витамина А кислорода и укорочение алифатической цепи обуславливают существующие различия между витамином и каротином. Перечень их дается в табл. 6.

Витамин А, антиксерофтальмический, жирорастворимый фактор роста, антиинфекционный витамин, брутто-формула C₂₀H₃₀O, кристаллизуется в форме слабо окрашенных крупных призматических кристаллов, с темп. плавл. 63—64°. 1 г кристаллического витамина А соответствует 4300000 (или 4500000) и. е. Следовательно, 1 и. е. витамина А соответствует около 0,3 γ кристаллического продукта. Витамин растворим в жире и жирорастворителях, растворим в метиловом и этиловом спиртах; устойчив к действию щелочей, легко окисляется кислородом воздуха, особенно при повышенной температуре, ультрафиолетовыми лучами разрушается, образуя в качестве одного из продуктов распада β-ионин (обуславливающий характерный запах фиалок в окисленных растворах витамина); соляной, серной и другими минеральными или органическими кислотами разрушается в присутствии кислорода воздуха; гидрохинон и лецитин предохраняют его от окисления.

Различия в свойствах витамина А и каротина

Свойства	Витамин А	Каротин
Образование	Образуется из каротина в теле животного	Синтезируется растениями
Окраска	Бесцветный	Интенсивно окрашенный
Спектр поглощения	Полоса поглощения при 328 мμ	При 328 мμ не дает поглощения
Реакция SbCl ₃	Интенсивно синяя окраска (полоса поглощения при 572 мμ и 606 мμ)	Зелено-голубая окраска (полоса поглощения при 580 мμ)
Содержание кислорода	Содержит	Не содержит

Благодаря наличию в молекуле спиртовой группы витамин А с ангидридами кислот дает производные, например бензоат, нитробензоат, стеарат, ацетат и др. Спектр поглощения—на длине волны 328 мμ.

Бензиновые растворы витамина А показывают в ультрафиолетовом свете желто-красную флуоресценцию, которая гасится при титровании раствора малеиновой кислотой, растворенной в бензине (образование малеината витамина). Для витамина А предложено название аксерофтол, в настоящее время уже принятое в американской фармакопее, хотя и мало обоснованное.

Витамин А, как и другие жирорастворимые витамины, по преимуществу накапливается в липоидных оболочках клеток. Однако в растительных тканях каротин часто встречается в сочетании с белком, а свободный каротин находится в хромопластах.

Ежедневная потребность крысы—2,5 γ витамина А, и это количество его носит условное название «крысиной единицы» (RE).

Витамину А присущ ряд реакций: он дает синее окрашивание с хлороформенным раствором SbCl₃ и AsCl₃; восстанавливает эфирные растворы хлорного золота и фосфорно-вольфрамовой кислоты; благодаря наличию в его молекуле 4 сопряженных двойных связей реагирует с 8 атомами водорода; присоединяет 1 молекулу галоида, давая соответственное бром- или иодпроизводное.

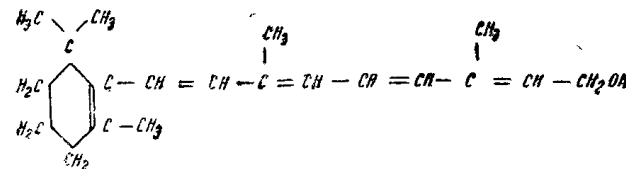
Применением метода хроматографической адсорбции советским ученым Ледереру и Розановой (16, 17) удалось разделить чистейшие препараты витамина А на две фракции: α-фракцию, адсорбируемую на Са(ОН)₂, и β-фракцию, не адсорбируемую; первая дает полосу поглощения на длине волны 270 мμ, вторая—325—328 мμ; эти фракции различаются и по некоторым другим реакциям. Исходя из этого, некоторые ученые высказались в пользу существования двух витаминов А: А₁ и А₂.

Таблица 7

Сравнение некоторых свойств витаминов А₁ и А₂

Реакция	Спектр поглощения		Примечание
	А ₁	А ₂	
Трихлоруксусная кислота	610 мμ	690 мμ	30%-ный раствор в хлороформе
Диметилсульфат	615 мμ	680 мμ	20% » » »
Перхлорная кислота	605 мμ	680 мμ	5—10% » » »
Бензоилхлорид	—	690 мμ	20% » » »
Ацетилхлорид	572 мμ	—	А ₁ дает стабильную фиолетовую окраску. А ₂ дает менее стабильную, вначале голубую, затем фиолетовую
Трихлористый мышьяк	628 мμ 5:7 мμ	390 мμ	А ₁ дает фиолетовую окраску; А ₂ дает вначале зеленую, затем фиолетовую окраску
Р. Розенталя и Эрдели	551,686 мμ	480,450 мμ	А ₂ не обесцвечивается от нагревания
Флуоресценция	Желто-зеленая	Красноватая	

В 1939 г. Ледерер с сотrud. (18), применяя способ хроматографической адсорбции, добились отдельного получения указанных фракций, изучили их и установили их химическое строение:

α-фракция (витамин А₁)Рис. 2. Кристаллический витамин А₁

Витамин А, содержащийся в масле и жире, хорошо сохраняется до тех пор, пока масло не подверглось порче; прогоркание жиров и масел влечет за собой разрушение витамина.

Однако имеется возможность значительно предотвратить окисление каротина и витамина А при помощи различных стабилизаторов. К таким стабилизаторам относятся дирезорцинилхинон, дигидроксисибетаметилхроман, триметоксипирокатехин, дигидроксиафталин, бразилин и пирогаллол. Наилучшими стабилизаторами каротина являются госсипол и витамин Е. В практике витаминных производств в целях предохранения препаратов каротина и витамина А от окисления к ним следует добавлять незначительные количества концентрата витамина Е (из соевого или кукурузного масла), — это способствует сохранению активности препаратов каротина и витамина А на длительное время. Эти соображения необходимо учитывать в целях рационального использования наших естественных природных богатств и обеспечения полноценным питанием населения.

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА А И КАРОТИНА

Из большого числа методов, предложенных для химического определения витамина А и каротина, мы остановимся лишь на тех, которые в настоящее время нашли себе применение в практике наших лабораторий (19—23).

А. Определение содержания витамина А

Химические методы определения витамина А, наиболее распространенные в настоящее время, основаны главным образом на реакции витамина А с трихлористой сурьмой (реакция Карр и Прайс). Синяя реакция колориметрируется с стандартной шкалой синих единиц визуально, или при помощи тинтометра Ловибонда, или в фотоколориметре любого типа. Довольно широко распространено измерение количества витамина А при помощи спектрофотометра.

Многие вещества, присутствующие в естественных жирах (повидному, из группы ненасыщенных жирных кислот), подавляют проявление окраски реакции и искажают получаемые результаты. По этой причине эти вещества предварительно должны быть удалены при помощи омыления исследуемого образца жира. В зависимости от характера испытуемого объекта изменяется способ подготовки образца к анализу. Таким образом, все многообразие методов анализа витамина А может быть до известной степени систематизировано.

Ниже мы излагаем методы анализа витамина А, составленные на основе работ Всесоюзного витаминного института, Государственной контрольной витаминной станции и др. и принятые в настоящее время в витаминной промышленности.

Навеска испытуемого вещества варьирует в следующих пределах: драже с витамином А—5—10 г, печеночные рыбы жиры—0,1—1 г, яйца (только желток) используют целиком, витаминизированный маргарин—20 г, витаминизированное мороженое—100 г, концентраты витамина А—взвешивают 1 каплю, животные ткани и органы—3 г.

Навеску вещества подвергают омылению при помощи раствора щелочи, при этом употребляют для печеночных рыбьих жиров 10 мл 0,5 N спиртового раствора КОН, для яиц—двойной объем (к весу желтка) воды и 45 %-ный водный раствор КОН в отношении 1,5:1 (к смеси), для маргарина—10 мл 45 %-ного водного раствора КОН и 25 мл 96 %-ного этилового спирта, для мороженого (и молока)—10 мл 45 %-ного водного раствора КОН, для животных тканей и органов—1 мл 45 %-ного водного раствора КОН и 10—12 мл 96 %-ного этилового спирта.

(Драже с витамином А и витаминизированные изделия предварительно экстрагируют хлороформом для извлечения витамина А, хлороформ отгоняют, остаток дальше подвергают омылению. Концентраты витамина А омылению не подвергают).

По окончании омыления, которое продолжается от 20 минут до 1 часа, в зависимости от объекта, из смеси извлекают неомыляемую фракцию серным эфиром в три-четыре порции (по 50—100 мл), соединенные эфирные вытяжки отмывают водой, высушивают безводным сернокислым натром, растворитель нацело удаляют упариванием в токе углекислоты, остаток растворяют в хлороформе, с таким расчетом, чтобы в 1 мл раствора содержалось от 10 до 40 и. е. витамина А.

Реакцию осуществляют следующим образом: к 0,2 мл хлороформенного испытуемого раствора добавляют 1 каплю уксусного ангидрида и 2 мл хлороформенного раствора трихлористой сурьмы. Образующуюся синюю окраску немедленно сравнивают с подходящей по цветности пробиркой стандартной шкалы или в штупенфотометре, фотоколориметре, тинтометре Ловибонда и т. д.

При визуальном способе определения наиболее точные результаты получаются в том случае, если окраска реакции по интенсивности укладывается в пределах 4—10-й пробирок.

Приготовление шкалы пробирок-эталонов производится следующим образом: 75 г химически чистой сернокислой меди и 3,5 г химически чистого азотнокислого кобальта растворяют в 500 мл воды. Полученный раствор разбавляют водой, как указано ниже.

Реакция витамина А с трихлористой сурьмой протекает быстро, достигая максимума приблизительно через 10 секунд; при низких температурах (0—1°) реакция более устойчива; яркий (дневной или искусственный) свет заметным образом влияет на быстроту выцветаемости.

При работе с образцами, содержащими наряду с витамином также каротин (образующий с трихлористой сурьмой зелено-голубое окрашивание), удобно пользоваться тинтометром Ловибонда,

Таблица 8

Приготовление шкалы синих единиц

№ пробирок	Количество		Число синих единиц витамина А
	Основного раствора (мл)	Воды (мл)	
1	Основной раствор	0,0	9,2
2	20	0,4	9,0
3	20	1,6	8,5
4	20	3,0	8,0
5	20	4,5	7,5
6	20	6,3	7,0
7	20	8,7	6,5
8	20	11,6	6,0
9	20	14,6	5,5
10	20	19,0	5,0
11	20	24,4	4,5
12	20	31,6	4,0
13	20	41,2	3,5
14	20	55,4	3,0
15	20	74,2	2,5
16	20	104,2	2,0

подбирая подходящие по окраске желтые и зеленые стекла, в целях уравнивания цветности. Эти дополнительные стекла в дальнейших расчетах во внимание не принимаются.

Формулы для расчета:

$$I. x = \frac{c \cdot v}{a \cdot 4},$$

где: x —содержание витамина А в мг%, в испытуемом образце,
 c —число синих единиц стандартной шкалы, соответствующее по интенсивности окраске реакции с испытуемым раствором,
 v —разведение,
 a —навеска вещества, в г,
 4 —постоянный коэффициент;

$$II. x_1 = \frac{x \cdot 10}{0,3},$$

где: x_1 —содержание витамина А в и. е. на 1 г продукта,
 x —см. выше,

10—коэффициент пересчета из мг% в гаммы,
0,3—коэффициент пересчета в и. е.

Собель и Вербин (24) в 1947 году предложили новую цветную реакцию на витамин А. Авторы нашли, что хлорзамещенный в 1 и 3 положении глицерин (глицерин-1,3-дихлоргидрин) дает с витамином А стойкое голубоватое окрашивание. Реакция осуществляется следующим образом: к 1 мл хлороформенного раствора

испытуемого образца жира, содержащего витамин А, добавляют 0,5—1 мл концентрированной соляной кислоты или уксусного ангидрида и 4 мл дихлоргидрина. Смесь оставляют на теплой водяной бане (25°) на несколько минут, образующуюся окраску колориметрируют с подходящим стандартом.

По указанию авторов, каротин дает такую же окраску и предварительно должен быть удален.

Б. Определение содержания каротина

При определении каротина важно соблюсти следующие условия: 1) полностью извлечь каротиноиды из навески испытуемого вещества, 2) удалить жир, могущий помешать определению, с помощью омыления и 3) отделить каротин от сопутствующих желтых пигментов.

Первое условие достигается растиранием навески испытуемого материала с песком и вначале со спиртом для обезвоживания вещества (если для анализа взят свежий растительный материал; разумеется, сухие объекты спиртом экстрагировать нет надобности), а затем с бензином (темп. кип. 80—100°), или петролейным эфиром, или одновременно смесью бензина со спиртом.

Второе условие достигается методами омыления, уже описанными ранее. Третье условие достигается использованием так называемого метода хроматографической адсорбции, впервые разработанного русским ученым Цветом в 1906 г.

I. Определение каротина в свежем растительном материале

(по инструкции Государственной контрольной витаминной станции Министерства здравоохранения СССР)

Навеску испытуемого свежего материала в количестве 1—20 г (в зависимости от предполагаемого содержания каротина) растирают в ступке с стеклянным порошком и затем с 5-10-кратным количеством (по отношению к навеске) 96%-ного этилового спирта. После растирания материала со спиртом в ступку добавляют небольшими порциями 20—30 мл бензина (с точкой кипения от 80 до 100°) или петролейного эфира (темп. кип. 40—60°) при растирании смеси. Полученный экстракт фильтруют, не перенося осадка на фильтр. Экстрагирование бензином или петролейным эфиром повторяют таким же образом до тех пор, пока последующие порции экстракта не станут бесцветными.

Бензиновый или петролейно-эфирный экстракт переносят в делительную воронку, туда же прибавляют по каплям воды до полного разделения слоев. Нижний (спирто-водный) слой сливают в другую делительную воронку и промывают его два раза бензином или петролейным эфиром, порциями по 10 мл.

Объединенные бензиновые или петролейные вытяжки переносят в колбу и концентрируют до объема 20—30 мл (при пользовании

бензином отгонку ведут на песчаной или масляной бане, при пользовании петролейным эфиром—на водяной).

К полученному раствору добавляют равный объем 5 %-ного спиртового раствора щелочи и подвергают омылению в колбе с обратным холодильником на водяной бане при 40° в течение трех часов.

Омыленный раствор переносят в делительную воронку, туда же добавляют несколько миллилитров воды по полного разделения слоев. После отделения водно-спиртового слоя бензиновую или петролейную вытяжку восемь-десять раз промывают водой. Отмытый от спирта бензиновый экстракт сушат безводным сернокислым натрием (до полного исчезновения мутности раствора), отфильтровывают и концентрируют в колбочке до объема 5—10 мл.

Сгущенный экстракт пропускают через адсорбционную колонку, наполненную окисью магния или окисью алюминия.

К о л о н к а д л я а д с о р б ц и и изготавливается следующим образом. Стекланную толстостенную трубку (можно воспользоваться негодной бюреткой и обрезать у нее верхнюю часть) диаметром 1—2 см, длиной 15—20 см, суженную на конце, вставляют узким концом через пробку в колбу Бунзена. В узкую часть трубки вкладывают кусочек гигроскопической ваты, затем до половины трубки насыпают адсорбент, сильно уплотняя его толстой стеклянной палочкой, сверху помещают тонкий слой безводного сернокислого натрия. (Можно также приготовить «кашицу» из адсорбента с бензином и этой «кашицей» заполнять трубку). Колбу соединяют с водоструйным насосом, в трубку наливают бензин или петролейный эфир, который должен равномерно смочить весь столбик адсорбента, после чего через колонку начинают пропускать испытуемый раствор каротина. В верхней части колонки задерживаются хлорофилл, ликопин, а в нижней части колонки—β-каротин. Его вымывают из колонки пропусканием чистого растворителя до тех пор, пока капли, вытекающие из колонки, не станут бесцветными.

Нужно следить, чтобы поверх колонки всегда оставался небольшой слой жидкости и чтобы пузырьки воздуха не проскакивали через адсорбирующую массу. Скорость истечения раствора через колонку нужно отрегулировать так, чтобы в одну минуту вытекало около 60 капель раствора.

После пропускания через колонку экстракта и промывки колонки чистым растворителем экстракт и промывную жидкость объединяют в мерной колбе, доводят до объема растворителем, основательно перемешивают содержимое колбы и колориметрируют желтую окраску раствора в колориметре Дюбоска с стандартным раствором бихромата калия или азобензола, устанавливая стандартный раствор на 10 мм.

Вычисление результатов определения производят, пользуясь следующей формулой:

$$x = \frac{k \cdot h \cdot v \cdot 100}{h_1 \cdot G},$$

где: x —содержание каротина в испытуемом продукте, в мг %;

k —коэффициент: при пользовании в качестве стандарта азобензолом—0,00235; бихроматом калия—0,00208;

h —высота столба стандартного раствора (10 мм);

h_1 —высота столба испытуемого раствора (допускается колебание от 8 до 12 мм);

v —общий объем раствора, поступившего для колориметрирования, в мл;

G —навеска испытуемого образца, в г.

2. Определение каротина в сухом растительном материале

(по инструкции Государственной контрольной витаминной станции
Министерства здравоохранения СССР)

При исследовании сухого материала (сухие овощи, плоды, травы и пр.) извлечение каротина производят непосредственно бензином или петролейным эфиром. В дальнейшем поступают, как описано выше.

3. Определение каротина в жирах и маслах

(по инструкции Государственной контрольной витаминной станции
Министерства здравоохранения СССР)

К навеске жира или масла в количестве 0,5—2 г прибавляют 20 мл 5 %-ного спиртового раствора щелочи, омыляют при 80° в течение 30 минут, в дальнейшем поступают так, как описано ранее.

4. Упрощенный метод определения каротина в кормах

Вышеописанное не исчерпывает, конечно, разнообразия применяемых методов определения каротина и приведено нами лишь в качестве примера. В ряде случаев, если не требуется большой точности анализа, могут быть использованы упрощенные методы.

В качестве такого опишем способ определения каротина в кормах, разработанный Попандоуполло во Всесоюзном научно-исследовательском институте животноводства.

Приготавливают прибор, состоящий из трубки Аллина, которая вставляется через пробку в колбу или склянку. В узкую часть трубки помещают кусочек гигроскопической ваты, а поверх нее адсорбент (см. ниже) слоем около 1,5—2 см.

Навеску средней пробы исследуемого продукта (5—10 г) переносят в ступку и тщательно растирают с промытым и прокаленным кварцевым песком (около 10 г), а для влажных объектов—с добавлением безводного сернокислого натрия (5—10 г). Прибавив в ступку около 5 г окиси алюминия (или окиси магния, или углекислого магния), смесь снова растирают и количественно переносят в колонку

прибора. После переноса смеси в колонку в нее наливают столько бензина (точка кипения не выше 120°), чтобы при промывании колонки поверх смеси постоянно находился слой бензина. Через несколько минут из колонки начинает вытекать желто окрашенный раствор. Промывку колонки бензином продолжают до обесцвечивания стекающих из колонки капель.

Для проверки полноты извлечения каротина из исследуемого объекта переливают первый экстракт в мерный цилиндр и продолжают дальнейшее извлечение каротина из колонки чистым бензином. Если новый экстракт не показывает желтой окраски, то нет необходимости добавлять его к первому экстракту, чтобы избежать разбавления уже полученного раствора каротина. В противном случае объединяют оба экстракта и, измерив объем, колориметрируют, сравнивая окраску со стандартным раствором азобензола или бихромата калия.

5. Микрометод определения суммы каротиноидов в моркови

(составлен ВНИВИ на основании метода, разработанного для крови Рачевским)

Навеску моркови в количестве 0,1—1 г, взятую на техно-химических весах, тщательно растирают в ступке с кварцевым песком (или стеклянным порошком) и с 1 мл 10%-ного спиртового раствора щелочи.

Содержимое ступки переносят в пробирку с притертой пробкой, ступку и пестик смывают спиртом, промывную жидкость сливают в ту же пробирку. Общее количество жидкости должно составить 10—15 мл.

В пробирку прибавляют 5 мл петролейного эфира или легко кипящего бензина (темп. кип. 40°), смесь тщательно перемешивают стеклянной палочкой. (Петролейный эфир смешивается со спиртом и извлекает из него растворенные пигменты).

Для отделения петролейного эфира от смеси в пробирку прибавляют несколько капель воды, по каплям, и смешивают перевертыванием пробирки. Петролейно-эфирный слой всплывает наверх и обычно бывает интенсивно окрашен.

Из этого слоя осторожно отбирают 0,1 мл в другую пробирку и разбавляют петролейным эфиром так, чтобы раствор петролейного эфира имел лишь слегка желтый оттенок (обычно разводят в 10—100 раз).

Из разбавленного раствора отбирают при помощи пипетки 1 мл и наносят по каплям на белую фарфоровую крышечку от тигля или на другую белую фарфоровую поверхность по одной капле в одно и то же место, до появления заметного желтого кольца.

Капля экстракта петролейного эфира при высыхании расплывается равномерно во все стороны и, увлекая за собой растворенные в ней пигменты, образует кольцо диаметром 2—2,5 см,

В целях уменьшения ошибки петролейно-эфирного экстракта для появления заметного кольца должно пойти около 0,2—0,3 мл.

Расчет содержания каротиноидов в моркови производят при помощи следующей формулы:

$$x = \frac{5 \cdot 0,04 \cdot 100}{a \cdot 1000 \cdot b} \cdot C,$$

где: x — сумма каротиноидов в мг%;

a — навеска в г;

b — количество миллилитров петролейно-эфирного экстракта, пошедшее на образование кольца;

C — разведение;

0,04 — количество γ -каротина, дающее желтое кольцо;

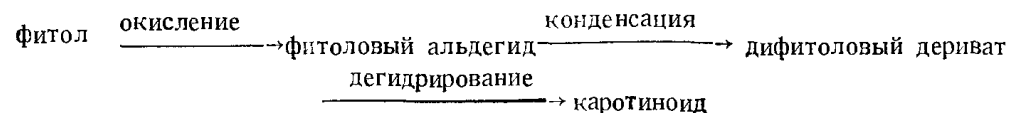
5 — количество миллилитров петролейного эфира, взятое для извлечения каротиноидов.

В заключение настоящего раздела укажем, что за последнее время в практике наших лабораторий все большее распространение получил спектрофотометрический метод определения каротина, исключающий возможность всяких ошибок и дающий цифры абсолютного значения; однако необходимость в сложнейшей и очень дорогой аппаратуре и, кроме того, сложность самой техники определения ограничивают возможность широкого применения в лабораториях и на предприятиях этого метода. При спектрофотометрическом определении длительное освещение испытуемого раствора ведет к разрушению в нем витамина. Поэтому техника определения усовершенствована таким образом, чтобы, максимально сокращая продолжительность экспозиции, по возможности устранить этот единственный источник ошибок. Строгим требованиям прецизионных измерений удовлетворяет каротинометр системы Шипалова — фотоэлектрический прибор, разработанный в Биохимическом институте Академии наук СССР. Действие каротинометра системы Шипалова основано на измерении поглощения света в сравнительно узком монокроматическом участке спектра. Весь процесс измерения занимает не более 1 минуты.

Биологическая проверка препаратов витамина А и каротина проводится на крысах, о чем см. соответствующую литературу.

СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНА В РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТАХ И ЕГО РОЛЬ В РАСТЕНИИ

Вильямс (25) экспериментально показал, что каротиноиды в растениях образуются из фитола по следующей схеме:



Таким образом, две молекулы фитола, по мнению Вильямса, участвуют в образовании молекулы каротиноида.

Каротин способствует процессу ассимиляции углекислоты хлорофиллом и предохраняет амилазу от действия ультрафиолетовых лучей. Советскими исследователями показано, что каротин является регулятором окислительно-восстановительных процессов в растении (26); дыхание тканей и содержание каротина находятся в известной зависимости. Таким образом, появление и накопление хлорофилла в растении почти всегда связано с накоплением в нем каротина¹.

Найдено, что каротин в растении накапливается до полной зрелости плодов; это обстоятельство связывается с участием каротина в росте растений. Многочисленные исследования показывают, что при более энергичном росте растение накапливает больше каротина.

С наступлением зрелости плодов содержание каротина в растении уменьшается и ко времени увядания растения его остается сравнительно небольшое количество (см. табл. 9.)

Таблица 9

Динамика накопления каротина на разных стадиях развития растения (в мг% на сухое вещество)

День от начала вегетации	Ежа сборная	Тимофеевка	Канареечник	Овсяница луговая
20	50,0	50,9	39,2	—
32	43,9	40,8	37,2	50,9
45	10,2	14,0	19,9	32,3
63	7,2	13,7	13,0	16,1
75	3,2	4,8	15,8	6,4
106	—	—	5,6	—
138	—	—	следы	—

Иванов с сотр. (27) установил аналогичное же падение содержания каротина в пшенице на различных стадиях ее созревания: на стадии молочной спелости 20,28 γ на 1 г сухого вещества, восковой спелости 13,61 γ, полной зрелости 1,25 γ и на стадии послеуборочного дозревания 0,18 γ на 1 г.

Каротин в растительном мире распространен очень широко; лишь очень немногие растения (некоторые грибы, некоторые водоросли и некоторые низшие) лишены каротина. Как правило, наземные части растения (листья, стебли) богаче каротином, чем подземные (корни, клубни). Все зеленые растения являются отличным источником каротина, но так как содержание его подвержено сезонным изменениям и связано с процессом роста растения, то зрелые плоды

¹ В листьях каротина больше, чем в стеблях. Особенно это резко заметно после цветения растения, когда количество каротина в листьях увеличивается в 20—25 раз по сравнению со стеблем.

и овощи содержат его больше, чем незрелые. Можно привести данные по поводу влияния степени зрелости томатов на содержание в них каротина (в мг% на сырое вещество):

Степень зрелости	Содержание каротина
Томаты зеленые	0,12—0,16
» при созревании	0,43
» спелые	0,73

Показано, что каротин накапливается в течение всего вегетационного периода, до момента полного развития листьев, после чего содержание его остается более или менее стабильным до момента пожелтения листьев.

В табл. 10 мы приводим данные, показывающие, как по мере вегетации меняется содержание каротина у древесных пород.

Рубин (28) указывает на основании своих опытов, что параллельно с уменьшением каротина наблюдается увеличение содержания ксантофилла; это понятно, так как ксантофилл является дегидроксиформой каротина и уменьшение количества последнего связано с его окислением и накоплением продуктов этого окисления¹.

Таблица 10

Содержание каротина в летних и осенних листьях

(в мг% на сухое вещество)

Листья	Зеленые (май—июнь)	Желтые (сентябрь)
Тополь	19,0	10,0
Бук	25,0	23,0
Клен	15,0	8,0
Ива плакучая	24,0	6,0
Вишня	42,0	12,0
Каштан	50,0	13,0

Значительна разница в содержании каротина в моркови в зависимости от ее сорта. По данным Краснодарского консервного института (1940 г.), на основе анализа материала, полученного с одного и того же места произрастания, мы наблюдаем следующие колебания (табл. 11).

Освещение солнцем благоприятно влияет на накопление каротина в растении: растения, выросшие на свету, содержат его много больше, чем те же растения, произраставшие при тех же условиях в темноте; в этом случае каротин часто в них вовсе отсутствует.

¹ С аналитическими целями ксантофилл может быть отделен от каротина трех-четырёхкратной промывкой бензиновых растворов каротина 85%-ным раствором фосфорной кислоты. Ксантофилл при этом удаляется.

Таблица 11

Содержание каротина в моркови в зависимости от сорта

Сорт моркови	Содержание каротина в мг%	Сорт моркови	Содержание каротина в мг%
Ганзенмейеровская	11,83	Столовая № 984	9,48
Ранняя, тепличная	10,83	Летняя любимица	9,17
Венгерская	10,82	Шантеннэ № 1131	9,23
Нантская	10,57	Бычьё сердце	9,03
Ранняя драгоценность	10,18	Селекционная № 1105	8,68
Несравненная	9,77	Алландская, ранняя	8,10
Геранда	9,53	Шантеннэ № 938	7,89

В общем условия, благоприятствующие росту и развитию растения, благоприятствуют и накоплению в нем каротина.

Любименко и Бриллиант отмечают, что при созревании плодов находящиеся в пластидах желтые пигменты теряют кислород и переходят в бескислородные формы ликопина и каротина. Это совпадает с максимумом накопления плодами углеводов.

Каротин, в силу своих особенностей, легко претерпевает обратимые изменения (окисление—восстановление), причем эти изменения в растительной клетке происходят не так, как это имеет место в животном организме, например в системе гемоглобин—оксигемоглобин: окисление каротина в растении кислородом воздуха обусловлено наличием своеобразного катализатора типа оксидазы, или системы, аналогичной с аскорбиназой аскорбиновой кислоты (29). Для каротин-оксидаз оптимум действия лежит в пределах рН 5,2—6,2 (при 30°). Наличие в сое и других бобовых растениях каротиназы позднее было подтверждено рядом авторов. В отсутствии этого фермента каротин стабилен к окислению и способен выдерживать нагревание. В жирах животного происхождения окисление каротина, повидимому, способны осуществлять образующиеся при прогоркании жира альдегиды.

Реакция ферментативного окисления каротина схематично представляется в следующем виде:

Жирная кислота + O₂ + каротин → ненасыщенная жирная кислота + каротин-оксид.

Каротин-оксидаза, повидимому, осуществляет окисление каротина и ненасыщенных жирных кислот с образованием перекисей. Высокая температура, соли цинка и кадмия, а также бораты подавляют действие фермента. Медь катализирует его действие.

Имеются указания, что каротин в растительных клетках локализован в хондриосомах; не исключена возможность и того, что

ему принадлежит немаловажная роль в синтезе веществ клеточного ядра, как это имеет место в животном организме¹.

В заключение приводим таблицу содержания каротина в растениях и растительных объектах (табл. 12).

Таблица 12

Содержание каротина в растениях и растительных продуктах²

(в мг % на сырое вещество)

Растения и растительные объекты	Содержание каротина	Растения и растительные объекты	Содержание каротина
1. Овощи			
Арбуз	0 ⁺	Петрушка, листья	10,0.
Артишоки	0,5—1,0	» корень	следы
Баклажаны	0 ⁺	Ревень, черешок	следы—0,2
Батат морковный	3,0—4,0	Редис	следы
» обыкновенный	следы—0,2	Редька	»
» лежалый	0	Репа Петровская	0,1 ⁺
Брюква	следы	Салат кочанный, темно-зеленый	2,5 ⁺
Горох, бобы (стручки)	0,5 ⁺	Салат светлозеленый	следы
Горошек зеленый	1,0 ⁺	Свекла столовая, ботва	7,0—9,0
Капуста листовая	3,0—5,0	» » корень	0
» брюссельская	0,5 ⁺	Сельдерей, листья	7,0—9,0
» цветная	0,15—0,2	» стебли	следы
» белокочанная	следы	Спаржа	1,0—2,0
» китайская	5,0 и выше	Томаты красные	2,0 ⁺
Картофель (белые клубни)	0	» розовые	0,6—1,0
Картофель (желтые)	0,5—1,0	» желтые	0,5 ⁺
Кресс-салат	2,0—5,0	» сок	0,5 ⁺
Лук перо	6,0 ⁺	Томат-паста	2,0—4,0
» репчатый	0	Тыква	0,2 ⁺
Морковь красная, разные сорта	6,0—14,0 (в среднем 9,0 ⁺)	Укроп обыкновенный	до 6,0
Морковь желтая	1,0 ⁺	» карликовый	5,0—6,8
» белая (кормовая)	следы	Хрен (корень)	0 ⁺
Огурцы без кожуры	следы	Чеснок	0 ⁺
» с кожурой	до 0,1	Черемша	0 ⁺
Перец сладкий зеленый, свежий	до 2,5	Шпинат свежий	5,0 ⁺
Перец сладкий зеленый, сушеный	7,0—10,0	» высушенный в вакууме	100,0 и выше
Перец красный свежий, » » сушеный	10,0 ⁺ 22,0—32,0	Шпинат карликовый	4,0—6,0
		Щавель	8,0 ⁺
		2. Фрукты и ягоды	
		Абрикосы свежие	2,0
		» сушеные	5,0 ⁺
		» » (компот)	1,0—1,5

¹ По некоторым наблюдениям, удвоение числа хромосом у растения увеличивает содержание в них каротина в среднем на 43%.

² Составлено по данным ВНИВИ, Мацко, Мурри, Попандопуло, Кондратьева, Добрыниной, ЦНТЛ Союзвитаминыпрома, Прозоровской и др. Цифры, отмеченные знаком +, взяты нами из издания НКЗ СССР «Нормы суточного потребления витаминов».

Таблица 12 (продолжение)

Растения и растительные объекты	Содержание каротина	Растения и растительные объекты	Содержание каротина
Ананас	0	Хлопчатник семя	0
Апельсин целый (без кожур)	0,3*	Чечевица	0
Апельсиновый сок	0,2	Ячмень	следы
Бананы	1,0*	4. Растительные масла	
Боярышник	0,25—0,5	Апельсиновое (из кожур)	13,0—17,0
Еруника	0,1*	Кукурузы желтой	0,1
Виноград	следы	Конопляное, льняное, хлопковое, подсолнечное, горчичное	следы
Вишни	0,3*	Облепиховое	80,0—105,0
Голубика	следы*	Пальмовое	80,0—140,0
Гранат	0,4	5. Дикорастущие растения, лекарственные и кормовые травы**	
Грейпфрут	следы	Аистник	7,0
Груши	следы*	Анютины глазки	7,5
Ежевика	0,3*	Аконит	8,3
Земляника лесная	0,3—0,5	Ееладонна	11,1
Изюм	до 0,1	Еелена черная	6,4
Инжир	0,3	Береза, листья	8,0—12,0
Ирга	1,0	Болиголов	11,7
Клюква	0*	Борщевик листья	3,0*
Крыжовник	1,1*	Еудра плющевидная	8,2
Лимон	0,4*	Вероника	9,0—11,5
Лимонный сок	следы	Вико-овсяная смесь (пастбище)	2,9
Малина	0,3*	Вьюнок полевой	6,8
Мандарины	0,6*	Герань луговая	14,3
Облепиха (торговый продукт)	8,0*	Горицвет весенний	2,5*
Рябина свежая	8,0*	Горошек гагачий, листья	11,2
» сушеная (мука)	до 40,0*	Гречиха птичья	10,0*
Сливы	0,1*	Дурман	8,0—9,5
Смородина белая	0*	Жабрей	10,9
» черная	0,7*	Живучка ползучая	5,2
» красная	следы	Зверобой	13,0—13,6
Черника	следы*	Зябра	8,8
Чернослив сухой	1,0—3,0	Злаковое разнотравье в цвету	7,4
Шиповник свежий	0,7—2,0	Золотая розга	9,6
» высушенный	5,0*	Иссоп лекарственный	7,3
Яблоки разные	0,1*	Калужница болотная	5,2
3. Зерновые продукты			
Кукуруза желтая	0,3*		
Овес	0		
Просо	следы		
Пшеница, цельное зерно	0		
» зародыши	0,6*		
Соя желтая	0,5*		

* По сообщению Шмука

** Данные по содержанию каротина в лекарственных растениях заимствованы у Рябовой (30).

Таблица 12 (продолжение)

Растения и растительные объекты	Содержание каротина	Растения и растительные объекты	Содержание каротина
Капуста кормовая	2,0	Первоцвет лекарственный, корни	следы
» кормовая silo-сованная	1,0*	Первоцвет, листья	3,0*
Картофельная ботва	2,9	Подорожник большой	5,4
» ботва silo-сованная	2,2	» ланцетолистный	4,3
Кирказон	9,3	Подорожник, средний	4,0
Кислица	15,0*	Подсолнечник до цветения	2,0
Клевер красный, цветы	5,8	Подсолнечник силос	1,2
Клевер красный, все растение в цвету	10,0*	Польня белая	3,7
Ковыль степной	0,2	Просвирник лесной	12,8
Конопля, листья	13,1—16,0	Пшеница, всходы	7,9
Коровяк черный	5,0	» (сушка при 100°)	4,8
Крапива глухая	14,5	Пырей	6,5
» двудомная	10,0*	Ромашка аптечная	0,9
» жгучая	10,0	Сапропели	10,0—25,0
Кровохлебка	10,2	Сено клеверное	2,3
Кукуруза, солома	до 0,9	» вико-овсяное	1,4
Кульбаба осенняя	6,3	» злаковое	2,3
Лаванда	5,8	» злаковое разнотравье	5,9
Лобелия	9,0	Сено горное луговое	1,1—5,8
Ломонос	6,9	Сныть обыкновенная	8,0*
Лопух, листья	10,1	Солянки	0,1—0,5
Лютик едкий, листья	7,4—12,0	Сушенца	6,0
Люцерна желтая, листья	12,7—18,0	Татарник	7,1
» желтая в цвету	13,1	Тимиан обыкновенный	4,2
» синяя, листья	10,0	Тимофеевка	5,0
Мак посевной	0,2	Типчак	2,0
Мальва круглолистная	до 10,0	Тысячелистник	12,0
Мать-душистая	2,0	Хвощ лесной	8,3
Мать-мачеха, листья	5,8	» полевой	7,0
Медовик	9,5	Хмель	0
Мята, разные виды	5,4—12,1	Хвоя ели	5,0*
Мятлик луговой	0,9—6,0	» кедр	4,0—8,0
Наперстянка красная	5,6	» сосны	5,0*
Ноготки (календула)	8,5	Чернобыльник	11,3
Овес, молодые всходы	5,7	Чистотел	5,0
Одуванчик, листья	6,1—9,5	Шалфей аптечный	6,9
Осот розовый, листья	5,3	Щавель конский	8,1
Очиток острый	2,0	Язвенник обыкновенный	5,1
Паслен сладко-горький	8,5—8,9		

В приведенных данных обращает на себя внимание высокое содержание каротина в облепихе. Масло из облепихи является естественным концентратом каротина и приближается по содержанию его к пальмовому маслу, широко применяемому как сырье для получения промышленных препаратов и концентратов каротина. Проведенное нами предварительное исследование масла из

ягод облепихи показало отличие его действия при лечении ожогов и поражений слизистых оболочек.

Облепиха—весьма ценное и легко размножаемое растение. Ее широкому использованию препятствует трудность сбора плодов и ограниченный ареал ее распространения. Посадка кустов облепихи по краям дорог, шоссе и на пустырях и создание плантаций облепихи, как это было рекомендовано 3 Всесоюзной конференцией по витаминам в 1944 г., даст в наши руки обильное количество сырья для витаминной промышленности. В этом направлении уже проводятся эффективные мероприятия.

В качестве источника каротина заслуживают внимания люцерна и крапива; они могут быть рекомендованы не только для целей витаминизации, но и для использования их *per se* в качестве дополнения к обычному пищевому рациону (в зимнее время).

Обращает на себя внимание, что многие лекарственные травы, издавна применяемые в народной медицине для заживления ран (листья подорожника, кислица, глухая крапива) в качестве кровоостанавливающих (тысячелистник, лопух, жгучая крапива) и т. п., являются хорошими источниками каротина.

ВИТАМИН А В ТЕЛЕ ЖИВОТНОГО И ЧЕЛОВЕКА И ЕГО РОЛЬ В ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ

Витамин А оказывает существенное влияние на рост молодых животных. Явления А-авитаминоза прежде всего сказываются в похудании животных и в остановке роста. Вторым таким же постоянным признаком авитаминоза у животных является ксерофтальмия. При этом конъюнктивы больных крыс—сухие и покрасневшие, на них легко развиваются воспалительные и язвенные процессы (кератомалация)¹. На быстроту развития ксерофтальмии несомненно влияет предшествующий опыту пищевой режим, а следовательно, наличие некоторого запаса витамина в печени животного. Так, молодые крысы, рожденные от авитаминозной самки, гораздо быстрее дают явления ксерофтальмии, по сравнению с потомством от здоровых родителей. Исследование печени кур, погибших от А-авитаминоза, показывает, что витамин А очень стойко (до 15—20 %) удерживается в печени даже гиповитаминозных животных. Бессонов (31), нашел, что печенью крыс, погибших от А-авитаминоза, можно излечивать крыс, страдающих экспериментальной ксерофтальмией.

В условиях нормального питания и снабжения витамином А приблизительно до 85—90 % всего витамина откладывается в виде некоторого резерва в печени и лишь 10—15 % его распределяется по другим органам и тканям². Благодаря тому, что организм животного способен создавать депо витамина А, животные легче переносят

¹ Весьма часто это сопровождается появлением кератозов на бедрах, плечах и предплечье.

² С возрастом животного увеличивается способность к отложению в печени витамина.

его недостаток в рационе. Для накопления организмом витамина А в первую очередь имеет значение пищевой режим: в зависимости от корма основные резервы витамина А в печени будут соответственно больше или меньше. Наибольшие запасы витамина А находятся в печени рыб¹, как это видно из табл. 13.

Таблица 13

Содержание витамина А в рыбьих печеночных жирах (в мг%)

Название рыбы	Содержание витамина	Название рыбы	Содержание витамина
Скат	2,5—18,5	Судак	250,0
Треска	6,25—27,5	Плотва	337,0
Зубатка	13,75—50,0	Окунь речной	362,5
Акула	18,75—100,0	Щука	375,0
Ерш	37,5—125,0	Лосось	400,0—1800,0
Осетр	37,5—300,0	Палтус	до 2500,0
Лещ пресноводный	75,0	Тунец	3750,0—4500,0
Окунь мурманский	100,0	Камбала морская	4000,0—10 000,0
Северяга	100,0—127,5	Окунь морской	до 37 500,0

Рыбьи жиры² являются чрезвычайно ценными концентратами витамина А. Еще в 1885 г. Русанов (32а) указал на благоприятное действие рыбьего жира в лечении гемералопии (куриной слепоты). Значительно меньше накапливается его в печени птиц и млекопитающих.

Курица на обычном корме откладывает в печени до 1000 мг% витамина А, на специальном витаминизированном корме—до 6500 мг%; в печени кролика его найдено до 2500 мг%. У морских свинок способность откладывать в печени витамин А варьирует в больших пределах: от 5 до 300 мг%. Эти колебания показывают, что не все морские свинки обладают одинаковой способностью превращать в печени каротин в витамин А³.

Кровь вола содержит от 0,3 до 0,8 мг% витамина А; кровь коровы—до 1,5 мг%; сыворотка быка 0,5 мг%; в сыворотке крольчих обнаруживается уменьшение или даже полное исчезновение витамина А к концу беременности.

Молозиво коров почти вдвое богаче витамином А, чем молоко, которое в свою очередь в первые дни лактации содержит вообще несколько больше витамина А, чем в последующий период. Естественно, что содержание витамина А в молочных про-

¹ В печени рыб накапливаются огромные запасы витамина А, потому что многие мелкие водоросли, содержащие большое количество каротина, идут в пищу рачкам, моллюскам и мелким рыбам, которые в свою очередь пожираются более крупными рыбами.

² В жире колюшки трехиглой наряду с витамином А найдено значительное количество каротина (32).

³ Печень кошек и других плотоядных животных не обладает способностью к превращению каротина в витамин А; вследствие этого кошки нуждаются в поступлении витамина А в готовом виде.

дуктах находится в прямой зависимости от ряда условий (корм, время лактации, время года и пр.). Как правило, усвоению каротина и витамина А и отложению последнего в печени способствует пища, богатая жирами; в отсутствии жира или в случае потребления пищи, бедной жирами, усвояемость каротина резко снижается.

Витамин А из рыбьего жира усваивается почти полностью, в то время как усвояемость каротина, растворенного в хлопковом масле, снижается до 59%, а усвояемость каротина сухих листьев люцерны составляет не более 30—40%. Еще более интересные данные приводит Черкес (33): по его опытам, из вареной моркови на диете, лишенной жира, было усвоено всего 19% каротина, а из сырой моркови только 1%. Это обстоятельство необходимо учитывать при составлении рационов в госпиталях, воинских частях и других предприятиях общественного питания.

Вопросу использования каротина и витамина А из различных источников были посвящены обстоятельные работы многочисленных исследователей. Для ряда пищевых продуктов были установлены следующие коэффициенты использования витамина А и каротина:

Препарат витамина А	97—100%
Печень быка	100
Салат	100
Листья кукурузы	62—67
Шпинат	63—65
Морковь сырая	57—63
» вареная	54—63
Абрикосы	50—58
Томатный сок	52—54
Мука кукурузная	37—39
Люцерна	33—39

Вместе с этим было показано, что полноте использования организмом каротина способствует витамин Е. Чем больше содержится в пище этого витамина, тем меньше потребность организма в каротине.

Поведение витамина А и каротина внутри организма еще не достаточно изучено; повидимому, в организме могут существовать совместно и витамин А, и каротин. К таким выводам приходит, в частности, Балаховский (34), изучавший судьбу каротиноидов в человеческом организме.

Витамин А, поступая в организм, откладывается в печени или, в случае каротина, превращается под влиянием печеночной каротинызы¹ в витамин А. В меньшем количестве он всасывается стенками кишечника и разносится током крови к органам и клеткам организма.

¹ Так как наряду с витамином А₁ существует также витамин А₂ с более удлиненной алифатической цепью и, кроме того, существует апокаротиноли и другие продукты, обладающие А-витаминным действием, то следует полагать, что у различных организмов, повидимому, могут существовать различные каротинызы, обуславливающие разрыв изопреновой цепи каротина то в одном, то в другом месте.

Щитовидная железа наряду с печенью может считаться тем органом, где происходит превращение каротиноидов в витамин А. Капланский и Балаба показали, что йодированный казеин обладает каталитическим действием в отношении превращения каротина в витамин А. Оптимальное значение рН для этой реакции соответствует 7,3. Пятиминутное прогревание растворов йодированного казеина полностью лишает его каталитического свойства; эти свойства имеют аналогию с поведением тиреоглобулина, который, как установили авторы, обуславливает ферментативное превращение каротина в витамин А. В связи с этим возникает возможность предположить, что ферментом, превращающим каротин в витамин А, является тиреоглобулин или аналогичные соединения (35).

Известно, что витамин А участвует в процессе всасывания организмом жира, что, будучи спиртом, он образует эфиры с жирными кислотами, обеспечивая их транспорт к тканям и органам. Так, в печени крыс найден витамин А не в чистом виде, а в виде эфиров с жирными кислотами (пальмитиновой и др.).¹

Таблица 14

Содержание витамина А в животных продуктах (в мг%)

Название продукта	Содержание витамина ²
Желток яичный (корма, богатые витамином А)	15,0
» » » бедные » »	2,5
Яйцо в целом (на 1 яйцо, в мг)	1,3+
Яичный белок	0
Молоко коровье летнее цельное	0,1—0,5
» » зимнее	0,1+
» » сгущенное	1,0—1,3
Молоко коровье сушеное (порошок)	0,5
» женское	0,06—1,5+
Молозиво	10,0—12,0
Сливки	0,6+
Масло сливочное и топленое	1,2+
Пахтанье	следы
Сыры жирные	0,9+
Творог	0
Мышцы рогатого скота, овцы, птицы, свиньи	0,04+
Почки рогатого скота	2,0—2,5
Легкие » »	2,5—4,0
Кровь » »	0,1—0,2
Печень телячья летом	25,0
» » зимой	6,0—7,0
» свиная	12,0+
Говяжий жир (внутренний)	0,5
Свиное сало	0

¹ В разных жирах содержатся различные количества витамина А в виде эфира и в виде алкоголя; например, в печеночных рыбьих жирах витамин А представлен на 98% в виде эфира, в жире акулы—на 100% в виде алкоголя.

² Цифры, отмеченные знаком +, взяты из издания НКЗ СССР «Нормы суточного потребления витаминов».

Название продукта	Содержание витамина
Свиное сало топленое (лярд)	0
Мясо разных рыб	0,01*
Свиное сало (соленых и копченых)	0*
Подкожный жир дельфина	10,0
» » тюленя	10,0
» » усача	0
» » иваси	0,5
Сельди свежие и копченые	следы*
Маргарин	0

Вопросу распределения витамина А в теле животного посвящено мало работ, да и те весьма общего характера. До сих пор не вполне уточнена роль витамина А в организме животного. Известно, например, что он активизирует действие инсулина и способствует повышению запасов гликогена в печени, принимает участие в жировом обмене и т. д. Это свидетельствует о многогранности его действия, и нет сомнения, что дальнейшие исследования в этой области должны дать интересные результаты.

При А-авитаминозе развиваются характерные дегенеративные изменения (гиперкератоз на эпителии пищевода и влагалища) и, кроме того, происходит нарушение зрения, выражающееся у людей в так называемой куриной слепоте (гемералопия). При этом нарушается восстановление зрительного пурпура в сетчатой оболочке глаза. По данным Плетнева (36), цыплята адаптируются на источник света; при А-авитаминозе ориентация у них теряется, и чем глубже авитаминоз, тем наблюдается более сильное расстройство ориентации на свет.

Витамин А и каротин, притекая в сетчатку глаза, вступают в сочетание с белком, образуя лабильную молекулу фермента—зрительный пурпур (родопсин). Родопсин под влиянием изменения в освещении превращается в зрительный желтый фермент (ретинен), менее чувствительный к яркому свету¹. Превращение родопсина в ретинен происходит на свету; обратный процесс, восстановление родопсина, происходит в темноте. Этим достигается замечательная способность глаза приспособляться к условиям освещения. При недостатке витамина А этот процесс нарушается в тем большей степени, чем более длительной была стадия А-витаминного голодания. (На основании этого можно установить степень А-авитаминоза у человека, пользуясь специально сконструированным прибором—адаптометром).

¹ В отличие от этого, у пресноводных рыб образуется порфиросин, являющийся производным витамина А₂.

Можно полагать, что превращение каротино (или витамино)-белкового комплекса—родопсина—в ретинен является фотохимической реакцией окисления кофермента (каротина, витамина А₁ или А₂—у пресноводных рыб), так как в продуктах распада ретинена в глазу обнаруживается ксантофилл.

Как указывает Рачевский (37), патогенез ряда глазных заболеваний имеет своей основой витаминную недостаточность.

Описывая значение витамина А для организма, Балаховский (38) отмечает, что витамин А, кроме влияния на рост, предохранения от ксерофтальмии и проникновения в организм инфекций, катализирует гликолитические окислительные и дыхательные процессы, способствует кроветворению и повышает резистентность эритроцитов. Надо полагать, что центральная нервная система весьма активно влияет на уровень витамина А в крови; в свою очередь витамин А обладает способностью возбуждать блуждающий нерв. Введением в желудок каротина даже при ахилиях удается получить секрецию желудочного сока. Витамин А стимулирует тромбоцитопоз и играет чрезвычайно большую роль в регенераторных процессах организма. Молодые животные, получающие много витамина А, обнаруживают в своем организме большие количества пуриновых оснований, требующихся для синтеза веществ клеточного ядра.

Согласно накопленному обширному клиническому материалу, мы вправе сделать вывод, что витамин А благоприятствует регенерации крови, способствует нормальному костеобразованию, регулирует деятельность желудочно-кишечного тракта, оказывает влияние на функцию щитовидной железы (является ее антагонистом) и коркового слоя надпочечников. Рохлина (39) сообщает, что как в случае А-авитаминоза, так и при А-гиповитаминозе в первую очередь на изменение уровня витамина А реагирует щитовидная железа. Кроме того, витамин А оказывает важное влияние на процессы размножения¹: при его недостатке происходит нарушение овариального цикла, нарушается течение беременности, развитие плода, деятельность молочных желез, а также нормальный рост потомства. Как указывает Шмидт, витамин А является незаменимым биокатализатором, не только стимулирующим биосинтез некоторых гормонов, но и обуславливающим их функцию (например, гормоны половых желез)² (40).

Очевидно, что недостаток витамина А у сельскохозяйственных животных предрасполагает к инфекционным абортам в связи с общим падением иммунологических свойств организма (41). Витамин А, как это явствует из приведенного, по своей важной роли в биологии размножения может быть признан «вторым витамином размножения», или вторым антистерильным фактором (42).

¹ Витамин А встречается в больших количествах в яичниках, плаценте и передней доли гипофиза.

² Прекращение секреции желез является характерным для А-авитаминоза симптомом.

Опытами Маргинсон и Никольского (43) было показано, что инактивирующее аргиназу действие каротина и витамина А проявляется только в анаэробных условиях. В отсутствие O_2 каротин (и витамин А) окисляет сульфгидрильные соединения SH, являющиеся активаторами аргиназы, в $-S=S-$. Очевидно, витамин А и его провитамин являются типичными водородными акцепторами, выполняющими в организме функции окисления—восстановления в широких пределах¹. Возможно, что гидролитические функции липазы подавляются витамином, как и кислородом тканей, и реакция в данном случае смещается в сторону синтеза жира (44).

По вопросу о так называемом антагонизме между витамином А и D и между витамином А и С накоплена довольно обширная, но противоречивая литература (45). При анализе ее можно, однако, сделать следующие выводы: каротин (витамин А) слегка тормозит развитие гипервитаминоза D у крыс, что является частным случаем «антитоксического действия» витамина А, а в присутствии витамина С снижается токсический эффект введения в организм сверхмассивных доз каротина². Следовательно, вопрос о взаимодействии витаминов нужно рассматривать в плоскости синергизма их действия.

Иногда удавалось вызывать у животных экспериментальный А-гипервитаминоз большими дозами каротина; при этом характерно, что проявления гипервитаминоза в общем совпадали с теми явлениями, которые были нами отмечены для авитаминоза: исхудание, потеря в весе, остановка роста молодых животных и ряд других расстройств, как, например, поносы, ломкость костей, резкая пигментация кожи, выпадение шерсти, нарушение деятельности эндокринной системы и т. д.

Случаи А-гипервитаминоза у человека довольно редки: при избыточном потреблении каротина некоторая часть его используется организмом и в основном откладывается в печени, образуя соответствующее депо, после заполнения которого избыток неусвоенного каротина выводится из организма с фекальными массами, а иногда выделяется и кожей (потовыми и сальными железами), обуславливая резкую пигментацию кожи (так называемые «ноги полотера»). Повидимому, для получения у человека гипервитаминозного эффекта требуются такие большие дозы каротина, поступление которых возможно лишь при систематическом и неумеренном потреблении пищи, богатой каротином.

Запасы витамина А, откладывающиеся в печени и других органах, относительно быстро расходуются в процессе обмена веществ и тем быстрее исчезают, чем энергичнее протекают в организме окислительно-восстановительные процессы. Балаховский и ряд

¹ Усиление окислительных процессов в организме (например, при тяжелой мышечной нагрузке) в свою очередь увеличивает потребление витамина А, который должен поступить в организм в достаточном количестве с пищей.

² Дозой, могущей привести к смерти крысу, является около 200 000 γ витамина А (для животного весом 100—150 г).

других авторов указывают, что в теле человека и животных встречается как витамин А, так и каротиноиды; их роль, повидимому, одна и та же, и ряд заболеваний, связанных с А-авитаминозом, с успехом излечивается препаратами β-каротина и близких к нему веществ.

В норме кровь человека содержит 0,01—0,07 мг% каротина; это количество значительно колеблется от разных условий (богатство пищи витамином А, состояние здоровья, физическая нагрузка и т. п.). Рачевский, на основании своих долготлетних наблюдений, считает, что возраст человека не оказывает значительного влияния на содержание каротина в крови, хотя по мере старения организма имеется некоторая тенденция к падению его количества. Колебания в содержании витамина А в крови при заболеваниях зависит от характера и тяжести заболевания. Многие желудочно-кишечные и кожные заболевания, дерматиты, экземы и чешуйчатый лишай сопровождаются понижением содержания витамина А. Возможно, что пораженная ткань мобилизует запасы витамина А для восстановления нормальных функций эпителия. Обследовав большое количество больных, Рачевский приходит к выводу, что факторы, повышающие обмен, как, например, инфекция, сопровождаемая высокой температурой, физическое и умственное напряжение, снижают содержание каротина в крови.

Из всех патологических состояний, по наблюдениям Чистякова (46), максимальная концентрация каротина в крови отмечается при диабете, наименьшая—при базедовой болезни. В первом случае накопление каротина протекает в некоторой связи с накоплением холестерина. Автор приходит к ранее высказанному нами положению, что каротинемия при диабете не может быть объяснена экзогенным фактором повышенного поступления каротиноидов с пищей, но является следствием нарушенного обмена веществ.

В печени человека запасы витамина А резко истощаются при хронических нефритах и других почечных заболеваниях, и наоборот, наблюдается резкое их увеличение при заболеваниях некоторых эндокринных органов.

Из явлений А-авитаминоза, как указано, важным признаком является ксерофтальмия и кератомалация. Исследования этого заболевания показали, что существенным моментом его развития является прекращение выделения слез (содержащих сильное бактерицидное вещество, лизоцим), увлажняющих роговицу и удаляющих с ее поверхности загрязнения и микроорганизмы. Быстроте течения заболевания на этой стадии способствует недостаточное поступление в организм фосфатов.

Н \bar{c} развитие болезни, как указывает Лондон (47), влияет возраст; в то время как у детей уже на 30—40-й день кормления пищей, лишенной витамина А, явления на глазах принимают характер ясно выраженной ксерофтальмии, у взрослых это протекает мягче, а иногда болезнь и вовсе отсутствует.

При А-авитаминозе поражается не отдельный орган или участок процесса обмена веществ, заболевание это имеет более общий харак-

тер; в него вовлекаются почти все ткани и органы. При А-авитаминозе страдают, кроме того, железы пищеварительного тракта—слюнные, кишечные, печень. Кишечный эпителий и печеночные клетки принимают явно патологический характер, вследствие чего развивается анемия, исчезают бляшки Биццоро. При ксерофтальмии поражается не только роговица глаза, но и сетчатка; в ней утрачивается регенераторная способность зрительного пурпура, что приводит к гемералопии.

При А-авитаминозе взрослые люди особенно предрасположены к различного рода легочным заболеваниям (туберкулезу, крупозному воспалению легких). А-авитаминоз не часто встречается у взрослого человека, ибо его организм успел накопить некоторый запас этого витамина, расходуемый по мере надобности, но случаи частичного недостатка витамина А (гиповитаминоза) довольно распространены. Они представляют особый интерес в связи с тем, что витамину А приписывается и пластическая и гуморальная роль в организме, и мы вправе ожидать самых разнообразных нарушений жизненных функций организма при недостаточном потреблении витамина А.¹



Рис. 3. А-авитаминоз у ребенка

А-витаминный обмен недостаточно изучен, однако можно считать установленным, что витамин А обеспечивает рост и нормальное развитие плода. Во время беременности витамин содержится в крови матери лишь в виде следов, накапливаясь в плаценте, печени (наряду с каротином) и отчасти выделяясь из организма. Плод поглощает витамин А и каротин, поэтому беременные женщины часто бывают предрасположены к гемералопии. Витамин А, как уже указывалось, совершенно необходим для нормального функционирования половых органов; при его отсутствии наблюдается кольпокератоз (стойкое ороговение слизистой оболочки влагалища). Ряд аномалий в половой сфере (нарушение овуляции), слабость рожденного потомства, послеродовые осложнения, развитие кишечных, легочных и других заболеваний у грудных детей и т. д.—все это связывается с недостатком витамина А, регулирующего регенеративные функции организма (49).

А-гиповитаминозы могут легко возникнуть при хронических тяжелых гастроэнтеритах, закупорке желчного протока, дисфункции поджелудочной железы и пр., т. е. при всех заболеваниях, связанных с нарушением жирового обмена, следовательно, и нормальным всасыванием витамина А (50).

¹ Диагностику А-гиповитаминоза Маршалкович предлагает основывать на определении адаптации зрения и уровня витамина А и каротина в крови (48).

Оптимальная суточная потребность человека в витамине А определяется примерно в 2—4 мг витамина А. Потребность у беременных повышается. Лепский (51) считает, что потребность ребенка в витамине выражается в 1 мг в сутки¹.

Шмидт, исходя из того, что достаточное снабжение организма витамином А благоприятно сказывается на зрении, считает, что летчики, танкисты, снайперы и представители других профессий, труд которых требует остроты зрения, должны снабжаться достаточным количеством этого витамина.

Витамин А регулирует регенерацию легочного эпителия; поэтому крайне важно, чтобы трудящиеся, профессия которых обуславливает хроническую травму слизистых оболочек дыхательных путей (мукомольная, каменноугольная промышленность и др.), получали бы повышенную норму витамина А.

Витамин А и каротин лишь в патологических случаях выводятся мочей: его находят в моче при базедовой болезни, циррозах печени, диабете, раке печени, саркоме и туберкулезе.

Витамин А обладает ясно выраженной способностью увеличивать стойкость организма к инфекциям, в особенности к тем из них, которые не вызывают в организме специфического иммунитета. Эта зависимость неспецифического иммунитета от нормального баланса витамина А была прослежена Голяницким на обширном экспериментальном материале в отношении самых разнообразных животных (кур, кроликов, свиней, телят). Значение витамина А, как важного фактора неспецифического иммунитета в отношении туберкулеза, хорошо иллюстрируется общеизвестными опытами, установившими целебное действие рыбьего жира при туберкулезе. Изучение сущности неспецифического иммунитета на основании ряда клинических и экспериментальных данных привело к выводу, что это явление, в котором витамину А принадлежит главнейшая роль, является выражением нормального хода окислительно-восстановительных процессов в организме. Восстановление нормального витаминного баланса является одним из краеугольных камней интегральной терапии инфекционных заболеваний. Еще в 1929 г., насыщая больных, подлежащих оперативному вмешательству, витаминами А, С и D, Голяницкий имел возможность произвести свыше 900 операций у людей без единой послеоперационной инфекции (52). В 1936 г. Гизель (53) пришел к аналогичному же выводу и указал, что витамины А и С имеют громадное значение при операциях как средство, предохраняющее от сепсиса и послеоперационных осложнений. На основании своих и других опытов Шиловцев (54) проводит регулярное насыщение витаминами А и С хирургических больных, подлежащих оперированию.

¹ Считая, что 1 инт. ед. витамина А соответствует приблизительно 0,3 γ витамина А или 0,6 γ β-каротина, указанная потребность человека колеблется в пределах 3000—8000 инт. ед. По данным английской фармакопейной комиссии (1938), потребность в витамине А для детей разного возраста выражается в 6000—8000, а для взрослых в 2000—8000 инт. ед. Без ущерба для организма можно вводить парентерально до 4000 инт. ед. витамина А.

Отметим, что это положение разделяется еще не всеми исследователями. Так, Смит и Ланге (55) не получили положительного эффекта, применяя рыбий жир при экспериментальном туберкулезе морских свинок. Однако внимательное изучение их опытов показывает, что у экспериментальных животных не было обеспечено ни полноценное питание, ни условия, благоприятствующие регенерации крови. Финкельштейн, исследовавший влияние авитаминоза А на туберкулезную инфекцию, в опытах, обставленных со всей тщательностью и точностью, установил, что смерть после туберкулезной инфекции наступала втрое и четверо быстрее и чаще у А-авитаминозных животных, чем у тех, которые имели в своем рационе достаточное количество витамина.

Каротиноиды иногда поступают в организм в большом количестве и не вызывают явлений гипервитаминоза; это объясняется сложностью условий всасывания их из кишечника. На скорость и полноту всасывания каротина влияет характер жира, с которым вводится каротин: при даче каротина, например, в жире, содержащем много ненасыщенных жирных кислот, он плохо всасывается, и в фекалиях можно обнаружить иногда очень большое его количество, но это не может служить указанием на наличие гипервитаминоза. То же может случиться и при чрезмерном содержании жира в пище, когда последний не успевает полностью омылиться и всосаться кишечником.

Дача рыбьего жира или других содержащих витамин А препаратов является одним из важных компонентов терапии хронических инфекций, костно-суставного туберкулеза, остеомиелита и гнойных инфекционных процессов. Доза витамина А при этом должна быть достаточно высокой, как высказываются об этом Певзнер (56) и другие исследователи. Однако без одновременного обеспечения организма другими компонентами питания и витаминами и без достаточного контроля за состоянием красной крови, уровнем кальция и резервной щелочности крови применение повышенной дозы витамина А может привести к обратным явлениям — к состоянию гипервитаминоза и появлению витаминных кахексий.

Лечение витамином А ахилии и анемии уже вошло в практику. При заболеваниях щитовидной железы, образовании печеночных камней, расстройствах фосфорного обмена, пигментном ретините (57) и многих других болезнях применение витамина А оправдало себя как в отдельных научных экспериментах, так и в обширной терапевтической практике.

Наружное применение витамина А при лечении плохо регенерирующих ран, например после ожогов, а также хронических процессов, заслуживает самого широкого внимания¹.

¹ Морковь издавна известна в народной медицине как отличное средство для лечения ран: «морковь снаружи прикладывается к ранам и даже раку». Мы знаем, кроме того, что народная медицина издавна использовала многие каротинсодержащие плоды и травы для лечения различных поражений кожи и кровотечений (58).

На большом клиническом материале Голяницкий и Розенталь показали, что при прочих равных условиях лечения витамином А в виде каротиновых препаратов или рыбьего жира, обогащенного каротином, всегда давал весьма положительные результаты. Мнение некоторых исследователей, что в данном случае благотворное действие позволительно приписать самому рыбьему жиру, опровергается недавними работами советских клиницистов, которые показали, что лечебный эффект (укорочение срока регенерации эпителия и рубцевания в 1,5—2 раза) (59) дает рыбий жир, только содержащий витамин А¹.

Балаховский глубоко изучил влияние каротина на местные патологические процессы. Так как витамины действуют как катализаторы протекающих в клетках биохимических процессов, то расстройства, наблюдаемые в отдельных клетках, можно с известной вероятностью приписать тому, что в них в первую очередь проявляется «витаминная недостаточность». Исходя из предположения, что при воспалении, регенерации и инфекции в патологически измененных тканях имеется такая недостаточность, Балаховский стал применять местно различные препараты витамина А при заболеваниях верхних дыхательных путей и глаз, при обморожениях, ожогах и язвенных и катаральных стоматитах. В этих случаях он отмечал чрезвычайно быструю эпителизацию и благотворное влияние на ослабление боли и инфекции. Автор объясняет благотворный эффект действия каротина в этих случаях тем, что с ним вносятся в организм недостающие тканям «регуляторы» (60—62). Выводы Балаховского были проверены на большом материале другими исследователями, которые во всех случаях лечения ожогов препаратами каротина получили такие же удовлетворительные результаты².

Каротин, применяемый местно, оказывается вполне активным даже в тех случаях, когда содержание его в крови находится в пределах нормы (бесспорным является болеутоляющее свойство каротина). Субъективное улучшение задолго предшествует объективному. Это наводит на мысль, что каротин обладает антиоксидантным действием. С теоретической точки зрения это вполне допустимо, если вспомнить, что каротин является катализатором многих окислительных процессов, а ряд токсинов, как известно, чувствителен к окислению. Черкес тоже указывает, что в присутствии витамина А повышается устойчивость организма к некоторым ядам и токсинам (63).

В заключение отметим, что в последнее время практикуется применение витамина А при гриппе и других инфекциях в количестве до 100 000 и. е. в день.

¹ Сам по себе рыбий жир не способствует регенерации эпителия: благотворное его действие на течение раневого процесса отчасти может быть объяснено тем, что он тормозит развитие микроорганизмов.

² Интересно, однако, отметить, что водно-коллоидные растворы каротина не предохраняют крыс от А-авитаминоза. Это, конечно, объясняется затруднительностью усвоения организмом каротина из водного раствора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кун и Moris, Ber. Chem. Ges. 70, 583, 1937.
2. Вульфсон, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
3. Willstaetter u. Mieg, Lieb. Ann., 355, 1, 1907. Цвет, Хромофиллы в растительном и животном царстве, Варшава, 1910; Любименко и Бриллиант, Окраска растений, СПб, 1914; Каррер и Верни, 25 лет изучения вит. А, изд. ВИЭМ, 1934; Zeschmeister, Monographien, Berlin, J. Springer, 1934; Эйлер, Усп. соврем. биологии, 2 (1—2), 129, 1933; Кун, Усп. химии, 5 (2), 1935; Вильштедт, Каротиноиды и красящие вещества, ОНТИ, 1926; Цвет, хроматографический анализ, изд. АН СССР, 1946.
4. Балаховский и Розенберг, Бюлл. exper. биол. и мед., 5, 5—6, 1938.
5. Рачевский, Каротин и каротиноterapia, изд. Ростов-Дон, 1938.
6. Мацко, Вопросы питания, 1, 1938.
7. Вечер, Биохимия 1, 567, 1936.
8. Дронов, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
9. Инструкция по применению витаминов в эвакогоспиталях. УГ НКЗдрава СССР, 1942.
10. Линдквист-Рысакова, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Витамины А и каротин, Пищепромиздат, 1938.
11. Вульфсон, Химия витамина А, Усп. хим., 13, 6; 457, 1944.
12. Seitz, Darstellung v. Vitaminpräparaten, Leipzig, 1939.
13. Розанова, Витамины в теории и практике, Пищепромиздат, 1941.
14. Колчев, Винокуров и Бергауз, Фарм. 5, 22, 1944.
15. Балаба, Физиол. журнал СССР, 4, 318, 1940.
16. Розанова, Получение концентратов вит. А. Дисс. 1939, ВНИВИ.
17. Ледерер и Розанова, Биохимия, 2, 203, 1937.
18. Ledeger et Verrier, Bull. Soc. Chim. Biol., 21, 5, 1939.
19. Carr a. Price, Biochem. J. 20, 4, 1926.
20. Линдквист-Рысакова, Витамины в теории и практике, Пищепромиздат, 1941.
21. Розенберг, Бюлл. exper. биол. и мед. 5, 4, 1938.
22. Мурри, Биохимия 2, 6, 1937.
23. Михин и Тупикова, Биохимия, 5, 4—5, 373, 1941.
24. Sobel a. Werbin, J. Biol. Chem. 159, 3; 681, 1945.
25. Вильямс, Доклады ТСХА 4, 106, 1946.
26. Букин и Мурри, Химические методы определения витаминов С и А, ВАСХНИЛ, 1935; Шиврина, Проблемы витаминов, 1935.
27. Иванов и Смирнов, Проблема витаминов, Лгр., 1934; Иванов, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Журавлев, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Кирсапова, Биохимия 1, 4, 1936; 3, 2, 1938.
28. Рубин, Сб. «Синтез органических веществ и роль витаминов в растении». Изд. АН СССР, 1940.
29. Бородина, Оксигеназные свойства каротина. Дис. Ин-та биохимии АН СССР; Романов, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
30. Рябова, Сборник работ по биохимии лекарственных растений, ВИЛАР, т. VII, ОГИЗ, 1942.
31. Бессонов, Витамины, ОГИЗ, 1931; Scherman a. Smith, The Vitamins, New-York, 1931.
32. Гербильский, Баранов, Медведовский, Манойлов, Тез. докл. III. Всес. витам. конф. Изд. АН СССР, 1944.
- 32a. Русанов, Врач, 6, 16, 253, 1885.
33. Черкес. Цит. Кротков, Военно-санитарное дело, 11—12, 1942.
34. Балаховский, Цитир. Кушко и Мамонтов, Клинич. медицина, 4—5, 1938.
35. Капланский и Балаба, Биохимия 11, 4; 327, 1946.
33. Плетнев, Физиологический журнал СССР, 22, 6, 1937.
37. Рачевский, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
38. Балаховский, ДАН 1, 1934; Клиническая медицина 3, 392, 1935.
39. Рохлина, Соколова и Тереза, Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
40. Шмидт, Тез. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1944.
41. Шуб, Витамины при беременности и лактации, ВНИВИ, Лгр., 1940; Солун. Проблемы животноводства 4, 1936; Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Солун и Соседов. Советская ветеринария 8—9, 34, 1938.
42. Рохлина, Бюлл. exper. биол. и мед. 3, 3, 1936; 4, 4, 1937; Проблемы эндокринологии, 1, 1939; Рохлина и Соколова, Бюлл. exper. биол. и мед. 4, 3, 1937.
43. Мартинсон и Никольский, Биохимия 3, 6, 1938.
44. Мартинсон и Фетисенко, Биохимия 3, 6, 1938.
45. Euler u. Malmberg, Z. physiol. Chem., 132, 1—2, 1935; Lutze, Kl. Wschr. 3, 1937; Мацко, Тр. Всес. конференц. по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Соляникова, Тезисы докладов и сообщений на Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1939.
46. Чистяков, Тезисы докладов и сообщений на Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1939.
47. Лондон, Минеральный обмен и витамины, Сельхозгиз, 1936.
48. Маршалкович, Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
49. Бакшт, Тр. Всес. конференц. по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
50. Рысс, Тезисы докладов и сообщений на Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1939.
51. Лепский и Лепская, Авитаминозы и гиповитаминозы. Татгосиздат, 1944.
52. Голяницкий, Проблемы туберкулеза, 11, 1936.
53. Gissel, Z. Chirurg. 44, 2634, 1936.
54. Шиловцев, Тр. Всес. конференц. по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
55. Smith u. Lange. Цитир. Голяницкий, Проблемы туберкулеза, 11, 1936.
56. Певзнер, Тр. Всес. конференц. по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Ефремов, Авитаминозы, Медгиз, 1944.
57. Черкес, Бюлл. exper. биол. и мед. 6, 4, 1938; Клиническая медицина, 9, 1103, 1930.
58. Анненков, Ботанический словарь, СПб, 1878.
59. Цитир. Фридман. Клиническая медицина, 6, 1933.
60. Балаховский и Рачевский, Бюлл. exper. биол. и мед. 5, 5—6, 1938.
61. Ratchewsky, Z. Vitaminforsch. 6, 2, 1937.
62. Балаховский, Клиническая медицина 11, 1935; Balachowskiy, Presse med. 42, 1407, 1934; Balachowskiy et Ratchewski, Bull. Soc. Chim. Biol. 16, 2, 1934; Balachowskiy et Solianikova, Bull. Soc. Chim. Biol., 16, 1, 1934.
63. Черкес, Вопросы питания 1, 1935.
64. Isler, Huber, Ronco u. Koffer, Helv. chim. acta, 30, C, 1947.

ГЛАВА II

ВИТАМИН В₁ (АНЕВРИН ИЛИ ТИАМИН)

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ

Изучение витамина В₁ имело большое значение в истории знаний о витаминах, систематическое исследование которых началось с изучения антибери-берийного фактора (1).

Заболевание бери-бери имеет распространение по преимуществу в тропических странах, где население употребляет в пищу в основном полированный рис. Название болезни происходит от индийского слова «berī», означающего «ножные оковы». Походка больных бери-бери, действительно, напоминает походку закованного в кандалы, а в симптомокомплексе В₁-авитаминоза нарушение движений составляет весьма существенную часть. (Под названием «как-ке» — болезнь ног — это заболевание было известно восточным авторам еще во II веке нашей эры.)

В 1877 г., на основании статистических данных, заболевание бери-бери было поставлено в связь с питанием полированным рисом. В дальнейшем удалось доказать, что «polyneuritis gallinarum» развивается у кур, питающихся белым полированным рисом. На основе этого ученые пришли к заключению, что указанная болезнь у людей развивается на почве однообразного питания очищенным рисом.

Значения этих сообщений нельзя было недооценивать, поэтому Функ (2) попытался выделить из рисовых отрубей предохраняющие от бери-бери вещества, удаляемые, по его мнению, при полировке рисового зерна. В результате кропотливой и длительной работы ему удалось получить несколько миллиграммов кристаллов, которые после многократной очистки в ничтожной дозе излечивали голубей от бери-бери.

Функ в полученных им препаратах нашел азот в амидной форме; предполагая, что полученное им вещество является амином, он его назвал «витамином», подчеркнув этим его важное значение для жизни человека и животных.¹

Дальнейшие исследования препаратов, получаемых разными авторами, показали, что, наряду со свойствами излечивать от бери-бери, витамин обладает еще свойством способствовать росту молодых животных.

Вскоре другими работами было показано, что рисовые отруби и дрожжи, обладавшие указанными свойствами, после прогревания

при высокой температуре утрачивают способность излечивать бери-бери, хотя их влияние на рост остается более или менее неизменным.

Это привело к мысли, что в рисовых отрубях и дрожжах содержится не только антиневритический витамин В, а ему сопутствуют и другие факторы, происхождение которых неизвестно. Много позднее в опытах на животных было показано, что свойство предохранять от бери-бери и способствовать росту животного принадлежат двум совершенно различным витаминам.

К этому же времени Гольдбергер (3) опубликовал работы, в которых показал, что распространенное в местностях, где население по преимуществу питается кукурузой, заболевание пеллагрой¹ является результатом недостаточности витамина В, но не того, который был к тому времени известен, а нового термоустойчивого фактора, названного фактором РР (Preventive pellagrae — предохраняющим от пеллагры). Таким образом, было доказано существование в дрожжах и рисовых отрубях по крайней мере двух витаминов В: антиневритического и антипеллагрического. Эти витамины соответственно были названы В₁ и В₂.

В результате длительных исследований по изучению биологически активных веществ дрожжей было установлено, что наряду с витаминами В₁ и В₂ в дрожжах содержатся вещества, обладающие витаминным действием (т. е. проявляют себя в качестве биокатализаторов), находящиеся между собой в довольно постоянных, но сложных отношениях. Все эти вещества были объединены под названием «витамины В-комплекса».

Так был найден фактор роста голубей, неустойчивый к действию щелочей — витамин В₃; фактор, способствующий росту крыс, но не оказывавший этого действия на голубя — витамин В₄; устойчивый к действию щелочи и высокой температуры фактор роста голубей — витамин В₅; витамин W; витамин U; витамин В_w — так называемый «фильтратный фактор», витамин В₆ и ряд других витаминов, рассмотрению которых посвящены соответствующие разделы книги.

Таким образом, изучение витамина В₁ привело к выявлению новых витаминов и к блестящему подтверждению прежнего предположения Лунина о существовании в природе веществ, катализирующих многие процессы в организме.

Систематическое изучение витамина В₁ началось с тех пор, как удалось адсорбировать его на фуллеровой земле. Это позволило уточнить методики получения высокоактивных чистых препаратов и установить для него брутто-формулу С₆Н₁₀Н₂О. Позже в кристаллических препаратах витамина была обнаружена сера.

На основе накопленных данных для хлоргидрата витамина была предложена формула: С₁₂Н₁₆ОН₄С · 2Сl.

При окислении этого соединения получили новое соединение — т и о х р о м, имевшее большое значение для дальнейшего исследования витамина.

¹ Это вещество в 1916 г. было названо витамином В.

¹ От итальянского pelle agra — шершавая кожа.

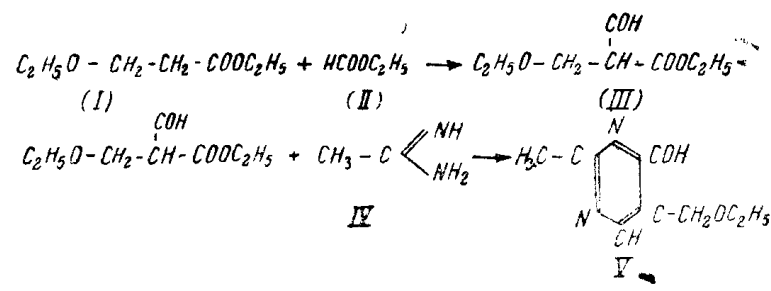
Среди продуктов разрушения витамина В₁ постоянно находились вещества, обладавшие интенсивной голубой флуоресценцией. Продукты при этом образующиеся оказались совершенно идентичными тиохрому, полученному путем окисления молекулы витамина В₁ in vitro.

Таким образом была установлена природа самого витамина В₁ и изучены некоторые продукты его окисления.

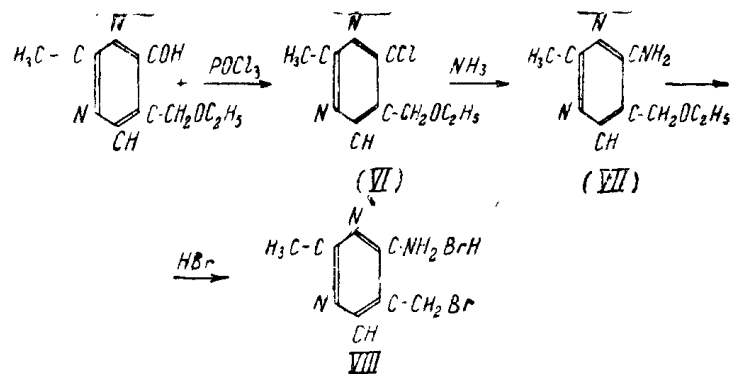
В 1936 г. впервые были получены образцы синтезированного разными авторами витамина В₁.

Синтез складывается из трех стадий: а) получение пиримидиновой части молекулы, б) получение тиазоловой части молекулы и в) конденсация этих продуктов.

а) Этиловый эфир β-этоксипропионовой кислоты (I) конденсируют с этиловым эфиром муравьиной кислоты (II), образуется этиловый эфир α-формил-β-этоксипропионовой кислоты (III). Этот продукт конденсируется с ацетиамидом (IV), в результате чего получается 2-метил-5-этоксиметил-6-оксипиримидин (V). При помощи

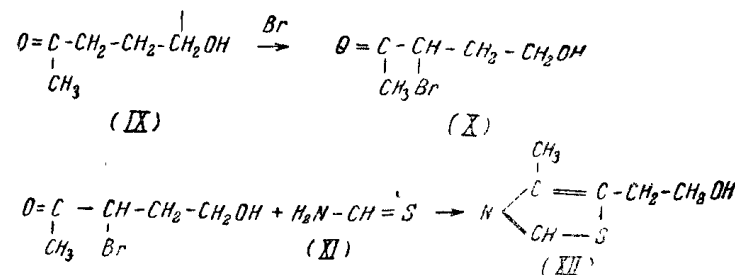


хлорокиси фосфора в положении 6 ОН-группу замещают хлором; образуется хлорпроизводное (VI), в котором хлор замещается аминогруппой при помощи нагревания с аммиаком. Полученное 6-амино-

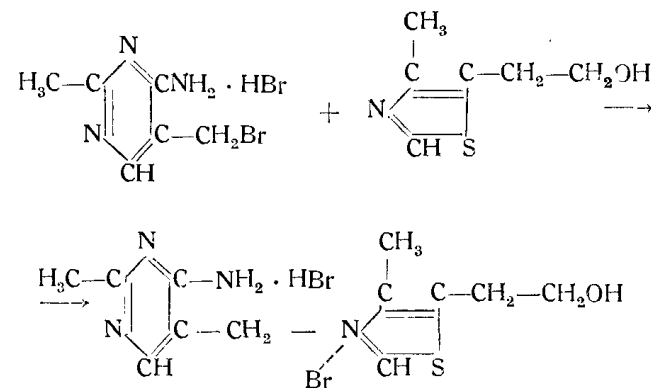


производное пиримидина (VII) бромится HBr в ледяной СН₃СООН, в результате чего получается первая часть молекулы витамина, 2-метил-5-бромметил-6-аминопиримидингидробромид (VIII).

б) Для получения второй части молекулы витамина ацетопропиловый алкоголь (IX) подвергается бромованию, полученное бромпроизводное (X) обрабатывается спиртовым раствором тиоформамида (XI), в результате чего получается 4-метил-5-этоксипропилазоль (XII):



в) Конденсацией пиримидиновой части молекулы с тиазоловой добиваются получения молекулы аневрина — гидробромида (см. ниже), в которой бром может быть замещен хлором путем встряхивания раствора гидробромида с хлористым серебром.



В связи с большой сложностью и длительностью приведенного нами в качестве примера синтеза наши отечественные исследования были направлены на упрощение и рационализацию его; в этом отношении были достигнуты значительные результаты.

Так, в 1939 г. Песиной (4) во Всесоюзном витаминном институте и Травиным (5) в Химико-фармацевтическом институте, независимо друг от друга, был осуществлен синтез витамина В₁. Оба автора при синтезе пиримидиновой части молекулы исходили из янтарной кислоты.

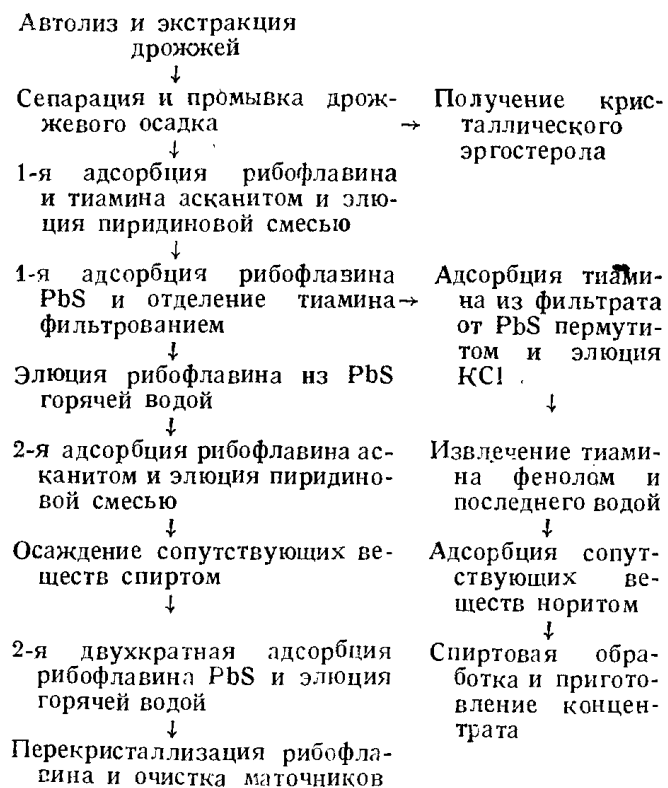
Травин считает значительным преимуществом своего метода то обстоятельство, что исходное сырье (янтарная кислота, ацетамид, ацетопропиловый спирт) является доступным реагентом.

По схеме Песиной, синтез пиримидинового и тиазолового колец производится отдельно. Синтез тиазолового кольца ею проводится

с хорошим выходом (30—35% от теоретического); синтез 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина также осуществляется с хорошим выходом. И, наконец, также с хорошим выходом (до 30% от теоретического) производится конденсация пиримидинового и тиазолового колец в витамин В₁. Отметим, что в настоящее время Челинцевым и Беневоленской, а также Витамином институтом проведены работы по упрощению методов синтеза, а Союзвитамином успешно осуществляется синтез витамина в полупроизводственных условиях на основе оригинальной отечественной схемы, разработанной ВНИВИ (Преображенский, Лиснянский, Рубцов) (6).

Вкратце остановимся на получении концентратов витамина из естественного сырья (хлебных и пивных дрожжей). Труфанов (7) приводит следующую схему переработки дрожжей с одновременным получением аневрина (витамина В₁), рибофлавина (витамина В₂) и эргостерола.

Схема получения эргостерола, концентратов аневрина и рибофлавина, по Труфанову



Наиболее богатым и широко распространенным источником витамина В₁ (витаминов В₂, PP и полноценного белка) являются пекарские и пивные дрожжи. Они используются также для получения самых разнообразных сухих и жидких препаратов. Благодаря зна-

чительному количеству работ, проведенных в направлении замены пищевой питательной среды для выращивания дрожжей неприщевыми отходами, появилась возможность широкого внедрения в ряде производств способа получения так называемых гидролизных дрожжей. Принцип этого метода вкратце сводится к тому, что любые древесные отходы (переработанная хвоя, древесная стружка, опилки и т. п.) подвергаются гидролизу, в результате которого образуются необходимые для развития дрожжей сахара; в такой гидролизат, обогащенный минеральными солями (фосфор, магний), вводится та или иная раса дрожжей.

Метод заслуживает внимания вследствие своей доступности, а возможность одновременного получения дополнительных белков и витаминов является проблемой первостепенного значения¹.

Наряду с этим отметим, что Труфановым в 1942 г. установлена возможность обогащения некоторых рас дрожжей витамином В₁. По мысли автора, дрожжи, синтезирующие пиримидиновые основания, ограничены в возможности синтезировать тиазол. При добавлении тиазола или вытяжек, содержащих тиазоловое кольцо (водные экстракты хвоя, пшеничных зародышей и т. п.), дрожжи, используя готовый тиазол, сочетают его с пиримидиновым основанием, образуя молекулу витамина В₁. В ряде опытов по обогащению дрожжей тиазоловой частью молекулы витамина Труфанов наблюдал увеличение содержания витамина В₁ в дрожжах на 40—100%.

Используя тот или иной метод или комбинируя их, мы вполне можем удовлетворить потребность нашего населения в витамине и в продуктах, обогащенных этим витамином (обогащенные дрожжи, витаминизированные хлебные изделия, различные препараты и т. д.). Работа, как справедливо указывает Лебедев, в дальнейшем должна быть направлена на упрощение технологических схем, повышение выходов, а также на выяснение условий стабилизации витамина В₁ в процессе его производства и хранения готовой продукции (9).

В заключение настоящего раздела считаем нужным ознакомить читателей с наиболее распространенными препаратами витамина В₁.

Жидкие пивные дрожжи выпускаются во флаконах. Содержание витамина колеблется в пределах от 0,1 до 1,0 мг%. Принимать по 50—100 г в день.

Сухие пивные дрожжи: в брикетах или таблетках Содержат от 4 до 10 мг% витамина В₁. Ежедневный прием 10—20 г.

Хлебопекарные дрожжи: прессованные содержат 1—2 мг% витамина В₁, сухие—до 4 мг% витамина. Употреблять на изготовление дрожжевых супов. Для этого на 500 мл холодной воды прибавляют 40 г сухих дрожжей, по вкусу соли, перца, сушеного лука и других специй, до 7 г растительного масла и нагревают смесь до кипения. Необходимо образующуюся пену тщательно размешивать и прокипятить после начала закипания еще 10—15 минут.

¹ В направлении комплексного использования дрожжей проведена весьма плодотворная работа в Витаминном институте и на 1 Московском витаминном заводе (Трайнина, Смирнова). См. также соответствующую литературу (8).

шается формальдегидом и сернистой кислотой. Имеются указания, что в буферном растворе (рН 7,5) в присутствии платиновой черни витамин В₁ восстанавливается, присоединяя 0,94 молекулы водорода по месту двойной связи, вблизи четвертичного азота тиазолового ядра; иодистый калий дает осадок с тиазоловым основанием витамина В₁; иодистый калий-висмут дает с аневрином желтый осадок состава C₁₂H₁₇O₅N₄Cl·HCl·2BiI₃.

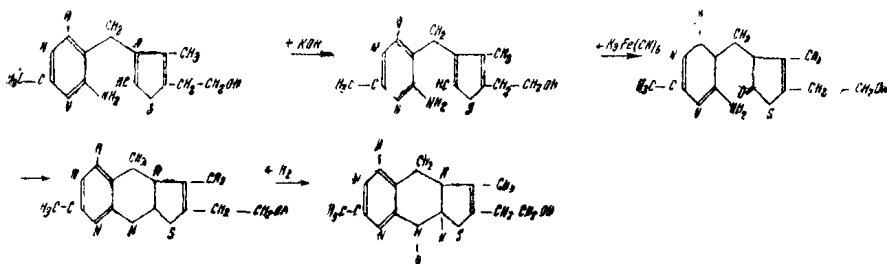
Чистые растворы аневрина с диазотированной сульфаниловой кислотой дают розовую реакцию Паули, предложенную для количественных целей¹. С растворами FeCl₃ и K₃Fe(CN)₆ аневрин дает синюю реакцию образования берлинской лазури. С 2,6-дибромохинонхлоримидом аневрин дает желтую окраску, извлекаемую хлороформом, с солью Рейнеке (калийтетранитродиаминокобальтиак)² дает желтый осадок, с парааминоацетофеноном дает красный осадок (12). Эта реакция служит для количественных целей. Аневрин реагирует с иодом в отношении 1:6 и с диазотированным 2,4-дихлоранилином, образуя окрашенные продукты.

С высокомолекулярными карбоновыми и сульфоновыми кислотами аневрин образует нерастворимые в воде соединения, обладающие В₁-витаминной активностью.

При воздействии энергичных восстановителей аневрин гидрируется.

При медленном титровании гидрохлорида аневрина щелочью потребляется 3 молекулы щелочи; 1 молекула идет на реакцию с С1 и 2 молекулы на превращение соли тиазола во вторичный спирт. При окислении аневрина в щелочной среде красной кровяной солью [K₃Fe(CN)₆], перекисью водорода, окисью селена, перманганатом, порфиросидом или молекулярным кислородом образуется новое вещество—тиохром. Биологической активностью тиохром не обладает.

Реакция образования тиохрома является весьма характерной для аневрина; она может быть представлена в следующем виде:



¹ Однако наши с Иосиковой данные (10), а также исследование Паншиной (11) не подтвердили возможности использовать эту реакцию для аналитических целей.

² Соль Рейнеке имеет состав: NH₄ [Cr(CNS)₄(NH₃)₂].

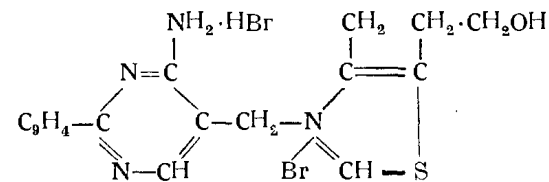
Вначале образуется кетоформа, при последующем освобождении Н₂ из аминогруппы происходит замыкание «третьего кольца».

Водные растворы тиохрома бесцветны, но в ультрафиолетовом свете обладают интенсивной голубой флуоресценцией. Если тиохром подвергнуть воздействию гидросульфита натрия, он восстанавливается и превращается в лейкосоединение, более не обладающее флуоресценцией. Реакция образования лейкотиохрома, видимо, необратима. Нам неизвестно, происходит ли этот процесс в живой клетке и так ли он в ней протекает, но факты обнаружения в организме тиохрома имеют место; если этот процесс и протекает в организме, то он, вероятно, осуществляется ферментной системой типа оксидазы.

Синтез тиохрома осуществлен в 1936 г. Тиохром представляет мелкокристаллический желтый порошок и имеет температуру плавления 224—225°, хорошо растворим в бутиловом, изобутиловом, изоамиловом и других спиртах.

Различные синтетические производные и аналоги аневрина, описанные в разное время, оказались веществами, лишенными витаминной активности или практически мало активными, поэтому они интересны лишь с теоретической точки зрения. Интересующихся этим вопросом отсылаем к соответствующей литературе (13).

Как показывают исследования последних лет, некоторые аналоги витаминов, синтетического происхождения или могущие присутствовать в органах и тканях, оказывают ясно выраженный тормозящий эффект на витамин В₁. В ряде случаев эти аналоги, будучи введены в организм, вызывают у животных характерные явления авитаминоза. Таким антивитаминным действием обладает, например, бутилпиримидиновый аналог тиамин (более подробно см. приложение № 2):

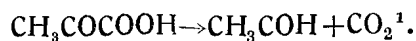


Аневрин в организме весьма легко вступает в соединение с фосфорной кислотой, образуя двухфосфорное производное—дифосфорный эфир аневрина¹.

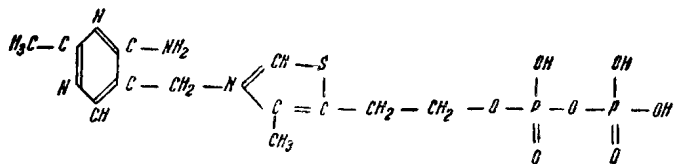
В 1937 г. Ломан и Шустер (14) из 1 кг дрожжей выделили такое соединение в количестве 60 мг, причем оказалось, что оно является коферментом карбоксилазы, расщепляющей пировино-

¹ В тканях пресноводных рыб обнаружен фермент тиазолаза, обуславливающий окисление витамина В₁.

градную кислоту по схеме:



Формула кокарбоксылазы:



Карбоксылаза была известна давно: еще в 1912 г. было установлено, что спиртовое брожение дрожжей происходит при обязательном участии этого фермента.

Из химических свойств кофермента карбоксылазы следует отметить то, что под действием минеральных кислот 2-я молекула фосфорной кислоты легко отщепляется, тогда как 1-я молекула, непосредственно соединенная с тиазоловым кольцом, такому расщеплению подвергается с большим трудом и может быть отнята лишь при помощи ферментативного гидролиза (в присутствии фосфатазы).

Дважды фосфорилированный аневрин обладает, следовательно, всеми свойствами кокарбоксылазы, а при отщеплении от кокарбоксылазы одной молекулы фосфорной кислоты это вещество теряет свои энзиматические свойства.²

Изучая свойства кокарбоксылазы, путем гидролитического расщепления кокарбоксылазы фосфатазой весьма легко добились отщепления обеих молекул фосфорной кислоты и в остатке получили аневрин, кристаллизовавшийся в виде пикролоната с характерной точкой плавления.

Вскоре же после опубликования этих работ была сделана попытка синтезировать кокарбоксылазу путем обработки на холоду гидрохлорида аневрина хлорокисью фосфора³. Синтез был успешно осуществлен, а синтезированное соединение давало все характерные реакции кокарбоксылазы (наличие ацетальдегида, количественный выход CO_2 и т. д.). Еще лучшие результаты были получены, когда синтез вели из аневрина с фосфатом в присутствии фосфатазы, выделенной из животных тканей. Синтез в этом случае протекал необыкновенно гладко, в связи с чем стало возможным подтвердить

¹ Процесс расщепления пировиноградной кислоты в организме представляется, конечно, значительно более сложным.

² Энергичный гидролиз *N* раствором HCl в течение 15 минут при 80° разрушает кокарбоксылазу и дает две молекулы H_3PO_4 . Кобальт и медь также способствуют разрушению кокарбоксылазы, однако в меньшей степени.

³ Кокарбоксылаза была получена из аневрина и аденозинтрифосфорной кислоты; схематически эта реакция представляется так: аденозинтрифосфат + тиамин → адениловая кислота + кокарбоксылаза.

прежние предположения исследователей о том, что фосфорилирование аневрина в живой клетке протекает под действием ферментов, принимающих участие в системе гликолиза, что этот процесс для своего осуществления требует анаэробных условий и что аневрин, будучи фосфорилирован в дифосфорный эфир, является носителем ферментных функций в организме.

Этим путем была разрешена одна из сложнейших проблем биохимии—проблема декарбоксылирующих ферментов.

Моноиодоуксусная кислота и некоторые иодистые производные тормозят (ингибируют) действие кокарбоксылазы, что, как мы увидим ниже, можно поставить в связь с антагонистическим взаимодействием в организме между тироксином и витамином B_1 .

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНЕВРИНА

Для количественного определения аневрина предложено большое количество отдельных реакций и тщательно разработанных методов. Мы опишем здесь лишь наиболее распространенные.

Всеобщее признание получил флуорометрический метод (15, 16). Ниже мы излагаем описание флуорометрического метода в том виде, как он применяется в ряде научно-исследовательских и производственных лабораторий.

В основе метода лежит описанная нами реакция превращения аневрина в тиохром и измерение интенсивности флуоресценции образовавшегося тиохрома. Реакция протекает количественно, а само определение при некотором навыке дает вполне точные и удовлетворительные результаты.

Определение витамина B_1 (общего количества) (17)

Техника метода

Навеску образца в количестве 1—10 г (в зависимости от ожидаемого содержания витамина) растирают в ступке с 0,1 *N* раствором H_2SO_4 и переносят в колбу, доводя объем тем же раствором приблизительно до 75 мл. Колбу ставят на гидролиз в кипящую водяную баню на 45 минут, время от времени помешивая.

По окончании гидролиза колбу охлаждают до 40° (приблизительно) и добавляют в нее сухую пленку *Penicillium notatum*, взятую из расчета 0,03 г на 1 г сухого вещества навески, растирают в ступке с 5 мл ацетатного буфера и переносят в колбу, pH среды в колбе доводят ацетатом до 5,0¹.

Колбу закрывают ватной пробкой и помещают на ночь в термостат (в темноте) при 37° .

¹ Пенициллиновая пленка, в качестве источника фосфатазы, предложена Поволоцкой и Скоробогатовой. Можно также пользоваться препаратом дрожжевой фосфатазы, описание приготовления которого см. ниже.

Содержимое колбы доводят до объема водой (до 100 мл) и фильтруют. Из фильтрата отбирают пробы на определение витамина В₁.

Для большинства образцов (дрожжи, хлебные изделия, крупа, мука) вытяжку обрабатывают в делительной воронке разными объемами изобутилового спирта, предварительно подкислив вытяжку 1—2 каплями серной кислоты, и энергично встряхивают в течение 1—2 минут. Очень часто слой изобутилового спирта приобретает вид белой или окрашенной маслянистой суспензии, а вытяжка становится более прозрачной. Слой спирта удаляют и, если нужно, извлечение изобутанолом повторяют два-три раза, после чего из вытяжки отбирают 4 мл, помещают их в капельную воронку емкостью 25—50 мл, прибавляют 1%-ный раствор K₃Fe(CN)₆ в количестве 0,1—0,2 мл и 3 мл 15%-ного раствора NaOH. Количество окислителя для каждого образца должно быть предварительно подобрано отдельно. Необходимо помнить, что избыток или недостаток окислителя, добавляемого к вытяжке, ведет к частичному разрушению или недоокислению тиамин, находящегося в вытяжке. Чтобы избежать этого, ставят одновременно несколько параллельных капельных воронок с вытяжками, внося в каждую из них разное количество окислителя, например: 0,1 мл; 0,3 мл, 0,5 мл, и прибавляют одинаково по 3 мл 15%-ного раствора NaOH. Смесь в воронке энергично встряхивают в течение полминуты и добавляют к ней 10 мл изобутилового спирта для экстракции из раствора тиамин. Встряхивают воронку после добавления спирта в течение двух минут. Смеси дают разделиться и отбирают в пробирки верхний изобутиловый слой для просмотра флуоресценции на флуороскопе. При просмотре опытных пробирок останавливаются на той, которая при разных количествах окислителя имеет более яркую флуоресценцию, и сравнивают ее с заранее приготовленными эталонами стандартной шкалы, которая готовится из раствора тиаминхлорида.

Если количество окислителя, которое необходимо внести в вытяжку, например 0,1 мл, известно из предыдущих опытов, то лучше приготовить отдельно смесь окислителя со щелочью: 0,3 мл 1%-ного раствора K₃Fe(CN)₆ и 8,7 мл 15%-ного раствора NaOH, и этой смеси добавить 3 мл к вытяжке. При этом избегают возможности разрушения некоторого количества тиамин, находящегося в вытяжке, при соприкосновении с крепким раствором NaOH.

Некоторые авторы (Мурри и др.) прибавляют к вытяжке 2 мл метанола, чтобы избежать разрушения тиамин при возможно большом количестве внесенного в вытяжку окислителя. При визуальном просмотре флуоресценции на флуороскопе не приходится пользоваться бланковым опытом (без внесения в вытяжку окислителя), который служит для определения поправки на реактивы и на флуоресцирующие примеси (которые не были удалены при предварительной обработке вытяжки изобутанолом), так как эта флуоресценция бывает настолько слаба, что несравнима даже со слабым (в 0,1 γ) эталоном стандартной шкалы.

Приготовление стандарта и стандартной шкалы

Приготавливают 10 мг %-ный раствор тиамин-хлорида в 0,001 N 25%-ном спиртовом растворе HCl.

Такой раствор содержит 100 γ тиамин в 1 мл раствора, он устойчив в течение нескольких недель при условии хранения его в темном прохладном месте. Из него перед опытом готовят второй раствор путем разведения 1 мл основного раствора до 100 мл водой. Такой раствор готовится каждый раз при приготовлении стандартной шкалы. Он содержит 1 γ тиамин в 1 мл, из него готовятся два-три нужных эталона, например 1 γ; 1,5 γ и 2 γ.

Для приготовления эталона, содержащего 1 γ, берут 1 мл разведенного раствора тиамин-хлорида, добавляют 3 мл воды, чтобы довести общий объем жидкости до 4 мл одинаково с исследуемым образцом. Дальнейшее окисление и экстракцию производят так, как описано выше. Для приготовления эталонов шкалы достаточно брать по 0,1 мл окислителя.

Расчет

Количество тиамин в γ на 1 г анализируемого образца вычисляют по следующей формуле:

$$x = \frac{c \cdot v}{a \cdot b},$$

где: x —количество тиамин в γ на 1 г испытуемого образца,

a —исходная навеска испытуемого вещества, в г,

b —количество вытяжки, взятой на просмотр флуоресценции, в мл,

c —количество тиамин в γ в эталоне стандартной шкалы, соответствующее флуоресценции испытуемой вытяжки,

v —объем вытяжки, в мл.

При определении интенсивности флуоресценции в флуорометре, где сила флуоресценции измеряется величиной отклонения стрелки гальванометра, смонтированного с фотоэлементом, на который падают лучи света, проходящие через флуоресцирующий раствор, результаты получаются более точные и не зависят от субъективной оценки глаза аналитика. В СССР заслуженным успехом пользуется флуорометр, разработанный во Всесоюзном витаминном институте Шипаловым и принятый сейчас к производству Союзвитаминыпром (18). Отметим также, что в ряде наших лабораторий распространен флуорометрический метод Генесси (19).

Примечание. Для получения препарата фосфатазы можно поступать следующим образом: хлебные дрожжи растирают с тремя весовыми частями ацетона, по прошествии 30 мин. массу отфильтровывают, осадок на фильтре промывают 3—4 раза ацетоном и высушивают на фильтровальной бумаге. Высушенный осадок промывают 3—5 раз порциями по 50 мл $\frac{1}{10}$ N раствором фосфата натрия (на 1 г осадка—50 мл раствора), каждый раз суспендируя осадок, растирая его с раствором и центрифугируя. Промытый осадок суспендируют в 0,1M растворе фосфата (рН 3,7); к смеси добавляют некоторое количество толуола и хранят препарат на холодильнике (сохраняет свою активность 2—3 недели).

Определение в растительных и животных продуктах (овощи, фрукты, консервы, свежая и сухая зелень, мясные изделия и т. д.), по Мурри

1) Процедура

Навеску тонко измельченного (растертого в ступке, размолотого на мельнице или в мясорубке) материала, содержащего от 10 до 25 μ аневрина, помещают в колбочку с обратным воздушным холодильником, прибавляют 40—80 мл 1%-ной HCl, тщательно перемешивают, нагревают до кипения и кипятят 1—2 мин. По охлаждении приводят к желаемому объему (50—100 мл) и часть экстракта отфильтровывают.

В три мерных цилиндра с притертыми пробками на 20—25 мл (или в капельные воронки) наливают по 1—5 мл экстракта и по 2 мл метилового спирта. Узнают, сколько требуется окислителя для полного окисления аневрина: для этого в 1-й и 2-й цилиндры прибавляют по 1 мл 30%-ного раствора NaOH и перемешивают. В 1-й цилиндр прибавляют микропипеткой по каплям, при перемешивании, 1%-ный раствор красной кровяной соли до тех пор, пока окраска раствора не станет несколько желтее, чем во 2-м цилиндре (избыточная желтая окраска не должна исчезать в течение полминуты). Замечают объем прибавленного в 1-й цилиндр раствора. В цилиндр 2-й (контрольный опыт) прибавляют 12 мл изобутилового спирта, энергично встряхивают в течение 1 мин. и содержимое переносят в центрифужную пробирку. В 3-й цилиндр прибавляют то количество раствора красной кровяной соли, которое оказалось достаточным в 1-м цилиндре, и сейчас же добавляют 1 мл 30%-ного NaOH, тщательно перемешивают и оставляют стоять на $\frac{1}{2}$ —1 мин. После этого добавляют 12 мл изобутилового спирта, энергично встряхивают в течение 1 мин. и выливают в центрифужную пробирку.

Растворы II и III центрифугируют до полного отделения спиртового слоя, собирают спиртовой слой в те же цилиндры, промывают встряхиванием с 4 мл воды, переносят в центрифужные пробирки и вновь центрифугируют. Спиртовой слой вновь переносят в цилиндры, доводят до 15 мл изобутиловым спиртом и сушат фильтрованием через обработанную бутанолом сухую гигроскопическую вату.

Примечание. Часто растительные вытяжки, несмотря на указанную обработку, остаются окрашенными, что мешает установлению количества раствора красной кровяной соли, потребной для окисления всего аневрина. В таком случае нужно брать ряд одинаковых объемов испытуемого раствора (не менее трех) и обрабатывать, как указано для 3-го раствора, но с прибавлением разного количества окислителя (0,1; 0,5; 1 мл) и из них отобрать для определения флуоресценции наиболее интенсивно флуоресцирующую пробу.

2) Приготовление стандартного раствора

Приготавливают водный раствор кристаллического аневрина, содержащий точно 1 или 2 μ витамина в 1 мл. Этот раствор устойчив при хранении на холоду и в темноте в течение 1 мес.

К 1 мл исходного раствора добавляют 2 мл метанола и, при перемешивании, 0,05—0,1 мл 1%-ного раствора $K_3Fe(CN)_6$ и 1 мл 30%-ного раствора NaOH. Оставляют в покое в течение 1 мин., затем встряхивают с 12 мл изобутилового спирта в течение 1—2 мин., выливают в центрифужную пробирку и заканчивают процедуру, как указано выше. Содержание аневрина в 1 мл этого раствора вычисляют путем деления количества микрограммов взятого аневрина в растворе на 15 (объем полученного спиртового раствора). Этот раствор наливают в микробюретку.

3) Флуорометрирование

Две пробирки (одна из них содержит точно 5—10 мл контрольного опыта, другая—такое же количество испытуемого раствора) освещают ультрафиолетовыми лучами перед черным светофильтром ртутно-кварцевой лампы. В пробирку с холостым опытом прибавляют из микробюретки по каплям стандартный окисленный раствор аневрина до тех пор, пока флуоресценция в обеих пробирках не уравнивается. В пробирку с испытуемым раствором приливают такое же количество чистого изобутилового спирта (для уравнивания объемов).

Расчет содержания аневрина в испытуемом растворе производится весьма просто, так как при равенстве объемов прибавленного из микробюретки стандартного окисленного раствора аневрина к холостому опыту содержание аневрина будет равно тому количеству его, которое содержится в объеме испытуемого раствора, взятого для флуорометрирования.

Примечание. В случае, если в холостом опыте оказывается много посторонних флуоресцирующих веществ, раствор нужно предварительно проэкстрагировать бутанолом (1—3 раза). Обработанный таким образом раствор практически не должен показывать флуоресценции.

Описанный нами метод представляет интерес, так как не требует приготовления шкалы стандартного раствора аневрина. Разумеется, если необходимо определить также содержание общего количества аневрина, параллельно с этим ставят термостатную пробу с фосфатазой, обрабатывая ее в дальнейшем, как указано. Методом Мурри можно также определять аневрин в дрожжах и других продуктах¹.

¹ Представляет интерес метод определения аневрина, основанный на том, что аневрин дает красное окрашивание с диазотированным раствором пара-аминоацетфенона.

Шерман разработала следующую методику: для анализа берут раствор содержащий 3—10 μ аневрина в объеме 250 мл, подкисляют 1%-ной соляной кислотой и к аликвоту добавляют 0,5%-ный спиртовой раствор фенола и заранее приготовленную диазотированную смесь пара-аминоацетфенона.

За последние годы всё более широкое распространение начинают принимать микробиологические методы (20) определения витамина В₁.

Эти методы применяются для определения витаминов в продуктах растительного и животного происхождения.

Биологические методы испытания (на голубях) в настоящее время применяются лишь в очень редких случаях и практического интереса не представляют (21).

РАСПРОСТРАНЕНИЕ АНЕВРИНА В ПРИРОДЕ И ЕГО РОЛЬ В ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ

Аневрин распространен в природе весьма широко, хотя и крайне неравномерно. Так, в наибольшем количестве он встречается в растительных продуктах, в меньшем количестве — в продуктах животного происхождения¹. Из растительных продуктов наиболее богаты этим витамином дрожжи, зародыши злаков, оболочки зерна; хорошим источником его являются орехи, из животных продуктов следует отметить в качестве источника витамина желток куриного яйца и некоторые органы животных (печень, почки)².

В зеленых частях растений в среднем содержится 0,5—1,5 γ аневрина на 1 г свежей массы растения. Это постоянное наличие аневрина в вегетирующей части растения, равно как и те данные, которые у нас имеются о биохимической роли витамина В₁ в растительном организме, говорят в пользу его возможного активного участия в синтетических процессах. Но и в покоящихся частях растений (в зерне и зародыше), как правило, накапливается витамин, благодаря чему перикарп и наружные оболочки зерен большинства растений являются классическими естественными концентратами витамина В₁.

Аневрин в оболочках семян имеет отношение к их протеиновой структуре; возможно, он отлагается в этих образованиях, будучи

По прошествии 20 мин. стояния смеси во льду образуется красная окраска, которую экстрагируют 5 мл ксилола, высушивают над безводным сульфатом натрия и раствор колориметрируют со стандартным раствором аневрина, приготовленным в тех же условиях.

Метод проверен на разных объектах и отмечено хорошее совпадение с общераспространенным флуорометрическим методом.

¹ Из чешуи карпа выделено азотистое вещество, обладающее в опытах на животных одновременно активностью и витамина В₁, и витамина В₂. Вещество обладает интенсивной сине-зеленой флуоресценцией; природа его еще не выяснена (возможно, относится к классу птеринов).

² Весьма любопытные данные опубликованы в последнее время. Свежие пекарские или пивные дрожжи, будучи введены в организм, оказываются, истощают тиаминные запасы организма. В специально поставленных опытах было показано, что при длительном систематическом употреблении не убитых дрожжей организм не только не обогащается тиаминном, но наоборот, обедняется им; подобного рода «дрожжевая терапия» приводит к ясно выраженному В₁-авитаминозу. Применение прокипяченных дрожжей, клетки которых убиты высокой температурой, не дает этого отрицательного эффекта.

связан, ассоциирован к белку (подобно тому, как это имеет место в молоке). Во всяком случае бобовые растения, богатые протеином (чечевица, вика, горох), содержат также значительное количество витамина В₁ (до 5 γ на 1 г). Особенно богаты аневрином хлебные и пивные дрожжи. В дрожжах витамин В₁ содержится как в виде свободного аневрина, так и в виде фосфорного эфира этого соединения и его протеинового комплекса. В виде подобных же соединений аневрин распространен и в других растительных объектах: количество кокарбоксилызы в некоторых случаях может составлять 20% и более от общего количества аневрина¹.

То обстоятельство, что аневрин участвует во многих процессах живой клетки, заставляет полагать, что он необходим растению на всех стадиях его роста и развития и является «гормоном роста растения». Для выяснения этого вопроса ставились опыты в вегетационных сосудах с горохом, овсом и другими растениями. Контролем служила питательная смесь без аневрина с добавкой β-индолилуксусной кислоты. Опыты показали, что стимулирующее действие аневрина равно или в некоторых случаях даже превосходит действие β-индолилуксусной кислоты, которая, как известно, считается компонентом биоса. Кроме того, дополнительно было установлено, что комбинация аневрина с никотиновой кислотой дает даже более эффективные результаты в отношении влияния на рост растения, чем β-индолилуксусная кислота.

Накопление аневрина растением протекает параллельно его развитию: взрослое растение богаче аневрином, и степень накопления в растении этого витамина является довольно характерным признаком стадии его зрелости (23).

Таблица 15

Содержание аневрина в растении (рожь) на разных стадиях его развития (в мг%)

Стадии спелости	Витамин В ₁
Молочная	0,08
Восковая	0,17
Полная	0,29
Послеуборочное дозревание	0,37

Аневрин синтезируется в листе растения; как правило, в корнях синтезируется пиримидиновая часть молекулы, тогда как листья накапливают только тиазол.

Обращает на себя внимание тот факт, что накопление аневрина в растении имеет некоторую связь с накоплением в нем цинка.

¹ Согласно исследованиям Прокошева (22), количество связанного аневрина в картофеле составляет примерно 1/4 всего его количества.

Содержание аневрина в муке разного помола

Виды помолов муки	Содержание аневрина в мг%
Пшеничная 94%-ная	0,30
» 82% »	0,25
» 75% »	0,10
» 60% »	0,06
Ржаная 94% »	0,25—0,30
» 82% »	0,21
» 75% »	0,19
» 60% »	0,12

Так, например, обнаружено, что ткани, содержащие относительно меньше цинка, соответственно меньше содержат и аневрина. На основании этого позволительно прийти к заключению, что цинк способствует синтезу аневрина живой тканью.

Аневрин в животном организме принимает участие в синтезе жирных кислот из углеводов. Вероятно, в растении этот процесс протекает также при участии аневрина, причем кокарбоксылазное действие аневрина в обмене углеводов катализируется солями марганца.

Многие микроорганизмы способны накапливать большие количества аневрина. Так, дрожжи в состоянии накопить его до 200 мг%. Этот эффект может быть усилен, если дрожжи поместить в питательную среду, содержащую тиазол. Очевидно, эта часть молекулы синтезируется дрожжами значительно хуже.

Другие микроорганизмы, как, например, *Phycomyces blakesleeanus*, без аневрина вовсе не могут существовать. Аневрин содержится и в почве, так как некоторые почвенные микроорганизмы, находящиеся в ее верхних слоях, способны его синтезировать. Характерна в этом отношении роль клубеньковых бактерий: подкормка бобовых растений «нитрагином» (препаратом клубеньковых бактерий) значительно повышает урожайность бобовых культур, одновременно повышая их кормовое и пищевое достоинство. Следовательно, клубеньковые бактерии способны не только синтезировать аневрин, но и обогащать им растение, на котором они поселяются.

Это обстоятельство имеет большое народнохозяйственное значение и заслуживает соответственного использования в нашем сельском хозяйстве.

Основные растительные пищевые продукты городского и сельского населения (хлеб, зерновые продукты, крупа и т. п.) содержат весьма непостоянное количество аневрина. Витаминность мучных и крупяных изделий в первую очередь зависит от степени очистки зерна от зародышей, оболочек и отрубей, где в основном и содержатся почти все запасы аневрина. Так, если содержание аневрина в цельном зерне условно принять за 100%, то в муке II сорта его будет содержаться всего лишь 20%, а в муке высшего сорта—не более 5%. Эти выводы подтверждаются хорошо известными работами ряда исследователей и, в первую очередь, работников хлебопекарной промышленности СССР, установивших тесную зависимость между степенью очистки и помола зерна и содержанием в муке витамина.

Как правило, более грубый помол дает хлебные изделия с более высоким содержанием аневрина.

Как правило, аневрин синтезируют растения и многие микроорганизмы (в том числе населяющие желудочно-кишечный тракт жвачных животных). Животные не способны накапливать его в больших количествах, тем не менее он образует депо в почках, надпочечниках, печени и придатке мозга. Аневрин может легко мобилизоваться из своих депо, и тем самым обуславливается относительное постоянство его уровня в различных частях тела. В мышцах человека его

содержится от 0,5 до 1,38 γ%. Содержание аневрина в мозговой ткани колеблется в пределах от 1,5 до 3 γ%, в спинномозговой жидкости—около 2,5 γ%; здесь, повидимому, он может находиться также и в виде протеинового комплекса; в молоке, как мы уже указывали, аневрин содержится по преимуществу в соединении с протеином¹.

Из организма аневрин постоянно выводится с мочой, причем выделение его в значительной степени связано с состоянием организма, со степенью насыщенности организма витамином и нагрузкой; оно может уменьшаться в тех или иных патологических случаях.

В заключение приводим табл. 17 содержания аневрина в растительных и животных продуктах, составленную на основании литературных данных и наших исследований.

Для сохранения витамина В₁ при изготовлении пищи необходимо руководствоваться следующими соображениями: в кислой среде витамин В₁ устойчив даже при продолжительном нагревании; добавление щелочей (соды) приводит к падению его содержания в продукте. Так, 4-часовое нагревание томатного сока при естественной реакции среды (рН около 4,5) не привело к разрушению в нем витамина. При температуре выше 100° убыль витамина оказывается тем значительнее, чем выше температура.

Разрушению витамина способствует влажность: сухие овощи, хранящиеся без избыточного увлажнения в течение длительного времени, хорошо сохраняют аневрин; растворы витамина и продукты с большой влажностью, при хранении в этих же условиях, за 6 мес. хранения практически теряют весь витамин В₁.

Следует помнить, что витамин В₁ является водорастворимым витамином и при варке пищи значительная его часть переходит в отвар, поэтому отвары необходимо использовать.

При выпечке хлеба на дрожжах витамин В₁ практически не теряется, на искусственных разрыхлителях (аммоний углекислый, сода и пр.) потери витамина доходят до 90—95%. Некоторое количество витамина (до 20%) теряется в хлебных корках.

¹ В женском молоке (третья неделя лактации) найдено 9,5 γ%; на 12-й неделе лактации—до 15 γ% витамина В₁; в дальнейшем это содержание остается довольно стабильным.

Таблица 17

Содержание аневрина в различных продуктах (в мг%)¹

Наименование продуктов	Содержание аневрина	Наименование продуктов	Содержание аневрина
I. Растительные продукты			
а) Овощи			
Арбуз	0,02—0,04	Морковь сырая	0,14
Артишок круглый	0,20—0,25	» вареная	0,01—0,05
» иерусалимский	0,15—0,20	Огурцы свежие	0,04—0,12
Батат (сладкий картофель)	0,04	» соленые	следы
Бобы сухие	0,16—0,24	Пастернак	0,08—0,10
Бобы вареные	0,42	Пикнули в маринаде	0
» печеные	0,042	Ревень (стебли)	следы
» консервированные	0,05	Редис	0,03—0,12
Бобы жареные в масле	0,020	Редька столовая	0,03—0,05
Горох мозговой	0,28—0,40	Реза	0,08—0,12
» стручковый	0,10	» вареная	следы
Горошек зеленый	0,08—0,14	Салат кочанный	0,18—0,20
Грибы съедобные	0,10—0,15	» латук	0,06—0,20
Дыня	0,07	» эндивий	0,04—0,05
Кабачки	0,57	Свекла столовая	0,04—0,14
Капуста сырая, белокочанная	0,05—0,25	Сельдерей	0,05
Капуста брюссельская	0,05—0,08	Спаржа	0,05
» зеленоголовая	0,10—0,28	Томаты зеленые	0,03—0,10
Капуста китайская	0,09	» спелые	0,05—0,16
» краснокочанная	0,05—0,15	» (томат-пюре)	0,02
Капуста кудрявая	0,1—0,15	Турнепс сырой	0,02—0,05
» листовая	0,16—0,26	» вареный	следы
» савойская	0,12—0,16	» ботва	0,08—0,12
» цветная	0,14—0,18	Фасоль	0,35
Картофель сырой	0,07—0,10	Цикорий	0,06
» вареный	0,06—0,12	Шпинат свежий	0,14—0,25
Катран	0,07—0,09	» сушеный	2,36
Кольраби венская	0,08—0,10	» консервированный в банках	0,01—0,03
Кресс-салат	0,12	Щавель	0,07
Лук дикорастущий	0,02	б) Фрукты	
» перо, зеленый	0,12	Абрикосы сушеные,	0,04—0,06
» » вареный	0,005	» сырые	0,06—0,17
Лук репчатый, сырой	0,08—0,11	Абрикосы сушеные, вареные	0,09—0,10
Лук репчатый, вареный	0,002	Абрикосы сушеные, лежалые	0,07
Лук порей	0,10—0,13	Ананас	0,02—0,05
» черемша	0	Апельсин	0,06—0,09
		» мякоть, отдельно	0,09—0,12
		Апельсиновый сок, отдельно	0,05—0,08
		Бананы незрелые	0,02
		» зрелые	до 0,12
		Брусника	0

Наименование продуктов	Содержание аневрина	Наименование продуктов	Содержание аневрина
Вишняя ягода	0,02—0,06	Орех лесной (фундук)	0,37—0,90
» » сушеная	0,23—0,25	Перец черный	0,04
Виноград	0,25	Персиковое ядро	0,55
Грейпфрут	0,05—0,08	Семена бертоллетии	0,85
» сок	0,1	» ели	0,38
Груши (разные сорта)	0,05—0,17	» тыквы	0,20
» » сушеные	0,65	» ясеня	0,28
Ежевика	0,033	г) Зерно и продукты его переработки	
Земляника	следы	Крупа гречневая	0,5+
Изюм	0,07—0,26	» перловая	0+
Компот из сухих фруктов	0,06—0,08	» пшениная	0+
Коринка	0,025	» ячневая	0,2+
Крыжовник	0,05—0,09	» манная	0+
Лимоны, мякоть	0,01—0,03	» овсяная	0,3+
» сок	0,18	Кукуруза белая	0,2
Малина	следы	» желтая	0,15+
Мандарины	0,08	» зародыши	1,00—1,20
Мирабель свежая	0,11—0,13	» в початках сырая	0,05
» сушеная	0,09	Кукуруза поджаренная	0
Облепиха	0,12	Овес, зерно	0,4+
Персики	0,015	» отруби	0,70—0,80
Сливы обыкновенные	0,09—0,15	Овсянка «Геркулес»	0,23—0,35
» дамасские	0,09—0,12	Просо	0,25—0,49
» крупные, белые	0,19—0,20	» зародыши	1,03
Смородина черная	0,03	Пшеница, зерно	0,4+
Танжерин	0,059—0,078	» зародыши	2,0+
Финики свежие	0,06—0,07	» отруби	0,80—1,50
» сушеные	0	» мука 96% помола	0,45
Черника	0,04	Пшеница, мука 85% помола	0,24
Чернослив	0,018	Пшеница, мука 75% помола	0,10
Яблоки (разные сорта)	0,02—0,09	Рис целый	0,40
		» отруби	0,60—1,50
		» полированный	0+
в) Срежи, плоды и семена		Рожь, зерно	0,20—0,40
Арахис	0,54—0,85	» зародыши	1,50—2,50
Бобы какао	0	» отруби	1,00
» кофе	0,32	» мука 95% помола	0,22+
Каштаны	0,18—0,21	Рожь, мука 85% помола	0,15
Миндаль	0,15—0,20	Саго	0
Нут барселонский	0,08—0,10	Соя белая	0,6+
» бразильский	0,80	Соя желтая	1,69—3,00
Орех грецкий	0,30	Чечевица	0,25—0,45
» кокосовый, мякоть	0,20	Чина	0,34+
Орех кокосовый, молоко	0,04		

¹ Цифры, отмеченные знаком +, взяты из издания НКЗ СССР «Нормы суточного потребления витаминов».

Т а б л и ц а 17 (продолжение)

Наименование продуктов	Содержание аневрина	Наименование продуктов	Содержание аневрина
Ячмень, зерно сырое	0,4	Свинина тощая, копченая	0,20
Ячмень, зерно вареное	0,024	Свинина копченая	0,20—0,40
Ячмень, зародыши	2,80—3,50	Сосиски свиные, варенные	0,02—0,03
II. Животные продукты		Сосиски III сорта	0—0,26
а) Мясо		Телятина жареная	0,10
Баранина тощая, сырая	0,12—0,17	Тетерка »	0,35—0,38
Баранина тощая, вареная	0,10	Цыпленок жареный	0,16
Бэкон I сорта сырой	0,26	Язык говяжий, варенный	следы
» » жареный	0,36	Язык овечий, тушеный	0,04
Говядина сырая, тощая	0,15	б) Рыба и рыбопродукты	
Ветчина свиная сырая	0,4	Елорыбца	0,06
Колбаса кровяная	0,02—0,03	Икра черная	следы
Конина	0,09—0,10	Камбала	0,11—0,22
Костный мозг крупного рогатого скота	0	Крабы сырые	следы
Кролик	0,05	» варенные	0
Курица жареная	0,05	Креветки	0,06—0,07
Мозги бычьи, сырые	0,025	Лососина свежая	0,05
Мозги овечьи, сырые	0,06	» консервированная	0,11
» свиные, »	0,12—0,14	Палтус	0,02—0,14
Паштет из печени телячьей	0	Сардины в масле	0,02—0,09
Паштет из печени гусиной	0,03	Сельди свежие и копченые	0,03+
Пирог мясной	0,02	Сельди, икра, отдельно	0,17—0,18
Пирог с ветчиной	0,12	Сельди, молоки	0,13—0,14
Печень бычья, сырая	0,4+	Семга	0,09—0,10
» » вареная	0,30	Соль (мелкая камбала)	0,08—0,10
Печень телячья, сырая	0,15—0,30	Треска, мясо	0,06—0,12
Почки быка	0,4+	» икра копченая	0,9
» овцы, барана	0,20—0,40	Угорь	0,12
» свиньи	0,7+	Устрицы	0,60—0,70
Ростбиф, нежирный	0,05—0,10	Хеддок (лофотенская треска свежая)	следы
Рубцы жареные	0	Хеддок (лофотенская треска копченая)	0
» сырые	0,06	в) Молоко, молочные продукты и яйца	
Свинина тощая, жареная	0,4	Масло сливочное	0,04—0,05
		Молоко коровье, сырое	0,05+

Т а б л и ц а 17 (продолжение)

Наименование продуктов	Содержание аневрина	Наименование продуктов	Содержание аневрина
Молоко коровье, сгущенное с сахаром	0,09	Лапша	следы*
Молоко коровье, сгущенное без сахара	0,05—0,10	Макаронны из пшеничной муки	следы*
Молоко коровье, сухое цельное	0,23	Мармелад фруктовый	0
Молоко коровье, сухое снятое	0,25	Овсяные лепешки	0,3—0,4
Молоко козье	0,10—0,20	Печенье десертное	до 0,03
Молоко женское	0,01—0,04	Стручки турецкие	0
Сыры	0—0,09	Сухари хлебные с добавлением дрожжей	0,6—0,7
Яйца куриные, цельные (на 1 шт.)	0,07+	Хлеб пшеничный из цельной муки	0,30—0,40
Яйца куриные, белок	0	Хлеб пшеничный из 94% муки	0,20
Яйца куриные, желток сырой	0,20—0,40	Хлеб пшеничный из 75% муки	0,03
Яйца куриные, желток вареный	0,35—0,60	Хлеб пшеничный высшего сорта	следы
III. Хлебные и кондитерские изделия		Хлеб ржаной	0,20—0,30
Ананас консервированный в сахаре	0,03	» » с плазмоллизатом дрожжей	0,50—0,70
Бисквит диетический	0,06	Хлеб серый с кориной	0,16—0,23
» крокер (сухой)	0,04	Хлеб сдобный с цукатами	0,03
Варенье абрикосовое	0	Цукаты из клубники	0
» апельсиновое	0	IV. Прочие продукты	
» клубничное	0	Водоросли сушеные	0,7—1,7
» крыжовенное	следы	Дрожжи пивные сухие	5,0+
» сливовое	0,075	Дрожжи хлебные (плазмоллизат)	до 1,0
» черносмординовое	0	Дрожжи хлебные гидролизные	0,5—0,9
Галеты с пшеничными зародышами	0,4—1,0	Дрожжи хлебные свежие	0,3—0,8
Джем абрикосовый	0	Дрожжи хлебные свежие, обогащенные	до 1,0
» земляничный	0	Дрожжи хлебные сухие	2,0+
» малиновый	0	Мед	0+
» сливовый	0,07—0,08	Патока	0,01—0,02
» » Ренклод	0,09	Пыльца растений	до 1,5
Джем черносмординовый	следы	Хмель высушенный	0,44
Крыжовник засахаренный	»		

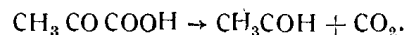
Выпечка хлебных изделий с дрожжами (сухими и жидкими, с плазмоллизатом дрожжей и т. п.) позволяет получить обогащенные витамином хлебные изделия (сухари, булочки, хлеб). В этом отношении большая и интересная работа проводится Институтом хлебопечения, и, как показывают наши данные, витамин, введенный в эти изделия с дрожжами и плазмоллизатом дрожжей, сохраняется в них при выпечке удовлетворительно.

Приведенные краткие сведения показывают, что витамин В₁ достаточно устойчив при хранении и переработке продуктов и, следовательно, способов удовлетворения нашей потребности в нем имеется много.

АНЕВРИН В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНОГО И ЧЕЛОВЕКА

Выше было показано, что витамин В₁ является ферментом, осуществляющим окислительное декарбонирование промежуточных продуктов распада углеводов, а в связи с этим принимает известное участие в образовании в организме жиров. Следовательно, углеводный и, во вторую очередь, жировой обмен зависят от нормального функционирования аневрина. Это, в свою очередь, не может не быть связано с белковым и фосфорным обменом. Таким образом, исключение из организма аневрина незамедлительно приводит не только к прекращению распада пировиноградной кислоты, но вызывает столь тяжелые и многообразные расстройства белкового, жирового и углеводного обмена, которые не могут не сказаться самым катастрофическим образом¹.

С помощью карбоксилазы пировиноградная кислота расщепляется, образуя молекулу уксусного альдегида и углекислоты:



Однако для того, чтобы могла протекать эта реакция, необходимо присутствие вещества, катализирующего фермент, — кофермента. Из дрожжей и был выделен такой активатор карбоксилазы — кокарбоксилаза.

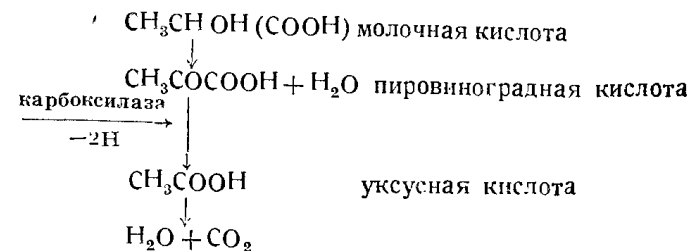
Дальнейшими работами было показано, что кокарбоксилаза является дважды фосфорилированным эфиром аневрина.

Значительно ранее появились отдельные наблюдения, что мозг авитаминозного животного, если он дышит в присутствии молочной кислоты, дает резкую реакцию на пировиноградную кислоту, которая сразу же исчезает при добавлении к смеси витамина В₁. Было высказано предположение, что витамин В₁, вероятно, входит в состав фермента, обуславливающего окисление пировиноградной кислоты, или является его коферментом. Как видно, это предположение в дальнейшем вполне оправдалось.

¹ У авитаминозных животных процесс переаминирования глутаминовой и аспарагиновой кислот резко снижен. Это стоит в связи с нарушением обмена α-кетокислот.

То обстоятельство, что в животной клетке обычно не встречается уксусного альдегида, давало повод думать, что кокарбоксилаза может и иным путем расщеплять пировиноградную кислоту. И если в дрожевой клетке кокарбоксилаза выполняет роль декарбоксилазы, то в тканях животного организма она выполняет окисление пировиноградной кислоты; следовательно, здесь она функционирует как кодегидраза.

Реакция соответственно протекает иначе:



Выше мы видели, что аневрин способен легко подвергаться гидрированию, т. е. способен к реакциям окисления-восстановления, отсюда его участие в реакциях окисления пировиноградной кислоты очевидно.

В этом процессе глюкоза, окисляясь до молочной кислоты, отдает свой водород для восстановления окисленного дыхательного фермента; молочная кислота под влиянием молочной дегидрогеназы превращается в пировиноградную кислоту; дальнейший распад пировиноградной кислоты в отсутствие аневрина тормозится, аневрин же способствует ее окислению, превращаясь в дигидроаневрин.

То обстоятельство, что аневрин стимулирует поглощение кислорода тканью мозга и не дегидрирует метиленовую синь в системе Тунберга, говорит за то, что процесс дегидрирования пировиноградной кислоты, по всей вероятности, протекает как пероксидное окисление, хорошо представленное в схеме Баха (24).

Наряду с этим происходят сложные процессы фосфорилирования аневрина, ибо, как уже указывалось, последний проявляет свою ферментативную активность лишь в виде дифосфорного эфира. Это фосфорилирование, очевидно, протекает в аэробных условиях за счет фосфорной кислоты, которая отщепляется от фосфоглицериновой кислоты под влиянием фосфатазы, наряду с образованием пировиноградной кислоты, в процессе гликолиза.

Аневрин у большинства животных скопляется в значительных количествах в печени и мышцах и усиленно расходуется при повышенном поступлении с пищей в организм углеводов и под влиянием мышечной нагрузки. Усиленный физический труд, как указывает Шмидт, сопровождается активацией деятельности этого фактора в процессах внутриклеточного обмена. Участие аневрина во внутри-

клеточном углеводном обмене может заключаться не только в ферментативном расщеплении пировиноградной кислоты, но и в ферментативном синтезе гликогена из молочной кислоты (25, 26). Это предположение находится в полном соответствии с имеющимися данными, однако детали процесса пока еще не изучены¹.

При недостатке в организме витамина В₁, в зависимости от степени его дефицита, развиваются более или менее выраженные явления гиповитаминоза или клинически выраженный В₁-авитаминоз.

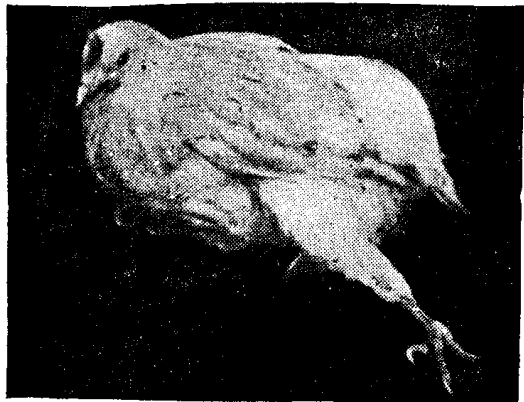


Рис. 5. Авитаминоз В₁ у птиц. Спастический паралич левой ноги

Из животных наиболее чувствителен к недостатку витамина В₁ голубь. При недостатке этого вещества в корме у голубя в 6—12 час. развиваются сходные с энцефалитом явления скованности (бери-бери) и сначала спастические, затем вялые параличи.

У инкубаторных цыплят в возрасте 0,5—4 мес., содержащихся на мучных смесях без добавки отрубей, наблюдаются спастические па-

раличи, явления энцефалита и общие клонические судороги. При этом, так же как при В₁-гиповитаминозе, наблюдается значительное нарастание глюкозы и молочной кислоты в крови, появление в ней пировиноградной кислоты (у крыс—наличие метилглиоксаля в моче) и другие симптомы нарушенного углеводного обмена. Кстати отметим, что наличие метилглиоксаля в моче хотя и не является специфичным проявлением В₁-авитаминоза, но всегда в этом случае имеет место. Увеличенное поступление углеводов усиливает В₁-авитаминоз.

Отсюда можно сделать практический вывод, что при питании по преимуществу углеводистой (растительной) пищей организм должен получать избыточное количество аневрина. Жиры, в особенности кокосовое масло, несколько тормозят развитие бери-бери. Добавление аневрина к диете нормальных животных вызывает увеличение содержания жира в печени и во всем теле. Это и понятно в свете того, что говорилось выше о значении аневрина в синтезе жиров в организме.

¹ При В₁-авитаминозе, как указывает Крицман (27), тормозятся синтез гликогена в печени, образование жиров из углеводов и из пировиноградной кислоты, окислительное дезаминирование l-аланина, процессы переаминирования аминокислот, восстановительное аминирование, декарбоксилирование пировиноградной кислоты и окисление ее в уксусную.

При отсутствии или длительном недостатке витамина В₁ в пище у человека развивается заболевание бери-бери. В клинической картине этого заболевания, согласно наблюдениям Ефремова (28), на первом месте стоят симптомы со стороны центральной и периферической нервной системы и сердечно-сосудистого аппарата. Уже в начале заболевания отмечаются симметричные нарушения чувствительности на коже голени, тыльной части стопы и пальцев ног, рук и на губах. Вслед за нарушением чувствительности в таком же порядке и также обычно симметрично развиваются параличи малоберцового и большеберцового нервов на нижней конечности и разгибателей пальцев — на верхней. Позднее поражаются черепные нервы (лицевой, тройничный, гортанный).



Рис. 6. Бери-бери: слева — отечная форма, справа — сухая

Весьма постоянны при бери-бери нарушения функций сердца и сосудистой системы. Характерно для В₁-авитаминоза учащение сердцебиений вплоть до 100 ударов в 1 мин. Даже малая функциональная нагрузка ведет к значительному и долго длящемуся ускорению сердцебиения. Особенно выражены симптомы со стороны сердца при злокачественной форме бери-бери, так называемой «шошин». Наряду с этим перкуссией и рентгеноскопией можно установить гипертрофию и расширение сердца. Наблюдаются одышка и учащение дыхания, в тяжелых случаях до 30—40 в минуту.

При злокачественной форме бери-бери смерть наступает иногда в течение 2—3 дней при явлениях нарастающей сердечной слабости, цианозе, одышке. Межуточный обмен у людей при В₁-авитаминозе нарушен. В результате недостаточности кокарбоксилазного действия резко нарушается углеводный обмен; в крови появляются в значительном количестве пировиноградная и молочная кислота. Нарушается также и белковый обмен. Наблюдается серьезное нарушение деятельности желудочно-кишечного тракта. Большой клинический материал, собранный Рыссом и другими авторами, показывает, что состояние пищеварительных желез при В₁-авитаминозе очень характерно: авитаминоз обуславливает отказ животного от пищи, рвоту и отчетливое уменьшение количества выделяемого сока без резких изменений его кислотности и переваривающей силы. Отсюда возникает понятный интерес к терапии препаратами

витамина В₁ различных форм функциональных нарушений секреторной деятельности желез и в первую очередь так называемой функциональной ахилии (29)¹.

При далеко зашедших явлениях авитаминоза резко понижается выведение из организма токсических продуктов обмена, что нередко приводит к токсикозу. Понижено также мочеотделение; в тяжелых случаях в сутки выделяется всего 200—300 мл мочи. При отечных формах бери-бери прежде всего отекает лицо, затем руки и ноги, особенно голень. Патолого-анатомическая картина изменений, находимых у умерших от бери-бери, складывается из явлений коллоидного набухания мышц и внутренних органов (сердца) и дегенеративных изменений в центральной и периферической нервной системе. Наряду с застоем в большом круге кровообращения, как правило, находят гипертрофию и расширение сердца, равно и повышенное содержание жидкости в перикарде.

Смертность от бери-бери 1—2%, главным образом при злокачественных формах авитаминоза².

Еще в 1933 г. исследователи обратили внимание на то, что количество углеводов в пище животных влияет на скорость развития В₁-авитаминоза.

В дальнейшем было установлено, что на развитие В₁-авитаминоза у всех животных влияют не только углеводы, но также жиры и белки. Поэтому, как правильно указывает Лавров, расчет количества витамина В₁, необходимого для предупреждения и лечения авитаминозов, следует производить, принимая во внимание состав и калорийность пищи.

На основании этих указаний потребность в витамине В₁ в сутки

¹ Левенштейн (30) исследовал поведение углеводов при В₁-авитаминозе: сахар из крови исчезает, синтез гликогена резко сокращается, как это видно из нижеследующей таблицы.

Содержание гликогена и сахара в органах и в крови крысы (в %)

Состояние организма	Гликоген		Сахар кровь
	печень	мышцы	
Норма	0,599	0,401	1,091
В ₁ -авитаминоз	0,087	0,047	0,39
Процент гликогена по отношению к норме .	14,6	11,7	42,8

² При В₁-авитаминозе наблюдается также гипертрофия коры надпочечников. Невриты, возникающие при расстройствах пищеварительного тракта и кахексии, а также при беременности, обязаны своим появлением также прогрессирующему В₁-гиповитаминозу. Рвоты и тошноты, наблюдаемые в последние месяцы беременности, удается предупредить дачей витамина В₁. Витамин В₁, кроме того, оказывает благоприятное влияние на секрецию молочных желез.

для человека может быть ориентировочно вычислена по формуле Коуджилла (31):

$$B_1 = C \cdot P \cdot K,$$

где: С — общая суточная калорийность рациона,
Р — вес животного в г,
К — коэффициент потребности в витамине В₁¹.

Следует подчеркнуть, что указанная потребность будет соответственно увеличиваться при повышении внешней температуры, при беременности и лактации, при повышении потребления углеводов при усиленной физической нагрузке и т. д.

Аневрин, как указывалось выше, постоянно выделяется с мочой. В случае систематического насыщения здорового человека витамином В₁ в течение 19—20 дней в количестве 10 000 γ витамина, про die было выделено в моче 2500 γ, а в кале—7000 γ аневрина. Это, повидимому, указывает на то, что в организме откладываются лишь относительно небольшие запасы аневрина; избыток его либо расходуется организмом, либо выводится из организма неиспользованным с мочой и калом. При нормальном пополнении депо организма аневрином последний должен выделяться с мочой в количестве не менее 30% от введенного.

Во многих патологических случаях наблюдается крайне ничтожное выделение аневрина в моче: если в норме его должно выделяться до 30% от введенного количества, то при холециститах, эндокардите, плеврите и особенно при раке печени выделение снижается до 5% и менее. Соответственно этому проба на выделение аневрина в моче могла бы до известной степени служить критерием состояния организма, как на это указывают иностранные авторы. Однако, по данным недавно законченных во Всесоюзном витаминном институте исследований Рысса и его сотрудников, этим путем нельзя установить степень витаминного дефицита.

Травматические заболевания и связанный с ними регенеративный процесс также сопровождаются повышенной потребностью в витамине В₁, который ускоряет регенерацию кожной ткани.

При инфекциях и воспалении мозга (менингитах и менингоэнцефалитах), равно как и при травмах черепа, наряду с обычной их терапией рационально применять витамин В₁².

Витамин В₁, повидимому, оказывает благоприятное действие на

¹ Этот коэффициент у различных животных имеет неодинаковую величину: мышь—0,15; крыса—0,01; голубь—0,0023; собака—0,00006; человек—0,000284. Можно упростить для практических целей эти расчеты, считая, что ориентировочно потребность животных в витамине В₁ в среднем выражается в количестве 1 γ аневрина на 1 г принимаемых с пищей углеводов.

² В крови человека содержание аневрина колеблется в пределах от 6,5 до 16,6 γ% (32).

Применяя спинномозговую инъекцию витамина В₁, исследователи добились положительных результатов в лечении энцефалита, менингита и сухотки спинного мозга. Голяницкий, согласно его устному сообщению, получал весьма обнадеживающий эффект от применения препаратов витамина В₁ в послеоперационном периоде, после первичной обработки ран при ранении мозга.

регенерацию красной крови: описаны весьма заметные результаты при лечении аневрином пернициозной анемии и фуникулярного миэлоза. Так, до лечения было 1 000 000 и 1 200 000 эритроцитов в 1 мм³ крови, после лечения—соответственно 4 100 000 и 4 200 000; симптомы заболеваний под влиянием аневринотерапии быстро исчезали. Подобные же подтверждающие данные о лечении пернициозной анемии аневрином были опубликованы в американской литературе в 1938 г., однако в дальнейшем они не получили подтверждения. Возможно, что эти сообщения были опубликованы с целью пропаганды новых фабричных препаратов витамина.

Сфера применения аневрина в терапии ряда заболеваний центральной и периферической нервной системы все еще не определена. Во всяком случае здесь можно ожидать благоприятных результатов. Так, например, общеизвестно положительное действие аневрина при лечении наркотических и алкогольных параличей и геморрагического полимиэлиты.

Случаев проявления побочных явлений при парэнтеральном применении даже очень больших доз аневрина в клиниках не наблюдалось.

Правда, в литературе указаны следующие смертельные дозы (в мг) аневрина на 1 кг живого веса:

Мыши	125	Кролика	300
Крысы	250	Собаки	350

Однако, как видно, эти дозы оказываются столь значительными, что вряд ли могут иметь какое-либо практическое значение.

ЛИТЕРАТУРА

1. E j k m a n, G e n e e s k, Tijdschr. v. Neederl. Ind. 40, 1890; Virch. Arch. 1897.
2. F u n k, J. State Med. 26, 1912; Die Vitamine, München, 1924.
3. G o l d b e r g e r, W h e e l e r, L i l l i e a. R o g e r s, Pub. Health. Repts., 297, 1926.
4. П е с и н а, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.
5. Т р а в и н, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940; Бюлл. ВХО им. Менделеева 1—2, 1940.
6. Ч е л и н ц е в и Б е н е в о л е н с к а я, Тезисы докладов на III Всесоюзной витаминной конференции. Изд. АН СССР, 1944.
7. Т р у ф а н о в и К и р с а н о в а, Доклад на заседании биохим. секции ВХО им. Менделеева 14/II 1941.
8. Профилактическое и лечебное значение дрожжей. Способ их производства и применение. Медгиз, 1944.
9. Л е б е д е в, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.
10. Д е в я т н и н, ДАН 4, 13, 2: 106, 1936.
11. П а н ш и н а - Т р у ф а н о в а, Биохимия 5, 1934.
12. P r e b i u d a a. M e s c o l l u m, J. Biol. chem. 127, 2, 495, 1939.
13. Ш е м я к и н, Успехи Химии 16, 3; 279, 1947; Преображенский и Н а т р а д з е, Успехи химии 15, I; 427, 1946.
14. Ц и т. Б у к и н, Витамины, Пищепромиздат, 1941.

15. М у р р и, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.
16. Ш е р м а н, Витамины в теории и практике, Пищепромиздат, 1941.
17. К р а в ч и н а, Упрощенный визуальный метод определения тиамин. Сборник инструкций ВНИВИ, 1947. Ш е р м а н, витамины в теории и практике. Пищепромиздат, 1941.
18. Ш и п а л о в, Отчет о работе ЦНТЛ Союзвитаминыпрома за 1942 г. Союзвитаминыпром.
19. H e n e s s i, Ind. Eng. Chem. (anal. ed.) 13; 216, 1941.
20. Л и в ш и ц, Обзор о микробиологических методах определения витаминов, в сб. «Новое в науке и технике витаминов», Пищепромиздат, 1946.
21. Л а в р о в, Учебник физиологии питания. ОГИЗ, 1936.
22. П р о к о ш е в, Биохимия 7, 5—6, 278, 1942.
23. М у р р и, Ц и т и р. И в а н о в, Тр. Всес. н.-и. вит. ин-та, 1937.
24. Б а х, Сборник избранных трудов, ОНТИ, Лгр. 1937.
25. А б д е р г а л ь д е н, Учебник физиологической химии, Биомедгиз, 1934.
26. П а л л а д и н, Учебник биологической химии, Медгиз, 1939.
27. К р и ц м а н, Биохимия 8, 2—3, 85, 1934.
28. Е ф р е м о в, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.
29. Р ы с с, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.
30. Л е в е н ш т е й н, Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
31. C o w g i l l, J. Nutrit, 13, 24, 1937.
32. Г е р а с и м о в, Биохимия, 6, 2, 140, 1941.

ГЛАВА III

ВИТАМИН В₂ (РИБОФЛАВИН)

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ В ЧИСТОМ ВИДЕ

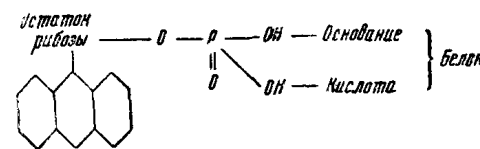
В 1926 г. был выделен входящий в комплекс витамина В термостабильный фактор. При нагревании водного экстракта дрожжей антиневритический фактор В₁ разрушался, термостабильный же фактор, оказавшийся фактором роста, не изменялся. Он был назван витамином В₂. Изучение витамина В₂ привело к изучению и синтезу важнейшего фермента живой клетки, к установлению взаимосвязи ферментных и витаминных свойств широко распространенных в природе пигментов и, наконец, дало возможность сделать некоторые обобщающие выводы относительно механизма действия витаминов в живой клетке. Идя различными путями, независимо друг от друга, исследователи пришли к одной цели — к синтезу фермента-витамина.

При В₂-авитаминозе наблюдается прекращение роста молодых животных и своеобразные кожные поражения, напоминающие пеллагру. В соответствии с этим витамин В₂ был охарактеризован как водорастворимый, термостабильный фактор, называемый также антипеллагрическим, необходимый для нормального роста, предупреждающий заболевания кожи у молодых крыс и предохраняющий человека от пеллагры. В 1932 г. был установлен параллелизм между наличием в растительных и животных тканях желтого пигмента и витамина В₂. По этим данным, экстракты желтого красителя обладали ясно выраженной зеленой флуоресценцией. Подобные хромогены и цитохромы были выделены еще в 1879 г. из сыворотки коровьего молока в виде желто-оранжевого вязкого вещества, названного лактохромом. Подобные соединения были получены, из различных растительных и животных тканей разными исследователями. Однако в свое время к этим красителям не было привлечено должного внимания. Интерес к ним возник в связи с биологическим изучением выделенного из белков куриного яйца желтого флуоресцирующего в водном растворе красителя, названного овофлавином (1), и выделенного аналогичным путем из молока красящего вещества, получившего название лактофлавина. Биологическое изучение этих флавинов на крысах показало, что действие их идентично с действием витамина В₂; они благоприятно влияли на рост молодых крыс с экспериментальной задержкой роста на почве

В₂-авитаминоза. Одновременно было установлено, что витамин В₂ антипеллагрическим действием не обладает. Для того, чтобы предупредить пеллагру у животных, находящихся на В₂-авитаминозном рационе, к нему необходимо было прибавлять, кроме флавина, еще дрожжевой отвар. К этому времени (2) было уже доказано, что в дрожжах содержится фермент — желтый пигмент, играющий *in vivo* и *in vitro* важную роль в окислительно-восстановительных реакциях.

В дальнейшем было установлено, что желтый фермент идентичен с открытыми ранее флавинами, а следовательно, и с витамином В₂. Это знаменательное открытие имело очень большое значение для дальнейшего изучения как витаминов, так и ферментов. Дальнейшие работы привели к тому, что уже в 1935 г. была определена химическая структура лактофлавина, как трициклического 6,7-диметил-9-(*d*-рибитил)-бензизбаллоксазина. Этот кристаллический препарат, вполне активный в качестве фактора роста, не оказывал, однако, лечебного действия ни при пеллагре собак «black tongue», ни при пеллагре человека. Одновременно было установлено, что пеллагра — своеобразное заболевание кожи и центральной нервной системы у человека — излечивается комплексом витаминов В₂. В 1937 г. был получен бесспорный лечебный эффект при лечении пеллагры собак никотиновой кислотой, выделенной из дрожжей, оболочек риса и других объектов, а вскоре опубликован ряд клинических работ о терапевтическом действии никотиновой кислоты при пеллагре человека. Этих данных накопилось вполне достаточно для того, чтобы в дальнейшем рассматривать пеллагру как заболевание, связанное с отсутствием в организме никотиновой кислоты, а не лактофлавина. С момента получения кристаллического витамина В₂ — лактофлавина — дальнейшее его изучение пошло весьма интересным и своеобразным путем.

К этому времени было обнаружено, что витамин В₂ широко распространен в растительном и животном мире. Кроме дрожжей, являющихся превосходным источником витамина В₂, витамин был выделен из печени и назван гепатофлавином; из почек и кишок — аналогичный ему ренофлавин; из яичного белка был выделен овофлавин, и т. д. При дальнейшем исследовании была установлена тождественность всех этих флавинов с витамином В₂. При этом было обнаружено, что часть флавина в природе находится в свободном, водорастворимом и способном к диализу состоянии, другая — иногда более значительная часть — находится в организме животных и растений в виде флавопротеина, или желтого дыхательного фермента. В 1935 г. удалось разделить флавопротеин на составные элементы и вновь синтезировать его из этих составных частей. Была предложена следующая схема строения желтого дыхательного фермента:



Согласно этой схеме, фермент образуется из фосфорного эфира рибофлавина путем агрегирования его к белку через посредство фосфорной кислоты—с одной стороны, и кислой и основной групп молекулы протеина—с другой.

Приведем один из примеров процесса выделения витамина В₂ из естественных продуктов. Классическим способом получения флавинов является адсорбция содержащих витамин экстрактов фуллеровой землей (в кислой среде), элюция адсорбированного витамина смесью метилового спирта и пиридина, вторичная адсорбция на подходящих гелях, удаление примесей, осаждение пикриновой кислотой и кристаллизация витамина в виде таллиевых или серебряных солей.

Для получения флавинов в качестве исходного сырья используют сырую печень, хлебные прессованные дрожжи, молочную сыворотку.

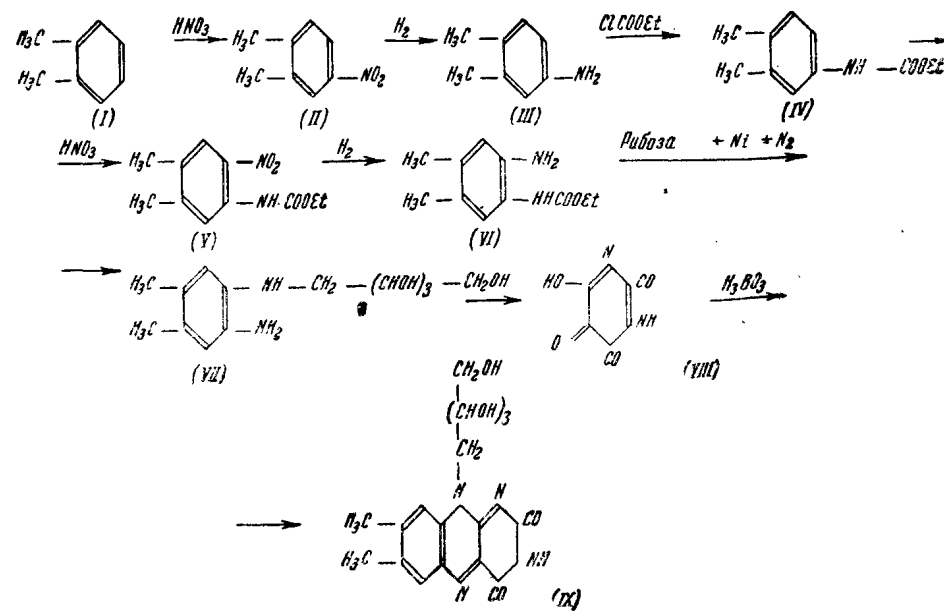
Схема Труфанова по выделению рибофлавина из дрожжей заключается в следующем. Дрожжи подвергают автолизу для отщепления флавина от белкового носителя. Автолизат экстрагируют спиртом и подкисленной водой, экстракт отделяют центрифугированием. Рибофлавин из экстракта адсорбируют на аскантите, из аскантите его элюируют водно-спиртowo-пиридиновой смесью. Из элюата витамин В₂ вновь адсорбируют сульфидом свинца, после элюции повторно осаждают азотнокислым серебром. Серебряная соль разлагается сероводородом с последующей очисткой¹.

Для синтеза рибофлавина было предложено много способов. Вначале казалось, что синтез через бензизоаллоксазины является наиболее простым, но дальнейшие исследования показали, что получение бензизоаллоксазинов с глицидным остатком в положении 9 представляет значительные трудности.

Каррер предложил вначале свой метод синтеза, по которому сахар (пентозу) конденсируют с ортофенилендиамином, одна из аминогрупп которого этилирована под давлением в автоклаве. Продукт конденсации нагревают с аллоксаном в присутствии 10%-ной соляной кислоты, ацетильная группа омыляется, амин соединяется с аллоксаном.

Однако этот метод также оказался практически мало пригодным. В 1934 г. был опубликован несколько более доступный способ синтеза, схему которого мы приводим ниже.

Ортоксилол (I) нитруется азотной кислотой в нитроксилол (II), который путем дальнейшего восстановления в присутствии палладия или губчатой платины переводится под давлением в ксилидин (III). Ксилидин конденсируется с хлороугольным эфиром в ксилидинугольный эфир (IV), который последующим нитрованием превращается в нитроксилидинугольный эфир (V). Нитрогруппа в положении 5 восстанавливается в аминогруппу (VI). Образующийся аминоксили-



динугольный эфир конденсируется с рибозой с одновременным восстановлением в рибитилдиамино-ксиллол (VII); последний в присутствии борной кислоты конденсируется с аллоксаном (VIII) в конечный продукт синтеза, 6,7-диметил-9-(d-рибитил)-изоаллоксазин (IX).

В этом синтезе наибольшую трудность представляет, как справедливо замечает Магидсон (3), получение рибозы. Если ортоксилол является веществом доступным, то, принимая во внимание, что естественными источниками d-рибозы являются нуклеиновые кислоты, получение этого продукта представляет подчас неодолимые затруднения.

Каррер пришел к мысли синтезировать d-рибозу из глюконовой кислоты. Выходы при этом синтезе получаются неудовлетворительные, а самый процесс синтеза представляется весьма сложным и длительным.

Получение рибофлавина синтетическим путем представляется крайне важным, так как из 1 кг нитроксилидина имеется возможность получить до 1,15 кг рибофлавина, т. е. такое количество, для получения которого потребовалось бы переработать около 7 млн. литров молока.

В этом отношении осуществленный в 1947 г. Витаминным институтом синтез рибофлавина из весьма доступного сырья представляет достижение советской науки исключительного значения (Березовский).

Отыскивая наиболее удовлетворительные формы синтеза рибофлавина, исследователи изучили около 40 различных флавинов и их

¹ Схема Труфанова более подробно изложена нами в предыдущей главе.

аналогов, из которых некоторые представляют безусловный интерес. В итоге проведенных работ было установлено, что рибофлавин является лишь витамином роста и не предохраняет от заболевания пеллагрой.

Таким образом, благодаря раскрытию химической природы витамина B_2 и получению чистых его препаратов, стало возможным четко разграничить ростовую и антипеллагрическую функции, которые еще до 1932 г. приписывались витамину B_2 .

Как показали работы советских ученых (Мейссель и др.), безусловного внимания заслуживает микробиологический синтез, основанный на том, что некоторые микроорганизмы обладают исключительной способностью к накоплению огромных количеств рибофлавина.

Для профилактических и терапевтических целей рекомендован ряд естественных и химически чистых препаратов витамина B_2 .

Выпускаются разные экстракты и концентраты: дрожжей (мармит), печени (гепарин, гепатокрин), сухая молочная сыворотка и т. п. Кроме того, в практике имеют большое распространение препараты витамина B_2 в комбинации с другими витаминами; мы укажем на следующие:

Пивные дрожжи (сухие и в таблетках). Рекомендуются при явлениях В-витаминной недостаточности, при гастроэнтеритах и колитах. Содержат 20 γ и выше витамина B_2 на 1 г вещества.

Высушенный яичный белок. Содержит до 20 γ овофлавина на 1 г вещества. (Так называемый «яичный порошок» содержит до 15 γ витамина.) Также имеет распространение препарат «овавин» с повышенным содержанием флавина.

Хлебные дрожжи—в порошке или таблетках. Прием по 50 г в день. **Лактофлавин**. Ампулы с раствором кристаллического рибофлавина. В одной ампуле содержится 0,5 мг рибофлавина.

Рибофлавин. Ампулы с кристаллическим рибофлавином. В ампуле содержится 1 мг вещества.

Освидон—смесь сушеного молока, яичного желтка с глюкозой и расплющенным овсом. Содержит витамины А, В, С, D и Е. Рекомендуются при всех явлениях В-витаминной недостаточности, и особенно для детей и слабых больных, а также при острых формах малокровия.

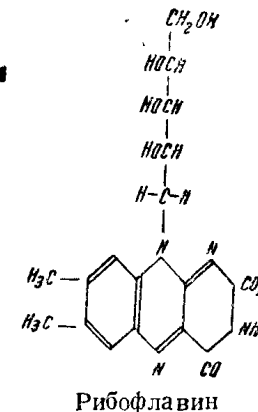
Визолон—экстракт из томатов, проросшего солода и пивных дрожжей. Богатый источник витаминов группы В и, в частности, рибофлавина. Применяется при желудочно-кишечных заболеваниях.

Доссаневрин—таблетки. Содержит смесь всех витаминов с лецитином и фосфатом кальция.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РИБОФЛАВИНА

Витамин B_2 , рибофлавин, по своему строению является 6,7-диметил-9-(d)-рибитил-изоаллоксазином с формулой $C_{17}H_{20}N_4O_6$ (мол. вес 344). Кристаллизуется в виде игольчатых желто-оранжевых кристаллов с темп. плав. 282° (разлаг.). Обладает резким горьким вкусом. Кристаллический рибофлавин обычно—полиморфен: он образует три вида кристаллов с темп. плав. $291-292^\circ$; $295-296^\circ$ и $280-282^\circ$. Стабилен в кислотах; в щелочах разрушается. В 100 мл

воды при 27° растворяется 12 мг, при 40° —19 мг; растворяется в этиловом спирте (4,5 мг в 110 мл при 27°), в ледяной уксусной кислоте, амиловом спирте, пиридине, циклогексане, феноле, амилацетате. Отлично растворим в подщелоченных водных растворах. Нерастворим в ацетоне, эфире, хлороформе, бензоле и петролейном эфире.¹



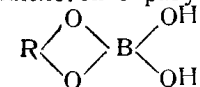
Водный раствор—желто-зеленого цвета, в нейтральной среде дает интенсивную зеленую флуоресценцию, исчезающую при добавлении кислот и щелочей. Кривая флуоресценции дает выраженный оптимум при pH 4—8.

В обе стороны от этого оптимума интенсивность флуоресценции уменьшается. В растворе гликоколя при pH 8,2—10,1 появляется синяя флуоресценция.

Оптическая активность рибофлавина зависит от концентрации раствора и от его реакции: кислый и нейтральный растворы оптически не активны, щелочной раствор вращает плоскость поляризации влево $(\alpha)_{20D} = -118 \pm 10^\circ$ в $N/20$ NaOH.

Изоэлектрическая точка рибофлавина находится при pH 6; нормальные окислительно-восстановительные потенциалы рибофлавина и его производных—отрицательные (табл. 18).

¹ Рибофлавин с борной кислотой образует комплекс состава:



отлично растворимый в воде и применяющийся для внутривенных инъекций.

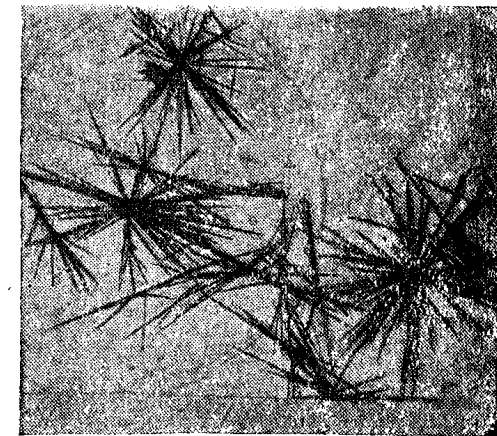


Рис. 7. Кристаллический рибофлавин

Нормальные редокс-потенциалы рибофлавина и некоторых его производных

Вещество	Температура плавления (в °С)	Нормальный потенциал по отношению к нормальному водородному электроду	
		pH 5,5 (найдено)	pH 7 (вычислено)
Рибофлавин	282—296*	—0,146	—0,270
Тетраацетилат рибофлавина .	246	—0,126	—0,190
Люмирибофлавин	334	—0,156	—0,220
Монометилрибофлавин	326	—0,151	—0,215
Диметиллюмифлавин	236	—0,136	—0,200

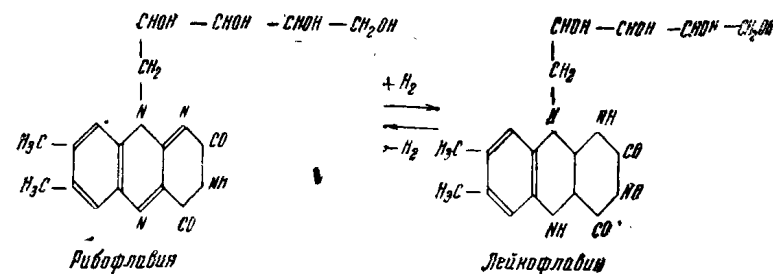
Витамин B₂, как следует из этих данных, является в нейтральной среде слабым окислителем и сильным восстановителем. Спектр поглощения рибофлавина дает полосу поглощения при 445 мμ. Спектр флуоресценции имеет полосы поглощения в области желтого и зеленого цвета между 5150 и 6450 Å.

Рибофлавин весьма устойчив по отношению к нагреванию (в кислой среде); термостабильность рибофлавина позволяет отделить его от других витаминов комплекса В. При пятичасовом нагревании до 120° в кислой среде (pH 1) рибофлавин почти не теряет своей активности. Напротив, нагревание даже в слабощелочной среде (pH 7,2—9) до 120° в течение одного часа приводит к разрушению активности витамина почти на 50%. Неустойчив к свету; при хранении растворов на свету они быстро теряют свою активность.

При пастеризации молока содержащийся в нем рибофлавин разрушается на 9—16%; при облучении молока ультрафиолетовым светом—на 5—8%; при хранении молока в обычных условиях (ледник) за три дня обнаружены потери рибофлавина в количестве 3—5%. При стоянии молока на прямом солнечном освещении через три часа были обнаружены потери рибофлавина в количестве 60% исходного его содержания.

* См. выше о полиморфизме кристаллов рибофлавина.

Рибофлавин легко окисляется и восстанавливается.



При восстановлении его водородом в присутствии платиновой черни или цинком в уксусной или соляной кислоте рибофлавин переходит в свою лейкоформу. При восстановлении до лейкофлавина рибофлавин претерпевает ряд последовательных превращений (табл. 19).

Таблица 19

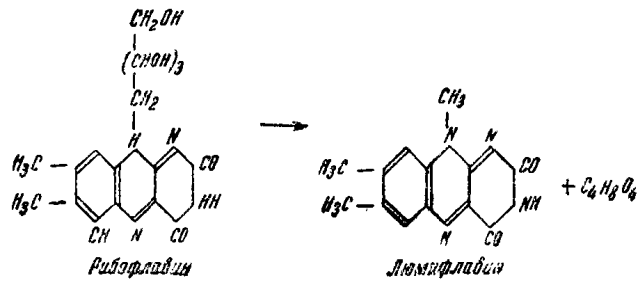
Продукты, образующиеся в процессе восстановления флавина

Вещество	Состав	Окраска раствора
Рибофлавин		Интенсивно желтая
Вердофлавин	1 мол. флавина + 1 мол. гидрофлавина	Зеленая
Хлорофлавин	1 мол. флавина + 1 мол. лейкофлавина	Зеленая, слабая
Родофлавин	1 мол. лейкофлавина + 1 мол. гидрофлавина	Малиновая
Лейкофлавин	Дигидрофлавин	Бесцветная

Благодаря образованию семихинонов как при восстановлении, так и при обратном окислении, флавин меняет свою окраску от интенсивно желтой до бесцветной. При окислении лейкофлавина на воздухе он снова легко возвращается в исходное состояние, переходя гамму цветов в обратном порядке; следовательно, эта реакция является легкообратимой.

Решающее значение для установления структурной формулы витамина имели опыты облучения флавина в щелочной среде (щелочной фотолиз); при этом образовывалось вещество с эмпирической формулой C₁₃H₁₂O₂N₄, отличавшееся от флавина на некоторую разность C₄H₈O₄, представляющую по своему составу рибозу. Этими экспериментами было доказано, что при освещении флавина в щелочной среде от него отщепляется рибоза и образуется новое

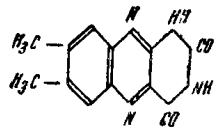
вещество — люмифлавин, как это представлено ниже:



Люмифлавин приобретает, в отличие от флавина, новое свойство — растворяться в хлороформе и жирах. Так же, как и флавин, он способен к реакциям восстановления — окисления, однако биологической активностью витамина он не обладает¹.

Из люмифлавина при щелочном гидролизе получается мочевина. Из лактофлавина были получены тетраацетильное и диацетоновое производные, а при окислении лактофлавина тетраацетатом свинца выделялось 0,78 молекулы формальдегида.

При облучении флавина ультрафиолетом в нейтральной или слабокислой среде получается производное бледно-желтого цвета, которое было названо люмихромом. Этот продукт оказался идентичным 6,7-диметилбензаллоксазину:

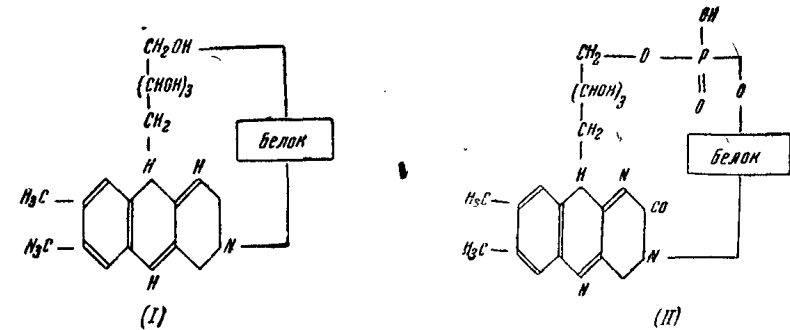


Люмихром — бесцветное вещество, обладающее в щелочных растворах желтой окраской. В спиртовых и хлороформенных растворах показывает великолепную голубую флуоресценцию; в щелочном растворе флуоресцирует бледным желтовато-зеленым цветом. Люмихром был получен синтетическим путем, и, таким образом, удалось подтвердить его строение.

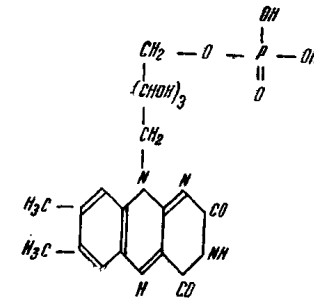
Рибофлавин легко этерифицируется фосфорной кислотой, образуя фосфорный эфир. Рибофлавин и его фосфорный эфир способны вступать в соединение с белками, превращаясь в первом случае в флаво-

¹ Рибофлавин может быть также восстановлен гидросульфитом натрия и хлористым титаном.

протеины (I), во втором — в флавин-энзим (II), или желтый дыхательный фермент.



Из желтого фермента, кроме того, удалось получить флавин-фосфорную кислоту. Подвергая раствор желтого фермента в пиридине действию трифенилметила, исследователи синтезировали 5-трифенилдиметилэтер флавина; этот эфир ацетилировался и омылением водной уксусной кислотой удалялся трифенилметилэтер радикал. Полученный 2,3,4-триуксусный эфир флавина обрабатывался хлор-окисью фосфора и после отщепления ацетильной группы получалась флавин-5-фосфорная кислота¹:



Из свойств флавинфосфорной кислоты отметим следующие: она значительно легче растворима в воде, чем флавин, не растворяется в хлороформе, эфире и метаноле. В присутствии этилового спирта легко осаждается из растворов солями щелочноземельных металлов, образуя трудно растворимые соли. Фосфорный радикал в желтом ферменте способствует значительной устойчивости его в различных средах, тогда как флавопротеин — слабоустойчивое соединение.

Соединяя синтетическую и полученную из натуральных продуктов лактофлавинфосфорную кислоту с апоферментом, белковым носителем желтого фермента, удалось синтезировать желтый

¹ Цитофлав Банга, как позднее было выяснено, является флавинфосфорной кислотой.

фермент, не диализирующийся, не флуоресцирующий и окисляющий (дегидрирующий) субстрат так же, как природный желтый фермент.

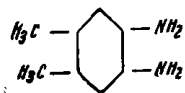
Соединение протеина-носителя с флавинофосфорной кислотой происходит копулированием первого к последней как за счет фосфорной кислоты, так и аминогрупп в положении 3, как это изображено в вышеприведенной структурной формуле. Это следует прежде всего из того факта, что присоединение протеина к флавинофосфорной кислоте ведет к повышению окислительно-восстановительного потенциала флавина на 0,12 вольт (E' желтого фермента = $-0,06$, флавина и флавинофосфорной кислоты = $0,18$). Между тем ни от каких изменений основной цепи, равно и от фосфорилирования, окислительно-восстановительный потенциал рибофлавина не изменяется. Это обстоятельство заставляет заключить, что протеин-носитель присоединяется к аминогруппе ядра, а не к боковой цепи.

Вторым доказательством того же положения является характерное для соединения флавинофосфорной кислоты с протеином исчезновение флуоресценции.

Таким образом, для образования желтого фермента и для наличия витаминной функции витамина B_2 в том или ином гомологе флавина необходимо, чтобы аминогруппа в положении 3 была свободной, была бы фосфорилирована лишь одна алкогольная группа боковой цепи и чтобы эту боковую группу образовал правовращающий углевод.

Из других свойств рибофлавина отметим следующие: в нейтральном растворе рибофлавин с солями серебра и одновалентного таллия дает хорошо кристаллизующиеся соли, из которых можно выделить свободный флавин, разлагая их сероводородом. Из подкисленных водных растворов рибофлавин осаждается фосфорно-вольфрамовой кислотой, уксуснокислым свинцом (частично) и сернокислой ртутью; не осаждается пикриновой кислотой. Хорошо адсорбируется фуллеровой землей, франконитом, флоридзином, норитом, асканитом (в кислой среде), сернистым свинцом. Из адсорбентов элюируется водно-метанолово-пиридиновой смесью. Не адсорбируется $CaCO_3$, Al_2O_3 , каолином и кизельгуром. Диализирует через мембраны, проходимость для метиленовой синьки. С ацетоном, подкисленным соляной кислотой, дает кристаллизующееся ацетоновое производное. После гидролиза соляной кислотой дает синее окрашивание с раствором $FeCl_3$.

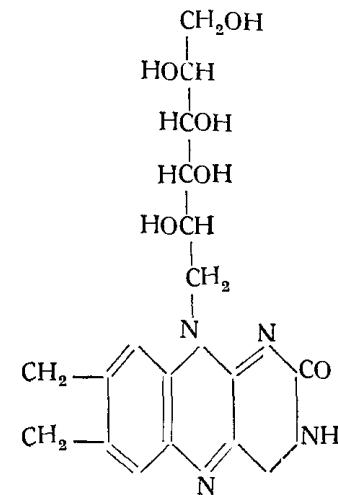
При этом образуется 1,2-диметил-4,5-диаминобензол:



который, в отличие от других диаминобензолов, дающих коричневое окрашивание, образует голубой раствор. Вместо радикала рибозы в состав витамина B_2 может быть введен радикал ксилозы, арабинозы,

рамнозы, но все эти соединения значительно уступают рибофлавины в силу своего биологического действия или вовсе таковым не обладают.

Некоторые гомологи флавина не только не являются физиологически активными соединениями, но обладают прямо противоположным, «антивитаминным» действием. Так, галактофлавин подавляет рост крыс; находящихся на B_2 -авитаминозной диете, и вызывает у них симптомы, характерные для B_1 -авитаминоза.



1 г рибофлавина соответствует 400 000 и. е. За 1 и. е. условно принимают 2—3,5 μ рибофлавина.

ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РИБОФЛАВИНА

Современные методы химического определения рибофлавина основаны либо на определении интенсивности флуоресценции самого рибофлавина или люмифлавина, получаемого при щелочном фотоллизе рибофлавина, либо на непосредственном колориметрировании желтых растворов флавина. Первый способ является более точным; второй, менее точный, применим лишь к хорошо очищенным от посторонних пигментов вытяжкам.

1. Метод люмифлавиновый с изменениями, внесенными ВНИВИ (4). Навеску исследуемого материала, в зависимости от активности—2—5 г, заливают 10-кратным количеством 75%-ного метанола и оставляют на автолиз в темноте при 35—37° на 20—30 час., время от времени перемешивая. Смесь фильтруют, фильтрат обрабатывают в делительной воронке 2—3 раза хлороформом¹;

¹ Количество хлороформа, используемого для этой операции, составляет от 5 до 15 мл.

хлороформ выбрасывают, а водно-метиловый раствор упаривают при 60° до удаления метанола; водный остаток переносят в мерную колбу на 50 мл и доводят до метки водой. Из этого раствора отбирают в низкий широкий бюкс 4 мл, прибавляют 1 мл 10%-ного раствора NaOH и сильно щелочной раствор освещают в течение 1 часа электрической лампой мощностью 500—800 ватт, устанавливая бюкс на расстоянии 0,5 м от лампы. Раствор необходимо перемешивать и следить за его температурой, которая не должна быть выше 15—17°. Бюкс помещают в кристаллизатор с холодной водой, если нужно, охлаждаемой кусочками льда. По прошествии часа раствор люмифлавина подкисляют до слабокислой реакции 20%-ной уксусной кислотой и обрабатывают в делительной воронке хлороформом. Люмифлавин переходит в хлороформ, придавая ему интенсивную зеленую флуоресценцию, степень которой измеряется или визуальнo в ультрафиолетовом свете ртутно-кварцевой лампы, или флуорометром.

Расчет содержания рибофлавина производят по следующей формуле:

$$X = \frac{v \cdot b}{a \cdot c},$$

де: X — содержание рибофлавина в γ на 1 г,
 v — объем, до которого доведена взятая навеска,
 b — количество γ люмифлавина в испытуемой вытяжке, соответствующее стандартной шкале,
 a — навеска исследуемого вещества в г,
 c — количество миллилитров вытяжки, взятой для фотолнза.

Приготовление стандартной шкалы рибофлавина. 10 мг кристаллического рибофлавина растворяют в 25 мл воды. Раствор хранят в темноте; устойчив в течение 4 месяцев (раствор I). Из первого раствора берут 2,5 мл (1000 γ рибофлавина) в мерную колбу на 100 мл и доводят водой до метки (раствор II).

В десять широких бюксов вносят по 1 мл 10%-ного раствора NaOH и следующие количества раствора II: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 мл, что соответствует 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 γ рибофлавина. Объем жидкости в бюксах доводят водой до 5 мл и подвергают фотолнзу при 15—17° в течение 1 часа светом лампы 500—800 ватт, на расстоянии 0,5 м от лампы. Затем растворы подкисляют 20%-ной уксусной кислотой до слабокислой реакции на лакмус.

Пробу из бюксов переносят в делительные воронки и обрабатывают тем же количеством хлороформа, которое было использовано для извлечения люмифлавина в исследуемом растворе.

Хлороформенные растворы профильтровывают в ряд пробирок одинакового диаметра из бесцветного стекла. Пробирки закрывают пробками и хранят в темном месте. Шкала устойчива в течение 1 месяца.

В целях дальнейшего улучшения метода вводится дополнительно адсорбция рибофлавина на фторидзине, на фуллеровой земле или на асканите.

При определении фламина в молоке применяется этот же метод, с дополнительным осаждением белков молока трихлоруксусной кислотой.

Есть, однако, основание полагать, что люмифлавиновый метод определения рибофлавина дает значительные потери витамина B₂. В этом отношении особого внимания заслуживает флуорометрический метод Рубина, основанный на гашении флуоресценции гидросульфитом натрия в присутствии хлористого олова (5)¹.

2. Метод Эккелен и Эммери (определение витамина B₂ в моче). К 100 мл мочи прибавляют раствор уксуснокислого свинца и обрабатывают H₂S до полного выпадения свинца в осадок, основательно встряхивают и отфильтровывают на бюхнеровской воронке. Из адсорбата фламин извлекают смесью воды + 1,8% пиридина + 0,2% ледяной CH₃COOH, элюат помещают перед отверстием камеры, заключающей ртутно-кварцевую лампу, и в ультрафиолетовом свете измеряют флуоресценцию со стандартным раствором фламина.

Поволоцкая (6), проверяя различные методы количественного определения витамина B₂, пришла к заключению, что метод Эккелен и Эммери мало удовлетворителен: при одной адсорбции, как это делают авторы, определяется всего лишь 45—55% имеющегося количества фламина. Поэтому Поволоцкая рекомендует производить последовательно три адсорбции сернистым свинцом; при элюировании каждого осадка тремя порциями элюирующей смеси удастся повысить количество определяемого фламина до 90—95% (7).

3. Колориметрический метод. В животных тканях, где желтые пигменты представлены по преимуществу одним рибофлавином, оказалось возможным измерять естественную желтую окраску вытяжек путем сравнения со стандартными растворами.

Животную ткань хорошо измельчают и отмывают водой до получения прозрачных промывных вод. Для извлечения фламина измельченные и промытые ткани экстрагируют 10-кратным объемом 75%-ного метанола в течение 36—48 час. при температуре 20—36°. После центрифугирования полученного экстракта, содержащего все флавины данной ткани, прозрачную жидкость сливают и обрабатывают равным объемом хлороформа для удаления загрязняющих веществ (метаноловая фракция должна быть совершенно прозрачной). Слой разделяют в делительной воронке: хлороформенный — удаляют, а желтый метаноловый — сравнивают в колориметре со стандартным раствором K₂CrO₄; окраска раствора, содержащего 0,1 мг K₂CrO₄ в 1 мл, соответствует по окраске содержанию 2,37 γ рибофлавина в 1 мл испытуемого раствора. Этот метод применен Кравчиной для анализа драже и других изделий с витамином B₂.

¹ Этот метод в последнее время используется в ряде лабораторий при определении витамина в разных продуктах растительного и животного происхождения.

Наибольшее распространение в практике лабораторий в настоящее время получают микробиологические методы определения рибофлавина; по этому вопросу см. соответствующую литературу (8). Биологические методы определения рибофлавина (на крысах) практического интереса не представляют.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ РИБОФЛАВИНА В ПРИРОДЕ И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАСТЕНИЙ

Рибофлавин, относящийся к группе водорастворимых пигментов, так называемых лиохромов, широко распространен в растительном и животном мире.

Сопоставляя водорастворимые пигменты—лиохромы с жирорастворимыми—липохромами, мы усматриваем между ними следующие различия.

Таблица 20

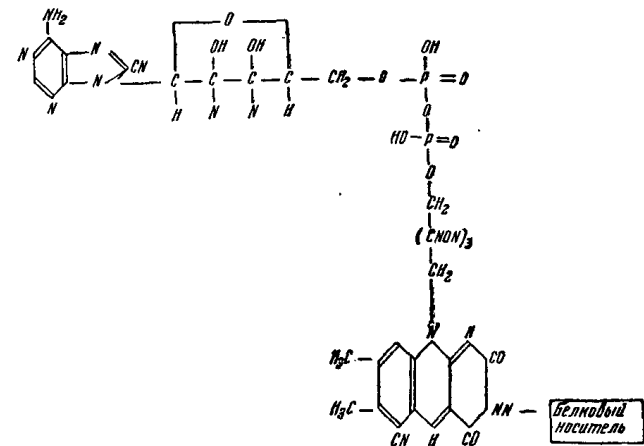
Свойства лиохромов и липохромов

Свойства	Лιοхромы	Липохромы
Содержание азота	+	—
Растворимость в воде	+	—
» » жире	—	+
Цвет раствора	желто-оранжевый	желто-красный
Флуоресценция	зеленая, сильная	желтая, слабая
Отношение к кислотам	стабильны	не стабильны
» » щелочам	не стабильны	стабильны
» » окислителям	стабильны	не стабильны
» » свету	не стабильны	не стабильны
Окисленное вещество	бесцветно	бесцветно
Представители	флавины	каротиноиды
Синтезируются	растением	растением
Биологические свойства	ферменты, витамин B ₂	провитамин А
Физиологически активный вид	агрегация с фосфорной кислотой и белком	упрощение молекулы
Активность (в γ на крысу)	5 γ рибофлавина	5 γ α-каротина 2,5 γ β-каротина,

У животных и растений флавины содержатся и в виде свободного рибофлавина, и в виде различных комплексов более или менее сложной структуры; причем большая часть флавинов представлена в форме фермента.

Участие рибофлавина в окислительно-восстановительных процессах живой клетки, повидимому, чрезвычайно широко и разнообразно; это можно заключить хотя бы из того, что рибофлавин участвует не только в построении молекулы желтого дыхательного фермента, осуществляющего дыхание клетки без геминной системы, но и в построении молекулы диафоразы, которая является ферментом,

окисляющим дигидропиридин в дифосфопиридиннуклеотиде осуществляющем дегидрирование с помощью пиридинового основания¹. Предложена следующая формула диафоразы:



Как видно, в состав этого фермента входит молекула флавина. Ферменты представленного типа, содержащие в своей молекуле указанные группировки в качестве простетической группы, но различающиеся по характеру белкового носителя, различаются также и по своим энзиматическим свойствам. Отсюда следует, что ферментов типа диафоразы имеется несколько, и роль флавина, таким образом, значительно расширяется; из дрожжей, в частности, был выделен еще один фермент, несколько отличающийся в строении своей простетической группы, но также содержащий флавины.

Следует также отметить, что в состав фермента, осуществляющего дезаминирование аминокислот, также входит флавины.

Мы можем, на основе имеющихся данных, предполагать, что рибофлавин в виде фосфорного эфира или флавинофосфорной кислоты входит также в состав следующих ферментов, осуществляющих в организме окислительно-восстановительные реакции:

Фермент	Место реакции
Цитохром С-редуктаза	дрожжи верхнего брожения
Диафораза I	сердечная мышца
» II	дрожжи нижнего брожения
Альдегид-оксидаза	молоко
Ксантин-оксидаза	»
Альдегид-оксидаза печени	печень
Оксидаза α-аминокислот	почки, печень
Глюко-оксидаза	дрожжи верхнего и нижнего брожения
Диамино-оксидаза	почки, дрожжи верхнего брожения

¹ Относительно строения фермента, в состав которого входят флавины и никотинамид, см. соответствующий раздел настоящей книги.

Рибофлавин синтезируют только растения, которые и являются поставщиками готового витамина для животных; большое количество рибофлавина находится в дрожжах и некоторых видах бактерий. Так, бактерии маслянокислого брожения содержат до 15 мг% рибофлавина на сухой вес. Замечательно, что в то время как бактерии брожения содержат часто очень большое количество рибофлавина (причем энергия образования увеличивается пропорционально накоплению его), многие патогенные микроорганизмы его не содержат.

Рибофлавин играет важную роль в процессах фотосинтеза и роста растения. Поволоцкая, определяя рибофлавин в зерне в различные периоды его прорастания, установила, что во время созревания количество рибофлавина уменьшается; при прорастании зерна в темноте количество рибофлавина увеличивается параллельно возрастанию содержания аскорбиновой кислоты и интенсивности энергии дыхания. По сравнению с аневрином наблюдается обратное явление: содержание рибофлавина в растениях снижается к концу вегетационного периода; сено, собранное осенью, много беднее рибофлавином по сравнению с сеном, собранным летом и тем более весной. Существует мнение, что флавины имеют такое же значение для растений, как и биос, являясь своего рода витамином роста растительной клетки.

В растениях рибофлавин распределен неравномерно. Он накапливается в пигментированных частях растений. Так, например, в пыльце хвойных деревьев его находят до 8—10 γ на 1 г сырого вещества, в плодах и овощах содержание его снижается до 0,5—0,7 γ на 1 г.

Источником витамина B₂ в нашем питании являются главным образом мясные продукты, молоко и яйца, плоды, овощи и злаки, а также некоторые продукты брожения.

Таблица 21

Содержание рибофлавина в разных объектах (в γ%)

Наименование объектов	Содержание рибофлавина	Наименование объектов	Содержание рибофлавина
1. Растения и растительные продукты			
а) Овощи и фрукты			
Абрикосы свежие . . .	5,7	Лимон, мякоть	6,0
» сушеные	57,0	» сок	3,0—10,0
Апельсины, мякоть . . .	8,4	Лук зеленый	20,0—50,0
» сок	13,0—18,0	» репчатый	до 16,0
Бананы	7,5	Репа	14,0
Брюква	30,0	Морковь сырая	20,0
Виноград, сок	6,0	Томаты	до 50,0
Грейпфрут сок	9,0—14,0	Томат-паста	50,0—70,0
Груши	следы	Фасоль	33,0
Капуста белокочанная .	50,0	Шиповник, плоды	6,0—30,0
» цветная	50,0	Шпинат свежий	57,0
Картофель	10,0	» сушеный на воздухе	570,0
		Шпинат сушеный в вакууме	800,0—1000,0

Наименование объектов	Содержание рибофлавина	Наименование объектов	Содержание рибофлавина
Яблоки, разные сорта . .	6,0	д) Прочие растительные объекты	
б) Зерно и продукты его переработки		Пыльца хвойных деревьев	200,0
Горох	90,0	Пыльца цветочная . . .	900,0
Кукуруза	100,0		
Овес	60,0	II. Животные ткани и органы	
Пшеница (молочная спелость)	115,0—139,0	Гипофиз быка, задняя доля	2,5—50,0
Пшеница (восковая спелость)	100,0—120,0	Гипофиз быка, передняя доля	50,0—100,0
Пшеница (техническая спелость)	80,0—90,0	Глаз быка, сетчатая оболочка	100,0—500,0
Пшеница, зародыши . . .	300,0—1000,0	Глаз овцы	свыше 500,0
Пшеница, клейковина . .	33,0	Глаз кошки	100,0—500,0
Пшеница, отруби	40,0	Глаз курицы	до 50,0
Ячмень	85,0	Глаз собаки	1000—2000
в) Кормовые травы		Глаз рыбы	500—1000
Люцерна, сено	700,0—1700,0	Желтое тело крупного рогатого скота	50,0—100,0
» мука из сена	1000,0	Легкое крупного рогатого скота	150,0—265,0
Трава злаковая	50,0—1000,0	Мясо крупного рогатого скота	до 95,0
Трава молодой пшеницы	до 1700,0	Мясо курицы	следы
Трава тимopheвка	1200,0—1700,0	» лосося	»
		» сельди	»
г) Водоросли		» трески	»
Dictyota dichotoma . . .	60	Мозг крупного рогатого скота	100,0—500,0
Heterochordonia abietina	65,0	Надпочечники рогатого скота	500—1000
Laminaria angustata . . .	17,7	Печень барана, зимняя . .	4300,0
» japonica	1,0	» бычья, летняя	2800,0
		» » зимняя	3400,0
Зеленые		» кролика	4000—5000
Codium divaricatum	36,0	» рыба	до 3000,0
Ulsa conglobata	2,0	» свинья	2700,0
		Почки быка	1000—2000
Красные		Селезенка коровы	50,0—100,0
Hipnea sediculosa	11,0		
Iridiace pulchra	110,0		
Porphyra Tenera	29,0		
Rhodonella sulfusa	1,0		
Sigarina feedii	53,0		

Наименование объектов	Содержание рибофлавина	Наименование объектов	Содержание рибофлавина
III. Молоко и яйца		V. Прочие продукты	
Молоко коровье, летнее цельное	100,0—300,0	Вино виноградное, сухое	8,0
Молоко коровье, зимнее » » снятое	30,0—45,0	Мармит	до 3300,0
Молочная сыворотка	45,0	Мед	» 100,0
Сыр тощий	75,0	Пиво светлое	29,0
Яйца курицы, белок	20,0	Ячменный солод	210,0
» » желток	150,0—200,0		
Яичный белок сухой	500—1000	VI. Микроорганизмы и грибки	
» желток »	до 1500,0	а) анаэробные	
» порошок	» 10000,0	B. Delbrückii	11000—12000
	1000—1400	B. Lactis acidii	11000,0
		Clostridium butyricum	13500,0
IV. Концентраты и экстракты		б) аэробные	
Экстракты из рисовых отрубей	800—1000	B. coli commune	0
Дрожжи пивные	1800—3000,0	» pasteurianum	1500,0
» хлебные	до 3600,0	B. subtilis	0
Зародыши пшеницы	9000—94000	Proteus vulgaris	0
Экстракты дрожжей	12000—20000	Staphylococcus aureus	0
Дрожжевые концентраты сухие	15000—20000	в) грибки	
Печеночные экстракты сухие	22000—62000	Aspergillus niger	0
Специальные лечебные концентраты	до 500000,0	Penicillium glaucum	0
		Aspergillus flavus (мицелий)	до 250000,0

Из таблицы видно, что наиболее богаты витамином B₂ печень, почки и некоторые другие органы животного, а также пивные и хлебные дрожжи, яйца и микроорганизмы; из продуктов растительного происхождения выделяются зародыши злаков, томаты, капуста, шпинат и др.

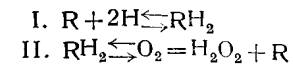
Витамин B₂ очень устойчив к нагреванию, особенно в кислой среде. Поэтому особых мер предосторожности при изготовлении пищи, хранении ее впрок и сушке не предложено. Представляло бы интерес изучить поведение витамина в продуктах, хранившихся в темноте и на свету, но таких данных, к сожалению, еще не имеется.

Обычный рацион практически обеспечивает потребность человека в витамине B₂. Однако возможно, что при некоторых условиях, например в раннем детском возрасте, а также в период беременности и кормления и в случаях патологического состояния организма может наблюдаться дефицит в витамине B₂, приводящий к ряду серьезных нарушений обмена веществ.

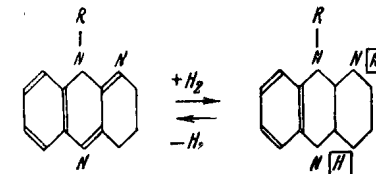
РИБОФЛАВИН В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНОГО И ЧЕЛОВЕКА

В животном организме рибофлавин накапливается до известного предела и образует депо в печени, в почках, надпочечнике и желтом теле; в умеренном количестве он находится в других паренхиматозных органах и лишь в очень небольшой концентрации обнаруживается в крови¹. Основная часть рибофлавина в органах и тканях животного находится в связанном состоянии, в виде флавино-энзима или ферментов другого строения.

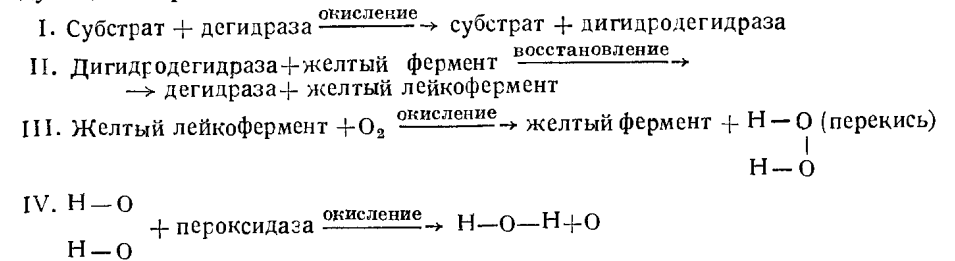
Участие рибофлавина в окислительных процессах, совершающихся в организме, может быть условно изображено следующим образом:



Желтый фермент (R), присоединяя к себе водороды, восстанавливается в бесцветное соединение—лейкофермент (RH₂); лейкофермент, потребляя кислород тканей, вновь окисляется до желтого фермента. В результате этой реакции образуется перекись, в дальнейшем расщепляющаяся в соответствии с схемой Баха (8). Присоединение водорода к простетической группе фермента схематически можно представить так:



Восстановление желтого фермента может протекать за счет систем, содержащих легко дегидрирующиеся молекулы. Примером этого может служить кодегидраза, имеющая в своей молекуле восстановленный пиридин. Тогда схема действия всей окислительно-восстановительной системы легко может быть иллюстрирована следующим образом:



Подобного же рода система как мы увидим ниже, осуществляется также и при помощи других легко дегидрируемых соединений, каким является, например, аскорбиновая кислота.

¹ Ввиду имеющихся в литературе противоречивых данных по содержанию рибофлавина в крови мы затрудняемся привести достаточно достоверные цифры.

Рибофлавин является водорастворимым фактором, обеспечивающим рост животного. Дневная доза в 3—5 у обеспечивает ежедневную прибавку в весе у крыс 0,9—1,0 г. Авитаминоз В₂ у крыс проявляется, однако, не только в остановке роста. У авитаминозных крыс по прошествии трех месяцев начинается облысение, в первую очередь на морде около глаз (так наз. очки); выпадение волос наблюдается также на шее, на груди, спине, лапках и животе. Это сопровождается шелушиванием эпителия и экземоподобными образованиями (9).

В далеко зашедших случаях наблюдаются явления со стороны нервной системы: ослабление задних конечностей, вплоть до атрофического пареза. Имеются указания, что рибофлавин участвует в процессах восстановления зрительного пурпура и, следовательно, способствует нормальному зрению.



Рис. 8. Авитаминоз В₂ у птиц. Задержка роста. Цыпленок 75-дневного возраста на В₂-авитаминозной диете

Участие рибофлавина в зрении, кроме того, заключается в том, что под его влиянием синие коротковолновые лучи превращаются в глазу в свет с зеленой флуоресценцией, к которому глаз животного обладает наибольшей чувствительностью¹.

Участье рибофлавина в зрении, кроме того, заключается в том, что под его влиянием синие коротковолновые лучи превращаются в глазу в свет с зеленой флуоресценцией, к которому глаз животного обладает наибольшей чувствительностью¹.

Ефремов и другие авторы наблюдали у авитаминозных собак парез задних конечностей, полукomatозное состояние и в далеко

зашедших случаях—коллапс, глубокую кому с рвотой и резким падением температуры, кончавшиеся гибелью животных. Подобного же рода симптомы были отмечены и для цыплят, кур и голубей.

Как мы указывали выше, рибофлавин играет важнейшую роль в окислительно-восстановительных процессах организма и, повидимому, имеет близкое отношение к сохранению структуры нервной системы, однако рибофлавиновая недостаточность у человека почти не была изучена. Лишь в последнее время в литературе появились сообщения разных авторов, наблюдавших этот авитаминоз. По данным Коуджилл, Пальмиери и др., у женщин, не получавших рибофлавина, через три месяца развился ангулярный стоматит, себоррея ушей и носа, быстро ликвидированные назначением рибофлавина.

Рысс (10) полагает, что дефицит витамина В₂ может иметь значение в развитии кишечных кровотечений и служить одной

из причин возникновения язвенных колитов. Мышечная слабость, блефорит, антоцианоз, а также депрессии или повышенная возбудимость нервной системы, сопровождающие некоторые заболевания, особенно при наличии желудочно-кишечных расстройств, могут рассматриваться как скрытая форма В₂-гиповитаминоза¹. К этому нередко присоединяются заболевания глаз (с появлением светобоязни), поражения губ и рта, имеющие себоррейный характер (хейлоз).

Имеется тесная связь между количеством белка в рационе животного и уровнем флавиновых ферментов в организме. Опыты Труфанова показывают, что при белковой недостаточности синтез в организме дифосфопиридиннуклеотидов тормозится (12).

Голяницкий (13) считает рибофлавин необходимым фактором неспецифического иммунитета. Устойчивость организма к стафилококковой и стрептококковой инфекциям может быть значительно повышена при систематической даче рибофлавина. Автор считает витамин В₂ отличным средством для профилактики и терапии гнойно-воспалительных процессов. По мнению автора, рибофлавин, кроме того, обладает антиинфекционным, антианемическим и антигеморрагическим свойствами.

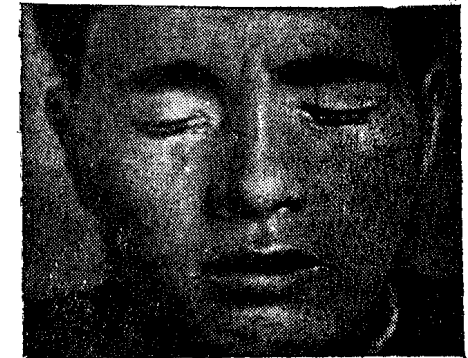
В последнее время признают за рибофлавином очень важную роль в регенерации крови. У В₂-авитаминозных больных наблюдается возникновение макроцитарной гипохромной анемии; симптомы заболевания исчезают вскоре же после назначения 5—10 мг рибофлавина в день.

Относительно его влияния на другие функции организма известно еще очень мало. Хотя и подчеркивается важное значение рибофлавина в активировании действия протеолитических ферментов, в регулировании поджелудочной железы и надпочечников, однако последовательных опытов, подтверждающих это обстоятельство, мы пока не имеем.

Есть указания иностранных авторов, что рибофлавин ускоряет свертываемость крови (по сравнению с контролем на 25%), однако



Рис. 8. Арибофлавиноз у человека. Поражение, кожи лица и глаз



¹ Большое количество рибофлавина найдено в сетчатке глаза плотоядных животных (кошки). Это обстоятельство, повидимому, обеспечивает животным способность к ночному зрению. Помимо этого, имеются указания, что в отсутствии рибофлавина и витамина С легко возникают катарракты, которые устраняются указанными витаминами.

¹ Глосситы, стоматиты, афты и поносы, сочетающиеся с анемическим состоянием, Черкес (11) считает за признаки скрытых форм В₂-авитаминоза.

это ускорение не более значительно, чем при применении общераспространенных коагулянтов.

Витамин В₂, поступая в организм с пищей, по преимуществу в виде белкового комплекса, гидролизует в желудочно-кишечном тракте и всасывается пилорической частью желудка и в тонких кишках в свободном виде. Током крови он разносится по организму, образуя депо в печени, почках и надпочечниках. Где происходит обратный процесс превращения рибофлавина в фермент—неизвестно, но часть его, уже в фосфорилированном состоянии, накапливается в печени, почках, в сетчатке глаза и других органах и тканях.

Может быть, фосфорилирование рибофлавина протекает таким же образом, как и превращение аневрина в кокарбоксиллазу? Отметим лишь характерный факт, что моноиодуксусная кислота тоже тормозит процесс фосфорилирования рибофлавина, как и аневрина.

У людей и животных явлений гипервитаминоза наблюдать не удавалось; избыточный рибофлавин удаляется организмом. В условиях нормального снабжения витамином человек ежедневно выделяет с мочой от 360 до 1500 γ свободного рибофлавина.

Минимальная суточная потребность человека в витамине В₂ определяется в среднем в 2 мг. Эта доза вполне обеспечивает взрослого человека весом в 60 кг от В₂-гиповитаминоза. По Лепскому (14), для грудного ребенка потребность в этом витамине выражается в среднем около 0,5 мг, для детей старшего возраста 1—2 мг в день. По некоторым данным (15), дневная потребность человека в витамине В₂ составляет 2—4 мг.

Доказана необходимость в витамине В₂ для крыс, мышей и цыплят. В среднем, для крысы она составляет около 5 γ рибофлавина в день; голуби, повидимому, могут обходиться без рибофлавина.

У обезьян при недостатке рибофлавина отмечаются дерматит и гипохромная анемия. Полагают, что потребность обезьян в рибофлавине составляет 25—30 γ на 1 кг веса тела.

В заключение считаем, что дальнейшая работа в области изучения витамина В₂ должна быть направлена на исследование его специфического действия на организм, что, повидимому, позволит получить весьма интересные и важные результаты¹.

ЛИТЕРАТУРА

1. K u h n, *Angew. Chem.* 49, 6, 1936.
2. W a r b u r g u. C h r i s t i a n, *Biochem. Z.* 254, 430, 1932.
3. Магидсон, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
4. Комаров и Шерман, Витамин в теории и практике. Пищепромиздат, 1941.
5. R u b i n, *Ind. Eng. Chem. (an. ed.)*. 17; 136, 1945.

¹ В литературе имеются указания, что систематический недостаток рибофлавина вызывает вшивость и, в связи с этим, приводит к распространению соответствующих заболеваний (сыпной тиф).

6. Поволоцкая, *Биохимия* 4, 2, 3, 1929; Десятни, *Синтез органических веществ*. Изд. АН СССР, 1940.

7. Б у к и н, Витамин, Пищепромиздат, 1940.

8. Б а х, Сборник избранных трудов. ОНТИ. Лгр., 1937; Б а х, А л е к с е е в а и Д р а в и н а, *Биохимия*, 1 (1), 75, 1936; Работнова, *Усп. совет. биологии*, 23, 2; 305, 1947.

9. Е ф р е м о в, М а с л е н н и к о в а, Б е б е ш и н и Т р у ф а н о в, *Вопросы питания*, 5, 55, 1937; Е ф р е м о в, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Е ф р е м о в, А в и т а м и н о з ы, Медгиз, 1934.

10. Р ы с с, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.

11. Ч е р к е с, Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.

12. Т р у ф а н о в, *Биохимия* 11,1;33, 1946.

13. Г о л я н и ц к и й, *Проблемы туберкулеза*, 11, 1936.

14. Л е п с к и й, *Каз. Мед. ж.* 2, 1939; Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Л е п с к и й и Л е п с к а я, *Авитаминозы и гиповитаминозы*. Татгосиздат, 1944.

15. С м о т р о в, Витамин в клинике, Медгиз, 1943.

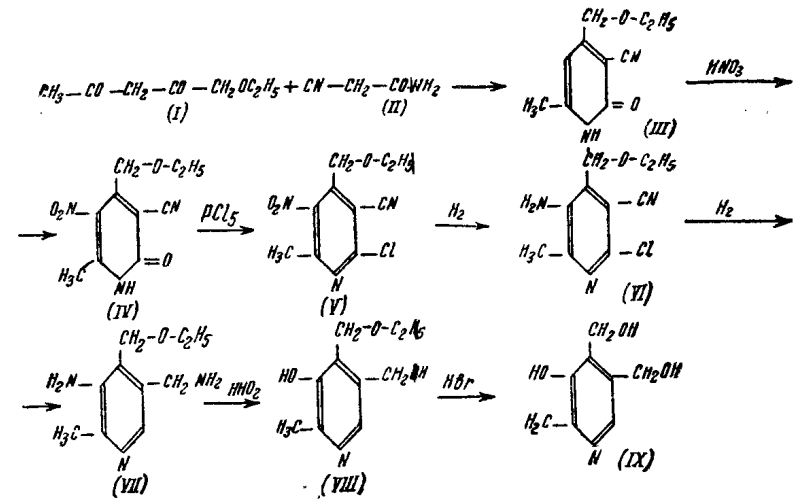
ГЛАВА IV

ВИТАМИН В₆ (АДЕРМИН ИЛИ ПИРИДОКСИН)

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ В ЧИСТОМ ВИДЕ

При проверке некоторых свойств витаминов группы В на синтетических рационах животных выяснилось, что прибавка кристаллического аневрина и рибофлавина, а также и других известных витаминов не обеспечивает роста подопытных животных и вдобавок приводит к дерматоидным поражениям кожи. Остановку роста у подопытных животных представилось возможным объяснить отсутствием в рационе новых витаминов В-комплекса, а именно витаминов В₃ и В₆. В дальнейшем было выяснено, что на остановку роста влияет также отсутствие фильтрующегося фактора В_w, или пантотеновой кислоты¹. Что же касается дерматита, или «крысиной пеллагры», то оказалось, что это заболевание вызывается отсутствием в рационе животного самостоятельного антидерматического фактора, или витамина В₆. Долгое время не было достаточных оснований к тому, чтобы антидерматический витамин В₆ не считать идентичным антипеллагрическому витамину РР (никотиновой кислоте) (1), и лишь после получения чистых препаратов витамина В₆ и витамина РР вопрос был решен в пользу раздельного существования этих двух витаминов. В 1938 г. был выделен чистый витамин В₆—адермин, или пиридоксин, из дрожжей в виде хлористоводородной соли, в бесцветных крупных призматических кристаллах; в том же году был получен кристаллический адермин из оболочек рисового зерна.

В 1939 г. Харрис и Фолькерс (2) осуществили синтез адермина. Схема синтеза, в основном, сводится к следующему: конденсацией этаноксиацетилацетона (I) с цианацетамидом (II) получается продукт (III), который окисляется азотной кислотой (IV); в продукте окисления при помощи пятихлористого фосфора отщепляют кислород; при этом образуется двойная связь (V); дальнейшее восстановление (VI)—(VII) и окисление азотной кислотой (VIII) приводит к получению соединения, превращающегося после бром-



В литературе описано несколько способов выделения адермина из естественных продуктов. В 1941 г. в лаборатории Союзвитаминыпрома Труфановым, Кирсановой и Эннатской были получены концентраты адермина из зародышей пшеницы. Для этого готовили водно-спиртовой диффузионный экстракт зародышей, который в последующем очищали от балластных веществ при помощи хлористого натрия и уваривали до стадии густого концентрата в вакуумаппарате. По нашим анализам, содержание адермина в таких концентратах достигало 150 γ адермина в 1 мл концентрата (4).

Дополнительно отметим, что Труфанов (5) разработал способ получения адермина из дрожжей, по которому из 100 г исходного сырья получается до 1 мл экстракта с активностью 0,25—0,5 мл на крысу; подробности этого метода описаны в соответствующей литературе.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

При извлечении адермина из дрожжей было обнаружено, что адермин в дрожжах находится в сложном сочетании с высокомолекулярными соединениями белковой природы. Повидимому, адермин является активной составной частью фермента, структура которого еще недостаточно выяснена.

Элементарный анализ кристаллического адермина позволил определить его формулу, как C₈H₁₂O₂N. Было найдено, что адермин выдерживает двухчасовое автоклавирование в 0,01 N растворе щелочи, адсорбируется норитом и фуллеровой землей; не осаждается пикриновой кислотой, ртутными и свинцовыми солями, но количе-

¹ Еще в 1938 г. считалось, что витамин В₆ и фильтрующийся фактор (витамин В_w) идентичны.

¹ Подробно синтез описан Магидсоном (3).

ственно осаждается фосфорновольфрамовой кислотой. Раствор адермина в 0,01 N HCl дает полосы поглощения в области 2700—3700 Å. Подобно рибофлавиону адермин инактивируется видимым светом.

Адермин легко ацетируется; ацетилат адермина приобретает способность легко растворяться в хлороформе и эфире. При гидролизе ацетильного производного соляной кислотой получается адерминхлоргидрат, при добавлении ацетона выпадающий из раствора в виде белоснежных кристаллов.

Адермин имеет точку плавления 160°; гидрохлорид адермина плавится при 204—206°, 1 г гидрохлорида растворяется в 4,5 мл воды и в 90 мл этилового спирта при 20°. Водный раствор гидрохлорида обладает кислым рН 3,2. По своей растворимости адермин занимает некоторое среднее положение между водо- и жирорастворимыми витаминами: он растворяется в воде и спиртах; извлекается из объектов абсолютным алкоголем, хорошо растворим в метаноле и ацетоне, хуже в бутаноле. С бензиловым спиртом дает монобензиловый эфир. Дает красное окрашивание с раствором FeCl₃. Устойчив к температуре (особенно в кислой среде) и к щелочам. В разбавленных водных растворах при нагревании разрушается. Структурная формула адермина следующая:

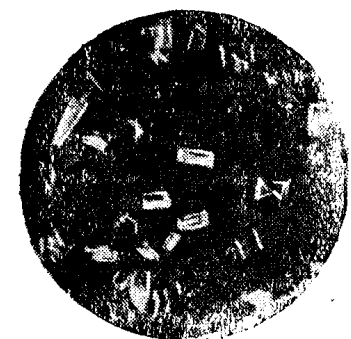
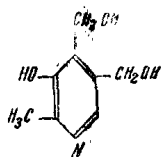


Рис. 9. Кристаллы адермина

Структурная формула адермина следующая:

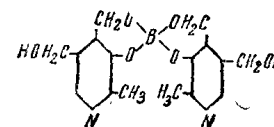


Следовательно, адермин является 3-гидрокси-4,5-ди(гидрокси-метил)-2-метилпиридином.

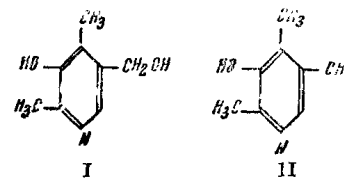
Проведенные детальные опыты по изучению влияния различных факторов на устойчивость витамина показали, что при рН 6,8 за 52 часа хранения раствор в при искусственном источнике освещения содержание адермина снизилось в них с 25 γ% до 0,3γ%; при нагревании растворов в течение 1 часа до 100° обнаружена полная сохранность адермина; нагревание в HNO₃ в течение того же времени снизило содержание адермина на 60%; нагревание с 0,1 и 0,5N растворами щелочи не привело к потерям витамина. Хранение растворов адермина при 25° с перманганатом калия за 1 час снизило содержание витамина на 99%.

При выдерживании в автоклаве нейтральных водных растворов адермина наблюдается пожелтение растворов и выпадение осадка—продукта конденсации адермина (в кислых и щелочных растворах

этого не бывает). При обработке водных растворов адермина борной кислотой образуются весьма устойчивые в воде комплексы бората-адермина, где 1 молекула борной кислоты связывает 2 молекулы адермина (подобные производные дают легко стерилизуемые растворы и используются в медицинской практике):



За последнее время синтезированы некоторые производные пиридина (I и II). Первый из них обладает лишь 1/50 активности адермина, а второй ею вовсе не обладает, равно как и некоторые другие из испытанных производных.



Приведенные данные об устойчивости витамина B₆ говорят за то, что нет особых оснований опасаться его потерь при приготовлении пищи и технологической обработке продуктов питания, если при этом не имеет место разрушающее действие прямого освещения.

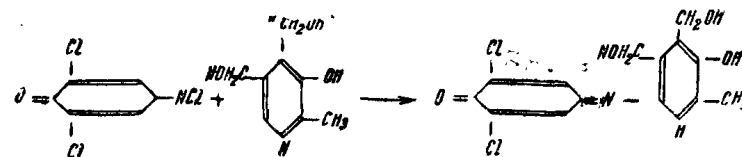
ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АДЕРМИНА

В настоящее время предложено несколько методов химического определения адермина.

1. Метод Грина (6) основан на свойстве адермина давать красное окрашивание с раствором FeCl₃. 1 мл испытуемого раствора смешивают в пробирке с 0,03 мл 10%-ного водного раствора FeCl₃ и помещают в колориметр для сравнения со стандартным раствором (водный раствор адермина, содержащий 10 γ адермина в 1 мл).

Метод не является строго специфичным и может быть выполнен только при наличии испытуемых растворов высокой степени чистоты.

2. Метод Скади, Куннес и Керецтези (7) основан на свойстве адермина образовывать с 2,6-дихлорхинонхлоримидом в определенных условиях (верональный буфер с рН 7,6) комплекс, обладающий голубой окраской. Механизм этой реакции представляется следующим:



Образующаяся окраска извлекается бутанолом и колориметрируется. Определение осуществляется следующим образом.

Навеска испытуемого вещества экстрагируется при кипячении с HCl (pH 1—2) в течение 30—60 мин. для разрушения белкового комплекса адермина; полученную вытяжку нейтрализуют щелочью до pH 7,6 (слабощелочная реакция по лакмусу), фильтруют, к фильтрату добавляют верональный буфер (pH 7,6) и 0,01 N раствор 2,6-дихлорхинонхлоримида в бутаноле. Смесь энергично встряхивают 15 мин., в течение которых окраска достигает максимума, и бутаноловый раствор красителя отслаивается. После центрифугирования проба колориметрируется со стандартным раствором адермина.

Биологические методы определения витамина B₆ (на животных) практического значения не имеют. Наиболее удобными точными и быстрыми способами определения этого витамина являются микробиологические. Эти методы в последнее время начинают заменять химические и получили весьма широкое распространение в практике лабораторий.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ АДЕРМИНА В ПРИРОДЕ

Наиболее богаты адермином оболочки рисового зерна, сухие дрожжи, зародыши пшеницы, бычья печень; в меньших количествах он содержится в других органах животных и в рыбных продуктах; в молоке его очень мало; яичный белок витамина B₆ практически не содержит.

Приводим таблицу содержания витамина B₆ в растительных и животных продуктах, составленную нами по литературным данным.

В тканях растений и в органах животного адермин по крайней мере на 80% находится в связанном с белком состоянии, причем в крови он сосредоточен по преимуществу в эритроцитах, плазма крови бедна этим витамином.

Таблица 22
Содержание адермина в различных продуктах
(в γ на 1 г вещества)

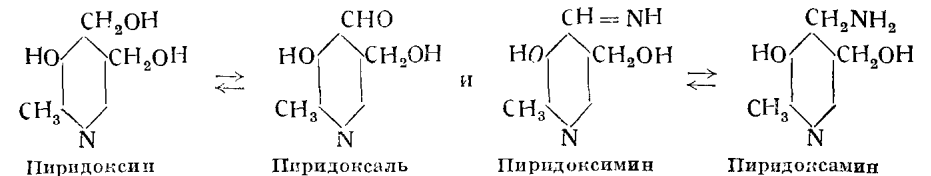
Наименование продуктов	Содержание витамина	Наименование продуктов	Содержание витамина
1. Растительные продукты			
Концентраты из пшеничных зародышей	150,0	Рисовая шелуха	31,4
Концентрат из рисовых оболочек	199,0	Кукуруза белая	10,0
Дрожжи хлебные, сухие	54,0	Сорго, зерно	8,0
» » автоклавированные 1 час при 120°	53,0	Соя	8,0
Отруби рисовые	50,0	Пшеница цельная	7,6
Дрожжи пивные	40,0	Кукуруза желтая	7,1
Пшеница, зародыши	25,0	Горох	6,6
» отруби	16,5	Рис цельный	6,6
		Овес (мука)	5,0
		Тыква	3,1
		Рис полированный	1,3
		Свекла	1,3
		Картофель	следы

Наименование продуктов	Содержание витамина	Наименование продуктов	Содержание витамина
II. Животные продукты			
Печень трески ¹	20,0	Сердце быка	6,5
Печень бычья	16,5	Мышцы теленка	6,5
» овцы	13,4	» свиньи	5,1
Камбала, мясо	10,0	» быка	5,0
Лосось, »	10,0	» курицы	5,0
Треска, »	10,0—5,0	» овцы	4,5
» икра	1,0	Крабы консервированные	4,5
» молоки	5,0	Кровь лошади, сывотка	2,5
Сельдь, мясо	10,0	Масло сливочное	2,6
» молоки	6,5	Молоко коровье	1,7—0,5
Сардины консервированные	10,0	» женское	0,5
Свиной окорок	6,7	Елок яичный	0
Язык быка	5,6		

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АДЕРМИНА

Адермин синтезируется растениями и микроорганизмами. Он обладает способностью резко повышать развитие вегетативной массы растения.

Данные последних лет дали возможность выяснить значение адермина и его роль в живой клетке. На основании этих данных представляется, что в ткани существует несколько форм адермина: пиридоксин, дегидроформа его, пиридоксаль и различные аминокислотные производные, как пиридоксамин. Наличием реверзибельной системы дигидро- и дегидроформ пиридоксина может быть объяснено его участие в ферментативных процессах организма.

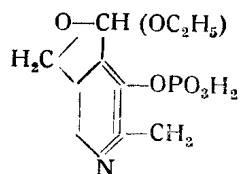


Пиридоксин, превращаясь в дегидросоединение, приобретает исключительно высокую активность. Принято считать, что витамином B₆ является легкообратимая равновесная окислительно-восстановительная система пиридоксин ↔ пиридоксаль.

¹ Интересно отметить, что при получении из тресковой печени жира значительные количества адермина переходят в жир; однако о содержании этого витамина в рыбьем жире нам еще ничего неизвестно.

В настоящее время установлено много ценных фактов, свидетельствующих о важном значении пиридоксина для организма: участие его в обмене белков выражается в том, что пиридоксаль-фосфат, фосфорилированный продукт (подобно витаминам В₁, В₂ и РР), является коэнзимом некоторых ферментов. В комплексе с белковым носителем пиридоксаль-фосфат осуществляет декарбоксилирование тирозина. Есть указания, что кокарбоксилаза принимает также участие в декарбоксилировании лизина, аргинина, орнитина, глутаминовой кислоты и 3,4-дигидроксифенилаланина. Кроме того, витамин В₆ (пиридоксаль-фосфат) в системе пиридоксаль ↔ пиридоксин ↔ пиридоксамин осуществляет переаминоирование аминокислот.

Синтезировано соединение следующего строения:



Этот продукт обладает в опытах *in vitro* и на животных характерными свойствами кокарбоксилазы. Изложенное позволяет с определенностью установить механизм физиологического действия витамина В₆, заключающийся в ферментативных реакциях, имеющих столь важное значение для организма.

Адермин или пиридоксин совершенно необходим для жизнедеятельности некоторых микроорганизмов. Так, бактерии молочнокислого брожения на средах, не содержащих адермина, развиваются крайне медленно и слабо; добавление адермина даже в разведениях 0,00005% оказывает поразительное действие на рост бактерий. Подобные же указания мы имеем у ряда авторов, которые, выращивая *Staphylococcus albus* на средах с добавкой различных витаминов групп В, в том числе и адермина, находили резко выраженное влияние этого вещества на рост стафилококка. Вместе с тем также наблюдается необычайно интенсивный рост дрожжей на искусственных средах, содержащих адермин в концентрациях 0,1—5%. По сравнению с контролем, выращиваемым на инозитоле, β-аланине и «биосе Wildie», дрожжи на адермине дали втрое больший прирост в весе за тот же отрезок времени. Некоторые микроорганизмы, содержащиеся, например, в желудке травоядных животных, способны сами синтезировать адермин, поэтому некоторые травоядные (по преимуществу овцы) в витамине В₆ не нуждаются. Кошки, по видимому, также могут обходиться без адермина.

Из животных более всего нуждаются в адермине крысы. По Ефремову (8), признаки В₆-авитаминоза у крыс заключаются в поражениях кожи передних лапок (так наз. «перчатки»), которые в запущенных случаях переходят в гангрену пальцев и даже

всей лапки. Эти поражения Ефремов называет эритроэдемами (эритема с отеком). Весьма характерно, что эти поражения развиваются симметрично, в связи с чем само заболевание получило наименование «акродиния». Наряду с этим у заболевших животных наблюдаются поражения нервной системы (шатающаяся походка, расстройство ориентации); в некоторых случаях развивается поражение языка некротическим глосситом, а иногда и язвенный стоматит. Это заболевание обычно кончается через 48—60 дней гибелью животного. 10 γ адермина в день излечивают через 10—15 дней вышеуказанные заболевания¹. В адермине нуждаются также собаки; в отсутствие его у собак развиваются явления, сходные с описанными и часто осложняемые развитием макроцитарной гипохромной анемии.

Особенно чувствительны к недостатку витамина В₆ цыплята: В₆-авитаминоз у цыплят характеризуется остановкой роста, падением аппетита; наблюдаются спастические параличи и конвульсии, обычно оканчивающиеся гибелью цыпленка. Доза 30 γ адермина в день уже через 5—6 дней снимает все вышеуказанные явления.

В₆-авитаминоз у человека наблюдать не удалось; однако наличие адермина, хотя и в крайне ничтожных количествах, в органах и тканях человека и выделение его в молоке и с мочой (до 0,5 γ на 1 мл мочи) должно служить указанием о большом, но еще совершенно не изученном значении его для организма. Существование его в организме в виде высокомолекулярных комплексов указывает на его участие в построении молекулы фермента, осуществляющего в живой клетке процессы дегидрирования.

Были проведены наблюдения за поведением адермина (пиридоксина) в различных ферментативных опытах. Выделение СО₂ из тирозина катализировалось совместным действием пиридоксала и аденозинтрифосфата (АТР):

	Выделение СО ₂ из тирозина в условных единицах		
Без пиридоксала	4,0	6,4	8,4
3γ пиридоксала	4,5	11,0	9,8
АТР	4,0	4,1	6,0
Пиридоксаль + АТР	20,5	3,97	57,2

¹ Потребность в витамине В₆ для крысы выражается в 10 γ; для собак размер потребности не установлен; для цыплят — 30 γ на день.

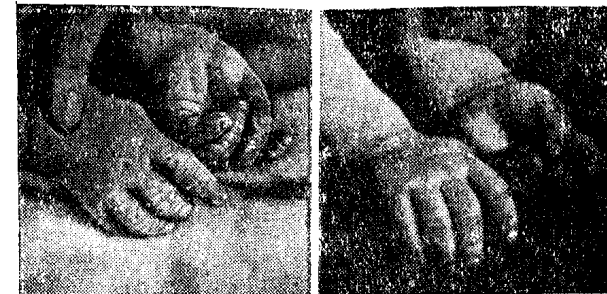


Рис. 10. Акродиния. Поражение рук у ребенка: слева — до лечения, справа — после лечения комплексом витамина В

Это свидетельствует о том, что адермин (пиридоксин) существует в живой клетке как активное вещество в виде фосфорилированного пиридоксала. Таким образом, имеется известная аналогия между карбоксилазой и ее активной группой, витамином В₁, и декарбоксилазой с кокарбоксилазой в виде дегидроформы витамина В₆.

В этом направлении в настоящее время проводятся весьма поучительные исследования, однако и те результаты, которые получены, дают основание отнести адермину одну из ответственных ролей в организме.

Не исключена возможность участия адермина в обмене серы в организме. Доказана лишь роль адермина как фактора, способствующего утилизации организмом ненасыщенных жирных кислот и синтезу в организме жира из промежуточных продуктов белкового обмена—аминокислот.

Показано, как нами изложено выше, что пиридоксаль (дегидроадермин) принимает очень важное участие в переносе аминогрупп. При участии пиридоксала глютаминовая кислота превращается в кетоглутаровую: пиридоксаль + глютаминовая кислота \rightleftharpoons пиридоксамин + α -кетоглутаровая кислота. Аминогруппа пиридоксамина легко отщепляется и, таким образом, витамин В₆ может фигурировать в качестве акцептора и донатора аминогрупп (трансаминазы).

Адермин еще не нашел себе должного применения в клинике; имеющиеся немногочисленные данные позволяют предполагать, что адермин может явиться ценным средством в терапии некоторых кожных поражений, а также в терапии пернициозной анемии; при внутривенном применении адермина наблюдались весьма благоприятные результаты в лечении этого заболевания. Крайне поучительный клинический материал позволил в настоящее время выдвинуть гипотезу об идентичности адермина с фактором Кестле¹; однако и помимо этого благоприятное действие адермина в лечении некоторых форм гипохромной анемии, не поддающихся воздействию массивных доз железа и железистых препаратов, является фактом, заслуживающим самого серьезного внимания.²

Применение адермина в лечении псевдогипертрофной миодистрофии дало несомненный эффект; хороший эффект при внутривенном введении до 100 мг адермина в день получен также при миастении. В соответствии с этим некоторые авторы для лечебных целей рекомендуют дозы в 50—100 мг. Суточная потребность человека в адермине исчисляется в 2 мг. Прямого доказательства к обоснованию

¹ Фактором Кестле называется антианемический фактор печени, который в сочетании с гормоноподобным веществом, выделяемым стенками желудка, образует сложный антианемический комплекс (см. по этому вопросу—фолиевую кислоту).

² Согласно новейшим данным, наши представления об огромном значении витамина В₆ для организма еще более расширяются: он не только является специфическим «антиавитаминозным» фактором, но обладает, в комплексе с другими факторами (например фолиевой кислотой), антианемическим действием, способствует синтезу жиров из протеинов и нормальному обмену в организме меди и железа.

этой потребности мы не имеем, однако огромное значение этого витамина для человеческого организма несомненно, и, имея это в виду, мы должны обеспечить им организм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цитир. Черкес, Витамины и авитаминозы, ОГИЗ, 1929.
2. Harris a. Folkers, Science 89, 1939; J. Am. Chem. Soc. 61, 245, 1939.
3. Магидсон, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
4. Девятнин, Отчет ЦНТЛ за 1941 г., Союзвитаминыпром.
5. Ефремов, Масленникова, Бебешин и Труфанов, Вопросы питания 6, 55, 1937.
6. Green, J. Biol. Chem. 130, 2, 1939.
7. Scudi, Koones a. Keresztési, Proc. Am. Physiol. Soc. 163, 1940.
8. Ефремов, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.

ГЛАВА V

ВИТАМИН PP (НИКОТИНОВАЯ КИСЛОТА)

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ В ЧИСТОМ ВИДЕ

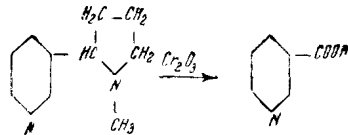
Пеллагра возникает на почве недостаточности в пище одного из компонентов комплексного витамина B₃, антипеллагрического фактора. В 1933 г. было установлено, что витамин B₃ состоит из водорастворимого фактора роста, рибофлавина и из антидерматического фактора B₆, адермина. Вскоре было обнаружено, что в состав этого комплекса входят также «фильтрующий фактор», витамин B₇, или пантотеновая кислота, и противопеллагрический фактор, предохраняющий человека от пеллагры и собак от особого заболевания, известного под названием «блэк-тонг» (черный язык).

Проведенные опыты показали, что у собак эта болезнь с успехом излечивается никотиновой кислотой или ее амидом—никотинамидом. Ряд исследователей получили положительные результаты в лечении человеческой пеллагры никотиновой кислотой. Вопрос о тождестве антипеллагрического фактора с никотиновой кислотой был решен в положительном смысле.

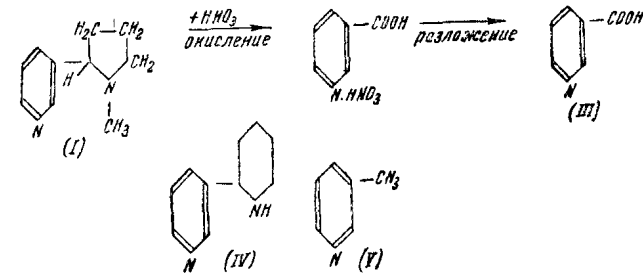
В 1912 г. удалось выделить никотиновую кислоту из рисовых отрубей, но, как позже выяснилось, кислота эта была впервые получена (1) еще в 1828 г. путем отщепления от молекулы никотина пиридинового основания окислением хромовым ангидридом, как это представлено ниже.

Выделение никотиновой кислоты из естественных объектов описано рядом иностранных исследователей. Однако, в связи с большой доступностью получения ее синтетическим путем, вряд ли может возникнуть необходимость в использовании сложных, трудоемких и дорогих способов добывания ее из естественных продуктов.

Получение никотиновой кислоты в промышленных условиях не представляет затруднений: в основном, оно сводится к окислению пиридинсодержащих веществ при помощи HNO₃, KMnO₄, Cr₂O₃ и др.



По схеме, разработанной в Центральной лаборатории Союзвитаминыпрома в 1942 г. Иосиковой под руководством Шмука (2) и принятой для реализации в витаминной промышленности, основание никотина (I) окисляется азотной кислотой; образующаяся при этом азотно-кислая соль кислоты (II) упаривается досуха, полученный продукт разлагается углекислым натрием в присутствии фосфата натрия, и выпадающая никотиновая кислота (III) перекристаллизовывается из холодной воды, в которой она слабо растворима (синтез никотиновой кислоты в 1942 г. организован на Лосиноостровском никотиновом заводе Шмуком). Промежуточный продукт синтеза—азотно-кислая соль никотиновой кислоты после очистки может быть использована для терапевтических целей. Проведенные в этом направлении опыты дали весьма положительные результаты (3).



Исходным сырьем для получения никотиновой кислоты может служить также анабазин (IV), алкалоид растения *Anabasis aphylla*¹; способ получения разработан Халецким с сотр. (4) и описан Вильямсом (5).

Никотиновую кислоту можно также получить из β-пиколина (V), путем окисления последнего и соответствующей очистки, как это в свое время было осуществлено Магидсоном (6). Некоторые каменно-угольные смолы особенно богаты пиколином; поэтому производство пиколина и никотиновой кислоты может быть сосредоточено на одном из предприятий угольной промышленности, где можно всегда иметь неограниченные запасы этого сырья.

Этот вопрос в настоящее время разрабатывается во Всесоюзном витаминном институте.

Чрезвычайно любопытно сообщение Боварник (7): ей удалось при нагревании смеси аспарагина и глютаминовой кислоты получить вещество, которое было выделено и идентифицировано как никотинамид. Техника этого синтеза заключалась в следующем: раствор, содержащий в 1 л по 50 г каждой из указанных аминокислот и 0,15 г сульфата марганца нагревался в течение 9 дней на водяной бане с аэрацией, концентрировался в вакууме до 1/4 объема и обрабатывался эфиром. Эфирный экстракт после сушки смешивался с 0,05 м

¹ Из семейства Chenopodiaceae (маревые).

раствором фосфата натрия и фильтровался, после удаления солей выделялось тяжелое коричневое масло. Продукт растворялся в растворе фосфата, вновь экстрагировался эфиром, эфирные экстракты высушивались и обрабатывались горячим бензолом. Отделившийся слой фильтровался, концентрировался и охлаждался. Выкристаллизовывался никотинамид с темп. плавл. 125—126°. Несмотря на интерес, который представляет собою это сообщение, дальнейших подтверждений этого синтеза другими исследователями мы не имеем.

Укажем на некоторые препараты и естественные концентраты никотиновой кислоты, применяемые в практике.

Никотиновая кислота, витамин PP—чистый препарат, выпускаемый Союзвитаминомпром в кристаллическом виде, в виде таблеток с глюкозой и крахмалом и в виде драже. Применяется для пероральных целей в дозах 20—50 мг. В комбинации с аскорбиновой кислотой (поливитаминные таблетки и драже, содержащие витамины С и PP) дает весьма благоприятные результаты при желудочно-кишечных заболеваниях.

Никотиновая кислота в ампулах для парэнтерального применения. Выпускается Витаминным институтом и фармацевтической промышленностью СССР. Растворы нейтрализованы содой и стерильны. (Препараты никотиновой кислоты могут употребляться лишь по назначению врача).

Никотинамид. Амид никотиновой кислоты, выпускается в кристаллическом виде и в виде растворов в ампулах.

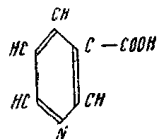
Корамин. Кристаллический продукт (производное никотиновой кислоты).

Камполон. Жидкий экстракт печени крупного рогатого скота. Содержит все витамины группы В, в том числе и никотиновую кислоту. Выпускается для перорального и парэнтерального применения. Особенно показан при гипохромных анемиях (и хронических энтероколитах).

Сухие пивные и хлебные дрожжи. Являются хорошим источником никотиновой кислоты и в некоторых случаях могут заменить вышеуказанные препараты.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Никотиновая, или β-пиридинкарбоновая, кислота имеет бруттоформулу $C_6H_5NO_2$, мол. вес 123,05, содержит 11,37% азота. Не гигроскопична. Образует мелкокристаллический бесцветный порошок слабо кислого вкуса, почти без запаха. Темп. плавл. 232—236°¹. 1 г никотиновой кислоты растворяется при температуре 25° в 100 мл воды; в кипящей воде 1 г растворяется в 15 мл воды. Растворяется в этиловом спирте. Растворяется в серном эфире и глицерине, нерастворима в петролейном эфире. Подобно адермину никотиновая кислота представляет переходное вещество между водорастворимыми и жирорастворимыми витаминами.



¹ Никотинамид—темп. плавл. 130—131°.

Никотиновая кислота устойчива к действию температуры; автоклавирование ее растворов при температуре 110° в течение 5 часов практически не изменяет ее активности. Кислота также устойчива к действию различного рода окислителей и света. Спектр поглощения—при 385 мμ.

Никотиновая кислота может быть получена не только из никотина, анабазина и из различных производных пиридина: β-пиколина (см. выше), 3-этилпиридина, 3-фенилпиридина, 3,3-дипиридила и др. окислением Cr_2O_3 , $KMnO_4$, HNO_3 , но и ультрафиолетовым светом. Использование чистой никотиновой кислоты в клинике представляет некоторые затруднения вследствие плохой ее растворимости в воде, а также и потому, что никотиновая кислота при введении в организм вызывает гиперемию, особенно выраженную при гипертонии; производные никотиновой кислоты этой реакции не дают. Реакция гиперемии при однократном приеме больших доз никотиновой кислоты может быть столь значительной, что следует опасаться за ее благополучный исход. В связи с этим существуют нормы ограничения приема витамина и отпуск его из аптек лишь по рецепту врача. Вместе с тем любопытно отметить, что эта реакция развивается тем быстрее и сильнее, чем выше в данный момент потребность организма в никотиновой кислоте. К наиболее распространенным производным никотиновой кислоты относятся следующие: корамин (I), никотинамид (II), получающийся при пропускании газообразного NH_3 через раствор никотиновой кислоты при 230° (кристаллизуется из бензина с темп. плавл. 129°), никотинилглицин (никотинмочевая кислота) (III) и др. Следует отметить, что хинолиновая кислота (IV) и сам β-пиколин также обладают некоторой антипеллагрической активностью.

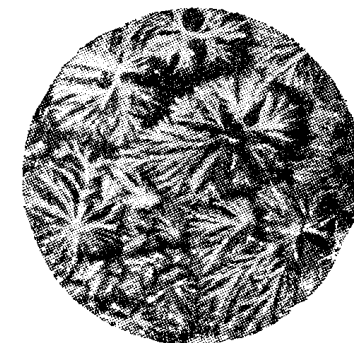
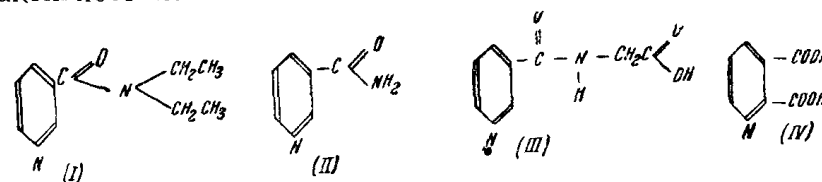
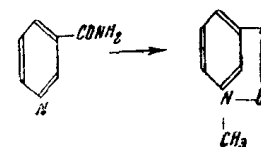


Рис. 11. Кристаллы никотиновой кислоты



Никотиновая кислота или ее амид в растворе метилового спирта образуют метилированное производное—тригонеллин:



Тригонеллин широко распространен в природе. Особенно много его в прорастающих семенах злаков и бобовых; по мнению Иванова, тригонеллин является исходным продуктом для синтеза никотиновой кислоты растительной клеткой (8).



Рис. 12а. Никотинамид, выделенный из коэнзима

Никотиновая кислота при нейтрализации потребляет 1 молекулу щелочи. Для получения 1%-ных нейтральных растворов никотиновой кислоты (рН 7), пригодных для внутривенного вливания, 0,86 г никотиновой кислоты растворяют в воде в мерной колбе на 100 мл, добавляют 0,53 г NaHCO_3 и водой доводят до метки (9).

Никотиновая кислота с *p*-аминобензойной кислотой, фенилизоцианатом, а также с 6-метокси-8-аминохинолином образует нерастворимые в воде соединения, не теряющие, однако, антипеллагрической активности.¹

ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящее время предложено много химических методов для определения никотиновой кислоты в растительных продуктах и в животных тканях и органах. Мы остановимся лишь на тех, которые в настоящее время получили наиболее широкое распространение в наших лабораториях.

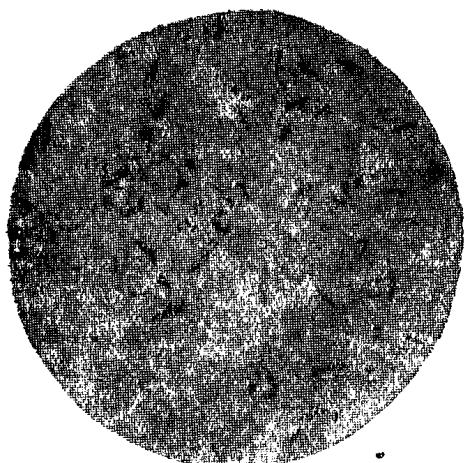
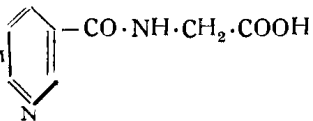


Рис. 12б. Хлоргидрат амида никотиновой кислоты

¹ С мочевой кислотой никотиновая кислота образует производное—никотинмочевую кислоту, которая обнаруживается в продуктах выделения человеческого

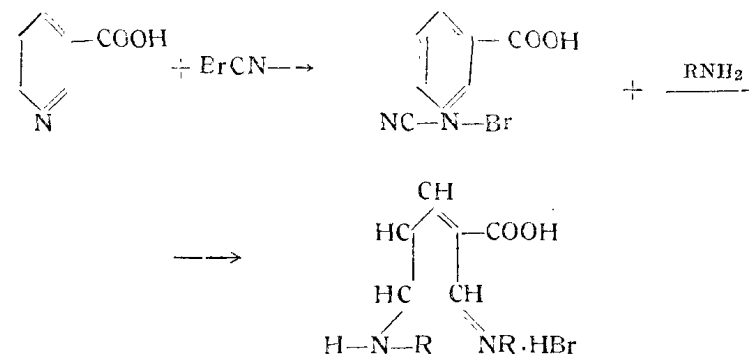
организма наряду с тригонеллином



1. Цианогенбромидный метод в модификации Линдквист-Рысаковой и Коган (ВНИВИ).

Реакция никотиновой кислоты с бромистым цианом и анилином или метолом¹ может быть иллюстрирована приводимым ниже примером.

Сущность реакции заключается в том, что никотиновая кислота при взаимодействии с бромцианом образует бромцианпроизводное, которое в присутствии ароматических аминов (RNH_2) распадается с образованием интенсивно окрашенного продукта, производного глутаконового альдегида:



Вещество, подлежащее анализу, высушивают при температуре не выше 100° и измельчают. 5 г пробы вносят в мерную колбу емкостью 20—25 мл, куда предварительно наливают 10 мл NaOH^2 . Нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут при периодическом встряхивании (происходит гидролиз органического материала), гидролизат слегка охлаждают (переохлаждение может вызвать образования студня), к нему прибавляют 1 мл конц. HCl (36%), колбу закрывают стеклянной пробкой и дважды переворачивают; после быстрого охлаждения прибавляют дистиллированной воды до метки и центрифугируют в течение 10 минут в обычной центрифужной пробирке; получается коричневая прозрачная жидкость и компактный слой. 1 мл жидкости переносят в другую центрифужную пробирку, прибавляют 9 мл ацетона, закрывают пробирку резиновой пробкой, энергично встряхивают, а затем снова центрифугируют.

Из прозрачного водно-ацетонового раствора пипеткой отбирают 4 мл и переносят в круглодонную колбу; добавляют 3 мл воды и отгоняют ацетон в вакууме при остаточном давлении 50—100 мм и температуре водяной бани не выше 40° . (Необходимо полное удаление ацетона).

¹ Метол—монометил-орто-амидофенол.

² При анализе печени применяется 4N NaOH , при анализе дрожжей—2 N раствор.

Остаток после отгонки ацетона количественно переносят в мерную колбу емкостью 20—25 мл при помощи 5 мл $N/15$ KH_2PO_4 и нагревают на водяной бане при 75—80° в течение 5 минут. Прибавляют 1 мл 4%-ного свежеприготовленного водного раствора $CNBr$ и после вторичного пятиминутного нагревания на водяной бане колбу охлаждают под краном до комнатной температуры. Приливают 10 мл насыщенного (около 5%) свежеприготовленного водного раствора метола, объем доводят до метки и оставляют колбу в темноте при комнатной температуре на 1 час; после этого интенсивность образовавшейся окраски определяется в штупенфотометре (с фильтром S 43).

Параллельно берут еще 4 мл ацетонового раствора, который обрабатывают по описанной схеме, но вместо метола прибавляют дистиллированную воду; в этой пробе определяют окраску органических веществ, оставшуюся после обработки ацетоном.

Кроме того, ставят контроль на окраску реактивов, для чего в колбочке емкостью 25—20 мл смешивают в той же последовательности и в тех же соотношениях KH_2PO_4 , $CNBr$, метол и воду. Сумма окрасок от органических веществ и от реактивов подлежит вычитанию из полученной интенсивности окраски опытного раствора. Для расчета установлена величина экстинкции:

$$E \frac{1 \text{ мг}}{1 \text{ см}} \text{ в } 20 \text{ мл} = 8,9.$$

Для каждой серии опытов необходимо ставить контрольный опыт с чистой никотиновой кислотой. Для этого основной раствор, содержащий 0,1% никотиновой кислоты, разбавляют в колбе такой же емкости, какая применялась для испытуемого раствора (20—25 мл), и проводят реакцию с метолом и $CNBr$, как выше описано.

Если растворы слегка мутноваты, то перед измерением интенсивности окраски в штупенфотометре их следует профильтровать.

2. Метод определения никотиновой кислоты в промышленных препаратах (по Иосиковой).

а) Для препаратов, не содержащих, кроме никотиновой, других кислот. Навеску исследуемого препарата в количестве 0,1—1 г помещают в стаканчик, приливают 15 мл воды и нагревают на сетке при помешивании до полного растворения навески. Полученный раствор охлаждают до комнатной температуры, переносят в мерный цилиндр емкостью 25 мл, смывают стенки стаканчика водой, доводя объем жидкости в цилиндре до 25 мл, перемешивают и фильтруют.

Из фильтрата отбирают 1—5 мл в эрленмейеровскую колбочку, добавляют 1 каплю фенолфталеина и титруют из микробюретки или градуированной пипетки 0,1 N раствором щелочи до слабо-розового окрашивания.

Расчет содержания никотиновой кислоты в испытуемом препарате производят пользуясь следующей формулой:

$$X = \frac{n \cdot K \cdot 25 \cdot 100}{a \cdot b \cdot 0,081},$$

где: n — количество миллилитров 0,1 N раствора щелочи, пошедшее на титрование,

K — поправка к 0,1 N раствору щелочи,

25 — объем жидкости, в которой растворена навеска,

a — навеска исследуемого препарата в г, взятая для определения,

b — количество миллилитров фильтрата, взятого для титрования,

0,081 — количество миллилитров 0,1 N раствора щелочи, идущее на титрование 1 мг никотиновой кислоты.

Работа с весьма ядовитым цианистым калием имеет ряд существенных недостатков, что тормозит внедрение этих методов в пищевые производства и мешает их широкому распространению.

Шмук, Девятниным и Иосиковой и др. (10) было показано, что в этой реакции цианистый калий может быть с успехом заменен неядовитым роданистым калием. В связи с этим во Всесоюзном витаминном институте Иосиковой для промышленных препаратов и одновременно и независимо от нее в НИХФИ Пономаревым (для мочи) были разработаны соответствующие методы.

Приводим описание метода определения никотиновой кислоты в витаминных препаратах по Иосиковой.

б) Роданбромидный метод. Берут 10—20 драже, взвешивают их для установления среднего веса, растирают в ступке, отбирают навеску в количестве 1—3 г на техно-химических весах, помещают ее в стаканчик и растворяют при нагревании в 10—15 мл дистиллированной воды. По охлаждении раствор переносят в мерный цилиндр, доводят до объема водой с таким расчетом, чтобы в 5 мл вытяжки содержалось 0,5—1 мг никотиновой кислоты, хорошо перемешивают содержимое цилиндра и фильтруют через складчатый фильтр.

Из фильтрата отбирают 5 мл в стаканчик и добавляют 1 каплю 2%-ного раствора щелочи. К полученной смеси прибавляют 2 мл роданбромидного раствора, 11 мл спиртового раствора анилина¹, хорошо перемешивают и оставляют на один-два часа.

По истечении указанного времени смесь отфильтровывают от выпавшего осадка и образовавшуюся желтую окраску раствора сравнивают со стандартным раствором никотиновой кислоты в колориметре Дюбоска, устанавливая стандартный раствор всегда на 10 мм.

Приготовление стандартного раствора никотиновой кислоты. Навеску кристаллического никотинамида или никотиновой кис-

¹ Один объем анилина растворяют в 10 объемах 96%-ного этилового спирта.

Содержание никотиновой кислоты в различных продуктах
(мг%, на сухое вещество)

лоты растворяют в горячей воде с таким расчетом, чтобы в 1 мл раствора содержалось точно 1 мг никотиновой кислоты. Из полученного раствора отбирают 1 мл в стаканчик, добавляют 4 мл воды и 1 каплю 2N раствора щелочи.

Дальнейшую обработку стандартного раствора ведут в точности так же, как описано выше, и одновременно с обработкой испытуемого раствора.

Приготовление роданбромидного раствора. В эрленмейеровскую колбочку отбирают 10 мл N раствора химически чистого KCN, туда же добавляют 1 г кристаллического KBr, после полного растворения бромата прибавляют 1 мл HCl (разведенной водой в отношении 1:1) и из бюретки или автоматической пипетки прибавляют по каплям 2,5 мл концентрированного брома (уд. в. 3,2) при постоянном помешивании содержимого колбочки.

Приготовленный раствор используют немедленно для реакции, не давая ему охладиться.

Примечание. Приготовление раствора производят в вытяжном шкафу с хорошей вентиляцией.

Биологическое испытание препаратов никотиновой кислоты на крысах не проводится по той причине, что эти животные могут обходиться без никотиновой кислоты. Проведение опытов на собаках представляет значительные трудности. Наиболее распространенными способами определения никотиновой кислоты являются микробиологические методы. Они постепенно заменяют трудоемкие и кропотливые химические методы и, повидимому, являются достаточно специфичными. По этому вопросу см. соответствующую литературу (11).

РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПРИРОДЕ

Никотиновая кислота почти совершенно отсутствует в муке высокого помола, солонине и соленой рыбе, в сливочном масле, свином сале и рыбьем жире. Очень бедным источником ее является кукуруза. В большом количестве она содержится в грибах, пивных дрожжах, пшеничных и ржаных зародышах, печени, почках и мышцах крупного рогатого скота.

Никотиновая кислота устойчива к температурным воздействиям и окислению, поэтому она удовлетворительно сохраняется в вареных и жареных продуктах¹, в консервированных и сушеных овощах, и потребность человека в ней может быть легко удовлетворена умелым подбором соответствующего пищевого рациона.

¹ При жарении мяса наблюдались потери никотиновой кислоты до 9%.

Наименование продуктов	Содержание никотиновой кислоты	Наименование продуктов	Содержание никотиновой кислоты
I. Растительные продукты			
A. Овощи, плоды и зеленые растения			
Бананы	2,90	Кукуруза желтая . . .	2,60
Батат	4,50	» » , мука	1,10
Бобы восковые	1,45	Крупа перловая	2,75
» зеленые	6,10	Макаронь из пшеничной муки	2,10
» турецкие	2,80	Мука картофельная . . .	0,98
Виноград	1,80	Мука льняного семени . . .	4,30
Груши	1,15	» пшеничная, высшего сорта	0,80
Изюм	0,00	Мука пшеничная, I с . . .	1,70
Капуста белокочанная . . .	4,50	Мука пшеничная, II с . . .	5,60
» цветная	7,10	Мука соевая	2,40
Картофель	5,50	Овес	до 1,60
Кольраби	3,90	Пшеница, зерно	5,0—7,0
Лук	0,70	Пшеничные высевки	19—20
Люцерна сушеная, мука . . .	3,90	» клейковина	2,50
Морковь	до 14,00	» зародыши	6,60
Огурцы	8,00	» отруби	25,70—40,00
Орешки сосновые	18,60	Рис красный	6,90
Перец красный	1,40	» полированный	0,90
Персики	7,90	I сорта	0,90
Свекла столовая	4,70	Рис полированный	2,40
Силос кукурузный	1,50	III сорта	2,40
Сливы	3,90	Рисовые отруби	96,60
Соки: апельсин	0,22	Рожь	1,30
грейпфрут	0,21	Сорго	1,80
лимон	0,08	Соя	4,90
томат	0,10	Хлеб белый	0,70—1,00
Солод ячменный	5,60	» из муки II сорта	1,80
Тимофеевка	2,30	» » » III »	2,90
Томаты	16,50	» картофельный	0,80
Трава злаковая	7,20	» молочный (сдобный)	0,90
Финики	2,20	Хлеб соевый	1,40
Фрукты засахаренные	0,70—4,80	» обогащенный	1,50
Шпинат	7,65	Ячмень	4,70
Яблоки, разные сорта	до 3,50	II. Молочные продукты и яйца (на ест. влажность)	
B. Зерно и продукты его переработки			
Горох	2,40	Молоко коровье, цельное	0,08
Грама	5,40	» » выпаренное	0,18
Гречиха	4,40	Молоко коровье, ацидофильное	0,08
Кукуруза белая	1,80	Молоко коровье, сгущенное	0,50

Таблица 23 (продолжение)

Наименование продуктов	Содержание никотиновой кислоты	Наименование продуктов	Содержание никотиновой кислоты
Молоко коровье, порошок	0,98	Селезенка быка	6,20
Молоко женское	0,26	» овцы	4,40
Яйца куриные, белок вареный	0,08	Сердце быка сырое	8,00
Яйца куриные, желток вареный	0,04	» » тушеное	3,30—7,00
Яйца куриные, порошок (сухой)	до 6,00	» теленка	10,60
III. Животные продукты		Ростбиф нежирный	4,30
А. Мясо, органы и ткани		Рубец свиной сырой	5,30
Ветчина свиная вареная	6,70	» » копченый	4,20
» » копченая	3,90	Филе свиное	5,60
» » нежирная	3,90	Язык быка	6,10
Вырезка мясная жареная	5,20	Б. Рыба	
Кровь лошади	0,50	Креветки	0,78
» овцы	0,80	Мясо лосося	7,40
» свиньи	0,40	» трески	2,30
» собаки	0,50	Устрицы	0,66
» сушеный препарат	2,70	IV. Прочие продукты	
Легкое быка	4,20	Дрожжи сухие пивные	40,0—60,0
Мозг быка	4,70	» » хлебные	40,0—50,0
Мышцы быка	6,4)	Концентрат зародышей пшеницы	6,0
» выпленка	6,00—7,00	Концентрат печеночный	450,0
» ягненка	8,50	Экстракт из оболочки риса	100,0—200,0
Окорок телячий	9,00	V. Грибы (12)	
Печень барашка	17,20	Молочная плесень	13,0
» быка жареная	15,80	Опенки	34,0
» сырая	21,00	Подосиновики	36,0
Печень свиньи	18,00—28,00	Моховики	до 50,0
» теленка	19,00	Лисички	50,0
Поджелудочная железа быка	5,80	Подберезовики	63,0
Почка быка сырая	8,30	Белые грибы	до 75,0
» » тушеная	5,20		
» свиньи	9,90		

Табл. 23, составленная по данным различных исследователей, показывает содержание никотиновой кислоты в различных продуктах.

Как видно из таблицы, никотиновая кислота в растениях сосредоточена по преимуществу в оболочках зерна, которые обычно и используются для получения различного рода препаратов и концентратов. Хлеб, выпеченный из муки простого помола, содержит больше никотиновой кислоты, чем из муки высших сортов. Вследствие устойчивости никотиновой кислоты нет причины опасаться ее потерь при кулинарной обработке растительного сырья.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Отсутствие никотиновой кислоты в рационе собак, согласно Ефремову (13), вызывает у них блэк-тонг—собачью пеллагру, у обезьян и свиней—пеллагроподобные заболевания. Из симптомов этого заболевания наиболее важны расстройства со стороны органов пищеварения (ахилия, поносы, запоры) и со стороны центральной нервной системы (адинамия и атаксия). Пеллагра у человека также вызывается отсутствием в пище никотиновой кислоты. При нарушении всасываемости ее желудочно-кишечным трактом также возможно появление пеллагры (эндогенный авитаминоз).

Клиническая картина пеллагры весьма сложна и складывается из характерных нарушений функции пораженных органов. Преавитаминозное состояние, которое может продолжаться до трех месяцев, характеризуется слабостью, повышенной утомляемостью, бессонницей. Ранние симптомы пеллагры—поносы и язвы слизистой рта.

Вполне развитая пеллагра характеризуется следующими симптомами: в большинстве случаев наблюдается ахилия, ахлоргидрия и более или менее выраженные энтероколиты. Ко времени развития желудочно-кишечных явлений у больных наблюдаются поражения кожи на руках, ногах (симметрично) и на шее, «воротник»; на веках, на носу и на нижней губе появляются эритемы, причем кожа в местах развития эритем вишнево-красного, кирпично-красного или темнобронзового цвета. Через некоторое время начинается шелушение кожи, далее наступают атрофические, либо гипертрофические стойкие ее изменения.

Наиболее характерный симптом со стороны крови—ускоренная реакция оседания эритроцитов (до 45 мм в час). Со стороны сердечно-сосудистой системы—миодегенерация сердца и резкое падение кровяного давления.

Особенно выражены и постоянны при пеллагре симптомы со стороны центральной и периферической нервной системы¹; при тяжелых,

¹ При пеллагре имеет место демиелинизация, гибель осевых цилиндров периферических нервных стволов.

застарелых формах болезни нарушения со стороны психики могут перейти в тяжелое помешательство с галлюцинациями и бредом. Весьма разнообразны изменения чувствительности и рефлексов: со стороны двигательной — тяжелая адинамия, неуверенная шаткая походка, гипертония мышц, парезы и т. д.

Характерные изменения со стороны желудочно-кишечного тракта способствуют, повидимому, развитию эндогенных форм С-авитаминоза.

Розенблюм (14) и Гордон (15) наблюдали исчезновение этих симптомов при лечении пеллагриков синтетическими производными аскорбиновой кислоты. Особенно разительных результатов в этом отношении добилась Гордон (16), применявшая парэнтерально синтетические препараты аскорбината железа в самых тяжелых и запущенных случаях пеллагры. В иностранной литературе также описываются благоприятные случаи лечения пеллагры аскорбиновой кислотой.



Рис. 14. Пеллагра, осложненная дерматитом

Никотиновая кислота, поступая в организм с пищей и частично образуясь внутри его при помощи желудочно-кишечной флоры (у некоторых животных), играет очень важную роль в сложнейших синтетических процессах живой клетки. В виде никотинамида

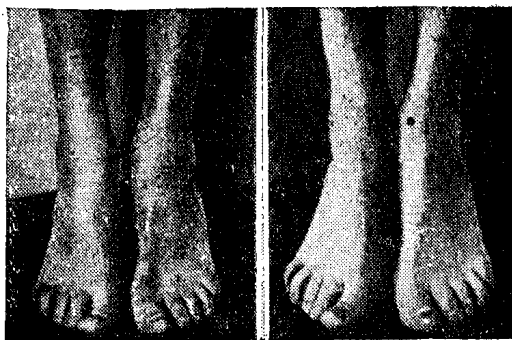


Рис. 13. Пеллагра. Поражение конечностей: слева — до лечения, справа — после лечения никотиновой кислотой

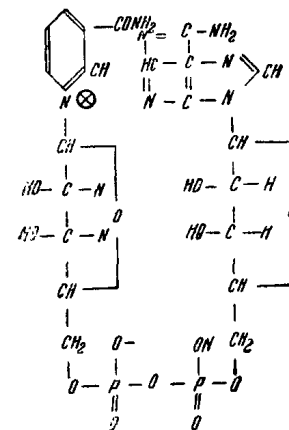
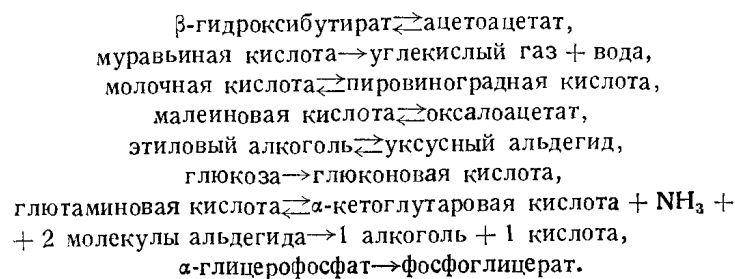
Трудно себе представить какой-либо чистый авитаминоз; в большинстве случаев мы всегда встречаемся с полиавитаминозами. Очень часто на почве изменения со стороны желудочно-кишечного тракта при пеллагре возникает эндогенный С-авитаминоз, нередко комбинации В₁ и С-авитаминозов и т. д. Этим и объясняется целесообразность применения в ряде случаев поливитаминных препаратов, часто дающих положительный результат.

Потребность человека в никотиновой кислоте выражается в количестве 15—25 мг в день; выявлена также необходимость ее для обезьян, свиней и собак, однако норма потребности в ней этих животных нам пока не известна.

никотиновая кислота входит в состав коферментов: кодегидрогеназы¹ (называемой также коэнзим I, козимаза, кофермент I), дифосфопиридиннуклеотида, коредуктазы, или фактора V, и кодегидрогеназы II (трифосфопиридиннуклеотид, кофермент Варбурга, дыхательный фермент или ростовой фактор U).

Наличием в организме системы кодегидрогеназа I + кодегидрогеназа II обуславливается биологическая оксидо-редукция самых разнообразных соединений. При этом механизм реакции представляется в таком виде, что в него вовлекается флавин-энзим, отдающий при окислении кодегидрогеназе водороды; таким образом, система флавин-энзим + кодегидрогеназа (I и II) действует как некая легко-обратимая система окисления-восстановления.

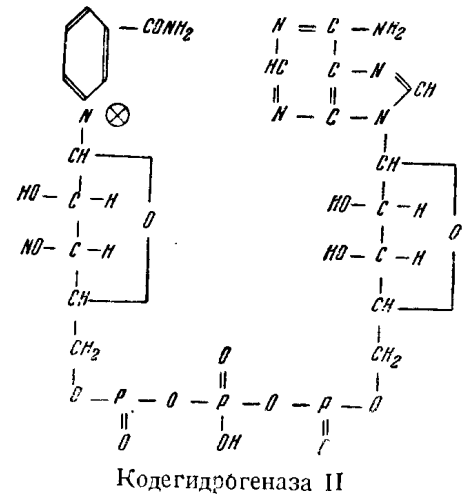
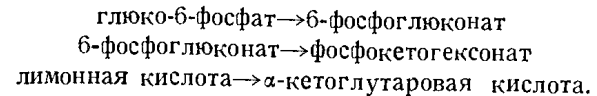
Кодегидрогеназа I, присутствующая в сердечной, скелетной и желудочной мышце, в мозгу и печени животных, а также в дрожжах и органах и тканях высших растений, принимает участие в превращении следующих соединений:



Кодегидрогеназа I

¹ Из свойств этого соединения отметим следующие: кодегидрогеназа I устойчива к окислению перекисью водорода, но окисление ее катализируется железом. При щелочном гидролизе она образует аденозиндифосфорную кислоту. Содержит азот, легко меняющий свою валентность так же, как и кодегидрогеназа II.

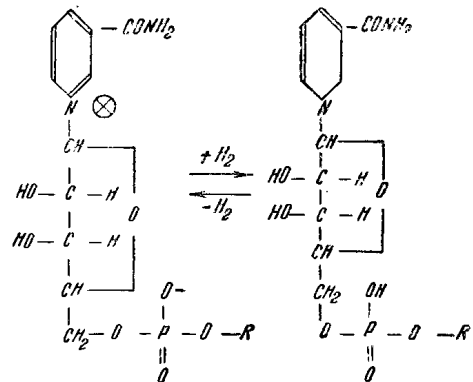
Кодегидрогеназа II¹, присутствующая в печени, сердце, крови животных и в дрожжах, принимает участие в следующих ферментативных процессах превращения веществ:



Кодегидрогеназа II

Отметим, что такое подразделение действия коферментов произведено нами несколько условно; поскольку большинство указанных процессов являются обратимыми процессами, то естественно предполагать, что в них участвуют не только обе кодегидрогеназы, но и другие ферменты (желтый фермент, кокарбоксылаза, оксидоредуктазы и т. п.).

Механизм действия ферментных систем, в которых участвует никотинамид, заключается в том, что к азоту никотинамида присоединена пентозо-5-фосфорная кислота; четвертичный азот крайне подвижен и изменением его валентности и обуславливается каталитическое действие этих соединений:



¹ Кодегидрогеназа II, в отличие от кодегидрогеназы I, не выделяется в виде медной соли, осаждаемая уксуснокислым свинцом (кодегидрогеназа I не осаждается); в отличие от кодегидрогеназы I очень прочно адсорбируется на окиси алюминия. Кодегидрогеназа II растворима в органических растворителях в присутствии HCl. Обе кодегидрогеназы разрушаются под влиянием ультрафиолетового света, неустойчивы в щелочной и устойчивы в кислой среде. Кодегидрогеназы (козимазы) являются одновременно фосфорилирующими агентами в организме.

В организме никотиновая кислота представлена преимущественно в виде кофермента. В табл. 24 приведено примерное соотношение между свободной и связанной никотиновой кислотой.

Таблица 24

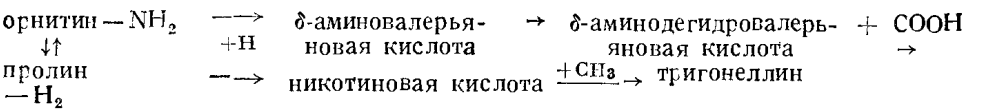
Соотношение связанной и свободной никотиновой кислоты в организме (в мг на 100 г)

Ткань	Связанная никотиновая кислота	Свободная никотиновая кислота
Мускулы быка	31,0	5,7
Печень »	70,0	12,9
» голубя	52,0	9,6

Никотиновая кислота в организме животного распределена в различных органах и тканях. Повидимому, в печени образуется ее депозит, откуда организм по мере необходимости черпает никотиновую кислоту.

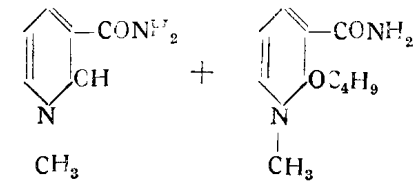
Для многих организмов никотиновая кислота является фактором роста. Рубинштейн и Шекун (17) сообщили, что вошинная моль, *Galleria melonella*, совершенно не развивается в отсутствие никотиновой кислоты, и потому развитие ее личинки может служить очень точным тестом на присутствие никотиновой кислоты.

Некоторые животные могут обходиться без никотиновой кислоты: у крыс, находившихся на пеллагрогенной диете, наблюдалось нормальное выделение тригонеллина с мочой. Предполагают, что образование никотиновой кислоты в теле крыс происходит путем дезаминирования орнитина с последующим превращением восстановленного продукта в никотиновую кислоту и метилированием последней в тригонеллин:



Конечным продуктом обмена никотиновой кислоты у человека также является тригонеллин¹. Однако, наряду с ним, в моче человека обнаруживаются также никотиновая и никотиномочевая кислоты в количестве от 5 до 12,6 мг на суточное количество мочи.

¹ В моче человека найдено флуоресцирующее вещество, названное фактором Найяра. При дальнейшем исследовании вещество оказалось комплексом тригонеллина и других продуктов обмена никотиновой кислоты:



По вопросу обмена никотиновой кислоты в организме человека имеется еще слишком мало данных. Из общего количества выделяемой через мочу никотиновой кислоты около 94% приходится на долю N-метилникотинамида, до 1,5% — на долю свободной никотиновой кислоты и не более 3,5—4,5% — на долю никотинамида.

В организме цыпленка в поздний период инкубации также обнаруживается никотиновая кислота; но нуждаются ли цыплята в дальнейшем в поступлении этого вещества с пищей, не установлено.

Никотиновая кислота—весьма интересный фармако-динамический фактор. Так, Черкес (18) показал, что никотиновая кислота обладает определенным кровоостанавливающим действием, в связи с чем применение ее представляет значительный интерес в клинике, наряду с применением витамина К. Малкин и Пермяков (19), Рысс и др. наблюдали положительный эффект от применения никотиновой кислоты при сахарном диабете, заболеваниях печени и сердца. Особенно благоприятное действие никотиновая кислота оказывает в лечении колитов различного происхождения и при ангиоспастических явлениях в области черепа¹. Однако избыточное поступление в организм никотиновой кислоты приводит к обеднению запасов холина в организме, в связи с тем, что никотиновая кислота выводится из организма, преимущественно, в метилированном состоянии (в виде тригонеллина), а для этого требуются запасы метильных групп. При недостатке же холина наблюдается ожирение печени (20).

Таким образом, никотиновая кислота, принимая участие в клеточных процессах, связанных с обменом углеводов², азотистых веществ (и, возможно, фосфора) и катализируя многие окислительно-восстановительные реакции организма, является весьма ценным терапевтическим средством, широко используемым в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каррер, Курс органической химии, Гиз, 1938.
2. Иосикова, Отчет ЦНТЛ за 1942 г., Союзвитаминыпром, 1943; Иосикова, Улитина и Степанян, Сб. Пищ. пром-сть СССР, 5—6, 1943.
3. Иосикова, Улитина и Степанян, Сб. Пищевая промышленность СССР 5—6, 14, 1944; Иосикова, Тезисы докладов и сообщений III Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР 1944.
4. Халецкий, Розенблюм и Амосова. Фарм. 1, 19, 1944.
5. Вильямс и Мавлянов, Ж. П. Х. 17, 4—5; 228, 1944.
6. Магидсон, Тр. Вс. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
7. Вовангник, J. Biol. Chem. 153, 1; 1, 1944.
8. Иванов, Ботанический журнал СССР, 4—5, 289, 1940.
9. Машковский, Фарм. и Фарм. 6, 1, 1943.

¹ По сообщению Ачаркана, никотиновая кислота применялась им с неизменным успехом при хронических энтероколитах.

² Черкес наблюдал при введении в организм крыс массивных доз никотиновой кислоты ясно выраженную гипогликемию (21).

10. Шмук и Бороздина, Красочная реакция на пиридиновый цикл, никотин и анабазин. Ж. П. Х. 13,5; 776, 1940; Девятнин и Иосикова, Роданбромидный метод определения никотиновой кислоты. Авт. свид. 69191, 1946; Иосикова и Девятнин, Отчет о работе ВНИВИ за 1946 г.; Пономарев, Колориметрический метод определения никотиновой кислоты в крови. Фарм. и Токс. 8,5; 31, 1945.

11. Работнова, Усп. совр. биол. 23, 2; 305, 1947.

12. Проскуряков, Доклад на заседании Витаминной секции К-та растительных ресурсов, 1944.

13. Ефремов, Пеллагра, М., 1934; Тр. Всес. конфер. по витаминам Изд. АН СССР, 1940; Ефремов, Масленникова, Бебешин и Труфанов, Вопросы питания 6, 1, 1937; Ефремов, Важнейшие авитаминозы человека, Биомедгиз, 1939; Вопросы питания 5, 1939; Ефремов, Витамины и авитаминозы, Медгиз, 1944.

14. Розенблюм, Клиническая медицина. 5, 739, 1934.

15. Гордон, Тезисы научной сессии Медвуза МОКИ. Изд. МОКИ, 1940.

16. Гордон, О парэнтеральном применении аскорбината железа, МОКИ, 1939.

17. Рубинштейн и Шекун, Бюлл. эксп. биол. и мед. 9, 1, 1940.

18. Черкес и Розенфельд, Биохимия 6, 1; 58, 1941.

19. Малкин, Пермяков и др. Советская медицина 5—6, 27, 1942.

20. Парнас. Успехи химии 15,4: 403, 1946.

21. Черкес и Розенфельд. Биохимия 6, 1—58, 1941.

препараты пантотената кальция¹ и натрия. Последние два выпускаются в ампулах и в таблетках.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Пантотеновая кислота является α - γ -дигидрокси- $\beta\beta$ -диметилбутирил- β' -аланидом, состава $C_9H_{17}O_5N$ (структурная формула приведена выше). Образует натриевую соль $C_9H_{16}O_5N$ с темп. плавл. 121—122° (с разложением). Удельное вращение +29,5°.

Пантотеновая кислота в чистом виде представляет бледножелтое вязкое маслообразное вещество с темп. плавл. 75—80°. Нитробензоат кислоты плавится при 137—138°, образует хорошо кристаллизующуюся кальциевую соль состава $(C_9H_{16}O_5N)_2Ca$ удельного вращении +24,3°.

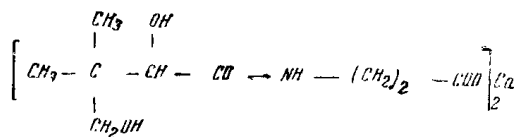
Пантотеновая кислота (и ее соли) хорошо растворяется в воде, этилацетате, диоксане и ледяной уксусной кислоте; плохо растворяется в этиловом эфире и амиловом спирте; нерастворима в бензине и хлороформе. Не осаждаются ацетатом свинца и ртути и фосфорновольфрамовой кислотой. С серебром, медью, кадмием, кальцием и сулемой образует хорошо кристаллизующиеся соли, легко выделяемые в осадок при добавлении спирта и эфира².

Пантотеновая кислота не адсорбируется фуллеровой землей, адсорбируется норитом при pH 6,5. Устойчива к кислороду воздуха при комнатной температуре, но разрушается при нагревании в щелочном растворе и при автоклавировании, окисляется $KMnO_4$ в кислой среде. Бромирование и ацетилирование не изменяют ее свойств³. О поведении пантотеновой кислоты в пищевых продуктах при разных технологических процессах нам известно очень мало.

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Химического метода для определения пантотеновой кислоты пока не предложено. В настоящее время в практику некоторых лабораторий входит микробиологический способ, основанный на том, что бактерии *Proteus Morganii* в отсутствие пантотеновой кислоты не могут

¹ Пантотенат кальция



очень быстро гидролизуются даже при наличии следов воды и распадается на аланин, бутиролактон и гидроокись кальция.

² Получена цинковая соль кислоты, которая содержала до 20% Zn и имела активность 75% активности пантотеновой кислоты (на крысах). Цинк перед употреблением соли удалялся в виде $ZnPO_4$.

³ Часовое нагревание кислоты в щелочной среде, по данным иностранных авторов, не разрушает витамина (это обстоятельство вызывает недоумение).

развиваться; добавление к синтетической среде вытяжек, содержащих пантотеновую кислоту, вызывает обильный рост микроба. Подробно этот метод описан в соответствующей литературе.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПРИРОДЕ

Пантотеновая кислота широко распространена в природе. Она содержится в растительных продуктах и в тканях и органах животных. Наиболее богатыми источниками ее являются дрожжи, печень животных, куриные яйца, молочные продукты; в меньшем количестве она находится в овощах и фруктах.

В табл. 25 приводим данные по содержанию пантотеновой кислоты в различных продуктах, составленные нами на основании работ ряда авторов.

Таблица 25
Содержание пантотеновой кислоты в различных продуктах
(в мг % на сухое вещество)

Наименование продуктов	Содержание пантотеновой кислоты	Наименование продуктов	Содержание пантотеновой кислоты
I. Растительные продукты		Мука соевая	до 2,20
Ананас, сок	0,04	» хлопчатника	1,40
Апельсин	0,70	Овсяные лепешки	1,10
Артишок иерусалимский	1,30	Орехи лесные	0,80
Бананы	0,40	Персики	0,05
Батат	3,80	Пшеница цельная 1 сорта	1,10
Бобы зеленые	0,11	Пшеница, зародыши	1,20
Брокколи (стебли)	0,09	» отруби	2,90—3,00
Вишни	0,06	Рис полированный	0,40
Горох в стручках	0,07	» отруби	1,50—2,70
» чищенный	2,20	Свекла столовая	0,04
Горошек коровий	2,00	Сливы	0,06
Капуста кудрявая	3,00	Спаржа	0,09
» цветная с листьями	8,70	Таро	2,80
Капуста цветная, голочки	4,60	Томаты	2,00
Картофель	2,80	Турнепс белый	0,08
Конопляное семя	0,04	Тыква	2,30
Клевер	0,12	Шпинат	1,00
Кукуруза желтая	0,70	Яблоки	0,03
Лук репчатый	0,80	Ячмень	1,00
Люцерна	2,50	Ячменные проростки	0,10
Миндаль	0,02	II. Молочные продукты и яйца	
Морковь	1,30	Молоко снятое	3,60
Мука земляного ореха	4,00—6,30	» цельное	2,20
» кокосового ореха	0,10	Пахтанье	4,60
» льняного семени	0,10	Сыворотка молочная	6,00
» сезамовая	0,60	Яйца куриные	10,80
		Яичный белок (отдельно)	0,11
		» желток »	12,50

Наименование продуктов	Содержание пантотеновой кислоты	Наименование продуктов	Содержание пантотеновой кислоты
III. Животные продукты			
Кровь кролика (на сырое вещество)	0,72	Кровяная плазма человека (на сырое вещество)	0,17
Кровь лошади (на сырое вещество)	0,45	Лососина	2,80
Кровь овцы (на сырое вещество)	0,27	Мука кровяная	0,12
Кровь свиньи (на сырое вещество)	0,34	» печеночная, кормовая	10,0
Кровь собаки (на сырое вещество)	0,26	Мука рыбная	0,06
Кровь человека (на сырое вещество)	0,19	Мясо говяжье тощее	3,80
Кровяная плазма кролика (на сырое вещество)	0,58	» »	3,50
Кровяная плазма лошади (на сырое вещество)	0,37	Мясо цыпленка	1,40—1,80
Кровяная плазма овцы (на сырое вещество)	0,24	Печень крупного рогатого скота	8,0 —18,0
Кровяная плазма свиньи (на сырое вещество)	0,35	Печень свиньи	7,0 —12,0
Кровяная плазма собаки (на сырое вещество)	0,32	» теленка	8,0 —14,0
		Сердце свиньи	5,0
		» теленка	5,0
		IV. Прочие продукты	
		Дрожжи пивные сухие	20,60
		Казеин коммерческий	0,09
		Патока камышовая (на сухое вещество)	0,70
		Стружки и опилки древесные	0,10

Обращает на себя внимание высокое содержание пантотеновой кислоты в дрожжах и печени млекопитающих. Эти продукты являются богатыми источниками всех витаминов, содержащих в своей молекуле азот (комплекс В), и служат обычно для получения различных препаратов и концентратов.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

В отсутствии пантотеновой кислоты у цыплят развивается дерматит, не излечиваемый адермином или рибофлавином. (Суточная потребность цыпленка в пантотеновой кислоте составляет 14 γ препарата.) Пантотеновая кислота является необходимым фактором, обеспечивающим рост крыс и мышей. Дневная потребность мышей в пантотеновой кислоте соответствует 30 γ кальция-пантотената, потребность крыс весом 150—200 г соответственно увеличивается до 80 γ. Потребность в пантотеновой кислоте для других животных не установлена, однако у собак в отсутствии пантотеновой кислоты наблюдается возникновение гастроэнтеритов, сопровождающихся

геморрагическими изменениями в почках, расширением сердца и поражением нервной системы (конвульсии и параличи).

Пантотеновая кислота необходима не только для роста и развития крыс, мышей, цыплят и голубей, но она также является вторым антидерматическим фактором животных и поддерживает нормальный обмен веществ в человеческой коже.

Пантотеновая кислота участвует в обмене углеводов в животном организме; она обуславливает распад пировиноградной кислоты до более простых соединений. Эти данные дают основание рассматривать пантотеновую кислоту, как необходимый фактор углеводного обмена. Согласно новейшим исследованиям пантотеновая кислота принимает участие в синтезе триптофана и в комбинации с рибофлавином подавляет активность сульфамидных препаратов. Новейшие исследования показывают, что пантотеновая кислота является коферментом ацетилазы, имеющей важное значение в расщеплении углеводов. Потребность в ней человека не установлена, мало также накоплено данных по использованию ее в клинике. При введении пантотеновой кислоты в организм человека избыток ее выделяется с мочой¹. Пантотеновая кислота нетоксична; повидимому, в нашем организме есть некоторые ее запасы, вполне удовлетворяющие в ней нашу потребность, вследствие чего избыток ее не используется организмом.

Физиологической активностью обладает лишь правовращающая пантотеновая кислота, ее аналог с левым вращением плоскости поляризации не активен.

Пантотеновая кислота необходима для нормального роста дрожжей и некоторых микроорганизмов. Из последних лучше всего изучен *Proteus Morganii* (см. выше).

На основе всего изложенного возникло предположение, что пантотеновая кислота идентична витамину В₃, фактору «пищевого использования».

ЛИТЕРАТУРА

1. Брайнес, Сб. «Новое в науке и технике витаминов», Пищепромиздат, 1945.
2. Шемякин, Успехи химии, 16, 3; 279, 1947.
3. Williams J. Am. Chem. Soc. 35, 3912, 1933.

¹ Здоровый человек выделяет с мочой в сутки от 1,5 до 7 мг пантотеновой кислоты.

ВИТАМИН С (АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА)

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ В ЧИСТОМ ВИДЕ

Свыше 60 лет назад русский патофизиолог доктор Пашутин (1) пришел к убеждению, что цынга возникает в результате недостаточного поступления в ткани организма каких-то необходимых веществ. Значительно позже (1912 г.) удалось установить, что таким веществом является витамин С.

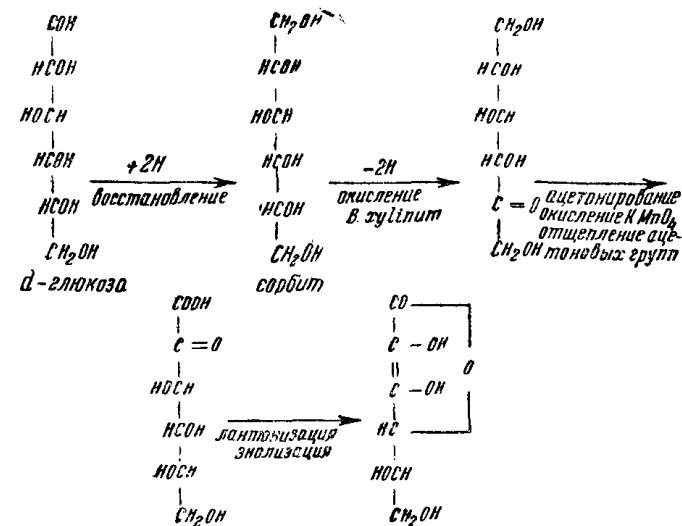
До 1928 г. природа витамина С по существу оставалась неизвестной. В 1925 г. Бессонов (2) описал метод получения этого витамина из капустного сока путем осаждения его в щелочном растворе уксуснокислым свинцом¹, изучил полученный им препарат и установил наличие в нем углерода, кислорода и водорода. В дальнейшем были отмечены высокие редуцирующие свойства различных препаратов витамина.

В 1928 г. Сцент-Гьорги (3) выделил из бычьих надпочечников вещество, которое оказалось гексуроновой кислотой с формулой $C_6H_8O_6$. При проверке этого вещества на животных выяснилось, что в дозах 0,5—1 мг оно излечивает скорбут у морских свинок, а в дозах значительно больших—и у человека. В связи с этим гексуроновая кислота получила название аскорбиновой кислоты. Изучению свойств аскорбиновой кислоты способствовали разработка способа промышленного получения аскорбиновой кислоты из красного перца и способа получения витамина из плодов шиповника. К этому же времени Тильманс (4) разработал количественный химический метод определения витамина при помощи титрования 2,6-дихлорфенолиндофенолом.

Вскоре Рейхштейн (5), затем Хэуорс и Хэрст (6) осуществили синтез *l*-аскорбиновой кислоты. Полученный ими продукт предохранял опытных животных от цынги, так же как и витамин С, выделенный из естественного сырья. Таким образом было доказано строение аскорбиновой кислоты, и вместе с тем это был первый синтез витамина вообще.

¹ Этот принцип Сцент-Гьорги (3) в дальнейшем использовал для разработки метода промышленного получения витамина С из плодов красного перца.

Схема синтеза сводится в основном, к следующему: *d*-глюкоза гидрируется в сорбит¹, сорбит под действием микроорганизмов окисляется в *l*-сорбозу; в присутствии серной кислоты с ацетоном получают диацетонное производное—диацетон-сорбозу, которая дальше окисляется перманганатом калия в диацетонкетогулоновую кислоту, дающую при омылении ацетонных групп 2-кето-*l*-гулоновую кислоту; кипячением водного раствора этой кислоты в атмосфере азота или ее метилового эфира с метилатом натрия, с последующим омылением метилата соляной кислотой, добиваются энוליзации кислоты с переводом ее в *l*-аскорбиновую кислоту, как это представлено в следующей схеме:



2-кето-*l*-гулоновая кислота *l*-аскорбиновая кислота.

Выход конечного продукта при этом методе достигает 15—20 г на 100 г сорбозы². На ряде промышленных предприятий в СССР сейчас получают кристаллическую аскорбиновую кислоту по значительно измененной и улучшенной схеме (114).

В литературе существует много патентных способов синтеза аскорбиновой кислоты; не исключена возможность того, что исходным сырьем для синтеза может явиться не сорбоза, а другие более доступные соединения; укажем на возможность использования для этих целей пектинов³.

¹ В плодах рябины (<i>Sorbus aucuparia</i>) содержится	9,6—10,4%	сорбита
» » (<i>S. Sitchensis</i>)	»	6,1% »
» боярышника (<i>Crataegus Oxyacantha</i>)	»	7,6% »
» (<i>C. monogyna</i>)	»	4,7% »
» кизильника (<i>Cotoneaster pannasa</i>)	»	5,1% »
» (<i>C. mycrophylla</i>)	»	3,6% »

Способ получения сорбита описан Стрейном, однако промышленного значения он не имеет.

² Подробное описание синтеза см. Максимов, Никонова, Лазарева, Зверев (7).

³ По схеме Айзбеля (112) пектин обрабатывают пектиназой, образующуюся галактуроновую кислоту выделяют в виде труднорастворимой соли, гидрируют и превращают в соль *l*-галактоновой кислоты. Последнюю превращают в лактон и окисляют до 2-кето-*l*-галактоновой кислоты, которая после энוליзации превращается в аскорбиновую кислоту.

Синтез аскорбиновой кислоты широко распространен в промышленности, однако наряду с этим аскорбиновую кислоту можно выделять и из естественных продуктов. Существует много предложений по получению аскорбиновой кислоты из естественного сырья.

В литературе описаны метод Сцент-Гьорги для получения витамина С из красного перца, метод Тильманса для шиповника и др. Эти методы практического значения, однако, не имеют.

Остановимся на способе получения витамина С из шиповника, предложенном Шмидтом и Тульчинской (8). Метод заключается в следующем. Водный концентрат шиповника сгущают в вакууме до состояния очень густого сиропа; сгущенный продукт обрабатывают 96%-ным этиловым спиртом и серным эфиром до полного осаждения балластных веществ. Для отстаивания осадка смесь оставляют на холоду на 18—20 часов. Фильтрат упаривают в вакууме досуха, остаток полностью растворяют в небольшом количестве абсолютного этилового спирта и снова обрабатывают серным эфиром. Спустя 12—15 часов стояния смеси на холоду фильтрат снова сгущают в вакууме, сухой остаток растворяют в смеси абсолютного этилового спирта и петролейного эфира с низкой точкой кипения (в отношении 1 : 1). При охлаждении жидкости в снегу выпадают мелкие желтоватые кристаллики аскорбиновой кислоты. Кристаллизация заканчивается через 2—3 дня.

Укажем также на способ выделения аскорбиновой кислоты из плодов незрелого грецкого ореха, предложенный Букиным и Гаркиной (8).

К 500 мл концентрата из плодов незрелого грецкого ореха прибавляют при тщательном размешивании 3000 мл 96%-ного этилового спирта. Выпадающий осадок отфильтровывают и промывают 250 мл спирта. Спиртово-водный фильтрат сгущают в вакууме до объема 200 мл. К остатку добавляют смесь 1000 мл 96%-ного этилового спирта и 1500 мл уксусно-этилового эфира; при этом выделяется тяжелый осадок, опускающийся на дно сосуда. Спиртово-эфирный раствор сливают с осадка и сгущают в вакууме до объема 70 мл. К полученному концентрату добавляют смесь 70 мл метилового спирта и 70 мл петролейного эфира, — тотчас начинается кристаллизация аскорбиновой кислоты, заканчивающаяся обычно при охлаждении растворов.

Аскорбиновая кислота, полученная тем или иным путем, требует перекристаллизации. В лабораторных условиях ее можно проводить через уголь, либо при помощи свинцовой соли (9).

Замечательным достижением советской витаминологии является создание весьма интересного и перспективного направления в нашей витаминной промышленности—использования естественных С-витаминносителей (шиповник, грецкий орех и др.) для получения из них концентратов, соков и экстрактов. Это направление, имеющее обстоятельно разработанную советскими учеными научную и научно-практическую базу, в последнее время подхвачено за границей и широко пропагандируется в зарубежной литературе.

Препараты витамина С, выпускаемые Союзвитамином, Росвитамином и другими организациями, получили у нас широкое распространение как в медицинской практике, так и в быту.

Приводим описание способов получения некоторых из этих препаратов (113).

Концентрат витамина С из шиповника. Плоды шиповника (сушеные или сульфитированные) подвергают диффузии, диффузионный сок после фильтрации упаривают в вакуум-аппаратах. Для очистки получаемых концентратов от большого количества пектинов их обрабатывают спиртом; фильтраты поступают на упаривание, а осадки, содержащие пектины, превосходящего качества и некоторое количество витамина С, используются для

других целей. Данные Всесоюзного витаминного института (10) показывают возможность осветления настоев при помощи фермента пектиназы; ферментированные настои в дальнейшем упаривают до состояния концентрата, отличающегося приятным вкусом и стойкостью.

Упаренный диффузионный сок поступает на расфасовку или в специальных распылительных сушилках превращается в порошок. В дальнейшем порошок таблетуют с различными наполнителями и направляют в продажу в виде таблеток. Содержание аскорбиновой кислоты в этих продуктах достигает 2% и более.

Заслуживает внимания получение порошка из шиповника путем тщательной очистки плодов от семян, волосков и других примесей с последующим размолом высушенной мякоти. Подобного рода порошок из правильно высушенных плодов (в течение 2—3 часов при 110°) сохраняет не только почти 100% исходного количества витамина С, но и другие не менее ценные вещества (каротин, другие витамины, минеральные соли и пр.). Эти порошки нашли широкое применение также для витаминизации кондитерских изделий (11).

Сухие или жидкие концентраты из шиповника и другого растительного сырья по многим данным отличаются большей физиологической ценностью, чем синтетическая аскорбиновая кислота. По Шмидту, Селезневой, Вадовой и др., эти концентраты наряду с аскорбиновой кислотой содержат витамин Р, катализирующий специфическое благотворное действие аскорбиновой кислоты на организм. Певзнер (12) объясняет высокую биологическую ценность концентратов наличием в шиповнике большого количества солей железа и других веществ, образующих с аскорбиновой кислотой биологически ценные комплексы.

Концентрат витамина С из хвои. Хвоя сосны, кедр и др. подвергается диффузии; диффузионный сок для удаления горечи, смолистых и красящих веществ обрабатывают норитом, предварительно прокипяченным в щелочном растворе глюкозы для устранения окисляющих аскорбиновую кислоту свойств, фильтруют и направляют в вакуум-аппараты на упаривание. Концентрат обладает сладковатым приятным вкусом и высокой антицинготной активностью.

Этот способ, в деталях разработанный Букиным в Академии наук СССР и Дроновым в лаборатории Союзвитаминома, представляет принципиальный интерес (13)¹.

Концентраты из плодов незрелого грецкого ореха в общем получаются по сходной прописи (14), однако, несомненно, больший интерес представляет получение концентратов из листьев грецкого ореха.

Концентраты из хвои содержат до 1% аскорбиновой кислоты, а концентраты из листьев и плодов грецкого ореха—до 22% и выше.

Впервые получение хвойных концентратов в производственных условиях было организовано на Щелковском витаминном заводе Союзвитаминома Лавровым и его сотрудниками; ими же была проведена серия работ по изучению химических и биологических свойств концентратов (15).

В годы Великой Отечественной войны особенно широкое распространение имели различные настои и напитки из хвои сосны, ели, кедр, листьев березы, липы и некоторых дикорастущих растений, применявшиеся не только среди гражданского населения, в клиниках и госпиталях, но и в действующих частях Советской Армии (16—21)².

Имеется большое количество различных препаратов концентратов и разных изделий с витамином С. Приводим описание наиболее распространенных или представляющих тот или иной интерес.

Настой витамина С из хвои, (листья березы, липы и др., получаемые на заводах Райпищепромкомбинатов различным путем для

¹ Найдус и Поднос получали путем вымораживания хвойных настоев концентраты с активностью 250—300 мг% витамина С (22).

² Применение хвойных настоев известно с отдаленных времен. Еще в XVI в. сибирские промышленники и русские мореплаватели использовали хвою для лечения цинги; северо-американские индейцы также широко пользовались ею с лечебными целями (116).

использования в качестве прокладочных витаминных напитков, иногда газифицируются. В зависимости от вида сырья и способов приготовления содержат от 5 до 50 мг аскорбиновой кислоты в 1 л настоя.

Мука из листьев первоцвета. Высушенные листья *Prunella officinalis* размалывают в муку. Содержит до 1500 мг% аскорбиновой кислоты. На прием достаточно 2—5 г порошка. Рекомендовано Российским для использования в клиниках.

Настой из шиповника. Получаются путем настаивания (заваривания) в холодной или горячей воде плодов шиповника с последующим фильтрованием настоя через вату. Употребляется как напиток, в зависимости от активности шиповника, по $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{2}$ стакану в день, в быту, в клиниках и больницах. Настой шиповника является сильным возбудителем для желудочных клеток, он также повышает кислотность и переваривающую способность пепсина. По данным Пермякова, водный настой (концентрация 1:2) имеет следующий минеральный состав: P—0,0516%, Ca—0,0114%, Mg—0,201%, K—0,197%, Fe—0,856% (24).

Витаминизированные сиропы. Сахарные плодово-ягодные сиропы, приготовленные из концентратов шиповника, черной смородины или других витаминносителей. Выпускаются заводами Союзвитаминыпрома. Содержание аскорбиновой кислоты зависит от вида витаминного сырья. Употребляются как сиропы.

Концентраты из шиповника. Выпускаются заводами Союзвитаминыпрома: натуральные—в виде густого бурого сиропа, получаемого путем уваривания в вакуум-аппаратах водного экстракта; спиртоочищенные—коричнево-красные, прозрачные, получаемые путем дополнительной обработки спиртом предыдущих с последующим удалением осадка и отгонкой спирта; ферментированные, в которых балластные вещества удалены при помощи обработки специальным ферментом. Все виды концентратов представляют густую темноокрашенную, приятного кисловатого вкуса, жидкость с содержанием аскорбиновой кислоты от 1 до 3%. Дневной прием $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ чайной ложки.

Концентраты из хвои неочищенные. Очень густая темноокрашенная жидкость, интенсивно горького вкуса. Получается путем уваривания хвойных экстрактов в вакуум-аппаратах или по способу Матусиса в открытых сосудах на голом огне¹. Содержание аскорбиновой кислоты достигает 2%. Дневной прием—несколько миллилитров (с чаем, подслащенной водой и т. п.). Выпускался также в таблетках с крахмалом.

Концентраты из хвои очищенные. Очень густая, прозрачная, желтая жидкость, слегка сладковатая на вкус. Содержание аскорбиновой кислоты близко к предыдущему. Дневной прием—несколько миллилитров.

Концентраты из незрелого грецкого ореха очищенные. Буро-черная, густая жидкость, получается путем обработки ореховых горьких экстрактов активированным восстановленным углем, с последующим увариванием в вакуум-аппаратах. Содержание аскорбиновой кислоты доходит до 2% и более. Дневная доза и способ употребления—как и предыдущих.

Витаминная паста. Получается путем протирки на протирочных машинах плодов зеленого грецкого ореха, шиповника, рябины и др. видов витаминного сырья с сахаром. Выпускается заводами Союзвитаминыпрома и Росвитаминыпрома. Содержание аскорбиновой кислоты зависит от активности исходного сырья. Используется как джем, варенье и пр.

Поливитаминовый сок. Получается прессованием ягод облепихи с соответствующей обработкой сока. Мутнооранжевая жидкость острого кисло-сладкого вкуса, содержит витамины С, В₁, В₂ и каротин. Используется как витаминный напиток.

¹ О возможности получения хвойных концентратов без применения вакуума путем уваривания настоев в открытых сосудах сообщали в свое время Солодкий и Рябинин (23).

Витаминизированные кондитерские изделия—драже, ирис, конфеты с начинкой из порошка шиповника или концентрата из шиповника, грецкого ореха, хвои и т. д. Содержание аскорбиновой кислоты—в зависимости от вида продукции и наполнителя. Выпускается Союзвитаминыпромом, Росвитаминыпромом, заводами пищевой промышленности и другими организациями. Дневная доза—от одной до нескольких штук изделия. (В эти изделия вводится также кристаллическая аскорбиновая кислота вместо концентратов). Драже с витамином С и другими витаминами в настоящее время получили большое распространение¹.

Порошок из шиповника получается путем тонкого размола высушенных плодов шиповника с последующим удалением волосков и других нежелательных примесей. Содержит от 1 до 10% аскорбиновой кислоты, каротин, другие витамины (В₁, В₂, Е, Р и т. п.), минеральные соли (железо, калий, магний, фосфор и т. п.) и прочие ценные вещества плодов. Выпускается Союзвитаминыпромом. Используется в натуральном виде или для целей витаминизации.

Таблетки из шиповника получают путем таблетирования порошка из плодов шиповника, или высушенного в распылительной сушилке водного концентрата. Содержат 1—2% аскорбиновой кислоты. Выпускаются Союзвитаминыпромом. Дневная доза 3—4 таблетки.

Холосас. Концентрат шиповника; вырабатывался до недавнего времени украинской фармацевтической промышленностью.

Витамин С с глюкозой. Брикеты с концентратом витамина С и глюкозой. Рекомендованы Певзнером как отличное средство, снимающее усталость и усиливающее обмен веществ. Выпускается Союзвитаминыпромом. Один брикет содержит оптимальное количество глюкозы и витамина С.

Аскорбиновая кислота (витамин С) в ампулах для инъекций, в таблетках по 20 и 30 мг, в таблетках с глюкозой, весом 0,2—0,5 г. Выпускается Союзвитаминыпромом, Росвитаминыпромом, Витаминным институтом и фармацевтической промышленностью. Для инъекций применяется 10%-ный раствор аскорбиновой кислоты (стерильный) по 1—3 мл, 1—3 раза в день, внутривенно или под кожу. Дневная доза —1—2 таблетки в день. (При инфекционных заболеваниях—до 5 таблеток). Выпускается также в виде драже с разным содержанием витамина.

Контан. Раствор аскорбиновой кислоты в ампулах для парентерального применения.

Цебион (C-bion), проскарбон, цевиминфорт—различные фирменные названия растворов аскорбиновой кислоты, нейтрализованных углекислым натрием до pH 7. Выпускается за границей для инъекций.

Редоксон. Таблетки, содержащие 50 мг аскорбиновой кислоты. Редоксонфорт—таблетки, содержащие 500 мг аскорбиновой кислоты в виде натриевой соли.

Аскорбинат железа. Препарат предложен Девятниным и Иосиковой. Комплексная соль аскорбиновой кислоты и двувалентного железа. Фиолетовый порошок с содержанием до 71% аскорбиновой кислоты. Выпускался Союзвитаминыпромом для внутривенного и внутримышечного введения. Каждая ампула содержит 50 мг сухого препарата. Показан при гипохромных анемиях, профузных и маточных кровотечениях, уремии и особенно тяжелых формах цинги. Вводится в 5 мл воды или физиологического раствора, ex tempore. Разрешен к испытанию в лечебных учреждениях Ученым медицинским советом НКЗдрава СССР от 31/V 1941 г.

Аскорбинат кальция. Препарат предложен Девятниным и Иосиковой. Кальциевая соль аскорбиновой кислоты в порошке. Выпускался Союзвитаминыпромом для внутривенного применения. Вводится в 5 мл воды или физио-

¹ Отметим, что разработанная советской витаминной промышленностью форма препаратов в виде драже отлично сохраняет вводимые витамины и имеет ряд положительных качеств.

логического раствора, ex tempore. Показан при ревматизме, бронхиальной астме, туберкулезе и уремии. Разрешен к испытанию в лечебных учреждениях Ученым медицинским советом НКЗдрава СССР от 31/V 1941 г.

А с к о р б и н а т р и в а н о л а. Препарат предложен Едигаровым. Комплексная соль риванола и аскорбиновой кислоты. Желтый порошок выпускался Союзвитамином в ампулах по 100—500 мг. Сильный антисептик. Применяется в хирургической практике в виде мазей, полосканий и повязок. Разрешен к испытанию в лечебных учреждениях Ученым медицинским советом НКЗдрава СССР от 31/V 1941 г.

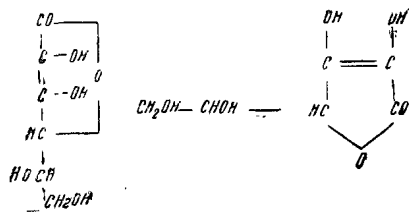
Т е т р а ц е т и л а т. Препарат предложен Балаховским и Карповой. Полностью ацелированная, растворимая в жире аскорбиновая кислота. Применяется в виде масляного раствора (в касторовом масле или рыбьем жире) для заживления ран и ожогов.

В и т а г е м. Препарат предложен Балаховским и Иосиковой. Паста и брикеты, по вкусу и внешним видом напоминающие шоколад. Основа препарата—свежая бычья кровь. В препарате содержатся витамины А, В₁ и С. Показан в детской клинике, при малокровии, неправильном обмене веществ и для реконвалесцентов (25).

П о л и в и т а м и н н о е д р а ж е. Сахарное драже с витаминами А, В₁, В₂, РР, С и D. Выпускается Союзвитамином. Наряду с этим имеют столь же широкое распространение драже с витаминами В₁ и С.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Витамин С, аскорбиновая кислота, имеет состав C₆H₈O₆; мол. вес 176,06.



l-аскорбиновая кислота (два варианта структурной формулы)

Образует бесцветные кристаллы сильно кислого вкуса, плавящиеся при 190—192° (с разложением). При 10° 1 г кристаллов растворяется в 5 мл воды, в 40 мл 96%-ного этилового спирта, в 50 мл абс. этилового спирта, в 100 мл сухого глицерина. При 70° 1 г кислоты растворяется в 10 мл этилового спирта, при 75°—в 7 мл. Нерастворима в эфире, хлороформе, бензоле, трудно растворима в метиловом, пропиловом, бутиловом спиртах и гексане. Нерастворима в жирах.

Из естественных объектов экстрагируется водой на холоду или при нагревании; из концентрированных растворов может быть выделена смесью: петролейный эфир+ацетон (1:1), петролейный эфир+бутиловый спирт (2:1 и 4:1), петролейный эфир+пропиловый спирт (1:1 и 1:3); выпадает в осадок при добавлении к сильно концентрированным водным растворам спирта и серного эфира; из спиртовых растворов выпадает в осадок при добавлении

укусноэтилового и петролейного эфиров и спиртового раствора уксуснокислого свинца.

Из водных растворов осаждается только уксуснокислым свинцом при pH 7 и выше; при этом, чем pH ближе к 8,5, тем полнее происходит осаждение.

Аскорбиновая кислота существует в двух стереоизомерах—*d* и *l*: *d*-аскорбиновая кислота оптически не активна и биологической активностью не обладает; *l*-аскорбиновая кислота обладает удельным вращением = -23° (в воде) или +48° (в метаноле). Спектр поглощения характеризуется единственной интенсивной полосой на длине волны в 245 мμ. Константа диссоциации аскорбиновой кислоты pK₁ = 4,17 и pK₂ = 11,57. Аскорбиновая кислота очень сильный восстановитель: при pH 4 и 35° редокс-потенциал = +0,166 вольт.

Аскорбиновая кислота является лактоном *l*-кето-3-гексоновой кислоты. При ацелировании уксусным ангидридом, по Балаховскому (26), присоединяет 4 молекулы остатка уксусного ангидрида, при бромировании в четыреххлористом углероде—1 молекулу брома (27).

Весьма характерно для аскорбиновой кислоты наличие в ее молекуле диэнла —C=C—, обуславливающего

способность аскорбиновой кислоты легко окисляться и восстанавливать разные соединения, а также легко восстанавливаться за счет окисления других соединений (28)¹. В связи с этим ей свойственен ряд реакций окислительно-восстановительного характера, кроме реакций присоединения и замещения, присущих кислотам.

¹ Кроме аскорбиновой кислоты, этой группировкой обладают пирокатехин (I) и диоксималеиновая кислота (II).

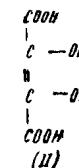
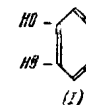
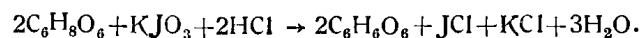


Рис. 15. Кристаллы аскорбиновой кислоты

Аскорбиновая кислота восстанавливает соли окисей в соли закисей, нитраты в нитриты, арсенаты в арсениты, соли тяжелых металлов в щелочной среде (медь, серебро, золото, таллий, цезий, ртуть и др.)—до металлов.

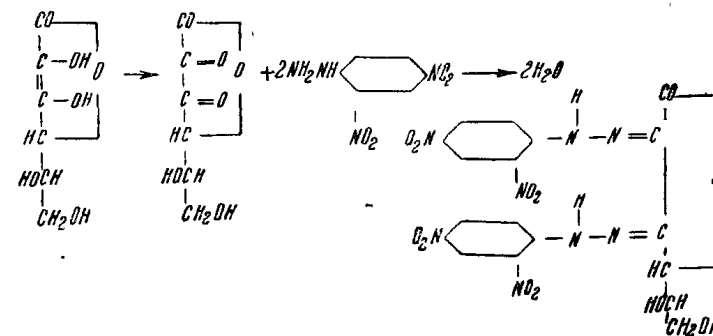
В кислых растворах восстанавливающие свойства кислоты выражены слабее, чем в нейтральных и щелочных: одна молекула аскорбиновой кислоты в нейтральном или слабощелочном растворе восстанавливает 2 атома серебра, в кислом—обменивается с 2 молекулами AgNO_3 с образованием 2HNO_3 и соответствующей соли. В кислой среде аскорбиновая кислота потребляет 2 атома иода, в щелочной—4; в первом случае образуются 2 молекулы иодистоводородной кислоты, которая может быть количественно определена в виде AgI . Титрование аскорбиновой кислоты иодноватой кислотой протекает следующим образом:



Из большого числа окислительно-восстановительных реакций, свойственных аскорбиновой кислоте, отметим следующие:

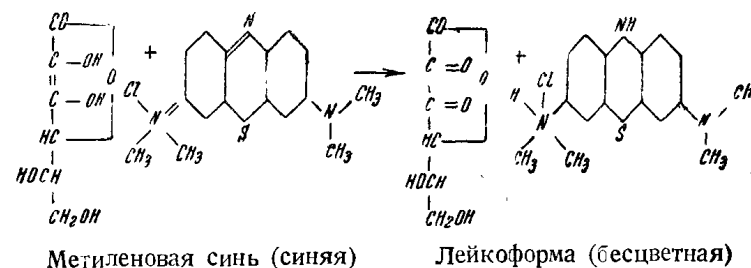
1. Аскорбиновая кислота + фосфорномолибденовая кислота = голубая окраска
2. » » + уранилацетат (в слабой щелочи) = коричневая окраска
3. » » + пятиокись ванадия (в H_2SO_4) = голубая окраска
4. » » + диазотированная сульфаниловая кислота = оранжевое соединение состава $\text{HO}_3\text{S} \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{N} : \text{NC}_6\text{H}_4 \cdot \text{SO}_3\text{H}$
5. » » + сульфаниламид + NaNO_3 + сульфосалициловая кислота + мочевины (при добавлении диметилнафтиламина) = красное окрашивание
6. » » + селенистая кислота = оранжево-красная окраска
7. » » + AuCl_3 = «кассиев пурпур»
8. » » + HgCl_2 = осадок металлической ртути
9. » » + CuSO_4 + аммонийтиоцианат = зеленая окраска
10. » » + FeSO_4 (в щелочном растворе) = фиолетовая окраска, обесцвечивается $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и O_2
11. » » + $\text{FeSO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$ (в уксуснокислой среде с последующим добавлением KMnO_4) = голубая окраска
12. » » + HCl + флороглюцин (при кипячении) = фурфуроловая реакция
13. » » + какотелин (нитробруцин) в солянокислой среде = лиловая окраска
14. » » + KMnO_4 , после удаления KMnO_4 перекисью водорода, в остатке шавелевая кислота
15. » » + $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (в кислой среде) = берлинская лазурь
16. » » + 2,4-динитрофенилгидразин = озон дегидроаскорбиновой кислоты (осадок может быть количественно определен титрованием).

Образование фенолгидразона протекает так, как представлено в следующей схеме:

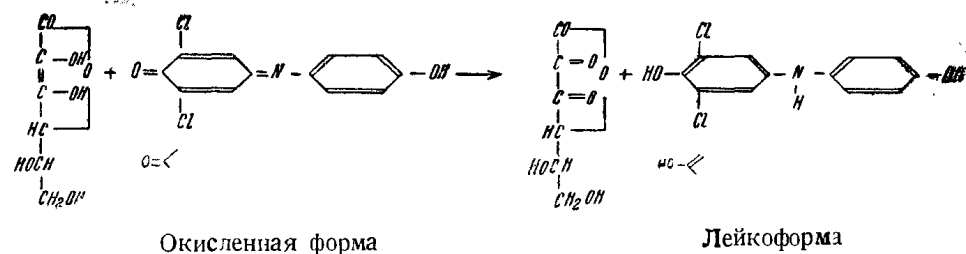


Аскорбиновой кислоте, как можно видеть из предыдущего, при-суши некоторые свойства моноз.

Весьма характерны для аскорбиновой кислоты реакции восстановления метиленовой сини и 2,6-дихлорфенолиндофенола. Под влиянием освещения аскорбиновая кислота восстанавливает метиленовую синь в лейкосоединение, окисляясь при этом в дегидроаскорбиновую кислоту:



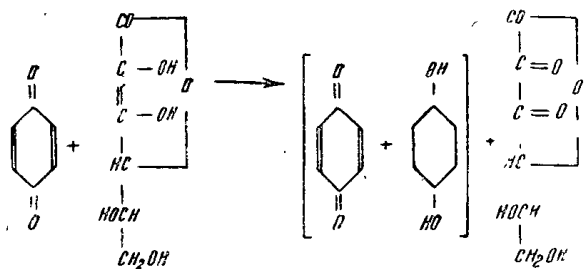
Подобным же образом протекает реакция восстановления 2,6-дихлорфенолиндофенола:



Как видно из этих примеров, аскорбиновая кислота при окислении теряет 2 атома водорода, следовательно, в окислительно-восстановительных реакциях она ведет себя как двухосновное соединение.

Реакции аскорбиновой кислоты с метиленовой синью и 2,6-дихлорфенолиндофенолом служат для количественного определения витамина¹.

Аскорбиновая кислота, окисляясь гидрохиноном, превращает его в хингидрон.



Все вышеприведенные реакции обратимы: окисленная форма аскорбиновой кислоты—дегидроаскорбиновая—может быть вновь возвращена в исходное состояние при помощи сероводорода, селена, его соединений или при помощи *Bacterium coli*. Восстановление при помощи *B. coli* происходит на 100% при pH 6,2—6,6 в течение 15 мин. при 40°.

Аскорбиновая кислота одноосновна; гидроксильная группа 3-го углеродного атома обладает большой реагентспособностью, в связи с чем она легко образует типичные соли, по типу $C_6H_7O_6Me$. В свое время Каррер, Саломон и Шопп (29), чтобы подчеркнуть кислотные свойства аскорбиновой кислоты, предлагали писать ее формулу как $C_6H_7O_4COOH$; однако такое начертание не получило распространения.

Аскорбиновая кислота способна к образованию органических и неорганических комплексов. К таким соединениям можно отнести аскорбиновокислое железо, аскорбиновокислую медь, аскорбинат риванола, хинина и т. п.

Многие соли и комплексы аскорбиновой кислоты отлично растворимы в воде, обладают биологической ценностью, в некотором отно-

¹ Лавров (15) приводит следующий расчет соотношения между индофенолом и аскорбиновой кислотой: 1 граммолекула индофенола = 190; 1 граммолекула аскорбиновой кислоты = 176, следовательно, в 1 л 0,001 N раствора индикатора содержится $\frac{0,290}{2} = 145$ мг, а в 1 мл 0,001 N раствора 0,145 мг.

Этому количеству индикатора соответствуют

$$\frac{0,145 \cdot 176}{290} = 0,088 \text{ мг}$$

аскорбиновой кислоты. Следовательно, 1 мг ее должен оттитровывать (восстанавливать)² $\frac{1}{0,088} = 11,36$ мл 0,001 N раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола. Этим коэффициентом обычно пользуются при определении аскорбиновой кислоты химическим методом.

шении превышающей ценность чистой аскорбиновой кислоты, так как аскорбиновая кислота усиливает специфическое фармакодинамическое действие входящих в состав этих соединений элементов. Образуются соединения, обладающие новыми, весьма интересными особенностями. Так, например, соли Na, Ca, Mg, Pb и NH_4 ускоряют свертываемость крови, соли Fe являются исключительным антианемическим фактором (30), соли Fe, Cu и некоторых комплексов оказывают канцеролитическое действие и т. д. (31).¹

Приводим способы получения некоторых солей аскорбиновой кислоты.

Аскорбинат натрия (32). Растворяют 1 mol аскорбиновой кислоты в 96%-ном этиловом спирте и оттитровывают вычисленным количеством алкоголята натрия. Осадок отсасывают и сушат над H_2SO_4 в вакуумэксикаторе. Выход количественный. Состав: $C_6H_7O_6Na$.

По прописям других авторов 1 г аскорбиновой кислоты растворяют в этиловом спирте, добавляют эквимолекулярное количество спиртового раствора NaOH и нагревают. По охлаждении приливают 1—2 капли воды и оставляют на холоде для кристаллизации. Выкристаллизовываются крупные, слегка желтоватые кристаллы соли.

Аскорбинат кальция (33). К водному раствору аскорбиновой кислоты добавляют избыток $CaCO_3$, по окончании реакции отфильтровывают и осаждают соль этиловым спиртом и эфиром. Снежнобелый осадок отсасывают и сушат в вакуумэксикаторе. Вещество гигроскопично. Состав: $(C_6H_7O_6)Ca$.

Аскорбинат бария (33). К водному раствору аскорбиновой кислоты добавляют эквимолекулярное количество водного раствора $Ba(CH_3COO)_2$. Раствор обрабатывают спиртом и эфиром. Бледноватожелтый осадок отсасывают и сушат в вакуумэксикаторе. Состав: $(C_6H_7O_6)_2Ba \cdot 2H_2O$.

Аскорбинат аммония (34). К водному раствору аскорбиновой кислоты добавляют эквимолекулярное количество сухого $(NH_4)_2CO_3$. По окончании реакции яркооранжевый раствор обрабатывают спиртом и эфиром, красноватый осадок отсасывают и сушат в вакуумэксикаторе. Состав: $C_6H_7O_6NH_4$.

Аскорбинат кобальта (34). К водному раствору аскорбиновой кислоты добавляют эквимолекулярное количество $CoCO_2$. По окончании реакции раствор обрабатывают спиртом и эфиром. Розовый осадок отсасывают и сушат в вакуумэксикаторе. Состав: $(C_6H_7O_6)Co$.

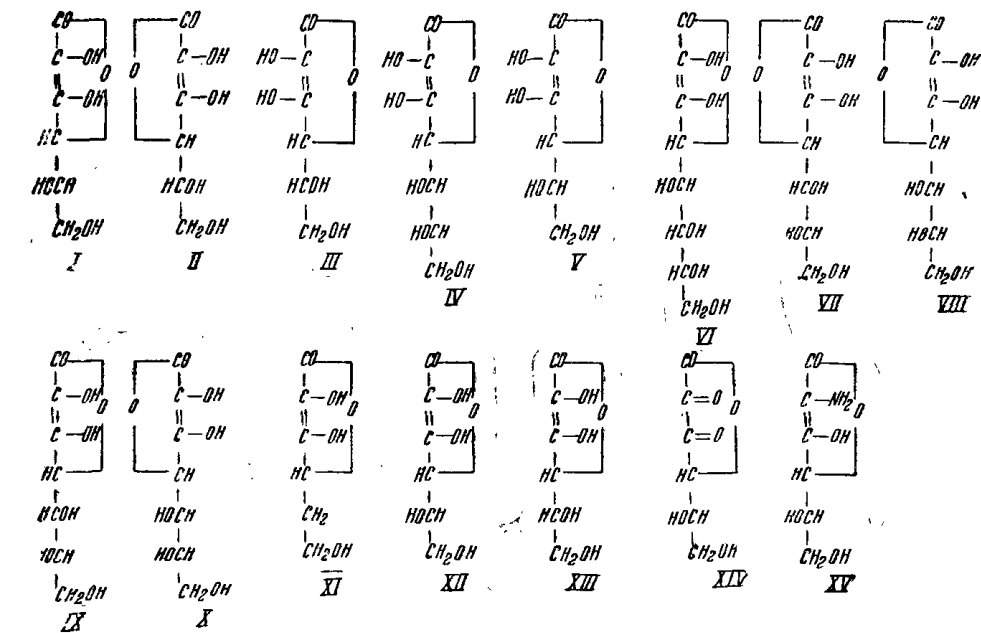
Аскорбинат железа (35). К водному раствору аскорбиновой кислоты добавляют некоторый избыток $FeCO_2$ и тщательно размешивают при легком подогревании на водяной бане. По окончании реакции избыток железа отфильтровывают и черно-фиолетовый раствор обрабатывают спиртом и эфиром. Фиолетовый осадок отфильтровывают и сушат в вакуумэксикаторе над H_2SO_4 , NaOH и парафином. Состав: $C_6H_7O_6 \cdot FeO$. Маурер и Шидт используют для получения аскорбината железа изоаскорбиновую кислоту или ее бариевую соль и ведут реакцию обмена с $FeSO_4$, что менее удобно.

Аскорбиновая кислота дает хорошо кристаллизующиеся производные с этиламино, *n*-бутиламино, изоамиламином, циклогексиламином и т. п. Оксамид можно получить следующим образом: в колбочку на 50 мл вносят 0,5 г аскорбиновой кислоты в 5 мл воды, добавляют 5 мл 25%-ного NH_4OH , через 1 час приводят к объему и нагревают в течение 48 часов. По окончании реакции содержимое упаривают до минимального объема—выкристаллизовывается окса-

¹ Впрочем, последнее обстоятельство еще подлежит проверке.

мид состава $\text{CONH}_2 \cdot \text{CONH}_4$ (метиламин и диметиламин в этом отношении являются исключением и не дают с аскорбиновой кислотой кристаллических производных).

В настоящее время получено и исследовано большое число аналогов и производных аскорбиновой кислоты: (I) *l*-аскорбиновая кислота, (II) *d*-аскорбиновая кислота, (III) *d*-арабоаскорбиновая кислота, (IV) *l*-рамноаскорбиновая кислота, (V) *l*-глюкоаскорбиновая кислота, (VI) *d*-глюкогептааскорбиновая кислота, (VII) *l*-гулоаскорбиновая кислота, (VIII) *l*-аллоаскорбиновая кислота, (IX) *l*-фукоаскорбиновая кислота, (X) *d*-галактоаскорбиновая кислота, (XI) 5-дезоксiasкорбиновая кислота, (XII) 6-дезоксiasкорбиновая кислота, (XIII) изоаскорбиновая кислота, (XIV) дегидро-*l*-аскорбиновая кислота, (XV) скорбаминовая кислота¹.



Однако при испытании их было найдено, что лишь *l*-аскорбиновая кислота обладает антицинготной активностью в дозе 0,5 мг на морскую свинку, другие аналоги значительно менее активны, а некоторые из них, как например *d*-аскорбиновая кислота, вовсе не обладают физиологической активностью.

Физиологическая активность *l*-аскорбиновой кислоты обусловлена не только наличием в ее молекуле диэнла, но и своеобразным пространственным расположением атомов в молекуле; незначительные пространственные перемещения атомов уже сказываются на свойствах витамина.

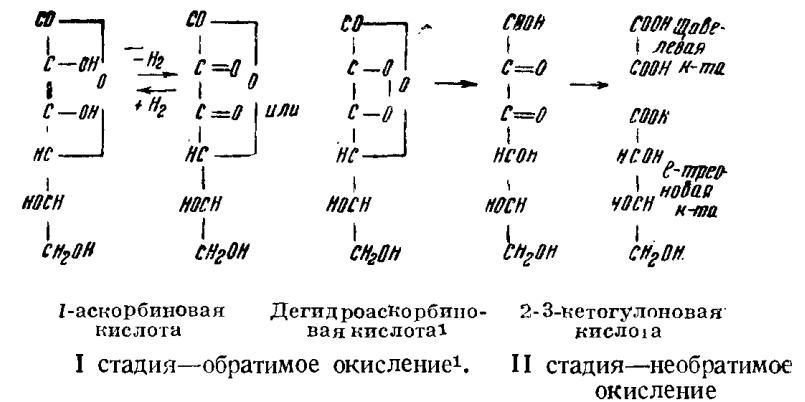
¹ Кстати, следует отметить, что *d*-глюкоаскорбиновая кислота подавляет действие аскорбиновой кислоты, и может рассмагиваться как «антивитамин С».

Аскорбиновая кислота быстро окисляется в растворе. В кристаллическом состоянии она вполне устойчива к действию высокой температуры и кислорода, но при наличии даже следов влаги аскорбиновая кислота начинает окисляться. Окисление ее может происходить как в анаэробных, так и в аэробных условиях.

Процесс окисления, в зависимости от условий, протекает по-разному, но, повидимому, всегда совершается в две стадии:

1) аскорбиновая кислота дегидрируется, превращается в дегидроаскорбиновую кислоту, которая может быть восстановлена (обратимый процесс). Эта форма аскорбиновой кислоты отличается высокой лабильностью;

2) дальнейшее окисление протекает с образованием физиологически неактивных продуктов (необратимый процесс); при этом в случае глубокого окисления молекула аскорбиновой кислоты распадается, и среди других продуктов ее распада всегда присутствует молекула щавелевой кислоты. Этот процесс может быть представлен следующим образом:



Восстановление аскорбиновой кислоты сероводородом и полнота этого восстановления во многом зависят не только от степени окисления, но и от концентрации водородных ионов. Так, наиболее полное восстановление дегидроформы происходит при pH 4,5.

На окисление аскорбиновой кислоты влияют pH и температура реакции: при pH 4,5 окисление протекает вдвое быстрее, чем при pH 3; максимума оно достигает при щелочном значении pH. Скорость окисления возрастает от 7 до 60°, после чего заметно тормозится, при 90—95° скорость значительно снижается. Наличие в этих случаях тяжелых металлов и других катализаторов окисления приводит к распаду молекулы кислоты.²

¹ По Энгельгардту и Букину, дегидроаскорбиновая кислота при 18—20° и pH 9 за 10 мин. разрушается более чем на 80% (36).

² В процессе протеолиза тканей (при воздействии высокой температуры) отщепляющиеся аминогруппы приводят к разрушению аскорбиновой кислоты.

Аэробное окисление аскорбиновой кислоты в присутствии солей тяжелых металлов протекает необратимо; при этом на 1 молекулу кислоты расходуется 1 молекула кислорода.

Недавно опубликованы весьма интересные данные о влиянии некоторых катализаторов на кислоту, имеющие большое практическое значение. Мы приводим некоторые данные по этому вопросу.

Растворы аскорбиновой кислоты, приготовленные на сырой (водопроводной) и на дистиллированной воде за 11 дней хранения потеряли аскорбиновой кислоты в первом случае 46%, во втором 25%. Это можно объяснить влиянием хлора, содержащегося в водопроводной воде. Потери аскорбиновой кислоты в кипящих растворах были соответственно ниже: 32 и 22%, что объясняется систематическим удалением из растворов свободного O_2 . Хранение раствора аскорбиновой кислоты с лимонной кислотой при комнатной температуре показало потери в 35%, с виннокислотной—за тот же отрезок времени была обнаружена полная потеря аскорбиновой кислоты. Это обстоятельство пока что не нашло себе объяснения, тем не менее, наши опыты, проведенные в 1942 г., дали те же результаты.

При сопоставлении свойств тяжелых металлов (Fe, Zn, Sn, Cu, Ag) в этих же опытах было найдено, что наибольшие потери аскорбиновой кислоты наблюдаются в присутствии меди и серебра, наименьшие—в присутствии олова, свинца и алюминия.

Аскорбиновая кислота разрушается ультракороткими волнами, причем разрушение ее тем интенсивнее, чем дольше экспозиция.

Ультрафиолетовые лучи также разрушают аскорбиновую кислоту, при этом разрушение имеет характер глубокого окисления. В табл. 26 приводим данные, имеющиеся по этому поводу.

Таблица 26

Влияние ультрафиолетовых лучей на аскорбиновую кислоту

Время облучения (в минутах)	В кварце		В стекле		В присутствии метиленаблау		В присутствии лактофлавина	
	до H_2S	после H_2S	до H_2S	после H_2S	до H_2S	после H_2S	до H_2S	после H_2S
	0	4	4	4	4	4	4	4
15	2,5	3	4	4	2	3,75	0,8	2,7
30	0,68	1,97	4	4	0,6	2,7	0	2,92
60	0	0,76	3,8	3,75	0	1,2	0	0,9

Из приведенных данных видно, что присутствие лактофлавина значительно способствует окислению аскорбиновой кислоты ультрафиолетовыми лучами.

В естественных объектах содержится ряд веществ, предохраняющих аскорбиновую кислоту от окисления.

В частности, укажем, что сернистые соединения, а также соединения, содержащие сульфгидрильную группу (глутатион), предо-

храняют аскорбиновую кислоту от окисления (или восстанавливают ее). Таким же свойством обладают пурины (37)—ксантин, мочевая кислота, теофеллин, креатинин. Этим свойством не обладают креатин, кофеин и теобромин. Проведенные нами, совместно с Захаровой, опыты по хранению водных экстрактов аскорбиновой кислоты в разных условиях в присутствии мочевой кислоты подтверждают вышеприведенные данные. Так, например, хвойная вытяжка, хранившаяся в одних и тех же условиях при комнатной температуре в присутствии мочевой кислоты и без нее, за 5 дней показала снижение исходной активности в первом случае только на 5—20%, в то время как во втором активность вытяжки снизилась на 90%.

В 1934—1935 гг. было найдено, что окисление аскорбиновой кислоты медью сильно тормозится в присутствии NaCl, некоторых аминокислот и белков. Повидимому, в данном случае медь вступает с белками и аминокислотами в прочные соединения, неактивные в смысле их окисляющего воздействия на аскорбиновую кислоту. Отметим, что каталаза также тормозит окисление аскорбиновой кислоты медью (38).

Соли цианистой кислоты и сама кислота также способствуют стабилизации аскорбиновой кислоты, однако большие дозы ее действуют окисляюще.

Если взять водный раствор аскорбиновой кислоты, содержащий 35 мл кислоты в 100 мл, к раствору добавить 1,15 мг Cu и оставить раствор на 24 часа с разными стабилизаторами, то через указанный промежуток времени мы обнаружим следующую сохранность аскорбиновой кислоты (в % от исходного):

Раствор исходный	+ 0,5 NaCl	—	сохранность	0
»	»	+ 0,1 глюкозы	»	13,4
»	»	+ 0,03 мочевины	»	8,9
»	»	+ 0,07 глютамин. кислоты	»	33,7
»	»	+ 0,005 мочевой кислоты	»	20,8
»	»	+ 0,0005 креатинина	»	56
»	»	+ 0,007 гесперидина	»	0
»	»	+ 0,006 тиомочевины	»	100

Таким образом, тиосоединения показывают наиболее высокие стабилизирующие свойства по отношению к аскорбиновой кислоте.

Известно, что сульфитация плодов и овощей способствует сохранению в них витамина С. Сисакян и Васильева (115), изучая механизм стабилизации аскорбиновой кислоты сернистой кислотой, установили, что последняя инактивирует действие пероксидазы и аскорбиназы, а также значительно тормозит действие полифенолоксидаз. SO_2 блокирует активные группы ферментов, окисляющих аскорбиновую кислоту.

Повидимому, стабилизирующее действие некоторых других веществ также можно усматривать в блокировке активных групп окислительных ферментов.

Стабилизация аскорбиновой кислоты сахарозой имеет иной механизм действия: стабилизация в щелочной среде обусловлена выключением действия меди вследствие образования медных сахаратов; стабилизация аскорбиновой кислоты в кислой среде обусловливается повышением вязкости раствора (при концентрированных сахарных растворах), вследствие чего значительно уменьшается скорость диффузии кислорода из воздуха.

1 инт. ед. витамина С равна 0,05 мг кристаллической аскорбиновой кислоты; 1 биологическая единица (единица морской свинки, или МЕ) равна 1 мг.

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Из громадного числа предложенных в разное время химических методов определения витамина С наиболее достоверным является определение витамина при помощи титрования раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола. Однако в том виде, как он предложен Тильмансом (41), метод этот не может быть применен для точных определений. Дело в том, что многие вещества, находящиеся в естественных продуктах (глутатион, цистеин, танины, некоторые углеводы и соли и т. п.), так же восстанавливают 2,6-дихлорфенолиндофенол, как и аскорбиновая кислота. Поэтому нужны определенные условия, исключающие влияние этих веществ, чтобы результаты титрования совпали с истинным содержанием витамина С в испытуемом объекте. Многими авторами и учреждениями в свое время были предприняты попытки таким образом модифицировать метод Тильманса, чтобы он давал результаты, наиболее близко совпадающие с данными биологического определения (на морских свинках).

В течение ряда лет Государственной контрольной витаминной станцией и Всесоюзным витаминным институтом производились проверка и уточнение отдельных прописей методик, в результате чего выявилась возможность рекомендовать несколько методов, доступных для ряда лабораторий и наиболее точно характеризующих витаминную активность исследуемого материала (39, 40, 42—49).

1. Определение аскорбиновой кислоты в растительных продуктах

Навеску исследуемого материала (2—10 г) тщательно растирают в ступке со стеклянным порошком или кварцевым песком и 5%-ным раствором уксусной кислоты (не менее чем трехкратное количество). Полученную массу быстро фильтруют через марлю или вату или центрифугируют.

К 10 мл фильтрата или центрифугата добавляют 0,4 г CaCO_3 и по окончании реакции нейтрализации приливают 5 мл 5%-ного

раствора уксуснокислого свинца (приготовленного на 5%-ной уксусной кислоте) и фильтруют или центрифугируют.

К 1—10 мл фильтрата или центрифугата добавляют 1/2 объема концентрированной уксусной кислоты (70—80%) и титруют 0,001 N раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления не исчезающего розового окрашивания.

Примечание. Государственная контрольная витаминная станция Министерства здравоохранения СССР рекомендует перед титрованием добавлять к фильтрату 1 мл 2%-ной соляной кислоты и доводить объем титруемой вытяжки водой до 15 мл.

Расчет содержания аскорбиновой кислоты производят по следующей формуле:

$$X = \frac{p \cdot k \cdot v \cdot v_1 \cdot 0,088 \cdot 100}{a \cdot b \cdot c},$$

где: X — содержание аскорбиновой кислоты, мг %,

p — количество миллилитров индофенола, пошедшее на титрование, за вычетом поправки на цветность,

k — поправка к титру 0,001 N раствора индофенола,

v — объем, до которого доведена взятая навеска,

v₁ — объем вытяжки после осаждения свинцом,

0,088 — количество миллиграммов аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл точного 0,001 N раствора индофенола,

a — навеска исследуемого материала в г, взятая для определения,

b — количество миллилитров вытяжки, взятое для осаждения свинцом,

c — количество миллилитров вытяжки, взятое для титрования.

В случае наличия в исследуемом веществе окисленной формы аскорбиновой кислоты или в случае анализа интенсивно окрашенных продуктов или подвергавшихся технологической обработке фильтрат после осаждения уксуснокислым свинцом обрабатывают в течение 5—10 мин. током сероводорода, выпавший осадок PbS отфильтровывают и фильтрат обрабатывают углекислотой для удаления избытка сероводорода, после чего вытяжку титруют, как указано выше.

Расчет содержания общего количества аскорбиновой кислоты производят так же, как и расчет восстановленной аскорбиновой кислоты; вычитая из общего количества аскорбиновой кислоты количество восстановленной, определяют количество окисленной формы аскорбиновой кислоты.

При анализе продуктов, богатых дубильными веществами (чай), крахмалом (картофель), и мучных изделий обработку вытяжек производят 25%-ным раствором уксуснокислого свинца до полноты осаждения; в дальнейшем поступают, как описано выше.

II. Упрощенный метод определения аскорбиновой кислоты в хвое, шиповнике, настоях из хвои и листьев древесных пород, экстрактах и концентратах шиповника, драже и таблетках и т. п.

Навеску исследуемого материала (1—10 г) тщательно растирают в ступке со стеклянным порошком и 2%-ной HCl, переносят в мерную колбу емкостью 50—100 мл, объем доводят до метки 2%-ной HCl, фильтруют и 1—10 мл фильтрата титруют 0,001*N* раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления не исчезающего в течение полминуты розового окрашивания.

Расчет содержания аскорбиновой кислоты производят по следующей формуле:

$$X = \frac{n \cdot k \cdot v \cdot 0,088 \cdot 100}{a \cdot c}$$

Обозначения те же, что и в предыдущей формуле.

Примечание. Букин рекомендует иодометрический метод для определения витамина С в хвойных настоях.

III. Определение витамина С в сульфитированных продуктах

Определение витамина С в продуктах, подвергавшихся сульфитации, имеет свои особенности, заключающиеся в необходимости удаления из испытуемых вытяжек SO₂. Витаминным институтом разработан следующий метод определения (123).

Навеску сульфитированного продукта (в зависимости от активности) тщательно измельчают в ступке с кварцевым песком и кислотой (если дальнейшее определение витаминной активности будет проводиться по методу Тильманса, применяют 2%-ную HCl; при определении по Девятнину и Иосиковой применяют 5%-ную CH₃COOH). Общее количество кислоты, применяемой для этой цели, должно находиться в отношении 1 : 10 или 1 : 25. Полученную вытяжку количественно переносят в колбу, снабженную пробкой с двумя отверстиями: через одно из них проходит опущенная в жидкость трубка, соединенная при помощи каучука с источником CO₂ (аппарат Киппа или баллон). На стенке колбы делают отметку, равную соответствующему объему вытяжки в колбе, через систему пропускают слабый ток углекислоты и одновременно нагревают содержимое колбы до кипения, время от времени взбалтывая. По прошествии 3—5 мин. кипячения из колбы отбирают пробу жидкости для определения наличия в ней SO₂. В случае положительной реакции кипячение продолжают еще несколько минут и вновь пробу жидкости испытывают на SO₂. При отсутствии SO₂ систему разъединяют, содержимое колбы охлаждают струей водопроводной воды, вытяжку в колбе приводят при помощи соответствующей кислоты к исходному объему и в дальнейшем поступают так, как описано при определении содержания витамина С.

Как качественная реакция на SO₂. Исследуемую кислотную вытяжку нейтрализуют по лакмусу 10%-ным раствором NaOH.

На фарфоровую пластинку (или крышку от тигля) помещают 5 капель нейтрализованной жидкости и прибавляют 1 каплю водного раствора малахит-грюн (концентрация 1 : 2000). В присутствии SO₂ голубая окраска смеси быстро исчезает¹.

IV. Определение аскорбиновой кислоты в моче

К 10 мл мочи добавляют 1 мл конц. уксусной кислоты и 100 мл дистиллированной воды. Титруют из микробюретки 0,001*N* раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления не исчезающего в течение полминуты розового окрашивания. Необходимо, чтобы все определение заканчивалось в течение не более 1 мин. (Поправка на цветность обычно составляет 0,7—0,8 мл).

V. Определение аскорбиновой кислоты в крови и моче, по Девятнину и Иосиковой (52)

4 мл крови или мочи вносят в широкую центрифужную пробирку, приливают 8 мл 0,5%-ного раствора уксуснокислого кальция и при помешивании стеклянной палочкой добавляют 4 мл 25%-ного раствора уксуснокислой ртути. Содержимое пробирки тщательно размешивают до получения однородной массы, центрифугируют 5 мин. (мочу отфильтровывают через складчатый фильтр), центрифугат (или фильтрат) обрабатывают в течение 5 минут сероводородом для восстановления окисленной под влиянием солей ртути аскорбиновой кислоты и удаления избытка ртути. Фильтруют, сероводород удаляют пропусканием CO₂ и полученную вытяжку целиком титруют из микробюретки $\frac{0,001}{2}$ *N* раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления устойчивого бледнорозового окрашивания.

VI. Определение аскорбиновой кислоты в плазме крови

К 5 мл крови прибавляют оксалат или цитрат натрия и тотчас центрифугируют для отделения плазмы. 2 мл плазмы переносят в центрифужную пробирку, прибавляют 4 мл дистиллированной воды и 2 мл 5%-ного раствора вольфрамвоокислого натрия. Тщательно размешивают, добавляют 2 мл $\frac{1}{3}$ *N* раствора серной кислоты, вновь перемешивают, дают отстояться в течение 1—2 мин. и центрифугируют. 2 мл центрифугата титруют из микробюретки 0,001*N* раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розового окрашивания.

¹ Леви(121) к слегка подкисленному экстракту сульфитированных плодов и овощей добавляет эквивалентный объем 3%-ного раствора H₂O₂ и титрует вытяжку обычным способом. По ряду причин затруднительно дать положительную оценку этого метода. Сисакян (122) титрует вытяжку продукта после предварительного ее кипячения для удаления SO₂.

VII. Определение аскорбиназы в растительных продуктах

В основе метода лежит принцип определения аскорбиназы, предложенный Букиным и видоизмененный Девятниным и Грунт. Метод приводится в том виде, как он описан в соответствующих инструкциях (123).

Для определения готовят 3 колбы на 50 мл (№ 1, 2 и 3) и нейтрализованный до pH 5,5—5,9 раствор кристаллической аскорбиновой кислоты (5 мг кислоты в 1 мл раствора).

Навеску испытуемого материала (5—25 г) тщательно растирают в ступке с небольшим количеством воды. Полученную взвесь переводят в мерный цилиндр и доводят до объема (25—50 мл) водой. Из полученной взвеси после тщательного перемешивания отбирают 5 мл в колбу № 1, туда же прибавляют 1 мл раствора аскорбиновой кислоты (5 мг) и 19 мл буферного раствора (9 частей фосфата калия + +1 часть фосфата натрия; pH 5,9).

В колбу № 2 вносят 5 мл растительной взвеси, 19 мл буферного раствора и 1 мл воды.

(Кислые вытяжки предварительно нейтрализуют 0,1 N раствором щелочи до pH 5,5—5,9).

В колбу № 3 вносят 1 мл раствора аскорбиновой кислоты, 19 мл буферного раствора и 5 мл воды.

Все три колбы с содержимым хорошо взбалтывают и оставляют в термостате на 30 мин. при 20°, часто их перемешивая. По истечении указанного срока колбы вынимают из термостата, в каждую из них тотчас приливают по 5 мл 2%-ного раствора HCl, перемешивают, отбирают по 0,5—2 мл смеси и титруют 0,001N раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола обычным путем.

В результате имеется возможность определить активность аскорбиназы, если она лежит в пределах до 10 мг дегидроаскорбиновой кислоты, так как в опыт берется 5 мг аскорбиновой кислоты. Если при титровании содержимого колбы № 1 будет обнаружено, что вся аскорбиновая кислота окислена, тогда опыт следует повторить с удвоенным, утроенным (10, 15 мг) количеством аскорбиновой кислоты.

$$x = \frac{(a-b) \cdot k \cdot 2}{11,4 \cdot c}$$

где: x —активность аскорбиназы в мг дегидроаскорбиновой кислоты в 1 г исследуемой ткани (в расчете на 1 час действия фермента),

a —количество миллилитров индофенола, пошедшего на титрование 0,5—2 мл вытяжки из колбы № 2,

b —то же, для колбы № 1,

k —коэффициент поправки к титру индофенола,

2—коэффициент пересчета действия фермента на 1 час времени,

11,4—коэффициент для пересчета индофенола на аскорбиновую кислоту,

c —навеска вещества в г, взятого на титрование:

$$c = \frac{m \cdot p \cdot e}{n \cdot k}$$

где: m —исходная навеска вещества в г,

n —1-е разведение

p —количество взвеси в мл, взятое в колбу № 1,

k —объем жидкости в колбе № 1 после добавления соляной кислоты, в конце опыта,

e —количество взвеси в мл, взятых из колбы № 1 на титрование.

Мы лишены возможности привести другие методы определения витамина С, безусловно заслуживающие внимания, как, например, метод Букина для определения аскорбиновой кислоты в растительных объектах, применяемый в наших лабораториях (53), метод Мартини и Бонсиньоре с метиловой синью (54), титрование аскорбиновой кислоты иодом в модификации Голяницкого и Брюшковой (55), метод Иосиковой—для определения аскорбиновой кислоты в животных тканях (56)¹, гистологический метод Жиру—с азотнокислым серебром (57), упрощенный метод Главного военно-санитарного управления, применяемый в походных условиях (124), тест Роттера—подкожное введение 2,6-дихлорфенолиндофенола для установления степени дефицита в организме аскорбиновой кислоты и др. Отметим лишь, что иногда химические методы определения витамина С все же могут вызывать сомнение в правильности получаемых результатов. В таких случаях, правда, крайне редких, приходится прибегать к помощи биологического определения (на морских свинках). (Литературу по этому вопросу см. 50, 51).

В настоящее время выпущен ГОСТ № 3715-47 на методы определения витамина С, которым и надлежит руководствоваться в практической работе. В основу ГОСТ положен свинцово-сероводородный метод, упрощенный способ и иодометрическое определение. В ГОСТ приводятся указания, в каких случаях следует пользоваться тем или иным способом.

СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В РАСТЕНИЯХ И ЕЕ РОЛЬ В ПРОЦЕССЕ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Во всех растениях (за небольшим исключением)² содержится аскорбиновая кислота, иногда в весьма значительных количествах, причем в различных органах одного и того же растения содержание ее различно. Как правило, наиболее богаты аскорбиновой кислотой

¹ Для определения аскорбиновой кислоты в животных тканях по методу Иосиковой навеску ткани растирают в 0,5%-ном растворе уксуснокислого кальция, обрабатывают 5%-ным раствором уксуснокислой ртути, в дальнейшем поступают, как указано в определении в крови и моче.

² Вопрос о причинах отсутствия аскорбиновой кислоты в грибах, некоторых водорослях и т. п. является предметом специального исследования. Грибы (высшие и низшие) аскорбиновой кислоты практически не содержат; в них встречаются вещества, лишь «напоминающие аскорбиновую кислоту». Повидимому, таким соединением может служить карнозиковая кислота, содержащая моноэнол и титруемая индофенолом. В этой связи сообщение Кезели и Джапаридзе (117—119) об обнаружении ими в грибах аскорбиновой кислоты выдвигает вопрос о необходимости дальнейшего изучения природы редуцирующих веществ некоторых грибов.

Содержание аскорбиновой кислоты в растениях и растительных продуктах¹
(в мг %)

Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты	Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты
1. Овощи			
Арбузы	7*	Редис розовый	20+
Баклажаны синие	15*	Редька дикая	29—40
Батаг	15—22	Редька черная, столовая	25*
Бобы белые	0—5	Репа, разные сорта	20+
Бобы коричневые	2—15	Салат кочанный, темно-зеленый	30+
Брюква	30*	Салат кочанный, светло-зеленый	10*
Горошек зеленый	25*	Салат кудрявый, Эндими	12—40
Горох стручковый, разные сорта	100—226	Свекла столовая, египетская	10*
Дыни, разные сорта	20*	Свекла столовая, розовая	5—10
» канталупы	до 30	Свекла сахарная	30—40
Кабачки, разные сорта	15*	Сельдерей, корень	до 10
Капуста белокочанная, свежая	30*	Спаржа дикая	100—190
Капуста белокочанная, квашеная	17—25	» огородная	10—50
Капуста брюссельская	до 120	Тмин	50—76
» краснокочанная	50*	Томаты земляничные	18—20
» листовая	40—150	» мексиканские, желтые	7—10
» савойская	50	Томаты обыкновенные, разные сорта, красные	40*
» цветная	70*	Томаты обыкновенные, разные сорта, желтые	20—30
Картофель, хранящийся в течение зимы	4—11	Томаты обыкновенные, разные сорта, фиолетовые	13—15
Кольраби венская, белая	50—100	Топинамбур	до 60
» осенняя	25—75	Тыква	5—8*
Кресс-салат	20—50	Турнепс	20—55
Лебеда садовая	140—160	Укроп	150*
Лук дикий	19—72	Фасоль	8—15
» зеленый огородный	60*	Хрен свежий	200+
» порей	20*	Цикорий, корень	23
» репчатый	10*	Цифамандра, древовидный томат	24—32
Морковь	5*	Черемша, листья	до 100
Огурцы	5*	Черемша, луковица	40*
Пастернак	40	Чеснок алтайский	10—20
Перец горький	200—300	» дикий	10—20
» красный горький	200—250	» огородный	следы
Перец сладкий	100—300		
Петрушка, зелень	150*		
» корень	2—5		
Ревень листья	120		
» черешок	до 5		
» памирский (листья)	80—190		

листьям и лоды, значительнее меньше ее в стеблях и очень мало в корнях (исключение составляют некоторые корнеплоды).

Работами Иванова, Лаврова, Шмидта с сотр., Шуберт (58—67) и др. была показана исключительно высокая С-витаминная активность шиповника и одновременно установлены большие колебания в содержании в нем витамина в зависимости от сорта и района произрастания. Так, например, как правило, шиповники южного происхождения беднее аскорбиновой кислотой, чем северные и произрастающие в горах; шиповники с светлыми плодами зачастую активнее шиповников с темными плодами, и т. п.

В результате большого числа работ, проведенных нашими исследователями, шиповник в настоящее время широко используется в отечественной витаминной промышленности для получения высокоактивных и стойких концентратов витамина С и для обогащения им пищевых продуктов.¹ Однако в направлении изыскания новых форм и сортов этого ценнейшего растения должна быть проведена еще очень большая работа. В частности, необходимо создание плантаций высоковитаминных видов шиповника, широкое использование шиповника как посадочного материала по линии дорог, селекционная работа и т. п. Это создаст базу сырья для нашей витаминной промышленности.

За последние годы Центральная Воронцовская биологическая станция Союзвитамипрома проводит в данном направлении весьма плодотворную работу. Некоторые виды шиповников, подготовленные для широкого размножения и интродукции, отличаются поразительно высоким содержанием витамина С (свыше 27 000 мг%). Заложены плантации высоковитаминных шиповников в совхозах Союзвитамипрома. Не менее значительная работа в этом направлении проводится Институтом агролесомелиорации и другими учреждениями.

Нужно указать, что этому вопросу советское правительство и научно-техническая общественность справедливо уделяют весьма большое внимание.

Гергележиу и Букин (62—63) установили большое содержание аскорбиновой кислоты в незрелых плодах грецкого ореха. В настоящее время в южных районах СССР производятся опыты по переработке этого ценного сырья в заводских условиях для обеспечения населения нашей страны витамином С.

Много аскорбиновой кислоты в черной смородине, ягодах облепихи (64), барбарисе, рябине и т. п. Хвоя ели, пихты, кедра и т. п. еще с давних времен служила отличным антицинготным средством и нередко хвойные настои находят широкое применение в общественном питании и медицине (65). Листва древесных пород содержит в среднем до 300 мг% аскорбиновой кислоты, ботва огородных

¹ Отметим, что в части пропаганды шиповника, его использования для витаминизации и внедрения его в промышленность много было сделано в нашей стране Гуровичем, Грюнером, Ярусовой, Шепилевской, Букиным, сотрудниками фабрик «Ударница», «Марат» и др. (126).

¹ Цифры, отмеченные знаком +, взяты из издания НКЗ СССР «Нормы суточного потребления витаминов».

Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты	Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты
Шнитт-лук	5	Вишни садовые	15+
Шпинат	50+	» степные	45
Щавель луговой	60+	Вороника	0+
» огородный	50	Гикори (кавказский орех)	400—800
2. Ботва огородных растений		Голубика	20+
Ботва бобов огородных	30—100	Гранат, целый плод	5+
» брюквы	120+	Груши амурские, дикие	11
» кабачков	до 120	Груши, разные сорта	4+
» картофеля	40—50	Грейпфрут	40,0+
» моркови	80+	Ежевика	5,0+
» огурцов	до 120	Жимолость	0—25
» подсолнечника	35—80	Земляника лесная	30+
» редиса	100+	Изюм	0
» редьки	100+	Ирга	5—10
» свеклы кормовой	50+	Калина буреинская	50—60
» » сахарной	50+	» пушистая	70
» » столовой	20+	Каштан конский	5—8
» спаржи	335	» красный	до 20
» томата мексиканского	80	Кизил	50—60
Ботва тыквы	110+	Клубника, разные сорта	25—120
» фасоли	120—160	Клюква подснежная	0+
» хрена	200—300	» свежая	10,0+
3. Фрукты, плоды и ягоды		Княженика	100—200
Абрикосы	7+	Крыжовник	50,0+
Алыча (мирабель)	7—16	Лапань (кавказский орех), незрелый	400—1500
Айва	10	Лимон	40,0+
Актинидия аргута	28—95	Лимонный сок, свежий	70
» коломикта	1 000+	» » через 2 часа	60
» полигамма	102—225	Лимонный сок через 3 часа	50
Ананасы	5—12	Лимонный сок через 4 часа	47,5
Апельсины	40+	Лимонник	до 20
Бананы	10—15	Малина лесная	28—45
Барбарис	150+	» садовая	30,0+
Бергамот, сок плодов	70+	Мандарины	30+
Боярышник	9—54	Маслины, торговый продукт	0
Брусника	15+	Мелароза ¹	57,0
Бузина красная	до 40	Миндаль, незрелый	20
Виноград амурский	10	Морошка	30,0+
» дикий	7,5—12,5	Облепиха незрелые ягоды	200
» разные сорта	3,0+		
Винные ягоды	5		

Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты	Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты
Облепиха, зрелые ягоды	300—450	Горошек зеленый, консервированный	10,0+
Облепиха, мороженые ягоды	120,0+	Джем абрикосовый	следы
Облепиха, сок свежий	300	Джем мандариновый	0
» сок мороженный	до 150	Желе яблочное	0
Омела (<i>Viscum album</i>)	до 1200 ¹	Земляничный сок, замороженный	40
Орех грецкий, незрелый	1 000—1 800	Икра кабачковая	8,0+
<i>Juglans sinensis</i> ²	1 120 ²	Компот абрикосовый	следы
<i>J. cathagensis</i>	860	» мандариновый	5—6
<i>J. nigra</i>	700	Кукуруза консервированная	следы
<i>J. condiformis</i>	680	Морошка замороженная	10
<i>J. rupestris</i>	510	» моченая	17
<i>J. Mandehuria</i>	410	Перец фаршированный	15,0
Персики	10,0+	Салат кочанный, консервированный	2—5
Рябина кустарниковая	100	Смородина черная, сок замороженный	70
» обыкновенная, торговый продукт	50,0+	Томаты в маринаде	13—18
Рябина свежая	40—160+	Томат-пюре, развесное	10,0+
Сливы	5,0+	Томат-паста	30,0—50,0+
Смородина белая	5,6+	Томатный кетчуп	10,0+
» бурая	до 140,0	» сок	10,0+
» золотистая	20—40	Томаты фаршированные цельноконсервированные	11—13
» красная	30,0+	Терн	15—18
» черная, разные сорта	300+	Толокнянка	20
Терн	15,0+	Финики	3—7
Толокнянка	20	Хурма	90—140+
Финики	3—7	Черемуха	следы+
Хурма	90—140+	Черника	5,0+
Черемуха	следы+	Чернослив	0
Черника	5,0+	Шиповник, сухой очищенный, разные виды	от 120 до 25 000
Чернослив	0	Яблоки дикие	10—70
Шиповник, сухой очищенный, разные виды	от 120 до 25 000	» китайские	12—20
Яблоки дикие	10—70	» разные сорта (Антоновка, Титовка и др.)	30,0+
» китайские	12—20	4. Овощные и фруктовые консервы	
» разные сорта (Антоновка, Титовка и др.)	30,0+	Баклажанная икра в жестянках	5,0+
4. Овощные и фруктовые консервы		Варенье из брусники	0
Баклажанная икра в жестянках	5,0+	» голубики	3—5
Варенье из брусники	0	» » рябины	10
» голубики	3—5		
» » рябины	10		
		5. Дикорастущие (зелень)	
		а) Пищевые	
		Аир	82
		Бадан	112
		Борщевик крупнолистный	25—50
		Борщевик мелколистный	130,0+
		Верблюжья колючка	180,0+
		Гравилат городской	117
		» речной	100
		Живучка ползучая	следы

¹ Измайлов и Карапетян. Пищевая промышленность СССР, I/24, 1945.

¹ Цицидвили, Кипаренко, Кобуладзе, Химический состав омелы и содержание в ней витамина С, 1944.

² Измайлов и Карапетян, Пищевая промышленность СССР, I/24, 1945.

Таблица 27 (продолжение)

Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты	Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты
Заячья капуста (очи-ток)	66—180	Чина	205
Звездчатка	32—57	Щавель конский	100—220
Иван-чай	120,0+	Ягель (олений мох)	14
Катран	82—112	Ячмень (травы)	146—367
Кислица	70+	в) Лекарственные	
Крапива глухая	100	<i>Противоцинговые</i>	
» двудомная	100+	Жеруха	108—215
» жгучая	100—150	Костяника	150
Купырь лесной	50	Ложечная трава	200
Курильский чай	268	Недотрога	65
Лапчатка	158	Сердечник горький	113
Лебеда белая	150,0+	» луговой	230
Люцерна синяя	225,0+	Трифоль	120
Мальва круглолистная	50	<i>Кровоостанавливающие</i>	
Манжетка	211	Аистник цикутный	73
Мокрица	до 20	Желтокорень, корни	70
Морковник	15—20	Крестовик обыкновен-ный	25
Огуречная трава	20—90	Кукушкин цвет	95
Пастушья сумка	80,0+	Мелколепестник канад-ский	19
Первоцвет лекарствен-ный	700+	Мытник болотный	следы
Подорожник	15,0+	Перец водяной	200
Свербига восточная	170	Тысячелистник	следы
Сныть съедобная	70,0	Хвощ полевой	26
Спорыш (птичья гречи-ха)	70,0+	<i>Противотуберкулезные</i>	
Сурепка	70—280	Анютины глазки	290
Хмель (Алтай)	94	Будра плюшевидная	32
» (Москва)	200—300	Вьюнок полевой	следы
Шалфей	75	Живучка ползучая	9
б) Кормовые			
Вика	200,0+	Иссоп лекарственный	39
Гречиха почечуйная	60—71	Кирказон	следы
Ежа сборная	25—237	Кровохлебка лекарст-венная	95
Житняк	172—328	Мать-мачеха	5
Клевер белый и крас-ный	120,0+	Фиалка душистая	29
Костер безостый	60—105	<i>Фармакопейные</i>	
Лисохвост	170	Алтей аптечный	15
Мятлик болотный	150	Бasilik	следы
» луковичный	88—330	Беладонна	20
Овес	132	Горечавка желтая	6
Овсяница луговая	133	Горицвет весенний	19
Пырей	80—152	Гринделия	следы
Пшеница яровая	120—168	Дурман	162—209
Соя зеленобобовая	180—300		
Тимофеевка	190—286		
Тростник, листья	135		

Таблица 27 (продолжение)

Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты	Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты
Клещевина	20	Ирис маньчжурский	175
Колоквинт, плоды	13	» сибирский	240
Лаванда	следы	Кошачья лапка	до 20
Лобелия	132	Листья брусники	20—50
Мак снотворный, коро-бочки	25	» винограда амур-ского	10—72
Марь душистая	3	Листья винограда обык-новенного	150—200
Наперстянка	65	Листья голубики	113—300
Ревень тангутский	следы	» земляники	120—200
Ромашка аптечная	46	» клубники	200—300
» кавказская	следы	» костяники	147
Скополия	»	» морошки	25—40
Тимьян	»	» черники	50—250
<i>Ранозаживляющие</i>			
Болиголов	124	Моршанция, мужской экземпляр	8
Вероника длиннолист-ная	262	Моршанция, женский экземпляр	10
Вероника дубровка	11	Первоцвет, Primula au-ricula	640
Герань луговая	126	Первоцвет, Primula offi-cinalis	800
Жабрей	78	Первоцвет, Primula cor-tusoides	950
Зверобой	102	Первоцвет, Primula sep-toria	до 1000
Золотая розга	следы	Первоцвет, Primula veris	680
Калужница болотная	38	Ряска, Lemna minor	5—20
Коровяк черный	3	» » polyrrhiza	5—20
Ломонос	до 120	» » trisulca	5—20
Лютик едкий	до 200	6. Листва деревьев и кустарников	
» ползучий	до 200	а) Листья	
Очиток острый	50	Абрикос сибирский	296—312
Подмаренник обыкно-венный	33	Акация белая	322
Просвирник лесной	до 100	» желтая	160—349
Сивец луговой	17	Барбарис	120
Чистотел	152	Еархат амурский	290—330
Язвенник обыкновенный	73	Береза бородавчатая, листья	150—300
г) Разные			
Бриония, мужской эк-земпляр	59	Еереза бородавчатая, сережки	16
Бриония, женский эк-земпляр	113	Береза карликовая	70
Ваточник	800	» пушистая	300
Гладиолус	700—1000	Бересклет бородавчатый	270—350
Ирис германский	520	Боярышник	180
» желтый	190	Бук восточный	112—450
» злаколистный	160		
» маленький, степ-ной	до 900		

Таблица 27 (продолжение)

Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты	Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты
Бузина красная	290—340	б) Хвоя ¹	
» черная	150—350	Араукария (Австралия)	до 60
Волчье лыко	400—580	Ель зимняя	150—280
Гледичия	450	» летняя	75—150
Гордовина	100	Кедр алтайский	130—250
Жимолость	200—276	» гималайский	200
Ива-козья	до 195	» корейский	до 300
Ирга	202	» ливанский	180—250
Калина	130	» сибирский	150—300
Кизил	280	Кипарис	60—150
Клен американский	75	» белый (Лавзония)	20—50
Крыжовник	170—205	Лиственица даурская	100—200
Лавровишня	до 180	» европейская	90—250
Липа	150—300	» сибирская	свыше 300
Мох серебристый	260—300	» японская	60—100
» узколистный	250—330	Можжевельник казачий	70—240
Магнолия	132	» обыкновенный	200
Малина	200—300	Пихта сибирская	100—370
Миндаль	260	Самшит (буксус)	300
Облепиха	230—370	Сланец кедровый	190—290
Ольха серая	25	Сосна горная	225
» черная	следы	» обыкновенная, молодые побеги	15—90
Орех грецкий	1500—2000	Сосна обыкновенная, старые побеги (май—сентябрь)	100—150
» маньчжурский	1500—2500	Сосна обыкновенная (сентябрь—май)	150—300
Орешник обыкновенный	200	Сосна японская	80—120
Осина	до 150	Тисс, молодые побеги	40
Рябина	220	» старые	150—227
Сирень	20—60	Тисовник	25
Таволга	300	Туя	60—90
Тополь душистый	470		
Черемуха	до 190		
Шиповник	200—335		
Яблоня казахстанская	450		
» китайская	500—800		
» лесная	350—420		
Ясень американский	до 225		

¹ Имеется значительная разница в содержании витамина С в хвое в зависимости от высоты произрастания (131—133):

Высота над ур. моря (в м)	Содержание вит. С (в мг %)
500	200
800	220
1200	280
2450	400

Таблица 27 (продолжение)

Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты	Наименование растений и растительных продуктов	Содержание аскорбиновой кислоты
7. Прочие			
Водоросли разные	от 0 до 50	Листья чая зеленые	187
Дрожжи пивные и хлебные	0	Мед	до 5
Концентраты из незрелого грецкого ореха	1500—3000	Мука из листьев люцерны	до 300
Концентраты из первоцвета	1000—2500	Мука из листьев первоцвета	» 1800
Концентраты из хвои	300—1500	Плаун	0
» » шиповника	1000—2500	Семена злаков и бобовых	0
		Семена злаков и бобовых при прорастании (3-й день)	до 30

растений и многие дикорастущие также являются отличным источником витамина С (66—69). В соке березы, клена и т. п. витамина С не найдено.

Изучению нашей культурной и дикой флоры на содержание аскорбиновой кислоты было посвящено много работ Всесоюзного института растениеводства (Иванов, Букин), Всесоюзного витаминного института (Шмидт, Вадова, Тульчинская), Государственной контрольной витаминной станции (Лавров, Ярусова, Шепилевская, Изумрудова), Всесоюзного института лекарственных растений (Шуберт, Ворошилов, Рябова), Института биохимии Академии Наук СССР (Энгельгардт, Букин, Рубин, Сисакян, Курсанов), Розановой, Игнатъева, Центральной лаборатории Союзвитаминыпрома, Центральной аптечной лаборатории, Института агролесомелиорации, Лесотехнического института и других учреждений и отдельных исследователей. Этот материал лег в основу широкого и планомерного изучения наших неисчерпаемых растительных сокровищ. Из этих работ нами заимствована помещаемая выше сводка. Дополнительно к этому при составлении этой сводки были использованы данные, опубликованные в соответствующей литературе. Кроме того, в сводку внесены наши данные, полученные в последнее время.

Наряду с этим мы считаем нужным представить для сравнения краткие сведения о содержании аскорбиновой кислоты в некоторых пищевых продуктах животного происхождения (табл. 27а).

Приведенные таблицы показывают, что наиболее существенными и постоянными источниками витамина С для человека являются растения.

Вопрос обеспечения пищевого рациона витамином С представляется исключительно важным и ему посвящена обширная литература. В этом отношении мы имеем отличную сводку, составленную Лавровым (15), где в достаточно сжатой и популярной форме изложен ряд

Содержание аскорбиновой кислоты в продуктах животного происхождения
(в мг %)

Наименование	Содержание аскорбиновой кислоты	Наименование	Содержание аскорбиновой кислоты
Печень крупного рогатого скота	25—40	Язык крупного рогатого скота	5
Молоко кобылье	20—30	Сердце крупного рогатого скота	5
Кумыс	20—25	Мышцы крупного рогатого скота	2—10
Мозг крупного рогатого скота	12—15	Молоко коровье	0,7—2,6
Почки крупного рогатого скота	10	Кровь рогатого скота	0,2—0,9
		Яйца куриные	0

практических указаний о влиянии различных технологических обработок, в том числе и кулинарных, на содержание витамина С в пищевых продуктах, о способах обогащения пищи этим витамином и о мерах профилактики С-авитаминозов и гиповитаминозов (см. также 124). Не имея возможности, в связи с объемом издания останавливаться на этом вопросе, отметим лишь следующие общие положения.

Все мероприятия, направленные к подавлению деятельности окисляющих витамин С ферментов в естественных продуктах (применение кратковременной сушки при высокой температуре, бланшировка паром или кипятком, предохранение от действия тяжелых металлов, замораживание, сульфитация и т. п.), будут способствовать большему или меньшему сохранению в пище витамина С.

Применение консервирующих агентов (молочнокислородное брожение, засахаривание и пр.) также будет способствовать сохранению витамина С.

Следует помнить, что витамин С является устойчивым, если окислительные процессы, приводящие к его разрушению, не имеют места, и если при этом устранено влияние катализаторов окисления.

Громадное количество естественных С-витаминносителей, которыми так богата наша страна, дает все основания для широкого их использования в практике. Имеется богатейшая литература о распространении аскорбиновой кислоты в растительных объектах, однако до сих пор не систематизированы данные о зависимости содержания витамина С в растениях от экологических условий; крайне скудны еще сведения о содержании витамина С в дикорастущих Средней Азии, Кавказа, Дальнего Востока и т. д.; мало изучены такие витаминносители, как кормовые травы, особенно силосы. Все это ставит на ближайшее время перед советской витаминологией ряд задач, имеющих первостепенное значение.

Особо плодотворные работы по изучению биосинтеза аскорбиновой кислоты в растениях и взаимосвязи накопления ее с рядом экзогенных и эндоген-

ных условий проведены и проводятся в Советском Союзе. В зарубежной литературе мы не встречаем столь глубоких и всесторонних исследований, как например, работы Энгельгардта, Букина, Рубина, Кузина, Прокошева, Страцицкого, а также работы Лаврова и его школы, Шмидта и др., посвященные аскорбиновой кислоте в организме животного.

В растениях витамин С синтезируется с первого же дня прорастания¹. Например, зерно сои, не содержащее витамина С, уже на вторые сутки прорастания накапливает аскорбиновую кислоту, причем тем энергичнее, чем интенсивнее процесс роста (70). На третий день прорастания Поволоцкая нашла следующие количества аскорбиновой кислоты в зернах бобовых и злаков (71) (табл. 28).

Таблица 28.

Содержание аскорбиновой кислоты в прорастающих семенах на 3-й день прорастания

(в мг% на сухое вещество)

	Горох	Фасоль	Пшеница	Кукуруза
Цельное зерно	40,6	8,5	28,7	20,8
Семядоли	97,2	21,1	—	—

В начале роста растения количество аскорбиновой кислоты увеличивается параллельно с увеличением количества пероксидазы и каталазы; при этом они, повидимому, образуют обратимую окислительно-восстановительную систему, имеющую решающее значение в обмене веществ молодого растения. К концу вегетационного периода содержание аскорбиновой кислоты снижается.

На содержание аскорбиновой кислоты в растении влияет также время суток и состояние атмосферы: ночью и в облачную, дождливую погоду аскорбиновой кислоты в растении меньше, чем днем и в ясную погоду.

Аскорбиновая кислота оказывает ясно выраженное стимулирующее действие на рост молодых растений. Хаузен и Синьов считают на основании своих опытов, где они показали увеличение сухой массы растения в присутствии витамина С до 40—50%, что последний является гормоном роста для растений. Однако это утверждение является, повидимому, преждевременным.

¹ Образование витамина С в живой клетке можно себе представить как ферментативный процесс окисления молекулы сахара, протекающий при непрерывном условии обильного снабжения ткани кислородом. Тульчинская подчеркивает, что процесс накопления аскорбиновой кислоты в прорастающих семенах гороха—аэробный и протекает тем интенсивнее, чем обильнее снабжены ткани кислородом (72). Факт образования аскорбиновой кислоты из сахаров подтверждается прямыми опытами Рубина, Прокошева и нашими данными: при инфильтрации сахаров в листья разных растений содержание аскорбиновой кислоты в них увеличивается на 10—50% (73). Заслуга проведения исследований в этом направлении, таким образом, принадлежит советской науке.

Активность аскорбиназы в некоторых растениях

Наименование	Активность аскорбиназы в мг дегидроаскорбиновой кислоты на 1 г ткани
Шиповник, плоды	0
Черная смородина	0
Облепиха, ягоды	0
Лук репчатый	0
Капуста, кочерыга	0
Свекла столовая	0
Первоцвет аптечный, листья	0
Картофель	0,6—1,9
Капуста белокочанная	0,6—1,3
Морковь	2,5
Сосна горная, хвоя	0
Крушина слабительная, листья	0
Туя, хвоя	7,0
Огуречная трава	11,0
Ирисы разные, листья	0—7,0
Ряска	0
Камелия, листья	15,0
Араукария, хвоя	18,7
Вероника аптечная	26,0
Магнолия, листья	78,5

Существует зависимость между химическим составом почвы и накоплением витамина в растениях: недостаток азота в почве обуславливает уменьшение аскорбиновой кислоты в растении. Обогащение же почвы калием приводит к ее увеличению. Более благоприятные результаты оказывает внесение в почву N, P, K. На основании ряда исследований можно также отметить благоприятное действие марганца и бора на накопление растением аскорбиновой кислоты.

Витамин С в растении имеет отношение к процессам фотосинтеза и дыхания зеленого листа. В зависимости от интенсивности солнечного освещения количество витамина увеличивается главным образом на стороне листа, освещаемой солнцем. Связь окислительно-восстановительных процессов, обязательным компонентом которых является аскорбиновая кислота, с процессами фотосинтеза и роста растения установлена Благовещенским (74). С другой стороны, некоторыми иностранными авторами делались мало обоснованные попытки показать, что накопление аскорбиновой кислоты в плодах и ягодах протекает параллельно с накоплением в них каротина (75).

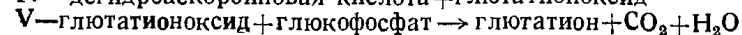
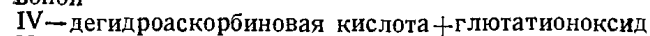
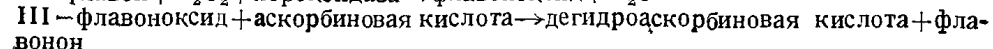
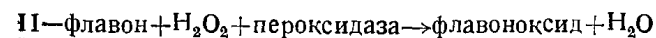
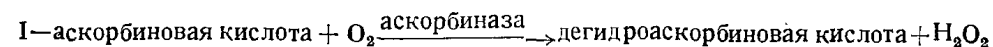
Накопление аскорбиновой кислоты в растении зависит от степени обогащения тканей кислородом¹: высокогорные растения, как уже указывалось, содержат больше аскорбиновой кислоты, чем произрастающие в долине; светлюбивые растения, произрастающие на открытых местах и бедные эфирными маслами (как известно, процесс эфинообразования—анаэробный), содержат больше аскорбиновой кислоты, чем растения, произрастающие в тени, в низинах и в водоемах и богатые эфирными маслами. Это обстоятельство подтверждает ту точку зрения, что аскорбиновая кислота является для многих растений компонентом дыхательного аппарата и чем больше растения получают кислорода, тем более «объемистый» должен быть у них дыхательный аппарат.

В растениях, дающих ясную пероксидазную реакцию, содержится много и аскорбиновой кислоты (пероксидаза и аскорбиновая кислота тесно функционально между собой связаны)². В тканях растений содержится также и аскорбиноксидаза (аскорбиназа), оптимум действия которой лежит в пределах рН 5—6 (76).

Долгое время природа аскорбиназы оставалась загадочной; высказывались предположения, что свойством окислять аскорбиновую кислоту обладают вообще многие оксидазы. Однако, по новейшим данным, окисление аскорбиновой кислоты считается избирательным свойством аскорбиназы, которая представляется как комплекс меди и протеина. Циан и окись углерода угнетают действие аскорбиназы; нагревание вытяжки, содержащей аскорбиназу, в течение 1 мин. до 100° инактивирует ее действие; подобным же ингибирующим свойством по отношению к аскорбиназе обладают глутатион и неко-

торые пурины. Если же вместо чистых растворов взять плодовый сок, то после прибавления H₂O₂ в результате действия пероксидазы быстро наступает окисление аскорбиновой кислоты. В промежуточных продуктах окисления были найдены флавоны, содержащие в фенильной группе 2 гидроксила (ОН) в ортоположении. Они катализируют реакцию в 50—100 раз энергичнее пирокатехина.

По мысли Сцент-Гьорги (77), окисление аскорбиновой кислоты в растении протекает следующим образом: O₂ при участии аскорбиназы вступает в реакцию с аскорбиновой кислотой и дегидрирует ее; образуется перекись водорода (H₂O₂), которая при участии пероксидазы окисляет флавоны в соответствующие хиноны. Таким образом, вся молекула O₂ используется для окисления аскорбиновой кислоты, а последняя затем вновь восстанавливается в исходное состояние за счет активированного дегидразами водорода питательных веществ или глутатиона. Мы сталкиваемся здесь, таким образом, с обратимым окислительно-восстановительным комплексом, играющим важную роль в процессе жизнедеятельности растительной клетки:



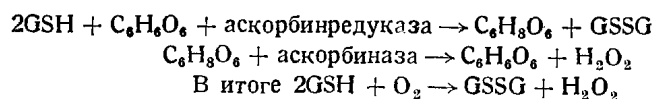
¹ Общеизвестные опыты Прокошева показали, что на срезанной поверхности клубней картофеля и лука лук происходит усиленное накопление витамина С (раневая реакция) (125).

² Пероксидаза аскорбиновую кислоту не окисляет (а каталаза стабилизирует ее).

Аскорбиновая кислота в растениях находится в свободной и связанной форме; так, например, в вытяжке из тыквы при обычной температуре обнаруживается после восстановления сероводородом—62,5; 64,5; 67,0; 67,8 мг % аскорбиновой кислоты; при 100° (на кипящей водяной бане)—соответственно 71,6; 72,7; 73,0; 81,7 мг %. При этом количество окисленной формы может составлять 10—60% общего ее количества, что зависит от активности окисляющего витамин С фермента аскорбиназы.

Букин, на основании большого количества своих работ в этой области и работ ряда других авторов, полагает, что в растительных тканях могут присутствовать несколько ферментативных систем, окисляющих аскорбиновую кислоту, но во всех случаях окисление аскорбиновой кислоты идет только до обратимо-окисленной формы; образовавшаяся дегидроаскорбиновая кислота оказывается нестойким соединением, способным подвергаться дальнейшим изменениям без каких-либо катализаторов даже и в анаэробных условиях. Присутствие восстановленной аскорбиновой кислоты в растениях, в которых имеются активные окислительные ферменты, говорит за наличие в растениях систем, способных восстанавливать аскорбиновую кислоту. Гопкинс (78), указывая на одну из таких систем (аскорбиназа + глутатион), предполагает, что окисление и восстановление аскорбиновой кислоты выполняются одним и тем же ферментом. Однако исследования Букина (см. выше) показали, что здесь несомненно имеются два различных фермента. За это говорят различный оптимум pH их действия, различное отношение к ферментным ядам, различная устойчивость к температуре, кислотам, к щелочам и т. д. (79).

Продолжая в этом направлении поиски, Букин нашел, что в растительных тканях, наряду с аскорбиназой, находится фермент, восстанавливающий аскорбиновую кислоту. Свойства этого фермента отличны от свойств аскорбиназы. Так, оптимум его действия лежит в пределах pH 6, температурный оптимум 20°, при 30° фермент резко инактивируется. Уже при 30—40° он по меньшей мере на 80—90% теряет свою активность. Автор назвал этот фермент аскорбинредуказой. Однако этот фермент проявляет свое действие лишь в присутствии глутатиона. Букин следующим образом объясняет механизм его действия:



Таким образом, глутатион-аскорбиназная система в растительной клетке имеет решающее значение для дыхания тканей в качестве переносчика H₂.

Восстановление окисленного глутатиона происходит за счет дигидрокозимазы.

Следовательно, система глутатион + козимаза + аскорбинредуказа + аскорбиноксидаза является необходимым звеном почти

всех окислительно-восстановительных процессов растительной ткани.

Вышеописанное исследование Букина в последнее время получило себе подтверждение. Крук и Морган (120) готовили дегидроаскорбиновую кислоту и вносили ее в вытяжки различных растений. При этом они отметили восстановление дегидроаскорбиновой кислоты, которое для разных растений было различно. Наибольшую восстанавливающую способность они обнаружили в зерновом экстракте ячменя, в листьях кочанной капусты и в экстрактах из бобов (*Vicia Faba*).

Восстанавливающей способности вовсе не было обнаружено ими в листьях салата, одуванчика и в некоторых других растениях.

По данным Букина, активность аскорбинредуказы в некоторых продуктах приведена в табл. 30.

Т а б л и ц а 30

Активность аскорбинредуказы в некоторых продуктах

Наименование	Активность фермента в мг дегидроаскорбиновой кислоты на 1 г ткани
Горох, сухие семена	16,3
» 3-й день прорастания	10,6
» 5-й » »	8,2
Ячмень, сухие семена	15,75
» 3-й день прорастания	12,1
» 5-й » »	10,9
Пшеница, сухие семена	20,5
» 3-й день прорастания	18,8
» 5-й » »	14,5
Картофель, сок	2,15
Брюква	1,6
Капуста Амагер, листья	7,0
» № 1, листья	5,1
Кочерыга капусты Амагер	6,98
Кольраби	3,6

Катепсин, папаин, эстераза, а равно и фосфатаза дрожжей активируются L-аскорбиновой кислотой. Активность амилазы ячменя угнетается ею. Исходя из ясно выраженного активирующего действия аскорбиновой кислоты на эстеразу, Панченко и Краут склонны рассматривать аскорбиновую кислоту такую же составной частью эстеразы, какою считается флаavin в желтом окислительном ферменте (флавинэнзиме). Однако против такой концепции имеются и возражения, так как активирующее протеолитическое действие оказывает не только аскорбиновая кислота, но и редуктоны; в то же время дегидроаскорбиновая кислота таким действием не обладает; возможно, однако, что для эстераз имеются исключения.

Выше было указано, что аскорбиназа инактивируется нагреванием до 100°; с другой стороны, Гудлет и Кардо-Сысоева (80) нашли в ферментных элементах хрена термостабильный (до 55°) фактор, сти-

мулирующий окисление аскорбиновой кислоты, и другой термолabile фактор, разрушающийся при 35°, стимулирующий разрушение дегидроаскорбиновой кислоты. По Кардо-Сысоевой, в форменных элементах свежих помидоров имеется термостабильный стабилизатор, подавляющий окисление витамина кислородом воздуха. Этот вопрос, однако, ближе еще не изучен¹.

Дегидроаскорбиновая кислота, по Рубину и Арциховской (82), смещает в растительной ткани равновесие сахарозы в сторону синтеза. Чрезвычайно обстоятельные работы Кузина по этому вопросу показали, что витамин С весьма активно катализирует конденсацию формальдегида в сахар в присутствии $\text{Ca}(\text{OH})_2$ при 35—37° (83).

Таким образом, физиологическая роль аскорбиновой кислоты в растениях не ограничивается только регулированием восстановительно-окислительных процессов, но теснейшим образом связана и с процессом синтеза углеродной цепи. В процессе фотосинтеза витамин С играет роль катализатора конденсации исходных групп СНОН в сахар. СНОН в процессе синтеза присоединяется к аскорбиновой кислоте по месту ее двойной связи; это присоединение идет одинаково энергично как в нейтральной, так и в кислой среде. Аскорбиновая кислота играет весьма важную роль во внутриклеточном белковом обмене. Гистидин с аскорбиновой кислотой в присутствии кислорода воздуха дает желто-фиолетовую окраску. Никакая другая кислота этой реакции не дает. В основе ее лежит отщепление NH_3 и образование соответствующих альдегидов. Кроме того, аскорбиновая кислота вызывает превращение тирозина в 3,4-диоксифенилаланин, но тормозит дальнейший распад этого продукта.

При изучении дезаминирования гистидина аскорбиновой кислотой было найдено, что оно протекает тем интенсивнее, чем больше в растворе аскорбиновой кислоты. Увеличение количества дезаминируемого гистидина не тормозит этой реакции: дезаминирование протекает полностью.

В связи с такой легкостью дезаминирования аскорбиновой кислотой гистидина она получила название г и с т и д и н а з ы. Кроме того, аскорбиновая кислота активизирует действие холина, адреналина, тироксина и катепсина. В условиях автолиза тканей она усиливает протеолиз и образование мочевины как в норме, так и при авитаминозе. Это дает основание заключить, что витамин С является активатором внутриклеточного протеолиза в животных тканях.

Таким образом, аскорбиновая кислота является для растения стимулятором роста, она принимает участие в процессе дыхания растения и осуществляет процесс конденсации формальдегида в углеводы. В животном организме она осуществляет ряд окисли-

¹ Аскорбиновая кислота в кислой среде инактивируется гематопорфирином. Аналогичным же образом на нее действует дифтерийный токсин. Напротив, пекарские дрожжи в процессе брожения восстанавливают дегидроаскорбиновую кислоту; сырые дрожжи задерживают ее окисление. Подобным же образом действует пирофосфат натрия, предохраняющий аскорбиновую кислоту от окисления медью (81).

тельно-восстановительных реакций, связанных с превращением азотистых и белковых веществ, входит, по видимому, в состав некоторых ферментов и стимулирует деятельность различных органов.

ВИТАМИН С В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНОГО И ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Человек, обезьяна и морская свинка практически не способны синтезировать витамин С, они должны получать его извне (из растительных и животных продуктов). Высказанное в свое время Бессоновым утверждение, что ребенок до 10 месяцев способен синтезировать витамин С, в дальнейшем не подтвердилось. Существующее мнение, что печень животных, менее нуждающихся в витамине С (голубь, крыса, мышь, цыплята и пр.), может вне организма синтезировать витамин С из маннозы и других сахаров, не доказано позднейшими работами¹. Нуждается ли в витамине С рогатый скот, лошади и другие животные, могут ли они его синтезировать сами—еще не ясно; работы в этом направлении только начинаются, но отдельные указания заставляют полагать, что лошадь в период усиленной работы нуждается в этом витамине.

Аскорбиновая кислота, поступая в организм животного и человека, распределяется в тканях и органах, где выполняет исключительно важные функции и участвует в окислительно-восстановительных процессах, протекающих в организме. Таким образом, она расходуется постоянно, и расход ее тем больше, чем энергичнее протекают в организме эти процессы. Небольшой резерв аскорбиновой кислоты (в печени и почках) идет на покрытие дефицита при обеднении пищевого рациона витамином; этот же резерв расходуется и в том случае, когда организм нуждается в усиленном поступлении витамина в органы в период усиленной жизнедеятельности или для борьбы с инфекцией. Если организм не будет получать аскорбиновую кислоту, то по израсходовании ее запаса (который в среднем оценивается в 3000 мг) наступают явления витаминной недостаточности (гиповитаминоз). Наряду с развивающимися признаками авитаминоза, которые могут привести к ясно выраженной цинге, организм утрачивает способность бороться с инфекциями; появляется ряд симптомов, свидетельствующих о глубоком нарушении обмена веществ.

¹ Опыты Менье и Монсои, воспитывавших крыс на диете с добавлением димера оксиацетона (так наз. «кетол Генца») и находивших у них большее отложение аскорбиновой кислоты по сравнению с контрольными группами, представляли заманчивую перспективу объяснить образование аскорбиновой кислоты в теле этих животных полимеризацией оксиацетона. Однако другим авторам не удалось воспроизвести результатов опыта. Наряду с этим интересно отметить, что Рудра (84) показал способность печени крыс синтезировать *in vitro* и *in vivo* аскорбиновую кислоту в присутствии марганца. В его опытах накопление аскорбиновой кислоты в ткани шло параллельно с увеличением дозы марганца. Автор в печени морской свинки (и человека) нашел недостаток марганца, в связи с чем, по его мнению, морская свинка и человек не способны синтезировать витамин С. По мнению автора, Мп является «коэнзимом» фермента, способствующего синтезу аскорбиновой кислоты. Это мнение весьма интересно, но пока что мало убедительно.

Некоторые больные с типичными цынготными поражениями не реагируют на введение больших доз синтетической аскорбиновой кислоты. Болезнь проходит только тогда, когда вместо аскорбиновой кислоты назначается лимонный сок или естественные концентраты (шиповник и т. п.). Некоторые авторы на этом основании считают, что аскорбиновая кислота не идентична витамину С (последний представляет комплекс витаминов С+Р). По мнению Матусиса (85) и многих других, скорбут представляет комбинацию недостаточности витаминов С и Р.

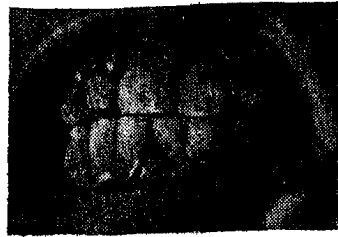


Рис. 16. Цынга. Цынготный гингивит

При С-авитаминозе возникают в первую очередь геморрагические явления: развиваются кровоизлияния вследствие нарушения проницаемости сосудистой стенки.

Опыты Селезеновой на изолированных конечностях С-авитаминозных морских свинок при перфузии через них жидкости показали, что ткани изолированных конечностей стекают тем быстрее, чем сильнее выражены в них кровоизлияния. Сосуды изолированных конечностей в значительной степени утрачивают реакцию на адреналино-типичный симпатикотропный анализатор; тонус гладкой мускулатуры сосудов также меняется, о чем свидетельствует ослабление реакции на кофеин (являющийся расширителем сосудов); при С-авитаминозе происходит функциональное изменение стенок кровеносных сосудов (86).

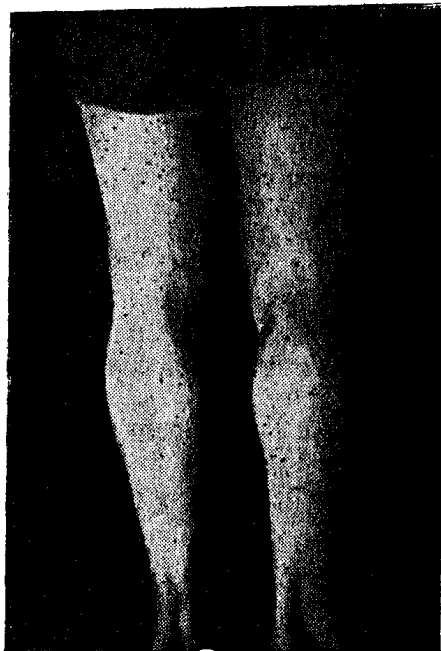


Рис. 17. Петехиальная сыпь голени и бедра (по Шейнкер)

При С-авитаминозе отмечаются значительные изменения крови. Возникает гипохромная анемия. Холестерин в сыворотке тяжело больных понижен до 50 мг%, количество билирубина повышено. Содержание кальция большей частью находится на границе нормы и ниже ее. В тяжелых случаях цынги в моче находят уробилин и урохромоген (87)¹.

Типичные случаи цынги у нас редки, но состояние С-гиповитами-

¹ При цынге наблюдается резкое нарушение углеводного обмена. В печени С-авитаминозных животных находят сниженное содержание гликогена. Если авитаминозному животному вводить сахар, увеличение гликогена не имеет места, а лишь в случае одновременного введения сахара и аскорбиновой кис-

ноза, особенно весной, при обеднении рациона свежими фруктами и овощами и как следствие патологического состояния организма, может иметь место.

Химические методы определения витамина С дали возможность с большей или меньшей точностью проследить за распределением его в организме человека и животных; при этом были обнаружены любопытные данные: в то время как содержание аскорбиновой кислоты в крови человека сравнительно не велико (0,14—1,21 мг%—по Габбе, 0,1—1,1 мг%—по Голяницкому, 0,2—2,4 мг%—по Эккелен и Эммери, 0,2—1,7 мг%—по Иосиковой), в спинномозговой жидкости, по данным Плаут и Бюлова, оно много выше и колеблется в пределах 3—5 мг%. Аскорбиновая кислота в крови распределяется (в мг%) так (89)¹:

кровь	0,042
плазма	0,034
эритроциты	3,050

В крови некоторых животных (крупный рогатый скот) иностранными авторами не обнаружено заметного количества аскорбиновой кислоты; напротив, Голяницкий длительным исследованием сыворотки здоровых коров и телят установил, что содержание ее колеблется от 0,3 до 0,8 мг% и тесно связано с наличием витамина С в корме (силос, зеленый корм, корнеплоды); у больных животных (паратиф, поносы, пневмония) аскорбиновую кислоту в крови обнаружить не удается, что, очевидно, указывает на возможность наличия С-гиповитаминоза у крупного рогатого скота при инфекционных заболеваниях. В сыворотке лошади содержится 1,9 мг% аскорбиновой кислоты. В молоке кормящей женщины—от 4 до 7 мг% восстановленной I-аскорбиновой кислоты (т. е. в 5—6 раз больше, чем в коровьем молоке)².

В органах животных аскорбиновая кислота распределяется неравномерно: так, у пресноводных рыб в мышцах содержание ее колеблется от 4 до 12 мг%, в печени—до 45 мг%, в мозгу—12—17 мг%, в икре—12—35 мг%. Такая же неравномерность в распределении аскорбиновой кислоты отмечается и у теплокровных животных. Из бычьих надпочечников были получены значительные количества аскорбиновой кислоты. Эти органы, по современным исследованиям, являются «складом витамина С в организме».

По богатству аскорбиновой кислотой следуют в нисходящем по-

лоты уровень гликогена приходит к норме. Степанян отмечает, что у С-авитаминозных больных наблюдаются множественные нарушения печени и резко повышается окислительный эквивалент (88).

¹ Клодт (90) считает, правда без достаточных к тому оснований, что в крови нет окисленной формы аскорбиновой кислоты. Винокуров и Симакова указывают, что печеночная ткань здоровых людей обладает высокой способностью к восстановлению дегидроформы аскорбиновой кислоты.

² В 1 л кобыльего молока содержится 260—333 мг, а в кумысе—до 250 мг витамина С (91).

рядке: желтое тело, яичник и печень человека. В органах млекопитающих и птиц среднее содержание аскорбиновой кислоты составляет (в мг%):

в надпочечниках	160
» печени	25
» почках	12
» сердечной мышце	2
» скелетных мышцах (92)	4

Петряева на людях, погибших от травм, изучала распределение аскорбиновой кислоты в различных органах. Колебания эти весьма велики и отчасти зависят от возраста (у детей абсолютные цифры выше, с возрастом они уменьшаются).

Процесс превращения аскорбиновой кислоты в тканях в основном заключается в окислении и восстановлении. В печени эмбриона, в селезенке, плаценте и в злокачественных образованиях фаза восстановления значительно преобладает; аскорбиновая кислота в них устойчива к таким окислителям, как аскорбиназа, Cu , H_2O_2 , O_2 . Высокое содержание аскорбиновой кислоты в этих тканях тесно связано с интенсивностью их роста. Имеющиеся данные говорят о том, что для растущих тканей и, в частности, для тканей злокачественных образований, характерно интенсивное восстановление дегидроаскорбиновой кислоты и замедленное ферментативное ее окисление (93).

Аскорбиновая кислота, поступая в организм через пищеварительный тракт, в большей части быстро усваивается организмом и разносится током крови к различным органам; меньшая часть ее под действием микроорганизмов разрушается в кишечнике, прежде чем дойдет до толстой кишки. В фекальных массах аскорбиновая кислота не обнаруживается¹. Большое значение также имеет кислотность желудочного сока; при ахилии, по данным Рысса (94), во всех случаях наблюдается ясно выраженный С-гиповитаминоз².

Аскорбиновая кислота, введенная в организм совместно с активным источником аскорбиназы, в меньшей мере подвержена

¹ Некоторое количество аскорбиновой кислоты может выделяться через потовые железы. В поту человека найдено 0,55—0,64 мг% аскорбиновой кислоты, после перорального введения 500 мг аскорбиновой кислоты количество ее в поту увеличивалось до 1,7—2,5 мг%. Количество дегидроформы достигает 80%.

² По наблюдениям Рысса, не у всех ахиликов наблюдается разрушение аскорбиновой кислоты; вероятно, здесь имеет большое, а, может быть, и преимущественное значение состояние тонкого кишечника. Хронические поражения кишечника, так называемые энтероколиты, вызывают более или менее выраженный С-гиповитаминоз.

Питерс и Мартин обнаружили в тканях желудочно-кишечного тракта собак следующие количества аскорбиновой кислоты (в мг %):

в слизистой 12-перстной кишки	0,169—0,219
» тонких кишок	0,06 —0,10
» желудка (фундальная часть)	0,05 —0,06
» » (пилорическая часть)	0,0 —0,03

окислению, чем в опытах *in vitro*. Очевидно, в желудочно-кишечном тракте имеются неблагоприятные условия для действия оксидаза (кислая реакция желудочного сока и т. п.).

Потребность человека в витамине С колеблется в широких пределах, в зависимости от насыщенности организма витамином, нарушения основного обмена, инфекции, интоксикации и т. д. В последних случаях потребность довольно велика. Она значительно увеличивается при тяжелой работе. Аскорбиновая кислота снимает утомляемость (особенно в присутствии глюкозы) и повышает работоспособность мышц¹. Это явление нестойкое и прекращается с ограничением поступления витамина в организм; новое увеличение в рационе количества витамина С повышает соответственно этот эффект (95).

Организм беременных и кормящих женщин требует больше аскорбиновой кислоты. По исследованиям Бакшта, проведенным в его клинике весной 1938—1939 гг., выявлена суточная потребность беременных и кормящих женщин в количестве около 200 мг аскорбиновой кислоты в день. Большинство беременных находится в состоянии С-гиповитаминоза, и склонность к кровотечениям у них (латентный геморрагический диатез) может быть объяснена С-гиповитаминозом. Кроме того, клинические наблюдения показывают, что С-авитаминоз играет определенную роль в возникновении так называемых токсикозов беременности.

Обмен витамина С у кормящей матери изучался рядом авторов, в том числе в клинике Бакшта. Содержание витамина С в материнском молоке колеблется в пределах от 4 до 7 мг%. В среднем его выделяется с молоком за сутки около 25—30 мг, что близко отвечает потребности ребенка в этом возрасте. Во избежание дефицита витамина С кормящая мать нуждается в получении избыточного количества аскорбиновой кислоты, особенно в первый период лактации, когда еще может сказаться дефицит в витамине С, обусловленный беременностью (96).

Шмидт (97) указывает, что физиологическая потребность в витамине С у здорового человека выражается в 50—60 мг в сутки.

Это—та доза, которая обеспечивает физическое насыщение тканей человека аскорбиновой кислотой. Как указывает автор, в потреблении организмом человека витамина С имеют большое значение как климатические условия, так и характер труда. Неблагоприятные климатические моменты (низкая температура и пр.), усиленный физический труд создают условия, вызывающие повышенный расход аскорбиновой кислоты в организме².

¹ Палладин и Хайкина отмечают, что при отсутствии в пище витамина С тяжелая физическая работа нарушает синтетические процессы в мышце в большей степени, чем при потреблении организмом витамина С; сама же по себе физическая работа при недостатке в организме витамина С ускоряет развитие цыгги.

² По данным Винокурова, переохлаждение и перегревание тела приводят к падению содержания аскорбиновой кислоты в тканях. При этом на 50% увеличивается в них количество дегидроформы аскорбиновой кислоты (98).

Непостоянное содержание витамина С в женском молоке, малые количества его в других видах пищи детей раннего возраста приводят к необходимости не позже первых 3—4 месяцев жизни ребенка пополнять его пищу витамином С. Недостаточное снабжение ребенка в этом возрасте витамином С приводит к тяжелым инфекционным заболеваниям вследствие падения иммунитета (99).

Центральным институтом охраны материнства и младенчества (Москва) проведена большая работа по изучению потребности в витамине С у здоровых и больных детей грудного и раннего возрастов. На основании этой работы Цимблер и Биргер устанавливают для детей, находящихся на вскармливании сцеженным молоком или на смешанном искусственном вскармливании, необходимость добавочного введения в пищу до 50 мг аскорбиновой кислоты в сутки (100).

У детей раннего возраста с острым и хроническим расстройством питания, особенно после перенесенной дизентерии и инфекционного колита (при его хронических формах), у детей-реконвалесцентов после острых инфекций, у туберкулезных, при отсутствии признаков явного скорбута наблюдается острый дефицит витамина С. В этих случаях считается целесообразным пероральное применение витамина С в количестве от 50 до 300 мг в сутки.

В нормальных условиях аскорбиновая кислота, введенная в организм, поступает в депо (печень, надпочечники), после заполнения которых излишки кислоты выводятся почками с мочей¹. Количество выделяемого с мочей витамина является довольно верным критерием состояния витаминного хозяйства организма (101).

Клинические наблюдения Матусиса показывают, что количество аскорбиновой кислоты, выделяемое с мочей у здорового человека, довольно постоянно: нормальный человек при хорошем пищевом режиме выделяет около 30 мг кислоты в сутки. При нагрузке витамином С максимум выделения излишней аскорбиновой кислоты организмом падает на 4—7-й часы после приема пищи.

При авитаминозе выделение аскорбиновой кислоты резко понижено (до 7—12 мг в сутки): здоровый человек при ежедневном потреблении 100 мг аскорбиновой кислоты выделяет в среднем около 30—40% введенного ее количества, при авитаминозе количество выделяемой организмом аскорбиновой кислоты едва достигает 3%. Альперин и Иосикова показали, что выделение аскорбиновой кислоты с мочей при авитаминозе начинается лишь после длительного насыщения организма витамином С (до 300 мг в сутки). Иосикова далее указывает, что при содержании аскорбиновой кислоты в крови в количестве меньше 0,5 мг% выделение избытка с мочей или вовсе не наблюдается, или выражается

в ничтожных дозах — порядка 1—2 мг на 1 л. Начавшееся выделение избытка (10 мг и более на 1 л) совпадает с повышением содержания аскорбиновой кислоты в крови за пределы 0,5 мг% (102).

Мы указывали, что скрытые формы авитаминоза (гиповитаминоз), поскольку они трудно обнаруживаются, представляют большую опасность, и поэтому клиника чрезвычайно заинтересована в возможности определения этих состояний. Для диагноза С-гипо-

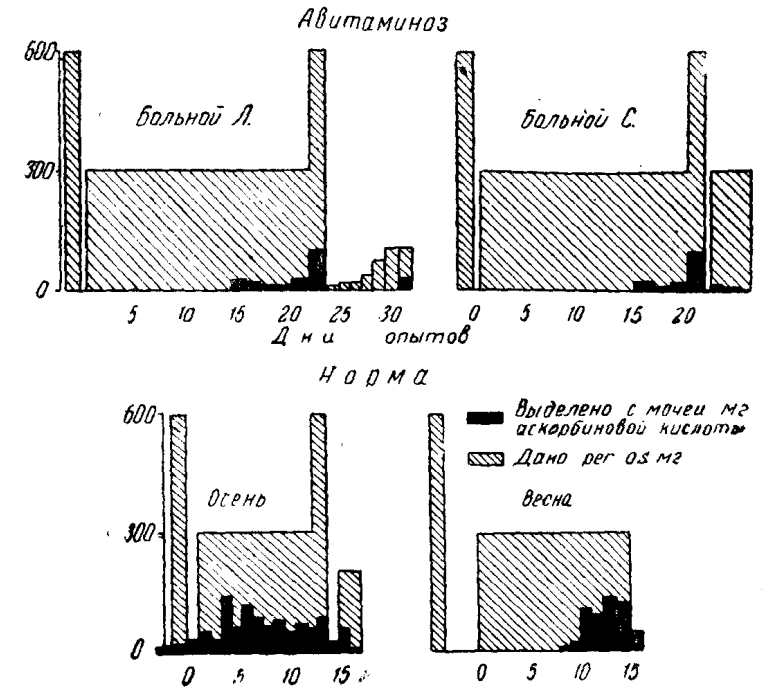


Рис. 18. Выделение аскорбиновой кислоты с мочей в норме и при авитаминозе (89).

витаминоза Эккелен и Эммери (103) предлагают руководствоваться следующими нормами содержания аскорбиновой кислоты в крови:

Количество аскорбиновой кислоты в 1 л крови (в мг)	Состояние организма
0—4	гиповитаминоз
4—8	умеренное содержание
8—12	хорошее
12	полное насыщение

Иосикова (см. 89) на систематически подобранном материале установила определенную зависимость содержания аскорбиновой кислоты в крови у здоровых людей от времени года (влияние пищевого режима): в зимне-весенние месяцы оно колеблется в пределах 0,4—0,7 мг% (в среднем 0,5 мг%), в летне-осенние — повышается до 0,6—2,3 мг% (в среднем 0,9—1 мг%).

¹ Введенная в организм аскорбиновая кислота уже через 5 мин. превращается в дегидроформу или связывается.

Значительно понижено выделение аскорбиновой кислоты с мочой при всяких более или менее обширных повреждениях тканей (при ожогах и т. д.). В этих случаях наблюдается С-гиповитаминоз и так называемый хирургический скорбут, большей частью протекающий без каких-либо существенных клинических явлений, кроме прекращения регенерации кости, соединительной ткани и крови. Шиловцев и Крамаров (104) нередко наблюдали также развитие явного гиповитаминоза вскоре же после травмы. Следовательно, регенераторная способность мезенхимы связана с нормальным балансом витамина С в организме.

Шиловцев указывает, что у морской свинки, пораженной экспериментальной цынгой, совершенно парализуется способность организма образовывать костную мозоль. Переломы у С-авитаминозных животных, как правило, заканчиваются псевдоартрозом; наоборот, при богатой витамином С пище наступает быстро образование костной мозоли при переломах; вследствие этого значительно ускоряется выздоровление больных и быстрее восстанавливается их трудоспособность¹.

При дифтерии, скарлатине, кори, бациллярной дизентерии, пневмонии, паратифе, роже, колитах, некоторых эндокринных заболеваниях (например базедовой болезни), при диабете—наблюдается острый дефицит витамина С в организме. Во всех этих случаях покрытие дефицита массивными дозами витамина С приводит к хорошему течению болезни и к быстрому выздоровлению. В случаях крупозной пневмонии Рысс вводил больному до 2000 мг витамина С ежедневно; при этом общее состояние больного улучшалось, хотя болезненный процесс и не сокращался.

Следует отметить, что применявшиеся до недавнего времени в клиниках так называемые «щадящие» диеты при желудочно-кишечных заболеваниях были вовсе лишены витамина С; организм находился в состоянии крайнего витаминного истощения, граничащего с жестокой цынгой и естественно, что эти «щадящие» диеты действовали как нельзя более беспощадно на больного. Сейчас уже считается установленным фактом, что при язвах желудка и 12-перстной кишки, дизентериях и поносах, а также в случае хронических колитов и т. д. необходимо, в первую очередь, насытить организм витамином С. При этом в 90% случаев наступает симптоматическое улучшение и удается полностью ликвидировать часто хроническое, не поддававшееся лечению, заболевание (106). Как указывает Певзнер (107), современная диетотерапия изыскивает такие пищевые режимы, комплексное влияние которых на функции органов и на регуляторные механизмы организма могло бы вызвать

¹ Руфанов и Степанян (105) дают также весьма положительную оценку влиянию витамина С на течение хирургического процесса у большого количества обследованных больных.

Как показали опыты Балаховского и соотр., местное применение аскорбиновой кислоты (при кожных поражениях и ожогах) также действует благоприятным образом в смысле ускорения эпителизации ткани и заживления ран.

к жизни заглохшую функцию органов и желез. Пищевые рационы, содержащие в большом количестве свежие фрукты и овощи, богатые витамином С, оказались в этом смысле весьма эффективными.

Заболевания крови и кроветворных органов иногда поддаются лечению витамином С. Голяницкий и Поликарпов показали, что витамин С является необходимым фактором генерации эритроцитов. При С-авитаминозе имеет место гипохромная гипорегенераторная анемия. Особенностью этой анемии, зависящей, с одной стороны, от гипофункции костного мозга и, с другой, от внутреннего кровотечения в кожу и пр., является сравнительная быстрота ее исчезновения под влиянием витамина С. На большом клиническом материале показано, что при введении аскорбиновой кислоты во всех случаях наблюдается повышение количества эритроцитов, тромбоцитов и гемоглобина. (Гемоглобин в короткий срок повышается в некоторых случаях с 23 до 60%).

Поступление в организм аскорбиновой кислоты при вторичных анемиях, которые могут явиться следствием С-авитаминоза, приводит к увеличению числа эритроцитов и количества гемоглобина крови. Весьма разительный эффект наблюдали Розенблюм и Гордон (108) при парэнтеральном введении препаратов аскорбината железа. (Применение аскорбиновой кислоты для лечения пернициозной анемии и лейкемии не дает никакого эффекта).

Яропольская (109) получила хороший гемостатический эффект, применяя витамин С у гинекологических больных¹. По сообщению Бакшта, у кровоточащих фиброматозных больных назначение витамина С одновременно с маммином дает вполне обнадеживающие результаты—очевидно, в силу потенцирующего действия аскорбиновой кислоты. Как указывает Краевская, причина возникновения кровоизлияний и кровотечений в матке при С-авитаминозе связана, вероятно, не с изменениями в яичниках, а с нарушением местных условий в самой слизистой оболочке матки, зависящих, в свою очередь, от геморрагического диатеза, столь характерного для С-авитаминоза. Отсутствие витамина С в диете само по себе не является причиной маточного кровотечения. Лишь при соответствующих местных условиях (гиперплазированная и гиперемированная слизистая матки) С-авитаминоз будет таким моментом, который приводит к появлению маточных геморрагий. Краевской внутривенным применением аскорбиновой кислоты по 200—300 мг в 60% случаев удавалось остановить функциональное маточное кровотечение (110). В вопросе о взаимосвязи С-авитаминоза с различными заболеваниями кроветворных органов имеется большая неясность и противоречивость: Рысс и Шерман утверждают, что С-гиповитаминоз при болезни Верльгофа отсутствует, применение витамина С при гипохромных анемиях и при гемолитической желтухе не дает лечебного эффекта; с другой стороны, Гордон указывает на определенный лечебный

¹ Тем не менее, аскорбиновая кислота гемостатическим действием не обладает.

эффект при гипохромной анемии¹. Исследования обмена витамина у 15 гематологических больных, проведенные Альпериным и Иосиковой (см. выше), обнаружили у них разную степень дефицита витамина С. В группе геморрагических диатезов (гемофилия, болезнь Верльгофа, болезнь Шейнлейн-Геноха) был весьма выраженный дефицит, который имел вторичный характер и, как показали их данные, связан, повидимому, с повышенным потреблением витамина С организмом больных. У больных лейкемией насыщения организма витамином С достигнуть не удалось. Это трудно объясняется в связи с высокими цифрами содержания его в крови и наводит на мысль о глубоком и неустранимом эндогенном нарушении обмена витамина С в организме лейкемиков.

Рысс, на основании своих и иностранных данных, находит вполне оправданным применение витамина С при ревматизме и хронических заболеваниях суставов; 3—5 инъекций аскорбиновой кислоты в кровь в количестве от 200 до 300 мг обычно бывает достаточно для ликвидации ревматической атаки и хронических заболеваний суставов. Повидимому, это можно объяснить тем, что при ревматизме вообще имеет место дефицит витамина С, степень которого соответствует характеру и тяжести ревматического заболевания.

Применение сульфамидных препаратов приводит к повышению потребности организма в аскорбиновой кислоте, как полагают, вследствие того, что распад сульфамидных соединений в кишечнике создает щелочную реакцию, способствующую разрушению аскорбиновой кислоты.

Как правило, больных, подвергающихся операции, теперь насыщают витаминами С и А, что сокращает количество послеоперационных осложнений, ускоряет выздоровление больного, облегчает течение патологического процесса.

Дискуссировавшийся достаточно длительное время вопрос об антагонизме между витамином С и А следует решить в отрицательном смысле: только что опубликованные опыты Мацко с соотр. показали, что разрушение аскорбиновой кислоты в присутствии некоторых жиров нельзя приписывать витамину А. Опыты, проведенные автором на крысах и морских свинках, достаточно ясно указывают на отсутствие какого-бы то ни было антагонизма между этими двумя витаминами (111).

Подытоживая изложенное, мы можем отметить, что функции аскорбиновой кислоты в животном организме многообразны: она являясь непременным участником многих окислительно-восстановительных процессов, входит в состав некоторых ферментов или катализирует их действие и, способствуя нормальному течению процессов обмена и нормальной деятельности различных органов и желез, тем самым повышает устойчивость организма к различного рода внешним воздействиям.

1. Пашутин, Курс общей и экспериментальной патологии, СПБ, 1902.
2. Бессонов, Витамины, ГИЗ, 1931.
3. Szent-Györgyi a. Svirbely, Biochem. 27, 279, 1933. Szent-Györgyi, Biochem. J. 27, 1387, 1928.
4. Tillmans, Z. Untersuch. Lebensmittel 60, 34, 1930.
5. Reichstein, Grussner u. Oppenauer, Helv. Chim. Acta 10, 561, 1933; Nature 139, 236, 1933.
6. Havorth a. Hirst, J. Soc. Chem. Ind. 52, 265, 1933.
7. Максимов, Никонова, Лазарева и Зверев, ЖОХ 9, 963, 1939.
8. Шмидт и Тульчинская, Витамины в теории и практике Пищепромиздат, 1935; Шмидт, Аскорбиновая кислота, Пищепромиздат, 1941. Букин и Гаркина, Биохимия 7, 1—2, 58, 1942.
9. Девятнин и Иосикова, Фармация 3, 1939.
10. Шмидт и Тульчинская, Сб. Витаминные концентраты, Пищепромиздат, 1935; Витамины и витаминизация, Пищепромиздат, 1935; Новотельнов, Тр. Ин-та холод. пром-сти, 1939.
11. Гурович, Общественное питание за 1936, 1937 и другие годы.
12. Певзнер, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Клин. мед. 18, 4, 1940.
13. Дронов, Отчет ЦНТЛ Союзвитаминыпрома за 1940 г. Союзвитаминыпром. Букин и Дронов, Инструкция по получению обезгореченных концентратов, Союзвитаминыпром, 1941.
14. Букин, Отчет ЦНТЛ Союзвитаминыпрома за 1941 г. под ред. Девятнина, Союзвитаминыпром.
15. Лавров, Краткие указания к профилактике С-авитаминоза, Медгиз, 1943.
16. Мюллер и Степанян, О витаминах, Медгиз, 1943.
17. Инструкция по приготовлению настоев и концентратов витамина С, Медгиз, 1943.
18. Слапик и Манойлов, Тыл и снабжение К. А. 2—3, 22, 1942.
19. Девятнин, Получение С-витаминных препаратов из растительного сырья. Медгиз, 1943.
20. Букин, Витамины, Пищепромиздат, 1941; Вопросы питания 1932—1941 гг.
21. Ефремов, Цынга, Медгиз, 1942; «Как предохранить себя от цынги», памятка, Медгиз, 1937; Памятка бойцу о витамине С, изд. ВСУ СЗФ, 1942; Сб. «Проблема витаминов», изд. ВАСХНИЛ, 1934; сб. «Цынга, борьба с ней на Севере», под ред. Шмидта, Биомедгиз, 1935; Шмидт, Аскорбиновая кислота, Лгр, 1941; Девятнин, За родину, орган Волх. фронта, М., 1942.
22. Найдус и Поднос, Мед. ж. БССР 3; 51, 1941.
23. Солодкий и Рябинин, Лес. хим. пром. 3, 39, 1936.
24. Пермяков, Каз. мед. ж. 2, 19, 1941.
25. Иосикова, Тезисы докладов научной сессии медвуза МОКИ. Изд. МОКИ, 1940.
26. Балаховский, Тезисы докладов научной сессии медвуза МОКИ. Изд. МОКИ, 1940.
27. Девятнин и Иосикова, Вопр. пит. 1, 1940.
28. Сцент-Гьоргги. Успехи химии 8, 1, 1939; Бессонов, Биохимия 2, 2, 1937.
29. Karrer, Salomon, Schopp, Helv. Chim. Acta 16, 181, 1933.
30. Arloing, Morel et Jossierand, C. r. Soc. biol. 121, 39, 1936.
31. Буйволова, Тезисы докладов научной сессии медвуза МОКИ. Изд. МОКИ, 1940; Pijoan, Science 221, 79, 1937; Friend, J. Pharm. 63, 9, 1938.
32. Девятнин, Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
33. Девятнин, Фармация 11, 1940.

¹ Боровская в медвузе МОКИ наблюдала резко выраженное увеличение гемоглобина при даче аскорбината железа и, особенно, аскорбината кальция.

34. Десятнин и Тезисы докл. научн. сессии медвуза МОКИ. Изд. МОКИ, 1940.
35. Десятнин и Иосикова, Бюлл. ВХО им. Менделеева, 1939.
36. Энгельгардт и Букин, Проблемы витаминов, ВАСХНИЛ, 1934.
37. Бунатян, Биохимия 6, 2, 155, 1941.
38. Кашевник и Гиршберг, Бюлл. exper. биол. и мед. 14, 2, 65, 1942.
39. Десятнин, Сб. работ по биохимии сои. Изд. ВАСХНИЛ, 1935.
40. Десятнин, Сб. «Синтез орг. вещества и роль витаминов в растении». Изд. АН СССР, 1940; Десятнин и Иосикова, Прогр. и тезисы работ 2 Моск. конференц. I ММИ, II ММИ и НКЗдр. СССР. Изд. НКЗдр СССР, 1936.
41. Tillmans u. Hirsch, Z. Untersuch. Lebensmittel, 63, 21, 1932.
42. Ярусова и Крамарова, Вопр. пит. 7, 6, 1938; Крамарова и Ярусова, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
43. Emmerie u. Eskelen, Biochem. J. 31, 1937; Мансеаи, Pollicard u. Ferrand, Bull. Soc. chim. biol. 11, 1939; Rosenberg, Chemistry and physiology of vitamins, New York, 1942.
44. Ярусова, Вопр. пит. 5, 1937; Ярусова, Богданова и Ефимова, Вопр. пит. 7, 4—5, 1938; Ярусова и Ефимова, Вопр. пит. 2, 1939; Вопр. пит. 3, 1939; Шепилевская, Богданова и Ефимова, Вопр. пит. 8, 6, 1939.
45. Лавров, Вопр. пит., 1, 1938; Винокуров и Босенко, Биохим. журнал 11, 1, 1938.
46. Лавров, Вопр. пит. 1, 1938.
47. Лавров и Ярусова, Вопр. пит. 10, 1, 47, 1941; Вопр. пит. 10, 2, 74, 1941; Ярусова, Определение содержания витамина С химическим методом, Медгиз, 1941; Ефремов, Авитаминоз и гиповитаминоз С, Советская наука, 1942.
48. Десятнин и Иосикова, Вопр. пит. 4, 1935; Десятнин и Иосикова, ДАН 3, 4, 1935; Десятнин и Иосикова, Вопр. пит. 5, 1936.
49. Иосикова, Лаб. практик. 8, 1939.
50. Лавров, Учебник физиологии питания, Биомедгиз, 1936.
51. Методики определения витаминов, принятые на Всесоюзной конференции по витаминам, Снабиздат, 1934; Изумрудова, Вопр. пит. 6, 1934; Шмидт, Аскорбиновая кислота, Пищепромиздат, 1940; Сб. «Проблема витаминов», ВАСХНИЛ, 1934; Букин, Витамины, Пищепромиздат, 1940.
52. Десятнин и Иосикова, ДАН 15, 2, 1937; Десятнин и Иосикова, Тр. Центр. ин-та гематол. и перелив. крови 15, 1937.
53. Букин и Мурри, Химические методы определения витаминов СиА, ВАСХНИЛ, 1935; Букин, Витамины, Пищепромиздат, 1937; Букин и Поволоцкая, Сб. «Проблема витаминов». Изд. ВИР, 1934.
54. Martini u. Bonsignore, Biochem. Z. 273, 170, 1934; Тульчинская, Сб. «Витамины в теории и практике», Пищепромиздат, 1941.
55. Голяницкий и Брюшкова, ДАН 4, 9, 1936.
56. Иосикова, Лаб. практик., I, 1940.
57. Цитир. Gabbe, Klin. Wschr. 15, 292, 1936.
58. Букин, Биохимия, 4, 255, 1937.
59. Иванов, Тр. Всесоюзной конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Букин, Поволоцкая и Онохова, Сб. «Проблема витаминов», ВАСХНИЛ, 1934; Шмидт (см. 21).
60. Шуберт, Сб. «Проблема витаминов», № 2, ВАСХНИЛ, 1937.
61. Союзвитамины пром. Агротехн. указания по культуре витаминного шиповника. Пищепромиздат, 1941.
62. Гергележиу, Влияние переработки плодов и овощей на сохранность витамина С, Тирасполь, 1940; Гергележиу, Проблема витаминов, № 2, ВИР, 1937.
63. Букин и Гергележиу, Сб. «Проблема витаминов» № 2, ВАСХНИЛ, 1937.
64. Десятнин и Захарова, Сб. Пищевая пром. СССР, 5—6, 1943.
65. Ермольева, Каз. мед. ж. 6, 33, 1940.
66. Шейнкер, Проблема витаминов, Сб. № 2, 87, ВАСХНИЛ, 1937; Шейнкер, Сб. «Цынга и борьба с нею на Севере», Биомедгиз, 1935; Шепилевская, Вопр. пит. 5, 24, 1933; Вопр. пит. 2, 24, 1934; Вопр. пит. 2, 29, 1934; Вопр. пит. 5, 62, 1934; Z. Untersuch. Lebensmittel 68, 389; Вопр. пит. 3, 30, 1935; 2, 25, 1936; Якимов, Проблема витаминов № 3, 143, 1934.
67. Беззубов и Десятнин, Использование дикорастущих, изд. «Моск. Большевик», 1943.
68. Десятнин и Беззубов, Дикорастущие как дополнительный источник витамина С, Пищепромиздат, 1943; Боссе, Готовьте из дикорастущих растений салаты, Госторгиздат, 1942; Блюда из дикорастущей зелени, Госторгиздат, 1943; Ярусова, Как обеспечить бойцов зимой на фронте витаминами А и С, Биомедгиз, 1943; Кроцеров, Вопр. пит. 10, 1, 47, 1941.
69. Найдус и Бронь, Мед. ж. БССР 5-6, 76, 1940.
70. Десятнин и Дорошенко, Тр. Ин-та сои и ЗБК, 4, 1935.
71. Поволоцкая, ДАН, 17, 1—2, 1937.
72. Тульчинская, Витамины в теории и практике, Пищепромиздат, Л., 1941.
73. Рубин, Сб. «Синтез органич. вещества и роль витаминов в растении». Изд. АН СССР, 1940; Рубин и Страцицкий, Биохимия 1, 3, 1936.
74. Благовещенский, Бюлл. exper. биол. и мед. 3, 107, 1937.
75. Giroud, Ratsimamanga, Leblond, Bull. Soc. chim. biol. 18, 2, 1936.
76. Энгельгардт и Букин, Биохимия 2, 275, 1937.
77. Сент-Гьорги, Биохимия 2, 3, 1937.
78. Hopkins a. Morgan, Biochem. J. 30, 1446, 1936.
79. Букин, Биохимия 8, 1, 60, 1943.
80. Гудлет и Кардо-Сысоева, Биохимия 3, 3, 1938.
81. Голяницкий и Белоносов, ДАН 4, 4, 1936.
82. Рубин и Арциховская, Биохимия 2; 952, 1937.
83. Кузин, ЖОХ 8, 1938.
84. Рудра. Докл. на XV Межд. физиол. конгр., Лгр, 1935.
85. Матусис, Бюлл. exper. биол. и мед. 4, 6, 1937.
86. Селезенева, Тезисы докл. и сообщ. Всес. витамин. конференции. Изд. АН СССР, 1939.
87. Германов и Эртель, Тез. докл. и сообщ. Всес. вит. конференции. Изд. АН СССР, 1939; Германов, Клин. мед. 20, 10, 52, 1942.
88. Степанян, Клин. мед. 13, 3, 1941.
89. Gabbe, Klin. Wschr. 9—14, 1936; 14, 1937; Голяницкий, Клин. мед. 11, 1934; Иосикова, Клин. мед. 11, 1938; Plaut u. Bülow, Z. physiol. Chem. 236, 4—5—6, 241, 1935; Eskelen, Biochem. J., 30, 12, 1936.
90. Klotz, Klin. Wschr. 45, 1936.
91. Берлин, Тр. Всес. конференц. по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
92. Кузьмичева, Клин. мед. 20, 5—6, 87, 1942.
93. Ривош, Бюлл. exper. биол. и мед., 11, 3, 281, 1941; Гольштейн, Тр. Всес. конференц. по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
94. Рысс, Сов. врач. ж. 10, 1938; Клин. мед. 17, 1, 1939; Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.
95. Яковлев, Бюлл. exper. биол. и мед. 10, 5, 316, 1940; Яковлев, Физиол. ж. СССР 30, 3, 384, 1941; Палладин и Хайкина, Физиол. ж. СССР 22, 3—4, 1937.
96. Бакшт, Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940; Витамины в акушерстве и гинекологии, Сов. врач. ж. 7—8, 1940.
97. Шмидт, Тр. Всес. конференции по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.

98. Винокуров, Биохимич. ж. 11, 1, 1938; Тр. Всес. конф. по витаминам. Изд. АН СССР, 1940.

99. Черкес, Тр. Всес. конф. по витаминам, изд. АН СССР, 1940; Лепский, Тр. Всес. конф. по витаминам, изд. АН СССР, 1940.

100. Цимблер, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.

101. Черкес, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.

102. Альперин и Иосикова, Тр. Всес. конференц. по витаминам, изд. АН СССР, 1940; Альперин, Иосикова и Кононенко, Терапевт. арх., 3, 1939.

103. Eekelen, Etmegie и. Wolf, Z. Vitamin. 6, 2, 1937.

104. Узбеков, Клин. мед. 15, 2—9, 1937; Шиловцев и Крамаров, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.

105. Руфанов и Степанян, Тр. Всес. конференц. по витаминам, изд. АН СССР, 1940.

106. Ачаркан, Сов. мед. 15, 24, 1940.

107. Певзнер, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.

108. Розенблюм и Гордон, Тезисы докл. научн. сессии медвуза МОКИ, изд. МОКИ.

109. Яропольская, Акуш. и гинекол., 4, 25, 1937.

110. Краевская, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.

111. Мацко, Графская и Завадовская. Биохимия 11, 1; 13, 1946.

112. Isbell, I. Res. Nat. Bur. of Stand 33, 1, 45, 1944.

113. Шнайман, Концентраты витамина С. Пищепромиздат, 1944.

114. Союз витаминпром Сборн. технолог. инструкций. Пищепромиздат. 1943.

115. Сисакян и Васильева. Биохимия 10,2; 117, 1945

116. Parkman, Pioneers of France in the New World. Boston 1880

117. Кезели. Тезисы докл. и сообщ. III Всес. вит. конф. Изд. АН СССР, М., 1944.

118. Джапаридзе. Тезисы докл. и сообщ. III Всес. вит. конф. изд. АН СССР, М., 1944.

119. Кезели и Джапаридзе. Сообщ. АН Груз. ССР, 5, 10; 193, 1944.

120. Crook a. Morgan, Biochem. J. 38, 1, 1P, 1944.

121. Levy, Nature 152, 599, 1943.

122. Сисакян. Биохимия 8, 5—6, 254, 1943.

123. Девятнин и Грунт, Сб. методических инструкций ВНИВИ.

124. Указания по профилактике авитаминозов в войсках. Сост. Девятнин. ГВСУ КА, Медгиз, 1944.

125. Прокошев, Биохимия 9, 1, 50, 1944.

126. Гурович, Грюнер, Столяров, Пищ. пром. СССР, 3, 1946.

ГЛАВА VIII

ВИТАМИН D

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ В ЧИСТОМ ВИДЕ

В опытах по кормлению молодых и взрослых животных обезжиренной пищей различные исследователи отмечали ряд расстройств в развитии подопытных животных. Это привело к выводу, что в пище должен содержаться жировой фактор, в дальнейшем названный витамином А, отсутствие которого в рационе молодых животных приводит к рахиту, что лишнее раз подтвердило основные позиции Лунина, опубликованные еще в 1881 г. В 1909 г. доктор Шабад (1) в Петербурге успешно провел опыты по лечению детского рахита рыбьим жиром.

Параллельно шли работы по изучению влияния ультрафиолетового света на рахит. В 1912 г. Рачинский (1а) поставил во главу угла в патогенезе рахита недостаток солнечного света. Более широкое распространение рахита среди детей городской нищеты он ставил в зависимость от тех условий, в которых эти бедняки находились (сырые темные подвалы, отсутствие света и воздуха, скудная пища и т. д.).

В 1919 г. Гульджинский (2) получил хороший эффект лечения рахитичных детей искусственным горным солнцем, а другие исследователи добились тех же результатов кормлением рахитичных больных облученной пищей.

Это наводило на мысль, что антирахитический фактор является веществом, которое образуется в пищевых продуктах после облучения их ультрафиолетовыми лучами.

В это время был выделен из неомыляемой фракции рыбьего жира продукт, оказывавший в минимальных дозах антирахитическое действие, по своим свойствам близко напоминающий холестерол. Развивая изложенную выше гипотезу, авторы последовательно стали облучать различные стеролы и в большинстве случаев получали активные антирахитические препараты.

Благодаря работам, проведенным рядом авторов, витамин D был окончательно определен как антирахитический фактор, выделен из прежней сборной группы «жирорастворимых витаминов А» и получил свое общепризнанное название витамина D.

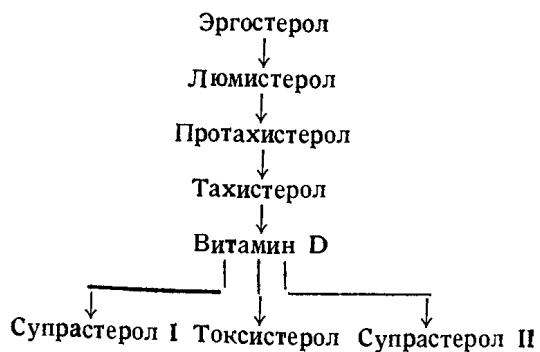
Между тем вопрос об изменениях, которые происходят в молекуле стеролов под действием ультрафиолетового света, привлек внимание многих ученых.

Вначале было установлено, что изменение спектра поглощения стеролов под влиянием облучения закономерно связано с наличием в них молекулы эргостерола. В 1930 г. Виндаус (3) и др. путем продолжительного облучения эргостерола получили супрастерол, не обладавший, однако, физиологическим действием витамина D. Ряд попыток в этом направлении терпел неудачу, пока, наконец, не удалось путем облучения эргостерола получить продукт, обладавший высокой антирахитической активностью, который и был идентифицирован с витамином D.

Однако первые шаги его практического применения были запутаны тем обстоятельством, что в нем, наряду с терапевтическими, были ясно выражены и токсические свойства. Вопрос еще осложнился тем, что полученные препараты витамина D обладали различной активностью и различными физическими свойствами.

Казалось, научно-исследовательская мысль забрела в какой-то тупик, из которого не представлялось иного выхода, как пересмотр всего вопроса о происхождении витамина D из эргостерола. Однако вскоре, применяя высоковакуумную дистилляцию, исследователи разделили препараты витамина D на две фракции—одну неактивную, а другую, обладавшую огромной активностью. При испытании препаратов было установлено, что вторая фракция и является витамином D, а первая представляет смесь различных промежуточных продуктов, образующихся при фотохимической реакции превращения эргостерола в витамин D, в большинстве обладающих высокой токсичностью. Полученное путем многократной дистилляции препаратов витамина D кристаллическое вещество, не обладавшее токсическими свойствами, было названо витамином D₂ в отличие от D₁, являвшегося смесью различных продуктов превращения эргостерола.

При изучении процесса превращения эргостерола в витамин D было установлено, что при облучении эргостерол не сразу превращается в витамин D, а проходит ряд промежуточных стадий, как это видно из следующей схемы:



Таким образом было доказано, что витамин D образуется из эргостерола, и полученный разными авторами витамин D₂ представляет собою вещество только очищенное от ядовитых промежуточных продуктов. Одновременно был выделен подобный продукт из рыбьего жира, и спор об идентичности витамина D рыбьих жиров с витамином D, полученным при помощи фотохимической реакции, был решен в положительном смысле.

Для обобщения вопроса о происхождении витамина D оставалось выяснить, из всех ли стеролов может образоваться витамин D. Дегидрированием холестерина в дегидро-7,8-холестерол с последующим облучением продукта ультрафиолетовыми лучами был получен продукт, обладавший антирахитическим действием и по своему строению немногим отличающийся от витамина D₂. Этот продукт был назван витамином D₃. Кроме того, удалось получить ряд производных, обладающих более или менее выраженным антирахитическим действием, на основании чего в настоящее время установлено, что очень многие (если не все) стеролы могут образовать активные продукты.

Таким путем, рядом кропотливых работ, проведенных в относительно короткий срок, была выяснена природа витамина D, найдены пути получения его из естественных продуктов и намечены способы синтеза.

Получение витамина D (кальциферола) заключается в следующем.

25 г кристаллического эргостерола¹ растворяют в 500 мл бензола и облучают кварцевой лампой (с охлаждением раствора в токе азота) в течение 12 часов. За это время 60% эргостерола превращаются в витамин D₂. Облученный раствор выпаривают досуха при 40—50° в вакууме. К остатку приливают 500 мл метилового спирта, смесь охлаждают до 10° и отфильтровывают от избытка эргостерола; к фильтрату добавляют алкогольный раствор дигитонина и смесь выпаривают досуха в вакууме при 35°. Остаток заливают 700 мл низкокипящего петролейного эфира и оставляют при комнатной температуре на 12 час. (при механическом помешивании). Эргостерол-дигитонид остается в нерастворенном виде, его отфильтровывают, а фильтрат концентрируют до 1/4 исходного объема. К полученному концентрату добавляют 7,5 г цитраконового ангидрида, растворенного в абс. серном эфире, и оставляют в герметически закрытом сосуде на 7—10 дней при комнатной температуре.

За это время реакция заканчивается; продукт реакции упаривают в вакууме, остаток растворяют в 120 мл 10%-ного раствора

¹ Получение эргостерола: спиртовую вытяжку дрожжей омыляют щелочью, упаривают и извлекают эфиром. Эфирный раствор концентрируют до получения желтого осадка с сильным запахом меда. Остаток растворяют в небольшом количестве кипящего петролейного эфира, из которого при сильном охлаждении выпадают кристаллы эргостерола. Их перекристаллизовывают из спирта. Из 10 кг прессованных дрожжей этим путем можно получить 15—20 г эргостерола.

метилата калия при нагревании на водяной бане до 35°. По окончании омыления раствор охлаждают, промывают четырехкратным объемом воды и извлекают большим количеством эфира. Эфирный раствор, заключающий витамин D, снова промывают водой и высушивают безводным сульфатом натрия. После фильтрации и упаривания получается аморфный остаток, который растворяют в очень малом количестве кипящего ацетона. Из ацетонового раствора при охлаждении его и заражении кристалликом чистого витамина D₂ уже через несколько часов обильно выкристаллизовывается чистый витамин D₂. Выход продукта 5 г.

Существует указание, что время экспозиции при этом способе должно ограничиваться 7 часами, так как при экспозиции в 12 часов преимущественно образуются токсистерол и супрастерол. На длине волны в 280 мμ и меньше, по имеющимся данным, образуются преимущественно тахистерол и кальциферол, с волнами большей длины—люмистерол и кальциферол (витамин D)¹.

Из рыбьего жира витамин D получается следующим образом.

Концентрированный экстракт рыбьего жира растворяют в смеси бензол+90%-ный метанол. Витамин D переходит в бензол, витамин А остается в метаноле. Далее производят разделение смеси добавлением бензола и 95%-ного метанола, который на этот раз извлекает весь витамин D. Полученный метаноловый раствор пропускают через колонку с гидроокисью алюминия. Элюат обрабатывают хлористым динитро-3,5-бензоилом и адсорбируют эфир на той же гидроокиси алюминия.

Кроме того, существуют способы получения витамина D₃ в виде 3,5-бензоата из холестерина и т. д.

В промышленности обычно не стремятся к выделению витамина D в кристаллическом виде. Необходимо лишь получить концентрат витамина D, для чего в качестве исходного сырья применяют пекарские дрожжи, где содержание эргостерола, в зависимости от расы дрожжей и способа их получения, колеблется в пределах 0,5—1%.

Вначале из дрожжей выделяют эргостерол. Для этого дрожжи сушат, измельчают и омыляют спиртовой щелочью в течение 4—5 часов при температуре кипения смеси. Полученную массу отфильтровывают и промывают при 78° этиловым спиртом. Фильтрат упаривают в вакууме и оставляют при низкой температуре на кристаллизацию. Выделившийся эргостерол промывают смесью спирт+бензол и затем спиртом. Очищенный эргостерол, если нужно, перекристаллизовывают (темп. плав. эргостерола должна быть не ниже 160—163°) и используют для облучения.

¹ По данным Московского витаминного завода № 1 Союзвитаминыпрома, время облучения для максимального перехода эргостерола в витамин D в масляном растворе может быть ограничено 4 часами.

Для этого готовят 1%-ный раствор эргостерола в рафинированном масле и подвергают его облучению ультрафиолетовым светом в специальном аппарате. За 4 часа облучения около 50% эргостерола переходит в витамин D. При этом необходимо обращать внимание на достаточное охлаждение облучаемого раствора и тщательное его перемешивание. Для освобождения от непрореагировавшего эргостерола раствор оставляют на холоду, в результате чего выпадает в осадок эргостерол, который отфильтровывают и получают таким образом масляный раствор витамина D, содержащий по условиям технологического процесса до 200 000 и. е. витамина D₂ в 1 мл. Этот раствор разбавляют маслом до нужной концентрации и выпускают из производства для расфасовки.

Изложенная в общих чертах схема производства концентратов витамина D₂ предложена Труфановым, производственные инструкции составлены Кутузовым, Рыкиным и Алаторцевым; эта схема принята на Московском витаминном заводе, где наряду с производством концентрата витамина D осуществляется производство и других витаминов.

Следует указать, что вполне возможно построить производство витамина D таким образом, чтобы ценное исходное сырье—дрожжи были использованы полностью: для одновременного получения белковых препаратов, концентратов витаминов В-комплекса и витамина D.

К числу наиболее распространенных препаратов витамина D нужно отнести следующие:

В и т а м и н D₂ и «в и т а м и н о л ь». Препарат облученного эргостерола в рафинированном пищевом масле. Активность препарата колеблется в пределах 10000—12000 инт. ед. в 1 мл. Витамин D выпускается Союзвитаминыпромом, «витаминоль» — химико-фармацевтической промышленностью СССР. Препарат имеет широкое применение при рахите, остеомаляции, в хирургической практике (костные повреждения, переломы, операции костной ткани и т. п.). Применяется по 5—6 капель per os или местно в виде повязок и как мазь. В аптеках отпускается лишь по рецепту врача. (Витамин D входит также в состав «поливитаминных» драже, выпускаемых Союзвитаминыпромом и Росвитаминыпромом). Широко используется в животноводстве.

А р а х и т о л ь—облученное ультрафиолетовыми лучами масло арахиса. Выпускается для тех же целей, что и предыдущий препарат.

В и г а н т о л. Препарат витамина в оливковом масле. Активность препарата близка к предыдущим.

К а л ь ц и ф е р о л. Витамин D₂ в кристаллах или пилюлях. В СССР препарат в кристаллическом виде получается во Всесоюзном витаминном институте.

О б л у ч е н н ы е с у х и е д р о ж ж и. Препарат, широко применяемый в животноводстве и птицеводстве. Вырабатывается на Московском витаминном заводе № 1 и на заводах Росвитаминыпрома.

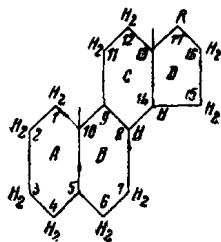
Л и п о с т е р и н. Молочный жир, облученный ультрафиолетовыми лучами, в капсулах.

О б л у ч е н н ы й р ы б и й ж и р. Хорошо известный препарат, содержащий от 20 до 8000 инт. ед. в 1 мл. Применяется по рецепту врача по 1—2 столовых ложки в день, в зависимости от активности.

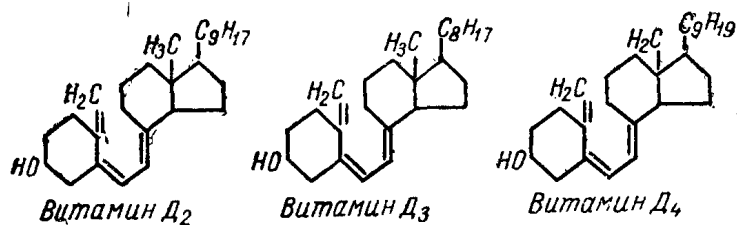
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Витамин D образуется из стеролов, которые относятся к классу ненасыщенных одноатомных ароматических алкоholes, весьма широко распространенных в животном и растительном мире¹.

В основу молекулы стеролов входит фенантреновое ядро:



В положении 10 и 13 могут находиться метильные группы, в положении 17—более или менее длинная боковая цепь. В самом скелете могут быть двойные связи или гидроксильные и иные группировки.

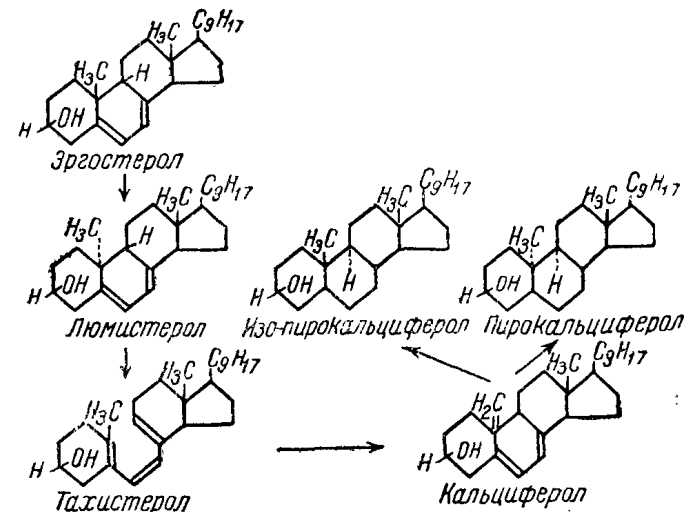


При реакции превращения эргостерола в витамин D глубокие изменения в молекуле эргостерола происходят постепенно: первое изменение, при переходе эргостерола в люмистерол заключается в пространственном перемещении двойной связи в положении 9. При переходе люмистерола в тахистерол происходит разрыв кольца

¹ Наряду с другими стеролами в семенах и зародышах злаков содержится по преимуществу ситостерол, в дрожжах, спорынье и в большинстве зеленых растений—эргостерол, в дрожжах и злаках, кроме того, зимостерол и фикоостерол; в животных объектах—в тканях и органах—по преимуществу холестерол, в фекальных массах—копростерол, в теле куколок шелкопряда—бомбицестерол, из морских губок выделен спонгистерол, из тестикул Astorepten—стелластерол, и т. п.

Синтетические канцерогенные вещества—дибензантрацен, метилхолантрен и др.—имеют близкое отношение к стеролам и желчным кислотам, половым гормонам и витамину D. Поэтому считается важным ограничивать содержание стеролов в пище раковых больных.

В и образование новой двойной связи в положении 10; при образовании кальциферола происходит новое перемещение двойной связи.



Краткая характеристика продуктов облучения приводится в табл. 31.

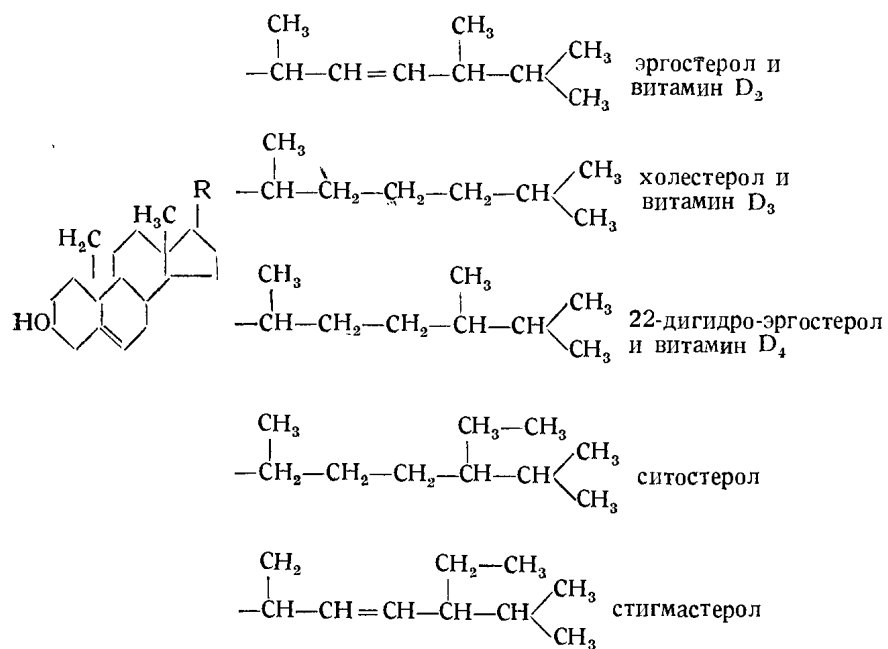
Таблица 31

Характеристика продуктов фотохимического превращения эргостерола

Продукт реакции	Температура плавления	Удельное вращение (α) _D ²⁰	Адсорбционный максимум на длине волны μ	Антираhitическая активность	Токсичность
Эргостерол	166°	—132 (хлороформ)	260, 270, 282, 293	не активен	не токсичен
Люмистерол	118°	+192 (ацетон)	265 и 280	»	»
Протатахистерол	—	—	—	—	—
Тахистерол	—	—70 (бензин)	268, 280, 294	активен	довольно токсичен
Кальциферол	116°	+103 (абс. алкоголь) +82,6 (ацетон) +33,3 (петр. эфир) +91,2 (серн. эфир)	265	витамин D ₂ не акт.	не токсичен
Супрастерол I	104°	—76 (хлороформ)	за пределами у.ф.	»	»
» II	110°	+63	»	»	»
Токсистерол	—	—	248	»	очень токсичен

При облучении 7-дегидрохолестерола был получен продукт с антирахитической активностью—витамин D₃. Процесс его образования, по видимому, близок к тому, что мы имеем при облучении эргостерола. При облучении 22-дигидроэргостерола был получен еще один продукт, обладающий антирахитической активностью, названный витамином D₄. В отличие от витамина D₃, он содержит в своей боковой цепи 4 метильные группы, структура же колец не отличается от таковой у витамина D₃. Наконец, превращая ситостерол в 7-дегидроситостерол, можно получить при облучении еще один витамин, называемый витамином D₅.

Общим свойством для витаминов D₂, D₃ и D₅ является наличие трех сопряженных двойных связей и замена метильной группы на метиленовую в положении 10, в то время как в исходных продуктах (стеролах) двойных связей одна или две. Различия между витаминами D₂, D₃ и D₄ заключаются лишь в боковой цепи, строение колец у них одинаковое.



Что касается антирахитической активности этих продуктов, то она не одинакова для различных животных: облученный 22-дигидроэргостерол для крыс в 10 раз менее активен, а для цыплят несколько более активен, чем облученный эргостерол. Облученный дегидро-7, 8-холестерол (витамин D₃), у которого отсутствует двойная связь в боковой цепи, для крыс вдвое менее активен, но для цыплят в 25 раз активнее облученного эргостерола. Облученный дегидро-7, 8-ситостерол действует на крыс в 20 раз слабее, чем облученный

эргостерол, тогда как дегидро-7-8-стигмастерол, несмотря на присутствие одной двойной связи в цепи, почти не обладает антирахитической активностью.

В и т а м и н D₂ (к а л ь ц и ф е р о л), антирахитический витамин, кристаллизуется в виде бесцветных игл без вкуса и запаха. Спектр поглощения в ультрафиолетовой части—на длине волны 265 мμ. Растворим в ацетоне, хлороформе, бензоле, петролейном эфире и др. органических растворителях; нерастворим в воде и глицерине¹. При облучении лучами с длиной волны в 313 мμ изменений в его молекуле не наблюдается, но на длине волны 265 мμ происходит его постепенное разрушение.

Витамин D является высокомолекулярным алкоголем. В отличие от провитамина (эргостерола) дигитонином не осаждается. При нагревании до 160° происходит замыкание кольца В и потеря двой-

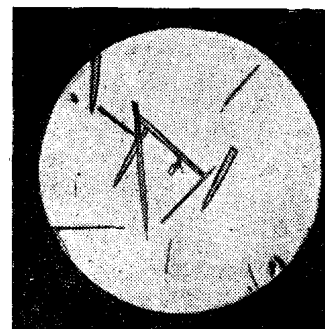


Рис. 19. Кристаллы витамина D₂.

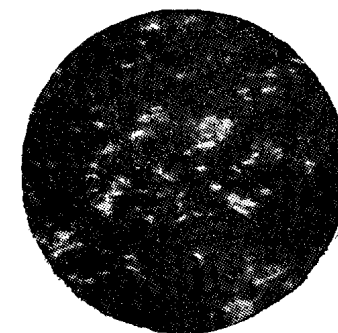


Рис. 20. Кристаллы кальциферола ацетата.

ной связи у 10-го углеродного атома и вследствие этого потеря антирахитической активности. Происходящие при этом изменения, вероятно, глубже, так как из продукта реакции уже не удается регенерировать биологически активное вещество. Продукт необратимой изомеризации (пирокальциферол) дает вещество иного молекулярного состава, с темп. плавл. 122—124°, удельным вращением $(\alpha)_D^{20} = +300^\circ$ в хлороформе².

¹ Вадимовым и Маркарян (4) получены водно-коллоидные растворы витамина D. Биологические пробы показали, что активность их может быть доведена до 1 и. е. в 0,5 γ препарата.

Маркарян указывает, что ионная концентрация в крови значительно ниже той, которая вызывает коагуляцию золью облученного эргостерола. При рН, близком к рН крови, золи препарата не коагулируют. При смешении их с нормальной сывороткой изменение степени дисперсности среды происходит очень медленно. Внутривенное и подкожное введение препаратов не вызывало никаких отрицательных явлений и излечивало рахит у крыс.

² Полученные при этом продукты были названы изопирокальциферолом и пирокальциферолом.

Раствор витамина D₂ в оливковом масле за 3 года хранения практически не теряет активности; разрушение витамина происходит более быстро, если он находится в виде водно-жировой эмульсии.

Витамин D устойчив к кислороду воздуха и к щелочам (при омылении не разрушается), но сохранение его в присутствии ненасыщенных жирных кислот, а равно обработка минеральными и органическими кислотами медленно его разрушают. При гидрировании изопропилатом натрия витамин D₂ переходит в дигидровитамин D₂ и теряет при этом свою активность. При гидрогенизации витамин D присоединяет 4 молекулы водорода. При нагревании свыше 100° витамин D теряет свою устойчивость к кислороду воздуха, к воздействию H₂O₂ и формальдегида. При окислении кальциферола хромовой кислотой или перманганатом можно получить альдегид состава C₁₄H₂₄O, который больше не обладает функциями алкоголя и имеет спектр поглощения, тождественный цитралю (максимум при 275 мμ). Витамин D дает ряд реакций, свойственных эргостеролу, разрушается перекисью водорода, сернистым ангидридом и формальдегидом; легко присоединяет различные кислоты (уксусную, малеиновую, фталевую), образуя соответствующие эфиры.

Витамин D образуется из стеролов также под действием катодных и рентгеновских лучей, но вследствие их высокой разрушающей силы образовавшиеся продукты обладают лишь слабым антирахитическим действием.

В последнее время получено большое количество различных производных и изомеров кальциферола, но они в подавляющем большинстве не обладают антирахитической активностью. Биологически активными следует признать лишь витамины D₂, D₃, D₄ и D₅, различающиеся по боковым цепям и по положению в них двойной связи. Различия эти сказываются и на их физико-химических константах.

Сравнительная характеристика известных нам витаминов D приведена в табл. 32.

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Химическое определение витамина D довольно условно, поскольку количество его, определяемое при помощи реактивов, может не соответствовать антирахитической активности. Причина этого лежит в том, что различные витамины D обладают неодинаковой биологической активностью; кроме того, существующие реакции, свойственные витамину D, не являются в полной мере специфичными.

В настоящее время в Советском Союзе начинает широко распространяться метод определения витамина, разработанный Биохимическим институтом Академии Наук СССР (с помощью прибора «витадеметра» системы Шипалова). В основу метода положена реакция витамина D с треххлористой сурьмой (5). При проверке этого метода на стандартизованных препаратах витамина D заводская лаборатория I Московского витаминного завода (Татьянин, Чумакова) получила вполне совпадающие результаты. Приводим описание этого метода в том виде, как он используется в практике (6,7).

Определение витамина D в бензольных и масляных растворах с помощью витадеметра системы Шипалова

[Приготовление растворов для анализа¹

1. Бензольные растворы. Растворы, содержащие 1% облученного эргостерола, разбавляют хлороформом в 10 раз. Для определения берут по 0,2 мл разбавленного раствора. Реактив прибавляют непосредственно перед отсчетом в количестве 5 мл.

2. Масляные растворы. Концентраты, содержащие более 10 000 и. е., разбавляют хлороформом в 2—3 приема примерно до 10 000 и. е.

¹ Реактив для определения витамина D готовят следующим путем: 22 г SbCl₃ растворяют в 100 мл сухого хлороформа. Для более быстрого растворения смесь можно подогреть (до 40—45°). Если кристаллы сурьмы начнут желтеть, прекратить нагрев, охладить раствор, затем продолжать растворение. После растворения жидкость быстро фильтруется, к фильтрату добавляется 2 мл хлористого ацетила и раствор встряхивается. Если раствор не станет прозрачным, то необходимо добавить еще 2 мл хлористого ацетила и оставить на 2—4 часа, а затем профильтровать. После этого раствор становится прозрачным.

Таблица 32

Сравнительная характеристика витаминов D

Витамин	Из какого провитамина образуется	Температура плавления в °C	Удельное вращение (α) _D ²⁰	Спектр поглощения на длине волны (в мμ)	Биологическая активность (на крысу)			Примечание
					в 1 мг соед. инт. ед.	1 инт. ед. соответствует γ витамина	активность для цыплят в % от предьд.	
D ₂	Эргостерол	115—117	+103 (алкоголь)	265	40 000	0,025	1—3	Кальциферол
D ₃	Холестерол	82—83	+83,3 (ацетон)	265	40 000	0,025	100	Неокальциферол
D ₄	22-дигидро-эргостерол	107—108	+89,3 (ацетон)	265	20 000 30 000	0,05— 0,038	20	
D ₅	7-дегидроситостерол	—	—	—	1 300	не установлен	менее 100	
D ₆	—	—	—	—	—	—	20—50	
D ₇	Провитамин мышц	—	—	—	40 000	не установлен	100	

витамина D. Затем снова разбавляют хлороформом таким образом, чтобы содержание витамина D в растворе укладывалось в калибровочную кривую.

Высокоактивные концентраты можно разводить маслом примерно до 10 000 инт. ед. (обязательно в 4—5 приема). Последний раствор разбавляют хлороформом.

Разведение нужно делать очень тщательно.

Проведение отсчетов

Витадеметр и гальванометр включают в сеть за 10—15 мин. до начала проведения отсчетов. Напряжение тока должно быть всегда одинаковым (6 вольт). Устанавливают нулевую точку гальванометра (витадеметр с гальванометром в это время не должны быть соединены) путем передвигания шкалы таким образом, чтобы «зайчик» падал на нуль шкалы. Затем три пробирки витадеметра наполняют реактивом. Одну из пробирок закрывают пробкой, помещают в правое гнездо витадеметра (следить за правильным положением кольца: выступ витадеметра должен соответствовать углублению кольца). Вторую ставят в левое гнездо, после чего при помощи ключа соединяют витадеметр с гальванометром, и движением винта диафрагмы приводят «зайчик» к нулю: затем отключают гальванометр, левую пробирку вынимают, взамен ее ставят третью пробирку, также закрытую пробкой. Гальванометр снова включают, отмечая положение «зайчика»: оно служит впоследствии для контроля.

Далее гальванометр отключают и вынимают пробирку. Во время всей процедуры указатель на барабане должен стоять на нуле.

Из второй (2) пробирки реактив сливают обратно в склянку. В отдельную сухую чистую пробирку наливают пробу витаминного раствора (0,2 мл, как указано выше) и прибавляют 5 мл реактива. В тот же момент опрокидывают песочные часы (на 1 мин.). Смесь переливают в пустую пробирку и ставят в левое гнездо витадеметра. Включают гальванометр; затем, повертывая винт барабана, подводят зайчик к нулю таким образом, чтобы к концу одной минуты он находился в непосредственной близости от нуля (тогда точная установка его на нуль ровно через 1 мин. происходит без всякого труда). Записывают цифру, стоящую под указателем барабана, выключают гальванометр, устанавливают барабан в исходное положение (указатель на нуле), вынимают пробирку из гнезда, взамен ее помещают снова третью пробирку с реактивом, включают гальванометр и отмечают положение «зайчика». Если оно не изменилось (сравнить с записанным ранее для этой пробирки), определение закончено. Если же положение «зайчика» изменилось, нужно повторить определение с новой порцией раствора и реактива. Целесообразно оставлять третью пробирку в витадеметре до того момента, когда нужно производить отсчет по второй пробирке. Во время работы нужно систематически проверять нулевую точку гальванометра. При нарушении ее шкала устанавливается снова таким образом, чтобы «зайчик» совпал с нулем, а вращением винта диафрагмы после установления в витадеметре пробирки 3 он приводится в положение, записанное для этой пробирки ранее.

Цифры, стоящие под барабаном витадеметра, являются разностью между 100 и D (пропускаемостью раствора в процентах). Следовательно, D равно 100 минус показание барабана.

По специальной таблице легко определяется экстинкция раствора (E).

Если калибровочная кривая получена на чистом препарате витамина D (кальциферол), то экстинкцию раствора уменьшают на величину, соответствующую E масла или бензола, промеренных в тех же условиях разведения.

После введения соответствующей поправки по калибровочной кривой находят содержание витамина D, соответствующее данной экстинкции.

Затем производят перерасчет содержания витамина D на исходный раствор.

Например, экстинкция промеренной пробы после введения поправки равна 0,400. По кривой это соответствует, допустим, 420 инт. ед. витамина D. При разведении 1 : 10 это означает, что 0,2 мл исходного раствора содержит 4200 инт. ед., а 1 мл = 21 000 и. е. витамина D (или принимая, что 1 γ = 40 и. е., он содержит 325 γ).

Собель и Майер, предложившие глицерол-1,3-дихлоргидрин как реактив на витамин А, позднее нашли, что этот же реактив дает достаточно хорошие результаты при определении витаминов D₂ и D₃.

Для проведения реакции смешивают 1 мл испытуемого хлороформенного раствора витамина D с 0,5 мл конц. HCl и 4 мл дихлоргидрина. Через некоторое время образуется зеленое окрашивание, интенсивность которого определяют в фотоэлектроколориметре (21).

Шальтегер (22) предложил новый количественный метод определения витамина D, заключающийся в том, что витамин с ароматическими альдегидами в присутствии перхлорной кислоты дает окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству витамина D.

Реакция выполняется следующим образом: 1 мл бензольного испытуемого раствора витамина D смешивают с 1 мл 0,1%-ного раствора альдегида (ванилина, фурфурола, анисового альдегида или 4-окси-1-нафтальдегида) в бензоле, нагревают до кипения и добавляют 2 капли перхлорного реактива. Последний приготавливают путем смешивания 2 мл уксусного альдегида и 2,5 мл ледяной уксусной кислоты с 0,5 мл 70%-ного раствора перхлорной кислоты с последующим нагреванием смеси в течение 30 мин. при 95—100°.

После добавления перхлорного реактива смесь кипятят еще 1 мин. и оставляют охлаждаться до комнатной температуры. К мутнозеленому раствору добавляют 1,5 мл ледяной уксусной кислоты и окраску раствора измеряют в фотометре с фильтром S66.

Все описанные методы имеют лишь ориентировочную ценность. Следует признать, что на сегодня наиболее правильные данные по определению витамина D можно получить лишь при помощи биологического метода определения (на крысах). Подробно об этом см. соответствующую литературу (20).

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПРОВИТАМИНА D И ВИТАМИНА D в РАСТИТЕЛЬНОМ МИРЕ

В растениях витамина D не обнаружено; в них присутствуют его провитамины—стеролы. Стеролы находят во всех растениях и во всех частях их. Они, как структурные элементы, входят в состав растительной клетки. Приводим краткие данные (8) о содержании стеролов в растениях (в %):

Масло бромелии	0,6
» винограда дикого	0,12
» глицинии	0,7
» из кожуры древесных семян	5,0

Масло кокоса	0,09
» красной смородины	1,58
» крыжовника	0,7
» крушины	0,48
» кукурузы	1,4
» люпина желтого	0,14
» малины	0,79
» пшеницы (зародышей)	0,80
» свекловичных семян	0,96
» сезамовое	0,32
» хлопчатника	0,8
» шалфея	0,54

В природе встречается большое разнообразие стеролов в виде различных весьма сложно построенных соединений. Табл. 33 дает некоторое представление о разнообразии растительных стеролов. Не все, однако, стеролы и не всегда могут служить источниками витамина D. Букин указывает, что зеленые растения или совсем

Таблица 33

Свойства стеролов дрожжей

Наименование стеролов	Число двойных связей	Точка плавления (в °C)	$(\alpha)_{D}^{20}$	Примечание
Аскостерол	1	141—142	+45°	
Фукостерол	1	161—163	+42,6	
Зимостерол	2	108—110	+47,3	
Эпистерол	2	135—136	+6,2	
Анастерол	2	157—159	-8,1	
Неостерол	2	164—175	-105,1	
Эргостерол	3	163—168	-130°	Кристаллизуется с 1 молекулой H ₂ O
Гипостерол	3	100—102	+12,5	
Крипостерол	—	135—136	+64°	Недостаточно изучен

Примечание. Температура плавления для эргостерола (168°) указана для образца с 1 1/2 молекулами кристаллизационной воды.

не обнаруживают антирахитического действия, или обнаруживают его в весьма слабой степени. Есть наблюдения, что растения, выросшие при недостаточном солнечном освещении, содержат витамин D, однако он недолго сохраняется в растениях после лишения их осве-

щения. Растения, взятые непосредственно из-под освещения солнечным светом, по мнению Солуна, до известной степени могут обеспечить организм витамином D (23).

В соответствии с этим находятся известные наблюдения, что клевер и люцерна, высушенные на солнце, обнаруживают значительное количество витамина D, тогда как при сушке их в темноте витамин D отсутствует. Комнатные, оранжерейные и произрастающие в темноте растения также лишены витамина D.

Зеленые части большинства растений содержат лишь следы витамина D; после усиленного освещения солнцем в них обнаруживается до 0,1 γ витамина D на 1 г вещества. В растительных маслах витамин D появляется после их облучения в количестве до 2,5 γ на 1 г. Сухие дрожжи витамина D не содержат, после облучения он в них появляется в пределах от 50 до 100 γ на 1 г.

Что же касается значения стеролов для жизни растения, то этот вопрос, несмотря на обилие различных существующих предположений, не может еще считаться окончательно выясненным.

СТЕРОЛЫ И ВИТАМИН D В ТЕЛЕ ЖИВОТНОГО И ЧЕЛОВЕКА И ИХ РОЛЬ В ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ

Мы не можем охватить весь тот сложный комплекс физиологически важных веществ, которые объединяются условным названием «стеролов». В настоящее время мы с полным основанием относим к ним те вещества, в молекулу которых входит фенантреновое ядро с теми или иными боковыми цепями. Это—витамин D, гормоны, желчные кислоты, глюкозиды, алкалоиды и, наконец, канцерогенные вещества. Такая универсальность фенантрена говорит о чрезвычайно важном значении его в обмене веществ. Широкое распространение в организме стеролов также указывает на их тесную связь с разнообразными функциями организма.

Стеро́лы и, в частности, холестерол, имеют очень большое значение для организма, как непременная составная часть всякой живой клетки: вместе с фосфатидами (лецитин, кефалин и пр.) холестерол входит в состав всех животных жиров.

Имеется определенное постоянное соотношение между холестеролом и фосфатидами, от которого зависит сопротивляемость клеток, например эритроцитов (проницаемость, гигроскопичность ткани и т. д.). Известно, что жир внутри клетки находится в состоянии тончайшей эмульсии с белком. Холестерол и его эфиры являются стабилизаторами жира и одновременно его эмульгаторами: холестерол, облекая изолирующим слоем отдельные участки протоплазмы клетки, обуславливает микроструктуру клетки. Вследствие особенностей своего строения, сочетающего большую прочность фенантренового ядра с подвижностью в нем атомов и с легкостью внутримолекулярных перегруппировок, стеролы, и особенно образующийся из них витамин D, повидимому, приобретают значение своего рода

Содержание стеролов в животных тканях

Стеро́лы	Содержа- ние в %	Стеро́лы	Содержа- ние в %
Холестерол		Эргостерол	
Кожа кабана	1,60	Гусеница соснового шелко- пряда	2,21
» козули	0,16	Дафния	0,75
» коровы	0,18	Дождевой червь	22,8
» крысы	0,87	Куколка соснового шелко- пряда	0,57
» мыши	0,60	Мучной червь	15,4
» свиньи	2,9—5,9	Песочный червь	3,68
» теленка	0,68	Пиявка	3,5
Легкое теленка	0,03		
Мозг козули	0,03		
» крупного рогатого скота	0,02		
Плацента коровы	0,18		
Селезенка коровы	0,045		
Сердце теленка	0,03		

биокатализаторов, участвующих в проведении каких-то реакций организма (может быть, гидролиз сложных соединений и синтез их из элементарных веществ).

В то время как фосфатиды, указывает Садиков, представляют собой гемолитические вещества, стеролы являются их антагонистами. С этой точки зрения понятна их защитная роль в качестве липоидных оболочек эритроцитов. Важной функцией стеролов является способность связывания и обезвреживания бактериальных токсинов, подобно тому как связываются эргостеролом в растениях сапонины, глюкозиды и тому подобные вещества.

Существуют указания, что стеролы могут синтезироваться самим организмом: Танхаузер указывает, что в курином яйце происходит синтез холестерина, Садиков упоминает о построении акулой молекулы холестерина из сквалена¹.

Холестерол подавляет спиртовое брожение; молочная кислота в процессе молочнокислого брожения связывается холестеролом; холестерол обладает также способностью фиксировать воду,—все это имеет большое значение для организма.

Гипофункция печени приводит к нарушению стеролового обмена в организме и к образованию так называемых печеночных камней, состоящих в основном из холестерина и некоторых его производных. Холестерол в обильном количестве выделяется жиропотовыми железами некоторых животных, образуя «жиропот» овечьей шерсти, известный под названием ланолина. Известно, что нарушение холестеролового обмена может привести к образованию полимеров, например 1,2-бензопирена, скопляющегося в избытке там, где имеется гиперфункция эпителиальной или другой ткани, которая вследствие нарушения в них процессов окисления приводит к образованию злокачественных новообразований². Однако организм располагает каким-то аппаратом, дегидрирующим полициклические ядра и превращающим их в фолликулин и другие вещества (гормоны и гормоноподобные образования).

В организме животного, таким образом, наряду с неактивными фито- и зоостеролами, находится и витамин D, либо поступивший с пищей, либо синтезированный самим организмом (в очень редких случаях), либо, наконец, образовавшийся в организме под влиянием облучения собственных стеролов³.

В табл. 34 мы помещаем сведения о распределении стеролов в тканях и органах животных.

¹ Из чего синтезируется в организме холестерол, нам не ясно. Однако есть наблюдения, что некоторые плесневые грибки способны синтезировать стеролы из глюкозы. По некоторым данным, от 7 до 30% исходной глюкозы могут быть превращены грибами в стеролы.

² Варшавский, на основании собственных экспериментов, утверждает, что даже незначительный D-гипервитаминоз (гиперстеролемия) усиливает рост иенсенсовской саркомы у крыс (9).

³ Еще с глубокой древности известно целебное действие прямого солнечного освещения на больных рахитом, туберкулезом и т. д.

В отсутствие витамина D животное заболевает рахитом или остеомаляцией; при этом кости становятся мягкими и хрупкими (содержат меньше кальция и фосфора и больше хлора и влаги), легко поддаются искривлению, эпифизы обызвествляются в недостаточной степени, наблюдается несрастиваемость костей, кариес зубов, псевдоартрозы и т. д. Все эти симптомы свидетельствуют о нарушении минерального обмена¹.

Витамин D регулирует минеральный обмен в организме; возможно предположить его косвенное антагонистическое влияние на витамин А, как известно, являющийся в свою очередь антагонистом щитовидной железы. Нам известно, с другой стороны, что усвоение кальция организмом регулируется нервной системой через сложный комплекс гормонов щитовидной и паращитовидной желез. Повидимому, нарушение минерального обмена в организме может быть эндогенного и экзогенного происхождения, например в случае нарушения щелочнокислотного равновесия в местах всасывания минеральных веществ на почве нарушения или сдвигов тех или иных окислительно-восстановительных систем (гипер- или гипоацидоз); витамин D является регулятором этих процессов. Гистологическая картина костей у животных при рахите столь ясно выражена, что дает возможность почти безошибочно судить о той или иной степени его развития.

D-авитаминоз образует много латентных форм, поддающихся иногда лечению лишь с большими трудностями, так как до сих пор

¹ В норме костная ткань содержит около 37% воды, 24,48% Са; 11,03% Р; 0,39% Сl. При рахите костная ткань содержит около 42,5% воды; 21,6% Са; 9,97% Р; 3,45% Сl. В норме в крови содержится около 10 мг% Са и 6—8 мг% Р; при рахите—5 мг% Са; 2—3 мг% Р. Обращает на себя внимание низкое содержание иода в крови рахитичных детей (до 2,5 γ% вместо 7,5—13,5 γ%, в норме).

в наших руках нет еще достаточно надежного метода раннего обнаружения их. При частичном D-витаминном голодании у животных развивается остеопороз, тетания, ломкость костей, замедление роста, что прекрасно было в свое время продемонстрировано Лепским на цыплятах, подвергавшихся и не подвергавшихся действию прямого солнечного освещения (10).

Доказанная всей практикой лечения солнцем и ультрафиолетовым облучением возможность биологической замены витамина D



Рис. 21. Рахит у детей

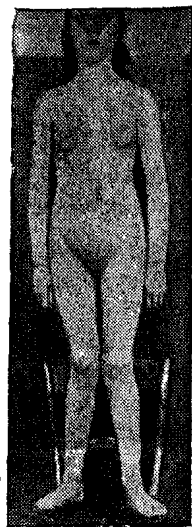


Рис. 22. D-авитаминоз. Остеомаляция

непосредственным облучением животных и растений с несомненностью говорит в пользу того, что в нормальных условиях существования баланс витамина D в организме животного поддерживается благодаря облучению солнечным светом.

В смысле пищевого использования наибольшее практическое значение для нас имеют различные рыбы печеночные жиры; они зачастую являются исключительными источниками витамина D и имеют значение не только как профилактическое средство, но и как препарат для хирургических целей.

Хорошим источником витамина D является яичный желток, при этом яйца летней носки от кур, пасущихся на траве, раз в 5—10 богаче яиц от кур, находящихся в закрытом помещении и не полу-

Таблица 35

Содержание витамина D в печеночных рыбьих жирах
(в и. е. на 1 г жира)

Наименование рыб	Содержание витамина D	Наименование рыб	Содержание витамина D
Тунец (синеплавниковый)	40 000	Сельдь	100
Меч-рыба	10 000	Желтая соль (вид камбалы)	90
Тунец (желтоплавниковый)	10 000	Сардины	80
Морской окунь	5 000	Акула	50
Бокаччио	2 100	Лосось	40
Бычки	1 500	Скат	30
Китайские бычки	1 400	Тихоокеанская собака-рыба	20
Морской налим	1 300	Морская кошка	20
Чавыча	1 300	Окунь пресноводный	11
Камбала	1 200	Буффало	10
Полосатый бычок	1 000	Хэддок	10
Палтус	1 000	Ламаншская морская кошка	5
Макрель	750	Атлантическая собака-рыба	3
Черная треска	600	Капелин	3
Шар-рыба	570	Химера	2
Кета	400	Серая соль (вид камбалы)	1
Тюрбо	280	Осетр	0
Соль (вид камбалы)	150		
Песчаная камбала	120		
Треска	100		

чающих зеленого корма. То же можно сказать относительно молока: молоко, получаемое от коров, находящихся на пастбище, богаче антирахитическим фактором, чем молоко от коров в зимний период. Здесь следует также отметить, что скармливание животным (крупному рогатому скоту, свиньям, овцам, курам и пр.) облученных кормов, облученных дрожжей или иных источников витамина D не только в огромной мере способствует их росту, молочности, яйценоскости и т. д., но благотворно влияет на получение продукции хорошего антирахитического качества. Молоко, обогащенное витамином D через корм коров, оказывается эффективным не только в смысле профилактики рахита, но и при его лечении. Такое молоко хорошо усваивается детьми, находящимися на искусственном вскармливании, и благотворно действует при поносах; контрольное зимнее молоко таким действием не обладает¹ (11).

Избыточное введение массивных доз витамина D (даже чистейшего препарата, свободного от токсистерола и тахистерола) приводит к явлениям гипервитаминоза. В первую очередь при явлениях гипервитаминоза обнаруживаются потеря аппетита, поносы, исху-

¹ Это обстоятельство выдвигает на очередь вопрос об увеличении производства облученных дрожжей для животноводства, организации ферм противорахитного молока, обогащения молока витамином D, а одновременно и витамином A, столь необходимыми для детского населения, и ряд других мероприятий, имеющих большое народнохозяйственное значение.

дание, нарушение сердечной деятельности, обильное отложение кальция в почках, печени, легких, сердце и кровеносных сосудах. Эти явления обычно приводят к смерти животных, причем из 100 животных, погибших от D-гиперавитаминоза, 95 дают на вскрытии все характерные признаки общего склероза (12).

Введение животному, одновременно с массивными дозами витамина D, витамина А или каротина парализует вредное влияние избыточных доз витамина D. По данным Мацко (13), при низком уровне витамина А в диете крыс токсическое действие облученного эрго-стерола проявляется в дозах, соответствующих 700 инт. ед. в день, и у цыплят на дозах в 25 000 или больше инт. ед. на 100 г рациона. С другой стороны, интересно отметить, что в своих опытах с передозировками витамина D, при одновременной даче витамина А, Мацко не наблюдал выраженного гиповитаминоза А.

Интересны отдельные указания о том, что при паратироидной тетании можно добиться излечения, давая 300-кратную дозу витамина D, и при этом не наблюдается гипervитаминоза. Имеются данные о том, что 150-кратная доза витамина D вызывает лишь некоторую гиперкальцемию. Однако, если избыточная доза растянута во времени, наступают явные проявления гипervитаминоза. Лондон (24) предлагает считать 200-кратную дозу витамина D, даваемую систематически, за пограничную, которая дает близкий к токсическому эффект.

Витамин D может накапливаться с возрастом в теле животного; это согласуется с тем обстоятельством, что склеротическим явлениям более подвержены старые особи, чем молодые.

Тщательные лабораторные опыты на крысах и клиническая практика в отношении матерей и младенцев показывают, что витамин D (подобно витамину А, но в значительно больших количествах) может отлагаться в организме. Питание матери существенным образом влияет на отложение витамина D в теле ребенка до его рождения. Запас этого витамина в организме матери обуславливает антирахитическую ценность ее молока. Шерман давно уже установил, что самки, воспитываемые на рационе, богатом витаминами А и D, дают потомство более резистентное к проявлениям А- и D-витаминовой недостаточности (14).

Организм ребенка больше нуждается в витамине D, чем организм взрослого человека, так как в растущем организме интенсивно идет постройка скелета, требующая много минеральных солей, а, следовательно, регуляторы минерального обмена необходимы в большом количестве. Юнг (15) указывает, что потребность ребенка составляет 100—120 инт. ед. витамина D. Это та минимальная доза, которая обеспечивает ребенка от заболевания рахитом, но не является лечебной. Лечебную дозу Юнг определяет как 500 и. е. Шмидт (16) более правильно считает, что средняя суточная потребность грудного ребенка должна определяться в количестве не менее 500—700 инт. ед. Лепский (17) указывает, что ребенок уже с первого месяца жизни и до тех пор, пока продолжается рост

тела, в течение нескольких месяцев в году должен систематически получать витамин D.

Хорошо известно, что лучи с длиной волны достаточно короткой, чтобы они могли влиять на образование витамина D и не приводить к его полимеризации, не проходят в заметной степени через обычное оконное стекло. Условиями для получения большой доли ультрафиолетовых лучей прямого солнечного света являются: ясная погода, отсутствие пыли и дыма, засоряющих атмосферу и препятствующих прохождению ультрафиолетовых лучей, пребывание на берегу водных бассейнов (вода отражает ультрафиолетовые лучи) и т. д. В весьма общих чертах можно сказать, что свет, вызывающий солнечные ожоги и загар, эффективен также и для образования витамина D в коже. Покраснение кожи, предшествующее солнечному ожогу (фотосенсибилизация), служит известного рода предостережением против избыточного облучения. Это также иллюстрирует тот факт, что свет, образующий витамин D в коже, одновременно повышает кровообращение, благодаря чему витамин D удаляется кровью до того, как он успеет разложиться, а на его место одновременно приносятся в кожу новые количества провитамина, активирующегося здесь в витамин. Благоприятное действие солнца на детский рахит не требует доказательства. Лишь при глубоко зашедшем патологическом процессе требуется иное, более энергичное вмешательство.

Потребность в витамине D у беременной и кормящей женщины составляет не менее 1000 инт. ед. в день, детей в возрасте до 15 лет 500—1000 инт. ед. (18).

Витамин D, полученный с пищей или образующийся в теле из провитамина, разносится током крови к отдельным органам и тканям тела. Место его локализации в человеческом организме еще не установлено; повидимому, он содержится в печени и в мышцах (в мышцах D-авитаминозных животных окислительные процессы понижены). С несомненностью, однако, установлено, что витамин D влияет на кислотно-щелочное равновесие организма. Рахиту часто сопутствуют ацидоз, истощение резервной щелочности крови, расстройство ее регенерации и анемия. На основании обширных клинических наблюдений многие клиницисты приписывают витамину D ряд неспецифических свойств; считается, что витамин D является антитетаническим фактором, усиливает неспецифический иммунитет к туберкулезу, играет благоприятную роль в лечении кровотечений, остеомиелитов, аллергических заболеваний, пiodермии, озены, остеопороза, псевдоартрозозов и других заболеваний, прямым или косвенным образом связанных с нарушением в организме фосфорнокальциевого обмена и щелочнокислотного равновесия. Основываясь на этом, Голяницкий использовал симптом уменьшения кальция в крови в качестве биохимического теста на D-гиповитаминоз.

Витамин D сдвигает рН крови в щелочную сторону; каталаза крови активируется витамином, что Вильштедт склонен припи-

сать окислительно-восстановительной способности витамина. Известно далее, что витамин D стимулирует функцию щитовидной железы, играющей основную роль как в обмене кальция, так и в поддержании щелочнокислотного равновесия в организме¹.

Многие авторы наблюдали благоприятное действие витамина D на течение аллергических заболеваний, а также хороший эффект при спазмофилиях; регулярно вводя грудным детям витамин D, на огромном числе случаев они наблюдали снижение среди них смертности от туберкулеза, менингита и пневмоний.

При исследовании гистологических изменений во внутренних органах при гипервитаминозе D найдено глубоко зашедшее жировое перерождение, в особенности щитовидной железы. У маленьких детей, получавших в течение 6 месяцев 40-кратную дозу витамина, других явлений гипервитаминоза D, за исключением желудочно-кишечных расстройств, не наблюдалось. В другом случае исследователи с целью вызвать гипервитаминоз давали взрослым 900-кратную дозу кальциферола и серьезных явлений отравления при этом не обнаружили. Все же очевидно, что дозой, прием которой в течение долгого времени уже вызывает токсические последствия, является 200-кратная доза витамина D.

Наряду с витамином D₂ для терапевтических целей широко используются естественные концентраты витамина—облученные дрожжи, печеночные жиры и пр. Еще в 1936 г. Голяницкий и Розенталь (19) предложили обогащать до стандарта бедные витамином рыбы жиры. Позднее это предложение нашло себе практическое применение в виде витаминизации рыбьего жира, обладающего хорошим терапевтическим действием при лечении рахита, переломов и ранений, костного туберкулеза и других заболеваний². Опыт показал, что сочетание в одном препарате обильного количества витамина D и в то же время витамина A представляет большой практический интерес уже по одному тому, что нередко гиповитаминоз D сопровождается гиповитаминозом A. Исследования показывают, что комбинированный гиповитаминоз A и D иногда наблюдается в третьем периоде регенерации костных переломов (20—30-й день периода реставрации) и во втором и третьем периодах заживления ран. Вследствие этого витамин D считается совершенно необходимым фактором в лечении переломов и других повреждений костной ткани.

Систематическое изучение динамики витамина D в организме в норме и при различных заболеваниях является весьма важной задачей, так как ясно, что лишь на таком, систематическом изучении может быть основана рациональная и эффективная D-витаминотерапия.

¹ При даче витамина D наблюдается увеличение содержания в крови гемоглобина.

² Успех лечения ран витамином D (рыбьим жиром) объясняется тем, что витамин D всасывается раневой поверхностью в организм. Кстати, отметим, что так наз. «повязка Вишневецкого» состоит из мази, приготовленной на рыбьем жире, содержащем витамины A и D.

1. Шлабад, Лечение рахита в связи с обменом веществ, Петроград, 1915.
- 1a. R a c z y n s k y, C. R. Ass. Intern. Pediat., 1913.
2. H u l d s c h i n s k y, Dementia rachitica, Berlin, 1926.
3. W i n d a u s u. H e s s, Nachricht. Ges. Wissensch. zu Göttingen, 1926.
4. В а д и м о в, М а р к а р я н, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.
5. Б у к и н, Витамины, Пищепромиздат, 1941.
6. Б е л и к о в а, Отчет ЦНТЛ за 1942 г. Союзвитаминыпром.
7. Т а т ь я н и н, Производство витамина D, Пищепромиздат, 1943.
8. Ц и т и р. С а д и к о в, Курс биологич. химии, Кубуч, Лгр. 1935.
9. В а р ш а в с к и й, Арх. пат. анатом. и физиологии, 3, 5, 1927.
10. Л е п с к и й, Труды ВИЖ, 18, 1935.
11. Ф о р ш т е р, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.
12. S t e r r, S c h r o e d e r u. K ü h n a u, Die Vitamine u. ihre klinische Anwendung, L. 1936.
13. М а ц к о, Вопросы питания, 1, 1933.
14. Ш е р м а н, Химия пищи и питания, Биомедгиз, 1937.
15. J u n g, Z. Vitaminforsch., 1, 2—4, 1938.
16. Ш м и д т, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940.
17. Л е п с к и й, Тез. докл. и сообщ. на Всес. витам. конференции, изд. 1939; Вопр. пит. 1940.
18. Б а к ш т, Тр. Всес. конференции по витаминам, изд. АН СССР, 1940;
- Ш у б, Витамины при беременности и лактации, Лгр, 1940.
19. Г о л я н и ц к и й и Р о з е н т а л ь, Сов. врач. газета, 32, 1934.,
20. Л а в р о в, Учебник физиологии питания. Медгиз, 1935; Методы определения витаминов, принятые I Всесоюзной витамин. конференцией. Снабтехиздат (1934); Б у к и н, Витамины. Пищепромиздат, 1941.
21. S o b e l, M e y e r a. K r a m e r, Ind. Eng. Chem. (an. ed.) 17.3; 166. 1945.
22. S c h a l t e g g e r. Helv. chim. Acta 29, 2; 285, 1946.
23. С о л у н. Витаминное питание сельскохозяйственных животных. СХГИЗ, 1944.
24. Л о н д о н, Минеральный обмен и витамины, СХГИЗ, 1936.

ГЛАВА IX ВИТАМИН Е

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ В ЧИСТОМ ВИДЕ

При изучении некоторых диет исследователи обратили внимание, что крысы, находящиеся на синтетическом рационе, в состав которого входили обязательными компонентами все известные к тому времени витамины (А, В, С, D), обнаруживали симптомы расстройства половых функций. У самок подопытных животных, внешне совершенно здоровых, с нормальной овуляцией, наблюдалась неспособность воспроизводить потомство; происходила резорбция плода, прекращение беременности, после чего половой цикл вновь возобновлялся — наступало нормальное зачатие, но вскоре снова наблюдалось указанное явление резорбции. Добавление к диете животных зародышей пшеницы или салата приводило к восстановлению функций деторождения.

Еще ранее было замечено, что крысы, длительное время содержащиеся на одном молоке, также утрачивали способность к размножению. Эти и предыдущие опыты заставили ученых высказать предположение о существовании фактора размножения, отсутствующего в молоке и находящегося в зеленых частях растений. В дальнейшем путем многочисленных опытов удалось доказать, что неизвестный витамин содержится в наибольшем количестве в пшеничных зародышах и что при экстрагировании зародышей он переходит в жировую фракцию. Вновь открытому витамину было присвоено обозначение витамин Е, или фактор плодородия (1).

В 1935 г. получен из рисового масла концентрат, из которого выделили одну неактивную фракцию, плавящуюся при 168°, и другую фракцию, дающую реакцию Либермана-Бурхарда, плавящуюся при 156° и в малых дозах действующую на крысу как витамин Е; для этого вещества была установлена брутто-формула $C_{29}O_{48}O$.

В том же году из масла зародышей пшеницы было выделено густое желтое маслянистое вещество с формулой $C_{29}H_{52}O_2$, активное в дозе 3 мг на крысу, обладавшее характером алкоголя. Аллофанат этого алкоголя плавился при 154—156°, имел полосу поглощения при 294 м μ и оказался оптически недеятельным. Исходя из предположения, что это есть чистый, или почти чистый, витамин Е, полученному алкоголю было присвоено название токоферол.

Дальнейшие работы были направлены на изучение свойств полученного соединения, разработку способов выделения его из естественных продуктов и на возможность осуществления его синтеза.

Высокоактивные концентраты витамина Е были получены путем экстрагирования пшеничных зародышей эфиром с последующим омылением масла; неомыляемая фракция перерастворялась в различных растворителях для освобождения от большого количества присутствовавших стеролов. Из 10 кг масла этим путем удалось получить до 15 г маслянистого остатка, который в дозе 15—20 мг оказывался достаточным для восстановления нормального плодородия крысы.

В 1937 г. в печати была опубликована следующая методика для выделения токоферола из масла пшеничных зародышей: масло омыляют, неомыляемый остаток растворяют в метаноле (при этом удаляется основная масса стеролов), фильтрат выдерживают при низкой температуре для выпадения в осадок стеролов, остаток переменным растворением в бензине и метаноле полностью освобождают от стеролов, растворяют в петролейном эфире и адсорбируют на Al_2O_3 . Хроматограмма проявляется петролейным эфиром, зоны элюируются смесью бензин-ацетон-метанол в отношении 8 : 1 : 1.

Очищенные и сконцентрированные элюаты обрабатывают циануровой кислотой в токе CO_2 для перевода токоферола в труднорастворимый токоферил-аллофанат¹. Полученное вещество перекристаллизуется из ацетона.

При аллофанации токоферола из масла пшеничных зародышей образуются три рода кристаллов, плавящихся при 250°, 158—160° и 135—138°. Эти кристаллы принадлежат трем изомерам токоферола, которые в настоящее время выделены, синтезированы и идентифицированы, как α -, β - и γ -токоферил-аллофанаты. Этим путем исследователи выделили из 3,5 кг масла пшеничных зародышей 3,2 г α -токоферил-аллофаната и 1,5 г β -токоферил-аллофаната².

В настоящее время существует несколько способов получения активных концентратов витамина Е, частично используемых витаминной промышленностью.

По схеме, разработанной в 1939 г. советскими авторами (2) на основании экспериментальных исследований и литературных данных, поступают следующим образом. Пшеничные зародыши заливают в отношении 1 : 2 легкой фракцией бензина, экстрагируют настаиванием в течение 24 часов с частым помешиванием, экстракт сливают, массу снова заливают растворителем и экстракцию проводят повторно, как указано. Соединенные экстракты отфильтровывают на нутч-фильтре, растворитель упаривают (процесс заканчивают при вакууме и температуре 50—60°), последние порции растворителя удаляют острым паром или, что удобнее, током инертного газа. Полученное масло омыляют 20%-ным метаноловым раствором КОН в течение 1 часа при 60° в токе инертного газа, омыленный

¹ При гидролизе соляной кислотой из токоферил-аллофаната получают α - или β -токоферол в виде желтоватого вязкого масла.

² По этой же прописи из листьев салата был выделен активный препарат. Позднее путем молекулярной дестилляции был получен из неомыляемой фракции его очень чистый α -токоферол.

раствор разбавляют равным объемом воды и трижды экстрагируют серным эфиром. Эфирные экстракты промывают водой, высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают досуха. Полученный остаток досушивают в вакууме. Концентрат представляет собой рассыпающийся оранжево-красный продукт, содержащий около 12—13% α -токоферола, 80—87% ситостерола, каротиноиды и другие вещества.

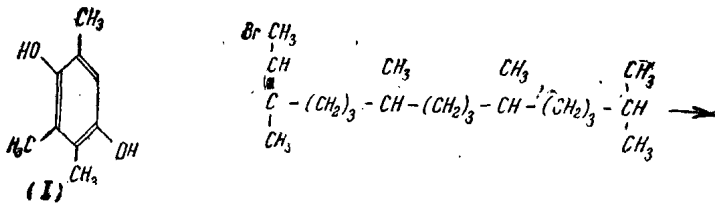
По Карьяла и Красногрудовой (3), масло из зародышей извлекают серным эфиром, эфир удаляют; масло омыляют 40%-ным раствором КОН в этиловом спирте в отношении 1 : 1, нагревая в течение 3 часов на кипящей водяной бане в токе азота; после охлаждения смесь растворяют в воде, трижды экстрагируют эфиром, эфир высушивают безводным сульфатом натрия (в течение суток) и упаривают досуха.

Большинство методов получения масла и концентратов из пшеничных зародышей, детально описанных в специальной литературе, различаются лишь незначительными отклонениями от вышеизложенных прописей.

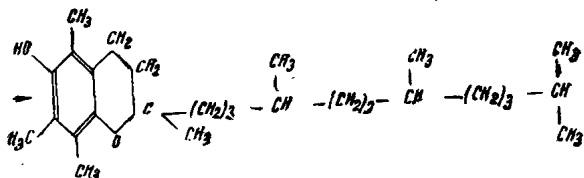
Для получения особо активных концентратов масло пшеничных зародышей гидрируют водородом с платиновым, никелевым или палладиевым катализатором при 100—200°. После удаления катализатора продукт реакции извлекают кипящим метанолом или пропанолом. Экстракт охлаждают до 0° и выделившиеся глицериды и стеролы удаляют. Полученный раствор обладает в 20—50 раз более высокой витаминной активностью по сравнению с исходным маслом и содержит вещества, предохраняющие витамин Е от окисления. После отгонки растворителя получают 9,5 г продукта из 1 кг масла.

Дзивульский в лаборатории Союзвитамипрома, пользуясь этой схемой, получил в 1941 г. высокоактивные гидрированные твердые жиры, весьма удовлетворительные в пищевом отношении (4).

Синтез витамина Е может быть осуществлен путем конденсации псевдокумогидрохинона (I) с фитолом или фитил-бромидом.



В результате конденсации образуется рацемическая смесь d и l α -токоферола.



К сожалению, большая трудность получения фитола (обычно получаемого омылением хлорофилла с очень низким выходом) весьма ограничивает распространение описанного метода.

Иногда прибегают к более сложным способам синтеза, главным образом из-за необходимости синтезировать самый фитол. Отыскание простого способа получения фитола из естественного сырья, в количестве достаточном для промышленных целей, оказалось бы незаменимую услугу витаминной промышленности нашей страны.

В последнее время в Всесоюзном витаминном институте Гольцовой разработан довольно простой способ синтеза α -токоферола, причем в качестве исходного сырья в этом синтезе применяется хлорофилл (выделяемый из крапивы) и отходы анилино-красочного производства. Этот способ, несомненно, заслуживает внимания производственных предприятий.

В настоящее время имеют распространение следующие препараты витамина Е:

Масло пшеничных зародышей. Рафинированное, жидкое, в склянках, капсулах и желатиновых ампулах. Содержит до 0,3% витамина Е. Показано при мышечных дистрофиях, анемиях и расстройстве половой деятельности. Производство препарата налажено Союзвитамипромом.

Масло хлопковое с содержанием до 0,2% витамина Е. В виде комплексного препарата (витамины А, D и Е) выпускается Всесоюзным витаминным институтом.

Виоль. Дестиллят неомыляемой фракции пшеничных зародышей, получаемый путем возгонки в высоком вакууме. Выпускается в виде твердых пилюль, имеющих внешний вид янтарных бус. Содержание витамина Е доходит до 50% и более.

Гидрожир. Гидрированное хлопковое или пшеничное масло с повышенным содержанием витамина Е.

Препарат ВНИИЗ. Спирто-жировой концентрат, получаемый по Тарутину, путем прессования увлажненных спиртом зародышей пшеницы. Используется с большим успехом в клиниках для наружного и внутреннего употребления, так как содержит, кроме витамина Е, ряд других питательных веществ. Выпускается химико-фармацевтической промышленностью СССР и Союзвитамипромом в значительных количествах.

Пшеничные зародыши (хлопья). Выпускаются предприятиями Министерства заготовок. Используются для получения витаминированных блюд (супы, каши), в клиниках и госпиталях. За границей выпускается в виде муки с сахаром, ванилином и сухим молочным порошком под названием «Vitamin meal».

Токоферол-ацетат. Бледножелтое вязкое масло. Чистый витамин Е. Выпуск продукта освоен Химико-фармацевтическим институтом.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Витамин Е по своему строению является сложным одноатомным насыщенным алкоголем α -токоферолом состава $C_{29}H_{52}O_2$. Витамин Е содержит одну весьма реактивную гидроксильную группу и легко образует простые и сложные эфиры.

Витамин Е получен в виде трех производных α , β , и γ -токоферола. Из приведенных ниже данных видно, что эти продукты

различаются не только по своему строению и химическим свойствам, но также и по биологической активности.

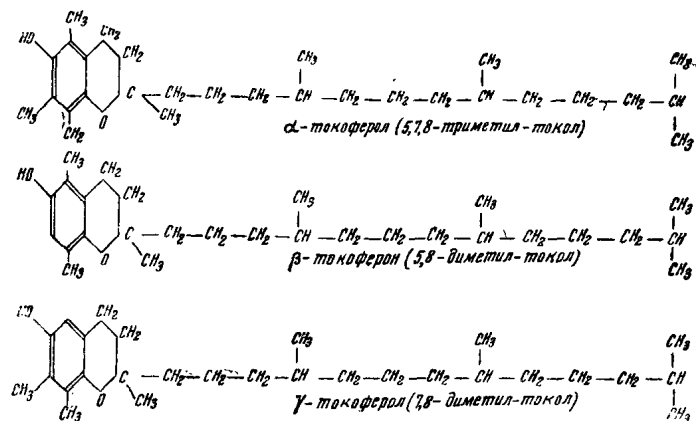


Таблица 36

Сравнение свойств токоферолов

Название	Эмпирическая формула	Точка плавления аллофанатов (в °C)	Спектр поглощения, $m\mu$	Биологическая активность (1 г содержит крысиных единиц)
α -токоферол	$C_{29}H_{50}O_2$	158—160	295	400
β -токоферол	$C_{28}H_{48}O_2$	135—138	295	200
γ -токоферол	$C_{28}H_{48}O_2$	135—135,5
d, δ -токоферол	$C_{29}H_{50}O_2$	100

Токоферол растворим в маслах, хорошо растворим в эфире, бензине, петролейном эфире, растворяется в этиловом, бутиловом и метиловом спиртах, несколько хуже в ацетоне, бензоле и хлороформе, не растворим в воде. При 180° и 50 мм давления перегоняется без разложения. Этим свойством некоторые авторы пользуются для его очистки. При омылении витаминсодержащих масел токоферол переходит в неомыляемую фракцию, из которой он может быть извлечен эфиром, с последующим переосаждением другими растворителями. Токоферол, находясь в маслах, не содержащих свободных

альдегидов, весьма устойчив к действию кислорода, температуры и света. Нагревание до 120° в присутствии кислорода воздуха его не изменяет¹; 20%-ный KOH, равно как и 20%-ная HCl² при комнатной температуре за 5—6 часов, а также кипячение в течение 1 часа с раствором KOH не уменьшают активности витамина. Он разрушается ультрафиолетовыми лучами, перманганатом калия, азотом и хлором. Обработка эфирным раствором хлорного золота и железа, раствором азотной кислоты и азотнокислого серебра также разрушают токоферол. При прогоркании масел содержащийся в них витамин быстро разрушается. В этом отношении рыбий жир, свиное сало, как обладающие большей способностью к прогорканию по сравнению с другими жирами, хуже сохраняют витамин, чем хлопковое, пшеничное, оливковое и другие растительные жиры.

Обнаружено, что некоторые стеролы предохраняют витамин E от окисления.

Из листьев салата выделен продукт еще не установленного строения с формулой $C_{13}H_{14}O_5$, сопутствующий в неомыляемой части токоферолу, который оказывает вышеуказанное действие. Имеются наблюдения, что зародыши пшеницы, хранившиеся около 3 лет, потеряли около одной трети своей первоначальной активности, масло же, полученное из них и хранившееся в вакууме, за тот же период времени вовсе не снизило содержания витамина.

Однако сказанное выше можно отнести лишь к токоферолу, находящемуся в естественном состоянии. Выделенный из масла и очищенный, а также полученный путем синтеза токоферол весьма чувствителен к кислороду и щелочам; нужно также отметить, что нестабильность его увеличивается по мере омыления масел. Токоферол может быть стабилизирован прибавлением гидрохинона или, что лучше, аскорбиновой кислоты. Эфиры токоферолов менее чувствительны к кислороду, однако из эфиров биологически активны только ацетилаты и бензоаты, метиловые и диметиловые эфиры не активны.

Чистый токоферол не удалось получить в кристаллическом состоянии. Однако его производные, например α -токоферил-аллофанат и β -токоферил-аллофанат состава $C_{31}H_{52}O_4N_2$, отлично кристаллизуются в виде бесцветных длинных пластинчатых кристаллов без вкуса и запаха, плавящихся при 143,5—144,5°.

При окислении α -токоферола в ледяной уксусной кислоте хромовой кислотой образуется лактон, предполагаемый состав которого $C_{21}H_{40}O_2$.

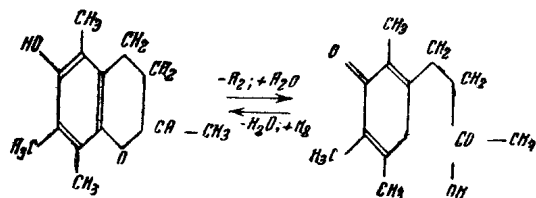
Витамин E, окисляясь, восстанавливает эфирные растворы хлори-

¹ Нагревание масляного раствора витамина E в течение 1 часа до 150° разрушает 50% витамина.

² Из продуктов галонирования витамин может быть регенерирован в исходное состояние при помощи цинковой пыли и газообразного хлористого водорода в кипящем метаноле.

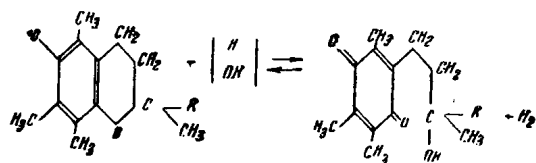
Стого золота. При окислении 1 молекулы α -токоферола потребляется 2 молекулы AuCl_3 .

Под влиянием O_2 , равно и воздействием AuCl_3 и FeCl_3 , в качестве промежуточного продукта образуется некоторое соединение, которое может быть восстановлено до исходного вещества. Дальнейшее окисление промежуточного продукта в хинон представляет, повидимому, необратимый процесс:



При окислении α -токоферола азотной кислотой образуются окрашенные продукты. Процесс первоначально протекает так, как изложено выше, но окисление азотной кислотой приводит к образованию из токоферил-хинона нового вещества, обладающего интенсивной красной окраской. Это вещество было исследовано и для него была установлена формула $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_5$; вещество плавилось при 140° . При каталитическом гидрировании в присутствии губчатой платины его удалось восстановить до гидрохинона¹.

При восстановлении хиноидного продукта окисления 2,5,7,8-тетраметил-6-оксихромана цинковой пылью в уксусной кислоте не образуется соответствующее производное хинона, как следовало бы ожидать, а получается исходный 2,5,7,8-тетраметил-6-оксихроман, что указывает на существование здесь окислительно-восстановительной системы по следующему типу:



Подобная система с несомненностью указывает, что это соединение в живой клетке является активным переносчиком водорода.

α - и β -токоферол образуют соединения, построенные по типу эфиров: моно- и диметилловые эфиры, ацетилат и бензоат (бензоили-

¹ α -токохинон получался окислением α -токоферола метаноловым раствором FeCl_3 при $20-25^\circ$. Реакционная смесь разбавлялась водой, экстрагировалась эфиром, хинон очищался молекулярной перегонкой при 120° .

Продукты окисления α -токоферола AgCl , FeCl_3 , AgNO_3 и HNO_3 биологическим действием не обладают.

рованием хлористым бензоилом в эфире); с пропионовой, масляной, каприловой, стеариновой и капроновой кислотами дают соответствующие кристаллические производные, в виде которых, по некоторым данным, токоферол более устойчив при хранении (в кристаллическом состоянии). 1 г синтетического *dl*- α -токоферолацетата соответствует 1000 и. ед. витамина Е.

Получены и исследованы различные гомологи и производные токоферола: 5,7-диметил-8-этилтокол, *dl*-7,8-диметил-токоаллофанат, *dl*-5,7-диэтилтокол, нафтотокоферол, полученный путем восстановления витамина K_3 , α -токоферамин, полученный конденсацией 2,3,5-триметил-4-формиламинофенола с фитолом, распадающийся в организме до α -токоферола, и др. Эти соединения уступают в своей активности α -токоферолу.

В качестве препаратов, пригодных для клинического использования, предложены: кальциевая соль α -токоферолсукцината, отлично растворимая в спирте ($\text{CaC}_{80}\text{H}_{106}\text{O}_{10}$) и динатриевофосфорный эфир α -токоферола, дающий стойкие водные растворы.

Витамин Е даже в больших дозах (превышающих 50 мг на 1 кг веса тела) не токсичен; могут оказаться токсичными продукты его окисления, однако явлений Е-гипервитаминоза ни у человека, ни у животных наблюдать не удавалось.

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящее время витамин Е определяют физико-химическими методами (потенциометрическое титрование с хлорным золотом) и химическими, основанными на цветных реакциях α -токоферола с некоторыми реактивами.

При разработке способа потенциометрического титрования витамина хлорным золотом (5) было обнаружено, что каротин также вступает в реакцию с AuCl_3 и таким образом мешает определению; рекомендуется для устранения влияния каротина часть исследуемого раствора ацетилировать.

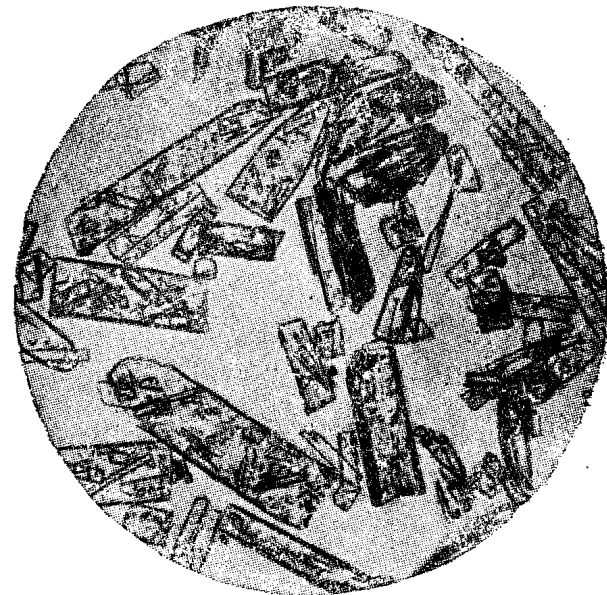


Рис. 23. Кристаллы α -токоферилаллофаната

Большее практическое значение имеет способ, предложенный Эммери и Энгель (6). Авторы нашли, что под влиянием $FeCl_3$ токоферол окисляется, а $FeCl_3$ восстанавливается до $FeCl_2$. Последнее с α, α -дипиридилем дает комплексный ион красного цвета, интенсивность которого легко колориметрировать. При этом 1 молекула α -токоферола восстанавливает 2 молекулы $FeCl_3$.

Метод Эммери и Энгель

5 г исследуемого масла омыляют 5 мин. в токе азота на водяной бане с 10 мл 2 N KOH в метаноле; смесь растворяют в 15 мл метанола и 40 мл воды и трижды экстрагируют для извлечения неомыляемой фракции серным эфиром. Эфир промывают водой, высушивают безводным $CaCl_2$, упаривают в вакууме под CO_2 , остаток растворяют в абс. этаноле. К раствору в таком объеме, чтобы в анализ поступило 0,1—0,5 мг токоферола, добавляют 1 мл 0,2%-ного $FeCl_3$ в этиловом спирте, смешивают с мл 0,5 %-ного α, α -дипиридила, также в этиловом спирте, приводят к объему 25 мл и определяют окраску в штупенфотометре или колориметрируют с стандартным образцом¹.

Фуртер и Майер (7) нашли, что присутствующие каротиноиды мешают определению, и предложили более простой метод, основанный на измерении красной окраски раствора, образующейся при окислении α -токоферола азотной кислотой. На описании этого метода мы остановимся более подробно, поскольку он наиболее удобен для аналитических целей².

Метод Фуртера и Майер

(в модификации Хаустога)

В колбочку Эрленмейера на 25 мл отвешивают не более 0,5 г испытуемого масла и прибавляют 5 мл абс. этилового спирта. Смесь нагревают в течение 5 мин. при энергичном взбалтывании; к содержимому добавляют из микробюретки 1 мл конц. HNO_3 (уд. вес 1,4 = 65,3%), колбочку закрывают пробкой с обратным воздушным холодильником и кипятят на водяной бане точно 3 мин. с момента закипания раствора при постоянном взбалтывании. При наличии витамина E жидкость окрашивается в красный цвет, причем часть красящего вещества находится в алкогольном растворе (около 70%), часть—остается в масле (около 30%).

¹ При анализе крови поступают следующим образом: к 10 мл кровяной плазмы добавляют 5 мл 0,2 N KOH, 15 мл 37%-ного формальдегида и 15 мл этилового спирта; после извлечения эфиром поступают как указано выше.

Позднее в этот метод были внесены изменения, вкратце сводящиеся к следующему: к 2 мл петролейно-эфирной вытяжки витамина добавляют 10 мл реактива, состоящего из 250 мг $FeCl_3$ и 500 мг α, α -дипиридила в 1 л ледяной CH_3COOH . Образующуюся окраску измеряют в штупенфотометре или колориметре.

² Подробное описание метода установки штупенфотометра и др. см. в соответствующей литературе (4, 7, 8).

После 3-минутного кипячения колбочку охлаждают в течение 15 мин. во льду или ледяной смеси до загустевания масла. Охлажденную жидкость отфильтровывают через беззольный фильтр (диам. 2—3 см) в мерную коническую пробирку на 6 мл; фильтр с осадком застывшего масла переносят обратно в колбочку, заливают 3 мл чистого ацетона и осторожным взбалтыванием добиваются растворения осадка и остатков масла на стенках колбы. Всю жидкость отфильтровывают через беззольный фильтр во вторую пробирку на 6 мл. Колбочку трижды ополаскивают порциями по 1 мл ацетона и жидкость каждый раз сливают через тот же фильтр. Последняя порция ацетона обычно бывает бесцветной.

Объем жидкости в обеих пробирках доводят до 6 мл. Для этого в 1-ю пробирку добавляют абс этиловый спирт, во 2-ю—требуемое количество ацетона. Затем каждый раствор в отдельности фотометрируют в фотометре Пульфриха с включением фильтра S-47. В качестве контроля при фотометрировании первого раствора в одну кюветку наливают смесь 15 мл спирта и 1 мл HNO_3 , в другую—ацетон. Сумма экстинкций «E» при определении окраски первого и второго раствора дает, по соответствующей таблице, процентное содержание токоферола в 1 мл раствора. Умножая эту величину на 6, получаем содержание токоферола в навеске, откуда можно вычислить процентное содержание витамина E в исследуемом продукте.

Таблица 37

Таблица перевода величины экстинкции (E) на содержание токоферола

E	Токоферол в мг на 1 мл	E	Токоферол в мг на 1 мл	E	Токоферол в мг на 1 мл	E	Токоферол в мг на 1 мл
0,100	0,048	0,450	0,215	0,800	0,385	1,150	0,554
0,150	0,072	0,500	0,240	0,850	0,408	1,200	0,577
0,200	0,095	0,550	0,265	0,900	0,443	1,250	0,600
0,250	0,120	0,600	0,228	0,950	0,457	1,300	0,625
0,300	0,143	0,650	0,314	1,000	0,480	1,350	0,650
0,350	0,167	0,700	0,336	1,050	0,505	1,400	0,674
0,400	0,192	0,750	0,362	1,100	0,529	1,500	0,720

Применяя схему омыления масел, содержащих витамин E, разработанную Девятниным и Иосиковой (2), и стандартный раствор, предложенный в лаборатории ВНИВИ Захаровой, можно пользоваться для оценки E-витаминной активности растительных масел следующим методом.

Метод Захаровой и Девятнина (11)

Навеску масла (3—5 г) омыляют в колбе с обратным холодильником 20 мл 10%-ного метанолового раствора KOH в течение 10—20 мин. на водяной бане при температуре кипения метанола,

мыло переносят в делительную воронку при помощи 4 объемов воды, смесь охлаждают и экстрагируют серным эфиром 4 раза (по 50 мл). Объединенные эфирные вытяжки тщательно промывают водой для удаления щелочи, сушат безводным Na_2SO_4 или CaCl_2 , эфир осторожно отгоняют на водяной бане в токе CO_2 до полного его удаления.

В колбу с остатком добавляют 5 мл этилового спирта (желательно абсолютного), нагревают на водяной бане до полного растворения остатка, прибавляют 1 мл конц. HNO_3 (уд. в. 1,4), колбу закрывают пробкой с воздушным холодильником, нагревают на водяной бане до кипения и кипятят ровно три минуты.

Окраску охлажденного и профильтрованного раствора сравнивают в колориметре Дюбоска со стандартом, приготовляемым следующим образом:

I раствор—20 мг бромтимолблау в 50 мл 96%-ного этанола,

II раствор—10 мг основного фуксина в 50 мл 96%-ного этанола,

III раствор получают смешением 50 мл I раствора с 2 мл II раствора. Этот раствор является стандартом: 1 мл его по окраске соответствует 0,12 мг α -токоферилхинона.

Расчет

Процентное содержание витамина E в масле вычисляют по формуле:

$$x = \frac{0,12 \cdot h_1 \cdot v}{a \cdot h_2 \cdot 10},$$

где: x —содержание витамина E в % в испытуемом масле,

0,12—концентрация стандарта,

h_1 —высота столба стандартного раствора,

h_2 — » столба испытуемого раствора,

a —навеска масла в г,

v —общий объем спиртового раствора после окисления токоферола.

Пользуясь изложенным методом, Захарова получала результаты, близко сходящиеся с данными определения при помощи фотоэлектроколориметра, ступенчатого штупенфотометра Пульфриха и метода Эммери и Энгель. В последнее время ею предложен простой метод определения витамина E в растительной ткани, заключающийся в обработке растительных экстрактов 85%-ной серной кислотой и хроматографической адсорбции, с последующим определением витамина E по указанному выше способу.

Методика биологического испытания витамина E проводится на крысах. Технику определения см. в соответствующей литературе (9).

РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПРИРОДЕ

Витамин E широко распространен в растительном мире: много его в семенах и листьях; но наибольшее количество витамина E содержат зародыши пшеницы, откуда обычно его и добывают; затем следуют зародыши ржи, риса, хлопка, бобы какао, листья кочанного

салата, латук, люцерна, клевер и т. д.¹ Содержание витамина находится в известной корреляции с наличием в растении хлорофилла и каротиноидов; ни в одном продукте, лишенном естественной окраски, витамина E не обнаружено; так, зеленая масса растений содержит больше витамина E, чем другие его части; неокрашенный свиной жир не содержит ни каротиноидов, ни токоферола; подкожный жир вола содержит оба вещества; растения этиолированные, обедненные хлорофиллом, содержат очень мало или вовсе не содержат токоферола. Знаменательно, что в зародышах семян встречаются большие количества его, в то время как в зрелых семенах его очень мало. Повидимому, токоферол принимает участие в процессах ассимиляции, протекающих в растительном организме.

Наши данные о генезисе витамина E еще крайне скудны. Иванов считает, что витамин E синтезируется растением из фитола (часть молекулы хлорофилла) и триметилгидрохинона. Укажем, что метилированный гидрохинон (арбутин) очень широко распространен; так, в листьях груши его содержится до 1,4%, в листьях толкнянки—до 9%, в листьях бадана—до 11,3% (12).

Витамин E локализуется в хлоропластах, где содержание его доходит до 8%, и принимает участие в образовании пластид.

Витамин E находится в тканях и органах животных, в мышцах, в подкожной жировой ткани, в поджелудочной железе, плаценте, гипофизе, в значительно меньшем количестве—в печени, сердце, мозгу, селезенке и семенниках². Но образуется ли он в самом организме, или поступает в него извне с пищей, нам неизвестно. Повидимому, животные не синтезируют его, а должны получать из пищевых продуктов. За это говорят данные по поводу зависимости содержания токоферола в фекальных массах от его содержания в пище. Содержание витамина E в женском и коровьем молоке целиком и полностью связано с богатством этим витамином пищевого рациона.

¹ В последнее время в Витаминном институте Захаровой исследовано содержание витамина E в маслах, полученных из листьев некоторых растений. Приводим выдержку из этих данных (результаты выражены в % токоферола в масле):

масло из листьев крапивы	жгучей—0,53
»	» » глухой—0,40
»	» люцерны посевной—0,83
»	» осины —0,62
»	»пастушьей сумки —0,31
»	» тысячелетника —0,38
»	» желтых шиповника—0,30
»	» зеленых » —0,35

² В иенсеновской саркоме крыс встречается до 5 мг% α -токоферола. В теле черного таракана витамин E вовсе отсутствует (13).

В плазме крови человека содержится в среднем 0,67 мг % витамина E. Это количество повышается до 1,9 мг % при введении в пищу препаратов токоферола.

Содержание витамина Е в различных объектах

Наименование объектов	Процент α-токоферола
1. Растительные продукты	
Арахис	0,030
Горох	0,008
Дрожжи хлебные	0,006
Зародыши кукурузы	0,016
» пшеницы	0,030
Люцерна, сено	0,050
Салат кочанный свежий	0,013
» » сушеный	0,065
2. Масла	
а) Масло	
Масло зародышей кукурузы	0,230
» » пшеницы	до 0,530
» кокосовое	0,003
» льняное	0,023
» оливковое	0,008
» хлопковое	0,350
» шиповника	0,200
» буковых орешков	0,100
» соевое	до 0,250
» пальмовое	0,110
» бобов какао	0,010
» кунжута	0,102
б) Неомыляемая фракция масел	
Масло зародышей кукурузы	10,20
» » пшеницы	13,40
» кокосовое	0,55
» льняное	2,30
» оливковое	0,94
» салата	4,15
» сезамовое	0,64
3. Животные продукты	
Гипофиз крупного рогатого скота (передняя доля)	0,030
Желток куриного яйца	0,055
Мышцы крупного рогатого скота	0,006
» лошади	0,053
Печень лошади	0,003
Печень крупного рогатого скота	0,050
Плацента крупного рогатого скота	до 0,030
Селезенка крупного рогатого скота	0,005
Масло коровье	0,003
Молоко »	0,002

Печеночный жир трески, камбалы, осетра и др. рыб совершенно лишен витамина Е¹, из растительных жиров отличным источником витамина является масло шиповника, масло пшеничных зародышей, хлопковое и кукурузное масло и масло какао. Хорошим источником витамина, по данным Ободовской, является также кунжут.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Как показывают новейшие исследования, витамин Е участвует в окислительно-восстановительных процессах в организме, выполняя функции переносчика водорода.

В этой реакции восстановленный α-токоферол разлагает молекулу воды, окисляясь до хинона, и выделяет водород на окисленное вещество, участвуя таким образом в окислительно-восстановительных процессах, описанных Бахом (14)². (Витамин Е имеет также название «фактор обмена веществ в мышцах»).

В настоящее время появились чрезвычайно ценные данные о происхождении Е-авитаминоза. Ранее витамин Е считался прогормоном яичника и фактором, необходимым для поддержания функции передней доли гипофиза; кроме того, выдвигались гипотезы о связи витамина Е с синтезом в организме андростерона. Блестящими работами Кудряшова (15) эти взгляды были опровергнуты. В его опытах некоторые продукты распада жиров обладали самостоятельным токсическим действием на эмбрион, независимо от того, был или не был при этом у животного авитаминоз. Изучая различные продукты распада жиров, Кудряшов выделил кетон с формулой C₁₅H₃₁СО и молекулярным весом 450, который оказывал на самок и самцов действие, аналогичное Е-авитаминозу: смерть и резорбция эмбриона у самок крыс при однократной инъекции в дозе 10 мг и дегенерация семенников у самцов. Однако установлено, что бесплодие, возникающее на почве Е-авитаминоза, и бесплодие, вызванное токсическим действием продуктов окисления жира, не одинаковы.

Кудряшов делает вывод, что «гибель эмбриона и разрушение зародышевого эпителия семенников при Е-авитаминозе обусловлено появлением в организме токсических продуктов, возникающих в связи с нарушением в нем липоидного обмена. Витамин Е своим присутствием в организме подавляет этот процесс возникновения токсинов или сильно его замедляет».

Это согласуется с давно известными данными о том, что пища, обильная жиром, при неблагоприятных обстоятельствах способствует развитию Е-авитаминоза.

¹ Из жира мангопы выделен антиоксидант, предохраняющий витамин А от окисления. Это вещество при дальнейшем изучении оказалось α-токоферолом.

² Валединская особенно подчеркивает большую восстановительную способность α-токоферола (19).

Длительный недостаток витамина Е приводит не только к нарушению функций размножения, но и к дегенерации и физиологическим расстройствам поперечнополосатой мускулатуры¹.

Потребность у животных в витамине Е несомненно велика, но, повидимому, она в основном покрывается тем количеством его, которое находится в пище. Единого мнения по вопросу о потребности в витамине Е не имеется; одни авторы принимают за крысиную единицу 5 мг токоферола, другие 3 мг. (При мышечных дистрофиях обычно применяют дозы до 15 мг на 1 кг живого веса тела животного).

У человека Е-авитаминоз изучен еще недостаточно. Тем не менее Бакшт (16) и др. указывают, что в клинике привычных выкидышей и некоторых форм бесплодия применение концентратов витамина Е дает прекрасные результаты.

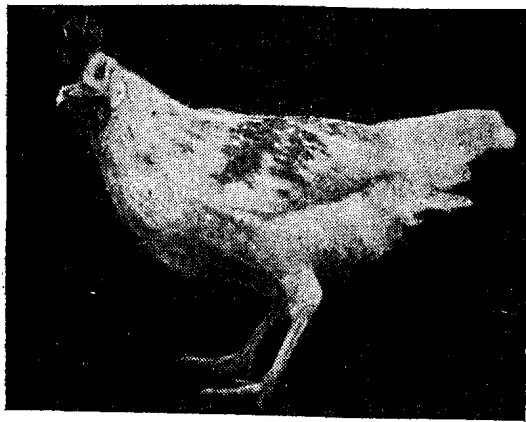


Рис. 24. Е-авитаминоз у кур. Петух, утративший внешние половые признаки.

Розенберг (17), правда без достаточных к тому оснований, рекомендует применять по 6 мг α -токоферола *pro die*. Давно отмечено благоприятное влияние масла пшеничных зародышей при местном применении его для заживления ран. Возможно, что в данном случае имеет место комбинированное действие токоферола, адермина и каротина, присутствующих в пшеничных зародышах².

Относительно стабилизирующего действия витамина Е на каротин имеются наблюдения, что α -токоферол образует с линолевой кислотой (одним из факторов комплексного витамина Е) устойчивые соединения, которые, в свою очередь, стабилизируют молекулу каротина³.

Чрезвычайно важным является большой успех, достигнутый

¹ При отсутствии витамина Е в пище у крыс развивается болезнь глаз—отечные явления в роговице и в отдельных случаях—коническое выпячивание роговицы.

² Многие авторы отмечают, что между витамином Е и А имеется синергизм действия: в присутствии витамина Е витамин А лучше усваивается организмом, его эпителизирующая способность оказывается более сильно выраженной. В свою очередь, витамин А усиливает специфические антистерильные свойства витамина Е. Наконец, последние данные ряда авторов показывают, что витамин Е является антиоксидантом витамина А и каротина. Исходя из этого в промышленности широко практикуется добавление концентратов витамина Е к препаратам витамина А и каротина, или растворение последних в хлопковом, кукурузном и других, богатых витамином Е, маслах.

многими авторами в лечении витамином Е мышечных дистрофий. Применяя внутримышечно синтетический α -токоферол в дозе 0,6—1,0 мг на 1 кг веса тела, добились исключительно ценных результатов как в терапии, так и в профилактике этого заболевания. Повидимому, обмен веществ в мышцах теснейшим образом связан с каталитическими функциями токоферола¹. Кроме того, было показано, что токоферол в данном случае функционирует в желудочно-кишечном тракте не как таковой, а будучи связан простой эфирной связью с молекулой инозита. Еще большее значение приобретает лечение витамином Е инфекционных или привычных выкидышей; обогащение пищи людей и животных, предрасположенных к этому заболеванию, концентратами витамина Е во всех случаях дает положительные результаты. Эдема крыс также излечивается подкожным введением 7,5 мг α -токоферола в рыбьем жире *pro die*. В связи с этим многие авторы, описывают витамин Е как фактор, предохраняющий от алиментарного экссудативного диатеза.

Чрезвычайно тяжелое заболевание крупного рогатого скота—бруцеллез—с неизменным успехом излечивается витамином Е.

Наконец, наблюдения последних лет говорят о благоприятном действии витамина Е на кровь: под влиянием применения препаратов витамина Е отмечается повышение гемоглобина и увеличение количества эритроцитов в крови. Лаптева-Попова сообщает, что применение витамина Е в дозах, превышающих лечебные, вызывает ускорение эритропоэза; в малых дозах—увеличение ретикулоцитов, эритроцитов и гемоглобина (18). Все это дает уверенность в том, что по мере изучения механизма действия витамина Е, несомненно, будет обнаружен ряд ценнейших его свойств, на сегодня еще неизвестных.

В заключение отметим, что по наблюдениям некоторых авторов витамин Е может быть также с успехом использован в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, артериосклероза, миокардита и эндокардита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Evans a. Bishop, J. Medic. Rev. 1, 319, 1922.
2. Девятнин и Иосикова, Инструкция по получению Е-витаминных препаратов, Союзвитаминыпром, 1939; Девятнин, Использование пшеничных зародышей как витаминного сырья, Пищевая пром-сть 9, 1944; Девятнин и Иосикова, Доклад на заседании ВХО им. Менделеева 18/VI 1941 г.

¹ При мышечных склерозах содержание витамина Е в сыворотке крови составляет 0,59—1,43 мг%.



Рис. 25. Мышечная дистрофия

3. Карьяла и Красногудова, Отчет ВНИВИ, 1940. Союз-витаминыпром.
4. Девятнин, Отчет ЦНТЛ за 1941, Союзвитаминыпром; Дзивульский, *ibid.*
5. Karger, Jegger u. Keller, *Helv. Chim. Acta* 22, 253, 1939.
6. Emmerie a. Engel, *Nature* 142, 3692, 1938; Emmerie et Engel, *Rec. trav. chim.* 58, 895, 1939.
7. Further u. Meyer, *Helv. chim. Acta* 22, 1, 1939.
8. Хаустов, Отчет ВНИВИ, 1940, Союзвитаминыпром.
9. Методики исследования витаминов С, D, А, Е, В, принятые на Всес. конференц. по витаминам, Снабтехиздат, 1934.
10. Кудряшов, Ученые записки МГУ, 32, 1940.
11. Захарова и Девятнин, Доклад на 3 Всесоюзной конференции по витаминам. Тезисы. Изд. АН СССР, 1944.
12. Иванов, *Бот. ж. СССР* 4—5, 289, 1940.
13. Кудряшов и Петровская, *Бюлл. exper. биол. и мед.* IV, 6, 1937.
14. Бах, Избранные труды, Госиздат, 1937.
15. Кудряшов, *Тр. по динам. развития*, VI, 1931; X, 1935; *Бюлл. exper. биол. и мед.* 1, 6, 1936; II, 1937; Кудряшов и Краевская, *Акуш. и гинекол.* 2, 1937; Кудряшов, *Успехи соврем. биол.* 6, 2, 1937.
16. Бакшт, *Тр. Всес. конференции по витаминам*, изд. АН СССР, 1940; Шуб, *Витамины при беременности и лактации*, Лгр, 1940.
17. Roseberg, *Chemistry and physiology of vitamins*, New York, 1942.
18. Лаптева-Попова, *Фарм. и фарм.* 6, 1, 1943.
19. Валединская, *Фарм. и фарм.* 6, 1; 43, 1943.

ГЛАВА X

ВИТАМИН Н (БИОТИН)

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ

Еще в 1927 г. было отмечено, что себорейные поражения кожи у крыс, находившихся на диете из сухого яичного белка, крахмала, оливкового масла, минеральных смесей и некоторых витаминов, имеющие алиментарный характер, излечиваются экстрактами из печени или дрожжей. Тогда же было высказано предположение о наличии в печеночных экстрактах фактора, предохраняющего крыс от себореи.

Одновременно было найдено, что благоприятным моментом для возникновения этого заболевания является рацион, богатый белками, особенно яичным белком. При введении же в рацион нового фактора даже обильная белковая диета не оказывала отрицательного влияния на организм. В связи с этим новый фактор был описан как антисеборейный витамин, предохраняющий от белковой интоксикации и получил обозначение фактор X или витамин Н.

В это же время, независимо от описанных исследований ученые работали над изучением веществ, обуславливающих рост дрожжей и некоторых высших растений. Дело в том, что еще в 1901 г. Вилльде обнаружил, что неизвестные вещества оказывают стимулирующее действие на рост растительной клетки. Эти вещества в ничтожных количествах находились в протоплазме; они представляли собой таинственное явление и упорно не поддавались изучению. Суммарно эти вещества были названы «биосом» — стимулятором жизни. В 1904 г. русский микробиолог Никитинский (1), на основании длительных наблюдений, пришел к выводу, что в дрожжах содержится неизвестное вещество, необходимое для роста и развития микробов. Это открытие, положившее, по существу говоря, начало всей проблеме биоса в целом, в свое время было несправедливо забыто. Об этом мы не находим даже упоминания в более поздних исследованиях иностранных авторов. Позднее было установлено, что биос является сложным органическим комплексом. В 1924 г. выяснилось, что он состоит по крайней мере из двух компонентов, между собой взаимно не связанных: биоса I и биоса II, различающихся по химическому составу, при этом биос I оказался инозитолом.

В 1933 г. биос II был разделен на два компонента, из которых один впоследствии был определен как β-индолилуксусная кислота.

Работы Кёгля (2) по изучению биоса показали следующие результаты: из 275 кг сухого яичного белка было выделено 1,1 мг химически чистого кристаллического вещества, которое оказалось недостающим компонентом биоса II. Это вещество в разведении 1 : 25 000 000 оказывало поразительное действие на рост дрожжей, в то время как в отсутствии его дрожжевые клетки не развивались. Таким образом, была почти до конца расшифрована таинственная природа биоса Вилльды (инозитол + β-индолилуксусная кислота + биос Кёгля).

Выделенное вещество Кёгль назвал биотином.

В 1940 г. исследователи, проверяя биотин на крысах, убедились, что это вещество идентично фактору X или витамину H. Таким сложным путем было установлено, что биотин, один из компонентов биоса, гормона роста растений, является в то же время витамином H, участвующим в использовании животным организмом поступающих с пищей белков, предохраняющим животных от себорреи и других проявлений H-авитаминоза.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПРЕПАРАТЫ БИОТИНА

Биотин растворяется в воде и алкоголе, не растворим в хлороформе, серном и петролейном эфире. При 20° 1 часть биотина растворяется в 100 частях метанола. Устойчив к нагреванию и действию кислот и щелочей; двухчасовое автоклавирование биотина в 0,01 N NaOH при 120° практически не изменяет его свойств. Биотин адсорбируется норитом (но не фуллеровой землей), легко диализируется через полупроницаемые мембраны. Изoeлектрическая точка лежит в пределах pH 3—3,5. Окисление биотина перманганатом калия, перекисью водорода и кислородом не изменяет его свойств. Биотин не осаждается хинином, флавиановой и руфиановой кислотами, солью Рейнеке, бариевыми солями, уксуснокислыми свинцом и ртутью; в щелочной среде осаждается сулемой. С хлористым золотом в концентрированной соляной кислоте на холоду дает нерастворимый в воде осадок хлораурата; такой же осадок биотин дает с платинохлористоводородной кислотой. Из хлораурата биотин может быть выделен после разложения серной кислотой и обработки раствора фосфорновольфрамовой кислотой. Бензоилирование и обработка формальдегидом и азотной кислотой разрушают биотин; брома биотин не присоединяет, что указывает на отсутствие в его молекуле двойных связей. С диазометаном биотин дает монометиловый эфир¹; это указывает на его кислотные свойства.

¹ Монометиловый эфир идентичен витамину H, выделенному из печени.

Чистый биотин образует бесцветные игольчатые кристаллы с темп. плавл. 230—232° (с разложением). Метилловый эфир кристаллизуется в виде пластинок с темп. плавл. 166—167°. Оптически активен. Вращение плоскости поляризации $(\alpha)_{D}^{22} = +92^\circ$ в 0,1 N раствора NaOH.

Биотин является монокарбоновой кислотой состава C₁₀H₁₆O₃N₂S. Биотин—амфолит с кислотными свойствами: наличие карбо-

кисильной группы характеризует его способность давать эфиры, присутствие основной группы препятствует извлечению органическими растворителями в кислой среде. Обработка биотина едким барием при 140° дает диамино-карбоновую кислоту; так как биотин не содержит двойных связей, он может быть представлен лишь в виде бициклической кольцевой системы. При окислении молекулы монокарбоновой кислоты азотной кислотой или щелочным раствором перманганата образуется адипиновая кислота:

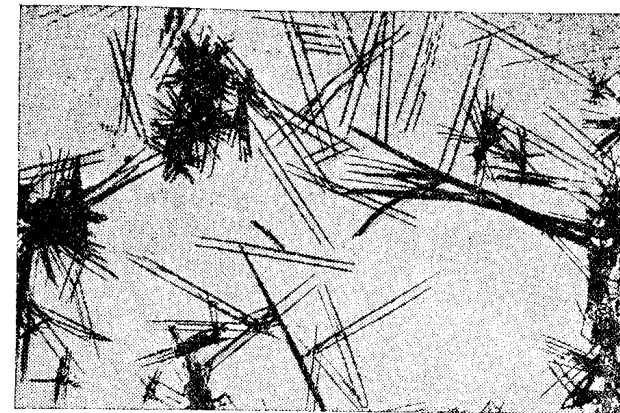
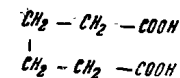


Рис. 26. Кристаллы витамина H. Метилловый эфир биотина



В естественных продуктах биотин находится главным образом в связанном состоянии. Водные и спиртовые растворы печени, дрожжей и др. продуктов, богатых этим витамином, совершенно не активны; гидролиз 0,2N HCl приводит к появлению в этих экстрактах витамина. При автолизе дрожжей под толуолом (но не под хлороформом, так как последний тормозит этот процесс) в течение 100—200 час. при 37° витамин почти полностью переходит в раствор. Еще лучшие результаты дает применение папайнового гидролиза. В продуктах гидролиза обнаруживается протеин. Следовательно, биотин является симплексом белка, который получил название авидина, с монокарбоновой кислотой. Свои H-витаминные свойства биотин проявляет лишь после удаления белкового компонента.

Способы выделения биотина из естественных продуктов разработаны детально, однако они имеют более научный, чем практи-

ческий интерес. Промышленное получение препаратов биотина сводится к получению гидролизированных или автолизированных печеночных и дрожжевых экстрактов с последующей их очисткой от белков и упариванием до состояния концентрата.

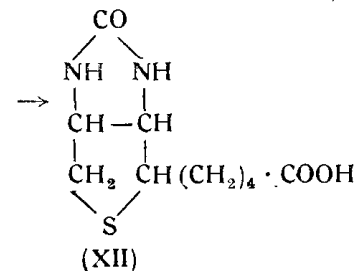
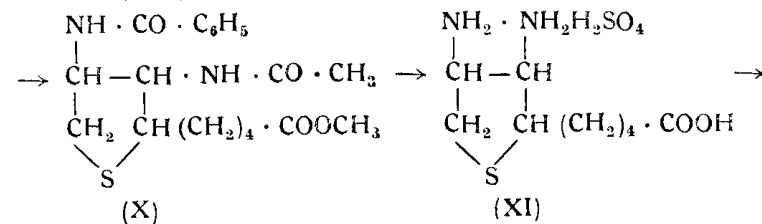
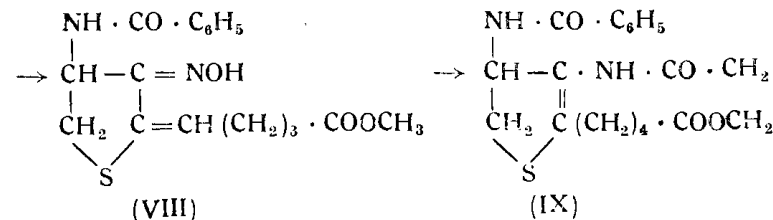
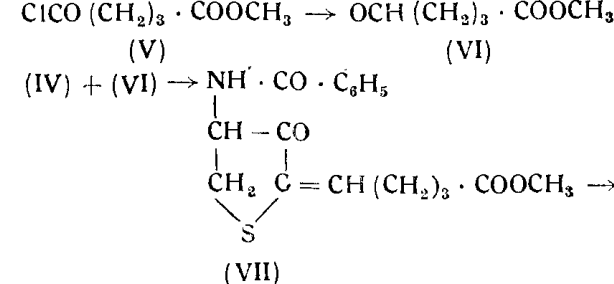
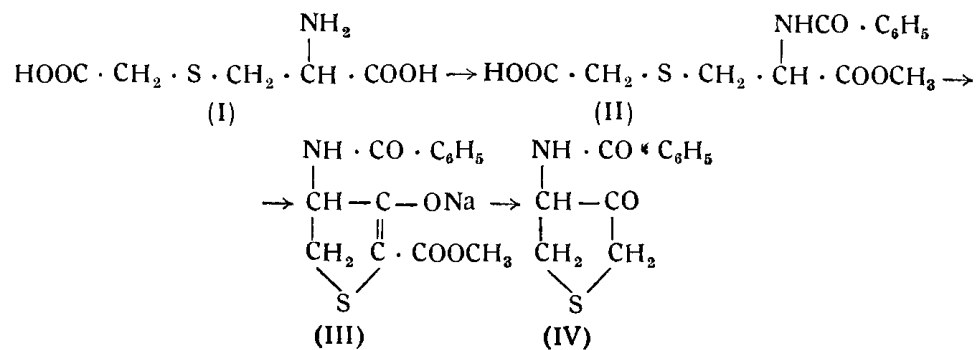
1 г метилового эфира биотина соответствует 27 000 000 крысиных, или 25 000 000 000 «дрожжевых» единиц.

Харрис, Вуль и Мосинго (6) осуществили синтез биотина следующим образом.

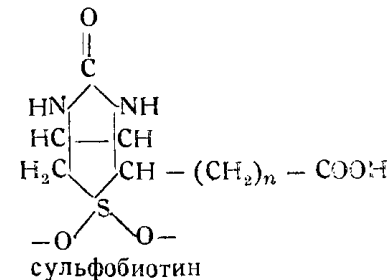
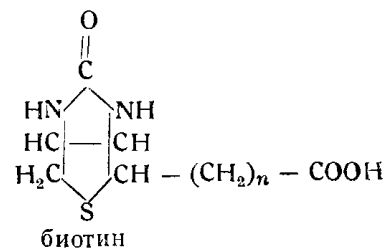
Цистин восстанавливался в аммиаке и конденсировался с хлоруксусной кислотой. Полученный β-аланин (I) бензоилировался и этерифицировался в N-бензоил-(карбоксиметил-меркапто)-аланин (II). Это вещество превращалось в диметилловый эфир и обрабатывалось метоксилом натрия. Получалась натриевая соль метилового эфира 4-бензамидо-3-кетотетрагидро-2-тиофен-карбоновой кислоты (III). В процессе реакции происходит рацемизация. Натриевая соль гидролизуется и декарбоксилируется в водном растворе уксусной и соляной кислотами, образуя 4-бензамидо-3-кетотетрагидро-тиофен (IV).

Валериановая кислота боковой цепи вводится при помощи альдегида, полученного из глутаровой кислоты. Кислота переводится в глутаровый ангидрид, в монометилловый эфир, в карбоксиметоксибутирил-хлорид (V) и, последовательно, в метил-γ-формилбутират (восстановлением, по Розенмунду).

Эстеральдегид (VI) конденсируется с кетоном (IV), образуя метилловый эфир 4-бензамидо-3-кето-Δ-тетрагидро-2-тиофенвалериановой кислоты (VII). Ненасыщенное соединение (VII), реагируя с гидроксиламином в пиридине, образует соединение (VIII), которое восстанавливается в уксусной кислоте цинковой пылью (IX). Это соединение гидрогенизировалось и при дробной кристаллизации получались два рацемата (X), которые после гидролиза образовывали диаминокислоты (XI). Обработка этих соединений фосгеном давала два рацемата гексагидро-2-оксо-1-тио-имидазол-4-валериановой кислоты (XII), названных: *dl*-биотином с темп. плав. 232° и *dl*-аллобиотином с темп. плав. 194—196°; *dl*-биотин получался из диамидоэфира (X), плавящегося при 153—154°. Эфиры *dl*-биотина с *l*-миндальной кислотой при расщеплении давали биотин



В последнее время синтезировано много аналогов биотина; однако в микробиологических опытах было показано, что активность *dl*-оксибиотина значительно снижена: для *Lactobacillus arabinosus* она составляет 50%, для *L. casei*—40%; для *Saccharomyces cerevisiae* 25% и для *Rhizobium*—только 15% ростовой активности биотина.



	Темп. плавл.
n=4-биотин	—
n=3-нор-биотин	230—233°
n=5-гомобиотин	220—221°
n=6-bis-гомобиотин	201—203°
n=7-tris-гомобиотин	216°
сульфо-гомобиотин	260—261°
сульфо-bis-гомобиотин	243—245°
сульфо-tris-гомобиотин	244—246°

В настоящее время выпускается препарат биотин в ампулах, в виде коричневого прозрачного концентрата с содержанием до 5000 крысиных единиц в ампуле. Кроме того, имеет распространение кристаллический препарат биотина, являющийся его метиловым эфиром. Выпускается в виде растворов в ампулах для парентерального применения.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Определение витамина Н производится биологическим путем на белых крысах, на цыплятах или при помощи ростового метода на микроорганизмах. В качестве микробиологического метода наибольшее распространение получил метод Портера и Пелькцар в модификации Петерсона (3). Он основан на том, что бактерии *Clostridium butylicum* развиваются в аэробных условиях только в присутствии биотина, причем развитие их пропорционально наличию в питательной смеси биотина. Микроорганизмы выращивают на среде следующего состава: 2% глюкозы + 0,1% аспарагина + 0,11% солей (K_2HPO_4 и $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ —10г, KH_2PO_4 —10 г; $NaCl$ —0,2 г; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ —0,2 г; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ —0,2г), с добавлением всех необходимых для роста микроба кристаллических витаминов, за исключением испытуемого биотина.

Вытяжку испытуемого материала для анализа получают путем кислотного гидролиза навески вещества с 2 N HCl в течение 2 часов с последующим фильтрованием гидролизата. Подробное описание метода см. в соответствующей литературе.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПРИРОДЕ

Витамин Н в свободном и связанном состоянии содержится в разных количествах во всех животных и растительных продуктах. Много витамина Н содержат печень, почки, куриные яйца (желток), а также дрожжи и оболочки зерна. В молоке его очень мало. В корнях и подземных органах растений витамина Н больше, чем в надземных органах. Растение через корневые волоски выделяет биотин в почву; особенно большие количества биотина выделяют бобовые растения.

Ракитин, на основании своих интересно построенных наблюдений, приходит к заключению, что высвобождение биоса в свободное

состояние в растительных тканях находится в тесной связи с процессами автолиза. Чем последний продолжительнее, тем больше биоса переходит в свободное состояние. Из листовых пластинок свободный биос перетекает в листовые черешки, вызывая усиленное деление клеток, из которых возникают отделяющие черешок листа от стебля слои. Этот процесс особенно интенсивно протекает осенью, чем и объясняется, по мысли Ракитина, явление листопада (4).

Ниже приведена таблица содержания витамина Н в различных продуктах, составленная нами на основании литературных указаний (табл. 39).

Таблица 39
Содержание биотина в разных объектах
(в γ на 1 г сухого вещества)

Наименование объектов	Содержание биотина		Наименование объектов	Содержание биотина	
	свободный	общий		свободный	общий
1. Растительные продукты			Яблоки	43	60
Апельсины	100	—	Vitab (концентрат из оболочек риса)	2000	—
Бананы	—	105	II. Животные продукты		
Бобы	30	64	Говядина тощая	20	130
Бобы в стручках	200	230	Крабы	12	48
Горох сырой	95	110	Молоко коровье	30—40	30—40
Дрожжи пивные	27	700	Печень свиньи	33	2000
Дрожжи хлебные	100	830	Почки быка	120	2500
Капуста	62	—	» свиньи	100	4000
Картофель	17	17	Сердце быка	0	190
Кукуруза	77	80	Свинина тощая	35	60
Люцерна	260	280	Щитовидная железа быка	670	1230
Малина	590	—	Яйца куриные, белок	530	—
Морковь	400	—	Яйца куриные, желток	1000	—
Мука пшеничная	0	5	Кровь быка	0,7—0,9	—
Овес	83	240	III. Прочие вещества		
Орехи земляные	110	400	Моча коровы	17	0
Орехи лесные	140	280	» человека	3	—
Персики	400	400	Кал коровы (зимой)	500	500
Пшеница	22	67	» » (летом)	17000	—
Пшеничные отруби	83	140			
Рис цельный	170	270			
Рожь	23	57			
Свекла	35	—			
Соя	83	400			
»	200	830			
Томаты	1000	—			
Шпинат	450	480			

Печень, почки и дрожжи в основном используются для получения промышленных препаратов биотина.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Витамин Н, образуя симплекс с белковым носителем, является типичной моделью фермента; возможно, что на рост и развитие растений, а также многих микроорганизмов (*Clostridium*, *Rhizobium*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces* и др., которые не могут развиваться в отсутствие биотина), он оказывает свое воздействие путем ферментативного катализа. Однако не все микроорганизмы нуждаются в биотине; некоторые из них способны его синтезировать.

Витамин Н, поступая с пищей в желудочно-кишечный тракт, под влиянием пепсина и соляной кислоты подвергается гидролизу и в свободном виде всасывается стенками кишечника. При парэнтеральном введении биотин усваивается только на $\frac{1}{6}$ часть по сравнению с пероральным. Витамин Н откладывается главным образом в печени и почках. Новорожденные дети запаса витамина Н в своем организме не имеют: он накапливается у них впоследствии, при кормлении материнским молоком. Выделяется витамин Н с фекальными массами, но по преимуществу с мочей¹.

О физиологическом значении этого витамина нам известно еще очень немного. Витамин Н предохраняет крыс от себорреи; в отсутствие его наблюдается воспаление кожи вокруг рта, блефорит, симметричное облысение, десквамация кожи по всему телу или на отдельных его участках. Дополнительно возникают кератомалиция, пиодермическое изъязвление слизистых оболочек и пневмонии. Это заболевание у кур и цыплят до чрезвычайности напоминает В₆-авитаминоз, но дерматитоподобные явления при этом пиридоксинем не излечиваются. У крыс при Н-авитаминозе в мышцах находят большие количества креатина; это указывает на нарушение белкового обмена. Крысы-самки более чувствительны к недостатку витамина Н, чем крысы-самцы, и соответственно быстрее на него реагируют. Характерным проявлением Н-авитаминоза у крыс является выпадение волос вокруг глаз—«очки», этот симптом исчезает при введении в рацион крыс витамина Н. У цыплят характерный для Н-авитаминоза дерматит сопровождается геморрагическими явлениями.

Н-авитаминоз у человека очень мало изучен. Однако отмеченные выше кожные поражения—экземы, лишай, псориаз и развитие фурункулез — считаются характерными для авитаминоза (5). Дополнительно к этому наблюдаются дряблость и бледность кожи, появляются патологические изменения во внутренних органах, развиваются геморрагические явления; введение биотина или печеночных и дрожжевых экстрактов очень быстро приводит к полному излечению заболевания.

Многие авторы полагают, что биотин является фактором, способствующим усвоению организмом белков и жиров, поддерживающим

нормальный состав кожных покровов и их функций, а также веществом, участвующим в липоидном обмене. Во всяком случае, накопление жира и холестерина в печени находится в тесной связи с накоплением в ней биотина.

Ряд авторов высказывает предположение, что основным действующим началом лизоцима является комплекс биотина с авидином. Впрочем, это обстоятельство еще нуждается в проверке.

В биотине нуждаются все животные (крысы, цыплята, морские свинки, обезьяны, собаки), за исключением кошек, в желудочно-кишечном тракте которых биотин синтезируется микроорганизмами.

Предположительная потребность человека в биотине выражается в 150—300 γ на день. При этом наиболее рекомендуется пероральный способ его применения. Потребность цыплят составляет 2,5—10 γ , а крыс—около 1—3 γ биотина в день.

ЛИТЕРАТУРА

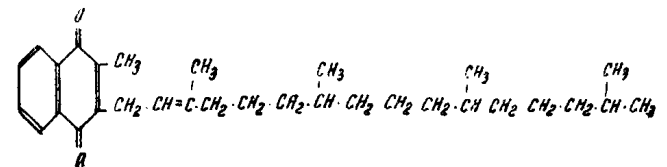
1. Никитинский J. Bot. 40; 1.1904.
2. K ö g l, Ber. chem. Ges. 68, 1935
3. Цит. Работнова, Усп. совр. биол. 23, 2; 305, 1947.
4. Ракитин. Бот. ж. СССР 31,2; II. 1946.
5. Матусис, Врач. дело 4, 12, 807, 1940.
6. Harris, Wolf, Mozingo. oth, Science. 97, 2524. 447, 1943.

¹ Значение навоза как удобрения заключается не только в снабжении почвы питательными веществами, но также и в доставке растению необходимых факторов роста.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИТАМИНА К И ДРУГИХ АНТИГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Как уже выше указывалось, витамин К₁, выделенный из люцерны и других растительных объектов, получил обозначение К₁; витамин, выделенный из животных объектов—К₂. До сих пор в растениях не обнаружено витамина К₂, в то время как витамин К₁, повидимому, встречается и в животных продуктах.

В и т а м и н К₁ является 2-метил-3-фитил-1,4-нафтохиноном следующего строения:



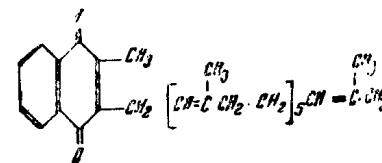
Он представляет желтоватое, густое масло, кристаллизующееся в виде мелких бесцветных пластинок при низкой температуре (-20°). В отсутствие кислорода воздуха слабо устойчив к действию щелочи, устойчив к температурам; при доступе кислорода быстро разрушается щелочами. При омылении на холоду теряет свою активность на 25—30%, при повышенных температурах разрушается полностью. Стабилен к кислотам. Нерастворим в воде; растворяется в ацетоне, бензоле, петролейном и серном эфирах, спирте, пентане, гексане. Не осаждается дигитонином. Ацетилированный продукт обладает антигеморрагической активностью. Оптически не активен. Адсорбционный спектр имеет 4 максимума в области 248, 261, 270 и 328 м μ . Дает характерную фиолетовую окраску с алкоголятом натрия. Отличается высокой светочувствительностью. Окислительно-восстановительный потенциал $E_m = +0,005$ вольт. Флуоресцирует в ультрафиолете белым цветом.

Ниже представлены данные о влиянии видимого света на антигеморрагическую активность витамина К₁. Через 15 дней хранения раствор показал активность (в %) от исходного:

на свету в бензине	90
» » » этиловом спирте	65
» » » ацетоне	85
в темноте, в бензине	100

Витамин К₁ перегоняется в глубоком вакууме без разложения при 160° . С уксусным ангидридом дает кристаллизующийся ацетат состава $C_{30}H_{52}O_2$; для динитробензоата установлена формула $C_{36}H_{50}O_8N_2$.

В и т а м и н К₂. Представляет 2-метил-3-фарнезил-1,4-нафтохинон следующего строения:



ГЛАВА XI

ВИТАМИН К

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ

У цыплят, особенно инкубаторных, нередко наблюдаются кровоизлияния в пищеварительном канале и в печени. Голяницкий (1) еще в 1933 г. у значительного числа цыплят на птицефабрике наблюдал нередко сопровождавшийся падежом геморрагический диатез, который не излечивался ни аскорбиновой кислотой, ни другими веществами. Исходя из того, что заболевшие цыплята быстро выздоравливали при добавлении к их корму люцерны или злаков, можно было объяснить геморрагический диатез цыплят отсутствием в их пище специфического фактора, находящегося в люцерне и злаках, который способствует поддержанию нормальной свертываемости крови. Дальнейшие работы в этом направлении подтвердили правильность этих выводов.

В 1937 г. из сушеной люцерны было выделено весьма активное, нерастворимое в воде вещество, которое в ничтожных дозах быстро излечивало геморрагический диатез у цыплят (2). Это вещество было названо витамином К (фактор коагуляции). Кристаллический продукт имел активность около 200 биологических (цыплячьих) единиц на 1 мг вещества.

Выделенные из разных естественных объектов разными авторами продукты не всегда являлись однородными, а представляли смесь кристаллов двух различных фракций, различавшихся не только по физико-химическим свойствам, но и по биологической активности. Так был получен из муки загнивших сардинок новый препарат, обладавший антигеморрагической активностью, но во многом отличный от препаратов, полученных из люцерны. Этот кристаллический продукт был назван витамином К₂.

Интенсивные работы по установлению природы, свойств и строения новых витаминов позволили осуществить их синтез. Витамины К₁ и К₂ были синтезированы рядом авторов, причем оказалось, что синтез их весьма прост и доступен. Схематически он сводится к тому, что 2-метил-1,4-нафтохинон конденсируется с бромистым фитолом.

Единственное затруднение представляет получение фитола, обычно путем омыления хлорофилла—операции, связанной с большими трудностями и дающей низкие выходы.

Кристаллизуется в виде длинных слабожелтых пластинок с темп. плавл. 53,5—54,5°. Витамин К₂ имеет много общих свойств с витамином К₁. Одна молекула витамина К₂ при каталитическом гидрировании поглощает 9 атомов водорода, присоединяет 6 молекул J; дигидровитамин К₂ имеет темп. плавл. 59,5—60,0°¹.

Витамины К₁ и К₂, а также другие метилнафтохиноны при нагревании с водой легко распадаются с образованием фталевой кислоты.

В поисках наиболее рациональных путей синтеза витамина К было обнаружено, что почти все известные нафтохиноны, вне зависимости от природы их алифатической цепи и радикалов, входящих в состав их молекулы в положении 3, в той или иной мере обладают антигеморрагической активностью. В некоторых случаях активность синтетических продуктов значительно превосходит активность естественного витамина К. Поэтому, а также вследствие доступности процесса многочисленные исследователи (4) работали над синтезом этих соединений.

Из синтезированных и изученных в настоящее время 90 различных соединений обладают антигеморрагической активностью не все, а лишь те из них, которые содержат в молекуле метильную группу в положении 2 и являются производными 1,4-нафтохинона. Степень активности некоторых из них видна из табл. 40.

Таблица 40
Антигеморрагические свойства некоторых хинонов

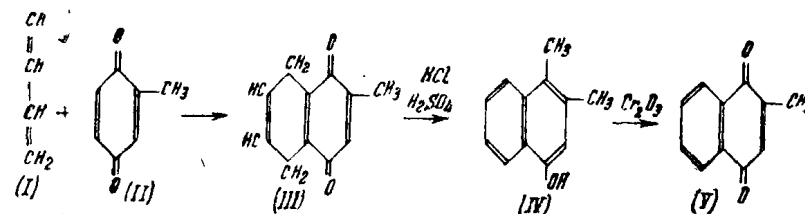
Наименование хинонов	Активность в биологических единицах на 1 г продукта
Витамин К ₁ (2-метил-3-фитил-1,4-нафтохинон)	12 000
» К ₂ (2-метил-3-фарнезил-1,4-нафтохинон)	8 000
2-метил-1,4-нафтохинон	25 000
2-метил-1,4-нафтогидрохинонацетат	14 000
Тетрагидро-1,4-нафтохинон	около 6 000
1,4-нафтохинон	1
Нафталиндиолиацетат	0,5
2-метил-1,4-нафталиндиол	1 000
Диацетат предыдущего	5
Фталевая кислота	слабая
2-этил-1,4-нафтохинон	0
2-бром-3-метилнафтохинон	0
2-этил-3-фитилнафтохинон	0
2,6-диметил-1,4-нафтохинон	0

В связи с тем, что активность 2-метил-1,4-нафтохинона в два раза превосходит активность естественного витамина К, к этому веществу в настоящее время проявляется исключительный интерес.

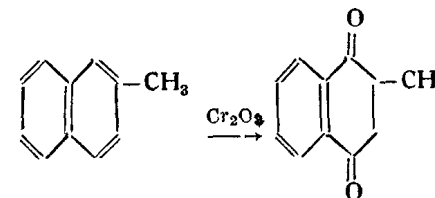
¹ Витамин К, выделенный Михлиным из стигмат маиса, по всем свойствам напоминает 2-метил-3-фитил-1,4-нафтохинон и, как указывает автор, генетически связан с хлорофиллом (3).

Считаем необходимым остановиться вкратце на синтезе этого соединения.

Исходным продуктом по схеме, разработанной в ВИЭМ (5), является толухинон (I), который конденсируется в бензольном растворе с бутадиеном (II) при 60° под давлением в течение 48 часов. После отгонки бензола получается кристаллический 2-метил-5,8-дегидро-1,4-нафтохинон (III), который изомеризуется под действием серной или соляной кислоты в 2-метил-1,4-гидрохинон (IV). Последний окисляется хромовым ангидридом в 2-метил-1,4-нафтохинон (V), дающий после перекристаллизации из метанола желтый кристаллический порошок «метинон» с темп. плавл. 106—107° (0,13 мг метинона растворяются в 1 мл воды при комнатной температуре)¹.



Можно вести синтез, применяя в качестве исходного сырья отход коксоугольной промышленности—β-метилнафталин. Этот продукт при помощи одной лишь операции—окисления хромовым ангидридом—превращается в 2-метил-1,4-нафтохинон:



Технология производства разработана в лаборатории Союзвитамипрома Иосиковой (6) и внедрена в практику заводов Союзвитамипрома.

Метинон по этому способу получают следующим образом: β-метилнафталин растворяют в 10-кратном (по весу) количестве 80%-ной уксусной кислоты. Отдельно растворяют четырехкратное по весу метилнафталина количество хромового ангидрида в двойном (по весу ангидрида) количестве 80%-ной уксусной кислоты. Раствор β-метилнафталина охлаждают до +5° и к нему при непрерывном перемешивании добавляют раствор окислителя. По окончании окисления раствор оставляют на холоду на 12 часов для полноты реакции, после чего разбавляют 4—5 объемами воды, а выделившийся продукт

¹ Скади и Бус (7) предложили следующую цветную реакцию на метинон: к 10 мл раствора метинона прибавляют 4 мл 25%-ного раствора цистеина и 1 мл N раствора NaOH; образуется желтая окраска. Эта реакция может служить и для количественных целей.

отфильтровывают и промывают на фильтре водой. Технический метинон перекристаллизовывают из спирта и высушивают при комнатной температуре.

Выход чистого метинона—30% от исходного β-метилнафталина. Темп. плавл. продукта 105—107°.

Большое значение имеют также водорастворимые аналоги витамина К₁. Из значительного числа таких соединений особого внимания заслуживают следующие¹:

2-метил-1-гидрокси-4-иминонафталингидрохлорид. Отличается высокой биологической активностью. Легко окисляется в организме в 2-метил-1,4-нафтохинон. Весьма легко растворим в воде, что дает возможность широко использовать в клиниках для инъекций. Менее токсичен, чем 2-метил-1,4-нафтохинон. Темп. плавл. 280—282°. В отсутствии света и воздуха стабилен к окислению. Синтез препарата осуществляется из α-нафтола.

2-метил-1,4-нафтохинонбисульфит, синтезированный в лаборатории Союзвитамипрома Шмуком и Гусевой (9).



Рис. 27. Кристаллы 2-метил-1,4-нафтохинона

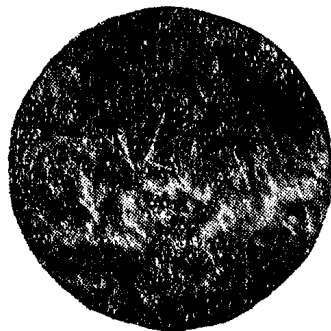


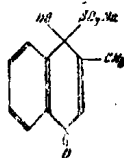
Рис. 28. Кристаллы водорастворимого производного нафтохинона

Активен в дозе 1 мг на крысу живого веса 100—120 г, практически не токсичен. Очень легко растворяется в воде. Синтезируется из 2-метил-1,4-нафтохинона путем обработки бисульфитом натрия².

¹ Некоторыми авторами (Палладин) эти соединения условно называются витамином К₈ (8).

Подробно о водорастворимых аналогах витамина К см. в литературе (4).

² Палладин (10) несколько иным путем пришел к получению того же продукта. Повидимому, этот продукт является сульфитным комплексом, строения:



Из препаратов витамина К, имеющих распространение, отметим следующие:

Метинон (2-метил-1,4-нафтохинон) в кристаллическом виде. Применяется *per os* в виде спиртовых или масляных растворов (15 мг вещества в 5 мл раствора). Выпускается Союзвитамипромом. Доза для человека 15 мг *pro die* в течение 2—3 дней.

Водорастворимый витамин К (2-метил-1,4-нафтохинонбисульфит). Называется также викасол и виказин. Выпускается Союзвитамипромом в виде таблеток и в кристаллическом виде для парентерального применения. Доза для человека 15 мг *pro die* в течение 2—3 дней или парентерально по 10 мг в стерильном растворе.

Менадион. 2-метил-1,4-нафтохинон, выпускается по нашему образцу в США в виде таблеток и пилюль. Использование, как показано для метинона.

Антигеморрагин. Водорастворимый аналог, выпускается в виде драже и пилюль; другие препараты его — виказин, гемафит, тромбоген и пр.

Тромбин—препарат, разработанный Кудряшевым (МГУ) для применения в госпиталях.

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Для определения витамина К и его аналогов, производных 2-метил-1,4-нафтохинона, предложено несколько методов. Из них мы остановимся на некоторых, представляющих наибольший практический интерес.

В последнее время во Всесоюзном витаминном институте разработаны способы определения жирорастворимых и водорастворимых препаратов метинона (11).

Для определения метинона в промышленных препаратах поступают следующим образом: навеску испытуемого препарата метинона (содержащую не более 150 мг вещества) помещают в эрленмейеровскую колбу с притертой пробкой, растворяют в небольшом количестве 95%-ного этилового спирта. Отдельно смешивают при охлаждении льдом 20 мл концентрированной HCl (уд. в. 1,19) с равным объемом 95%-ного этилового спирта. К хорошо охлажденной смеси добавляют 20 мл 10%-ного водного раствора KI, смесь немедленно приливают к испытуемому раствору метинона и выделившийся иод оттитровывают 0,1 N раствором гипосульфита натрия до обесцвечивания раствора.

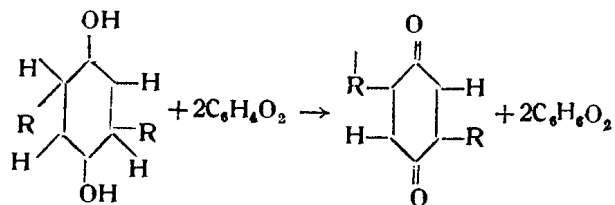
1 мл 0,1 N раствора гипосульфита натрия соответствует 8,6 мг C₁₁H₈O₂.

Для определения метинона в водорастворимых его производных навеску препарата (100—250 мг) растворяют в 20—30 мл воды, туда же осторожно добавляют 1%-ный водный раствор NaOH или KOH до полноты осаждения. Осадок отфильтровывают, промывают на фильтре водой и растворяют в 95%-ном этиловом спирте. Полученный раствор переводят в мерную колбу, фильтр промывают спиртом. Соединенные вытяжки доводят в мерной колбе до объема 50—100 мл спиртом. Из полученного раствора отбирают несколько проб в количестве 1—10 мл и содержащийся метинон оттитровывают, как выше указано.

Заслуживает также внимания метод, разработанный Мееровичем для определения витамина К в крови (12).

Отмеривают в делительную воронку 5—10 мл крови или плазмы, туда же приливают 10 мл петролейного эфира и взбалтывают в течение 5 минут. После разделения эмульсии водный слой удаляют, а из эфирного слоя отбирают 5 мл в пробирку, туда же добавляют 2 мл анилина и смешивают. Анилиновый слой в присутствии метинона быстро окрашивается. Аналогичным образом обрабатывают контрольную пробу, где в качестве стандарта применяется 0,25%-ный раствор метинона. Сравнение окрасок производится в колориметре.

Реакция хинонов с анилином может быть представлена следующим примером:



Кульберг и Иванова предложили следующий способ для определения малых количеств 2-метил-1,4-нафтохинона. К испытуемому нейтральному раствору метинона добавляют 1 мл 1%-ного спиртового раствора диэтилмалонового эфира и 0,2 мл 1%-ного водного раствора КОН. Общий объем жидкости доводят до 5 мл. Окраску полученного раствора сравнивают в колориметре с стандартом, составленным из 10%-ных растворов CuSO_4 и CoCl_2 в отношении 1:3,2 (13).

Биологическое определение витамина К проводится на цыплятах. Разработана весьма простая методика определения, которая довольно широко распространена наряду с химическими методами (10, 15).¹

РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПРИРОДЕ

Витамин К довольно широко распространен в растительном и животном мире. Особенно много его в листьях каштана, в люцерне, в сосновой хвое и в шпинате.

Вырабатывается ли витамин К в животном организме, или он синтезируется только растениями—еще не выяснено.²

Поскольку исходным материалом для синтеза хлорофилла, каротиноидов, витаминов К и Е является фитол, синтезируемый только растительной клеткой, следует полагать, что способностью к синтезу витамина К обладают лишь растения. В тканях и органах животных находят небольшое количество витамина, а у животных

¹ Там же см. метод определения протромбина в крови (Кудряшов и Улитина).

² В нормальных условиях в желудочно-кишечном тракте крыс может, по видимому, синтезироваться витамин К под влиянием кишечной микрофлоры, из дигидроксистеариновой кислоты.

с явлениями К-авитаминоза его вовсе не обнаруживают или обнаруживают только следы. Это говорит за то, что организм животного не имеет в своем распоряжении средств для синтеза этого витамина и должен получать его из растений.

Некоторые бактерии содержат витамин К в значительном количестве, другие бактерии, как, например, *Pseudomonas aeruginosa*, его вовсе не содержат.¹

Приводим сводку об антигеморрагической активности некоторых бактерий.

Таблица 41
Влияние бактерий на свертываемость крови

Наименование бактерий	Время свертываемости крови через 1 неделю опыта (в мин.)
Контроль (без витамина К)	больше 30,0
» экстракт люцерны	3,5
<i>B. mycooides</i>	3,1
<i>Sarzina lutea</i>	3,1
<i>Chromobacterium prodigiosum</i>	6,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,9
<i>Pseudomonas aerogenes</i>	3,0
<i>B. coli communae</i>	4,1
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	около 25,0

В следующей таблице приведены данные о содержании витамина К в различных продуктах; таблица составлена нами на основании литературных данных.

Таблица 42
Содержание витамина К в разных продуктах
(в γ на 1 г)

Наименование продуктов	Содержание витамина К	Наименование продуктов	Содержание витамина К
I. Растительные продукты		Морковь	20,0
		Свекла	0,5
		Томаты зеленые	10,0
		» красные	5,0
		Тыква	40,0
		Шиповник, плоды	4,0
		Шпинат	60,0
		Зерна и семена	
		Арахис, масло	10,0
		Горох	1,5
Земляника лесная	1,0		
Капуста белокочанная	20,0		
» краснокочанная	6,0		
» кудрявая	24,0		
» листовая	26,0		
» цветная	40,0		
Картофель	1,0		

¹ Следует отметить, что фтиокол был впервые выделен из туберкулезных палочек.

Таблица 42 (продолжение)

Наименование продукта	Содержание витамина К	Наименование продукта	Содержание витамина К
Конопляное семя	4,0	Люцерна	15,0-20,0
Кукуруза	0,5	Хвоя ели	12,0
Подсолнечное семя	1,0	» сосны	20,0
Пшеница	0,5	II. Животные продукты	
» зародыши	0,5	Кровь быка	0,26
» масло из них	следы	Мука гниющих сардинок	2,9
» струби	1,0	Печень нормального цыпленка	1,0
Рис пельный	0	Печень К-авитаминозного цыпленка	следы
Соя	2,5	Печень свиньи, высушенная	10,0
Ячмень	1,0	Печень собаки	6,0
Разные растения		Печеночный тресковый жир	1,0-2,0
Еогва гороха	7,0	Сало свиное топленое	0
» подсолнечника	2,0	Яйца куриные, целиком	следы
» тыквы	10,0		
Крапива	40,0		
Листья каштана зеленые	80,0		
» » желтые	60,0		
» » бурые	80,0		
Луговые травы разные	20,0		

ЗНАЧЕНИЕ ВИТАМИНА К ДЛЯ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

Витамин К синтезируется растениями и некоторыми микроорганизмами. Синтез его происходит путем конденсации фитола с метилнафтохиноном, присутствующим во всех растительных объектах. По мысли Иванова, в образовании витамина К в растении принимает участие сквален, содержащийся в оливковом масле в количестве 0,4—0,5%, в льняном, арахисовом и сезамовом—0,1%, в неомыляемой фракции из масла дрожжей—в количестве от 5 до 15% (14). Синтез витамина К осуществляется в зеленых листьях. В корнях и подземных частях растений витамина К не обнаружено (исключение составляет морковь и некоторые другие корнеплоды).

Накопление витамина К растением находится в прямой зависимости от солнечного освещения; растения, выращенные на солнечном свету, содержат больше витамина К, этиолированные растения практически его не содержат. В наружных листьях растений (например, капусты) больше витамина К, чем во внутренних. Накопление витамина К в растении находится в прямой зависимости от хлорофилла: в то время как при созревании томатов в них происходит накопление каротина и аскорбиновой кислоты, содержание витамина К уменьшается.

О значении витамина К для растения нам мало известно; однако его участие в окислительно-восстановительных процессах довольно хорошо изучено, и, на основании опубликованных работ, мы можем

сделать заключение, что витамин К обуславливает окисление сульфгидрильных групп SH в -S-S¹.

У животных в отсутствии витамина К наблюдается резкое понижение свертываемости крови, что приводит к кровоизлияниям под кожу, в полость органов и создает геморрагический синдром, отчасти напоминающий явления геморрагического диатеза при С-авитаминозе. Однако геморрагия, вызванная К-авитаминозом, аскорбиновой кислотой не излечивается.

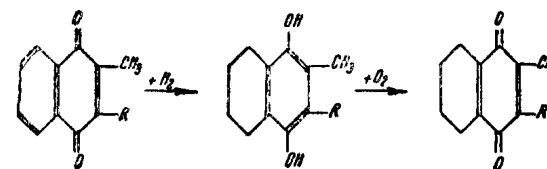
Препараты витамина К, введенные в кровь, повышают у больных содержание протромбина до 100% и более. Водорастворимые препараты витамина К вызывают быстрое повышение содержания протромбина, но оно не удерживается долгое время на высоком уровне; жирорастворимые препараты, наоборот, обуславливают медленное, но устойчивое повышение протромбина (15). Отсюда следует, что прежние представления о том, что витамин К является протромбином, ошибочны. Повидимому, витамин К способствует образованию некоторых ферментативных комплексов, которые и являются протромбином².

Синтез протромбина происходит в печени.

Меерович проследил за судьбой производных 2-метил-1,4-нафтохинона в организме: водорастворимые производные нафтохинона разлагаются в организме до свободного 2-метил-1,4-нафтохинона и выводятся с мочей из организма (12,16).

Шемакин с сотрудниками (18,19), изучая распад витамина К₃ в организме, всегда обнаруживал наличие фталевой кислоты. На основании этого автор приходит к заключению, что биологически активным веществом в организме является не молекула витамина К₃, а продукты ее распада—фталевая кислота.

¹ Реакция окисления-восстановления витамина К протекает следующим образом:



² В последнее время выделен тромбин. Изучение препарата показало, что он является альбумином ближе не выясненного строения (17).

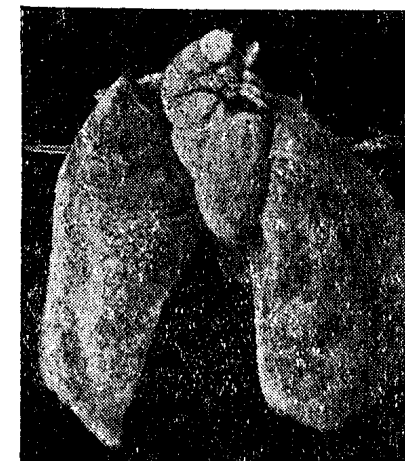


Рис. 29. К-авитаминоз. Кровоизлияние в легкие (цыпленок).

Дэм, испытывая на К-авитаминозных цыплятах фталат калия и диэтилфталат, не получил какого-либо положительного влияния этих веществ на повышение свертываемости крови. Дэм, на основании этого считает, что фталевая кислота не может рассматриваться, как продукт распада витамина К в организме, а тем менее может служить в качестве антигеморрагического фактора. Как видно, вопрос о природе действия витамина К нельзя еще считать решенным¹; работа в направлении изучения механизма его действия проводится как в СССР, так и за границей.

Многочисленные работы, проводимые за последние годы в клиниках показали исключительно ценные свойства витамина К и его различных препаратов в применении при геморрагических явлениях, желтухе, при пониженной свертываемости крови, что имеет особенное значение в хирургии, акушерстве и гинекологии и т. д. Здесь следует учитывать, что при пероральном применении препаратов необходимо наличие желчных кислот или их солей, в противном случае препараты не дают должного эффекта.

Большое количество работ по витамину К проведено Кудряшовым с сотр., Палладиным с сотр., Шемякиным и др. По данным Кудряшова (20), применение витамина К при обтурационной желтухе уже через сутки дает положительный эффект; такие же результаты отмечаются при инфекциях и циррозах печени. При саркоме матки, кровотечениях после операций, при подкожных кровоизлияниях в случае сепсиса и кровоизлияниях в матке витамин К оказывает гемостатическое действие не сразу, а по истечении некоторого времени.

По данным Палладина (см. выше), применение витамина К может иметь значение не только при кровоизлияниях, связанных с гипопротромбинемией, но и в качестве кровоостанавливающего средства при травматических кровотечениях. В практику клиник и госпиталей введено применение препаратов витамина К с профилактическими целями в предоперационный период (21)².

Потребность человека в витамине К не установлена. В разных случаях рекомендуется применение от 1 до 15 мг 2-метил-1, 4-нафтохинона. Беременные и кормящие женщины должны быть обеспечены витамином К, в целях предохранения ребенка от гиповитаминоза. Лепский рекомендует для беременных и кормящих женщин от 2 до 5 мг метинона pro die однократно, новорожденным детям также от 2 до 5 мг однократно с профилактической целью. Лепский указывает, что в этих случаях гипervитаминоза или токсического эффекта не наблюдается (22).

Недавно установлено, что салициловая кислота в больших

дозах вызывает гипопротромбинемия. Вещества, распадающиеся в организме, в конечном итоге, на салициловую кислоту, считаются противопоказанными к применению при гипопротромбинемии (кумарин и его производные, некоторые хроманы, производные салициловой кислоты и пр.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Голяницкий, Витамины. Союзвитаминыпром, 1936.
2. Dam a. Lewis, Biochem. J. 31, 1, 1937.
3. Михайлин, Сов. мед. 5—6; 6, 1943; Бабук, Сов. мед. 5—6; 8, 1943; Коган-Ясный, Сов. мед. 5—6; 9, 1943.
4. Цитир. Шмук, Природа 8, 1940; Ansbacher, Fernholtz a. Dolliver, Proc. Soc. exp. biol. a. med. 43, 652, 1940.
5. Вайдлих, Успехи химии 10, 7, 204, 1941.
6. Иосикова, Отчет ЦНТЛ Союзвитаминыпрома за 1941 г. Союзвитаминыпром; Деятинн, газ. «Коммунист», июль, 1941.
7. Scuderi. Buhs, J. Biol. Chem. 144, 3, 599, 1942.
8. «Известия» 25 апреля 1943, Витамин К.
9. Шмук и Гусева, Отчет ЦНТЛ Союзвитаминыпрома за 1942 г., 10. Палладин, Витамин К. Сборник, 1944. Бюлл. экпер. биол. и мед. 23, 4; 239, 1947; Сов. мед. 2—3; 1, 1943.
11. Захарова и Деятинн, Биохимия 9, 5, 1944.
12. Мартинсон и Меерович, Биохимия 10, 3, 258, 1945.
13. Кульберг и Иванова, Биохимия, 10, 5—6:483. 1945.
14. Иванов, Бот. ж. СССР 4—5, 281, 1940.
15. Кудряшов. Бюлл. экпер. биол. и мед. 2, 1941; Успехи соврем. биол. 3, 1941; Бюлл. экпер. биол. и мед. 6, 1941; Сов. здравоохр. Туркм. 1, 1942; Кудряшов и Улитина. Отчет ЦНТЛ Союзвитаминыпрома за 1942 г. Союзвитаминыпром.
16. Меерович, Биохимия 11,1, 45. 1946.
17. Astrup a. Darling, J. Biol. Chem. 133, 3, 1940.
18. Schemjakin, Schukina a. Shvezov, J. Appl. Chem. Soc. 65, 11, 2164, 1943.
19. Щукина, Швецов, Шемякин. ЖОХ 13, 4—5, 327, 1943.
20. Кудряшов, Улитина и Пугачева, Бюлл. экпер. биол. и мед. 9, 6, 510, 1941.
21. Иоффе-Голубчик, Сов. мед. 7—8—20, 1944.
22. Лепский, Сов. мед. 7, 21, 1942.
23. Паршин, Биохимия. 11,1;53,1946.

¹ Утверждение ряда авторов, что в основе биологического действия витамина К лежит молекула фталевой кислоты, повидимому, не отвечает действительности, так как, по данным Паршина, фталевая кислота выводится из организма количественно мочей (23).

² Применение препаратов витамина К при маточных кровотечениях почти всегда дает хорошие результаты, вне зависимости от этиологии заболевания.

ГЛАВА XII

МАЛО ИЗУЧЕННЫЕ ВИТАМИНЫ

Среди этой группы витаминов мы встречаем ряд веществ, строение, свойства и механизм физиологического действия которых еще не установлены. Некоторые из них при изучении оказались хорошо известными органическими веществами или смесью тех или иных соединений; существование же других не во всех случаях можно считать доказанным. Тем не менее, описываемые нами вещества являются обычными составными частями пищи, они катализируют те или иные реакции организма и могут быть отнесены к биокатализаторам, каковыми, по существу говоря, и являются витамины.

ВИТАМИН В₃

При назначении голубям, болеющим полиневритом, кристаллического аневрина, полиневритные симптомы у них исчезают, однако в весе голуби не прибавляют. Этого явления не наблюдалось при скормливания заболевшим голубям цельного сухого зерна. Исследователи пришли к выводу, что в зерне, а также и в других естественных объектах присутствует фактор, отличающийся от витаминов В₁ и В₂, необходимый голубю для нормального роста. Вскоре было установлено, что этот новый фактор не нужен крысам, вследствие чего он был назван «витамином роста голубя», или витамином В₃.

Нам неизвестны свойства этого витамина, за исключением того, что он растворим в воде и разбавленном алкоголе; неустойчив к щелочам и температуре (нагревание растворов витамина при 60° практически приводит к его разрушению).

Наибольшее количество витамина В₃ содержится в дрожжах и в зерне, значительно меньше его в различных органах животных (печень, почки, мышцы), картофель и молоко являются очень бедными источниками этого витамина, а в моркови, томатах и корнеплодах его крайне мало.

В настоящее время высказывается предположение, что витамин В₃ идентичен пантотеновой кислоте.

ВИТАМИН В₄

У мышей, крыс и цыплят, находящихся на диете, обеспеченной витаминами В₁, В₂ и В₃, наблюдаются характерные заболевания, сопровождающиеся атонией мышц, кровоизлияниями в конечностях,

наклонностью к искривлению позвоночника и параличами конечностей, спастической походкой, расстройством ориентации и т. п. При добавлении дрожжевого экстракта или концентратов из печени это заболевание исчезает. Отсюда было сделано заключение о существовании еще одного фактора, предохраняющего крыс и цыплят от параличей. Одновременно было установлено, что этот фактор, или витамин В₄, как его назвала Ридер, является термолабильным компонентом В-комплекса.

Этот витамин был выделен путем осаждения солями ртути из дрожжевого экстракта с последующей адсорбцией на активированном угле при рН 0,5—1. Из 100 кг дрожжей было получено около 50 мг кристаллов с темп. плавл. 128—130°. Для вещества была установлена брутто-формула С₄Н₅Н₄Сl. Одно время высказывалось предположение, что витамин В₄ является аденином, однако дальнейшие исследования этого не подтвердили. Витамин В₄ растворим в воде, термоустойчив, адсорбируется сорбитом при рН 0,5—1; при гидролизе соляной кислотой распадается на простейшие соединения, ближе невыясненного строения. Содержится в дрожжах, зародышах злаков, печени, почках животных.

Скармливание заболевшим цыплятам и крысам смеси аргинина и глицина приводит к полному выздоровлению животных; в связи с этим существует предположение, что витамин В₄ является не витамином, а глицидно-аргининовым комплексом.

ВИТАМИН В₅

Еще менее нам известно о витамине В₅. Установлено, что хотя витамин В₅ и способствует увеличению веса голубя, однако это увеличение не поддерживается на диете с витамином В₅. Отсюда пришли к заключению, что для поддержания достигнутого веса голубям требуется еще один фактор, находящийся в дрожжах, но, в отличие от предыдущих витаминов, устойчивый к автоклавированию, который и был назван витамином В₅.

Этот фактор термостабилен, устойчив к щелочам и кислотам, содержится в дрожжах, печени животных и других органах и тканях. В 1939 г. было показано, что никотиновая кислота способна поддерживать вес голубя; это обстоятельство, а также общность многих свойств витамина В₅ с никотиновой кислотой привели исследователей к мысли об идентичности витамина В₅ с никотиновой кислотой.

ВИТАМИН В₇

В полированном рисе было обнаружено неизвестное вещество, якобы необходимое голубям для нормальной деятельности желудочно-кишечного тракта. Это вещество получило название витамина В₇, или фактора J. Витамин В₇ плохо растворим в воде, хорошо—в этиловом и метиловом спиртах. О свойствах его известно крайне мало. Дальнейших работ, подтверждающих указанное сообщение, опубликовано не было, вследствие чего это открытие вызывает сомнение.

ВИТАМИН В₈

Было показано, что для нормального роста молочнокислых бактерий необходима адениловая кислота или продукт ее распада—аденин.

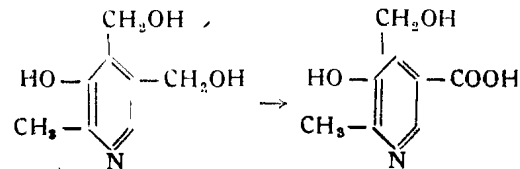
Адениловая кислота входит в состав коэнзима дегидрогеназы. Дополнительно к этому было показано, что адениловая кислота при внутривенном введении пеллагрикам усиливает действие никотиновой кислоты. Эйлер и Шленк предложили для адениловой кислоты весьма мало обоснованное название витамина В₈.

ВИТАМИН В₉

В печени животных присутствует фактор, предохраняющий цыплят от анемии, названный витамином В₉.¹ При В₉-авитаминозе у цыплят наблюдается задержка роста, уменьшение содержания эритроцитов и резкое падение гемоглобина в крови. Добавление к диете авитаминозных животных экстрактов печени, содержащих указанный витамин, быстро приводит к выздоровлению.

Когда настоящая книга уже была сдана в производство, появилось интересное сообщение о получении в кристаллическом состоянии витамина В₉ из дрожжей (1945 г.). В смысле своего антианемического действия препарат оказался идентичным препарату, ранее выделенному из печени. Витамин В₉ диализирует через целлофан, не осаждается в кислом растворе при нагревании и при насыщении раствора сульфатом аммония. Кристаллический продукт окрашен, растворим в воде, плавится при 250°. На основании анализа ряда препаратов высказывается мнение об идентичности витамина В₉ с фолиевой кислотой. Однако отмечено, что в молекулу витамина В₉ входит еще какое-то соединение, природа которого остается загадочной.

Дальнейшие сообщения также не внесли еще ясности в этот вопрос. Исследователи, испытывая на цыплятах 2-метил-3-гидрокси-4-гидроксиметил-5-карбоксихидропиридин, наблюдали точно такой же антианемический эффект, что и при введении препаратов витамина В₉. Удалось синтезировать указанное выше соединение, обрабатывая витамин В₉ перекисью водорода:



¹ В 1940 г. выделен антианемический фактор В₉ в чистом виде. Вещество кристаллизуется в желтых пластинках с темп. плавл. 250°, содержит 50% С, 4,78% Н и 19,91 N и не содержит серы и фосфора.

Полученный продукт, как видно, является аналогом адермина (пиридоксина). В связи с этим было высказано предположение, что витамин В₉ является провитамином цыплячьего антианемического фактора, витамина В₉, или, что то же, аналогом адермина.

ВИТАМИН В₁₀

У цыплят, находящихся на синтетической диете, развивается особое заболевание, заключающееся в деформации и искривлении ног (омертвление сухожилий). Это заболевание носит название перозиса. Было показано, что введение холина и солей марганца активизирует действие какого-то вещества, содержащегося в печеночных и дрожжевых экстрактах и предохраняющего животных от перозиса. Это вещество получило очередное название витамина В₁₀.¹

В последнее время появляются сообщения о существовании витаминов В₉, В₁₀ и В₁₁—факторов роста цыплят и крыс. О природе и физиологическом действии этих вновь открытых витаминов еще нет достаточных сведений.

ВИТАМИН J

В соке цитрусовых найден фактор, сопутствующий витамину С и предохраняющий животных от пневмонии. Он был назван витамином С₂, или J. Витамин J содержится также в черной смородине, бузине и других плодах и отсутствует в красном перце. О природе его и использовании в клинической практике никаких сведений не имеется.

ВИТАМИНЫ L-КОМПЛЕКСА

В литературе имеются сообщения, что в печени крупного рогатого скота и в дрожжах содержится гипотетический фактор, в отсутствие которого животное теряет способность к лактации. Было показано, что фактор лактации, находящийся в печени, по многим своим свойствам отличается от фактора, находящегося в дрожжах. В связи с этим печеночный фактор получил обозначение витамина L₁, а дрожжевой—витамин L₂. Дальнейших подтверждений этого открытия не поступило, что ставит его под сомнение.

ВИТАМИН M²

Обезьяны, находящиеся на диете, содержащей все известные витамины, часто заболевают анемией и цитопенией, которые сопровождаются язвенными колитами, диареей и потерей в весе. Назначение заболевшим животным печеночного экстракта приводит к их выздоровлению. Изучая причины этого заболевания, исследователи установили, что в печени крупного рогатого скота

¹ Называется также антиспрувитамином.

² В 1944 г. опубликовано сообщение о возможной идентичности витамина M с ксантоптеринном.

(и в дрожжах) содержится особый фактор—витамин М, угнетающий деятельность некоторых патогенных сапрофитов, как, например, *Bacterium dysenteriae*, *Shiga bacillus* и т. д., обычно присутствующих в желудочно-кишечном тракте животных. В связи с этим витамин М рассматривается как антидизентерийный фактор.

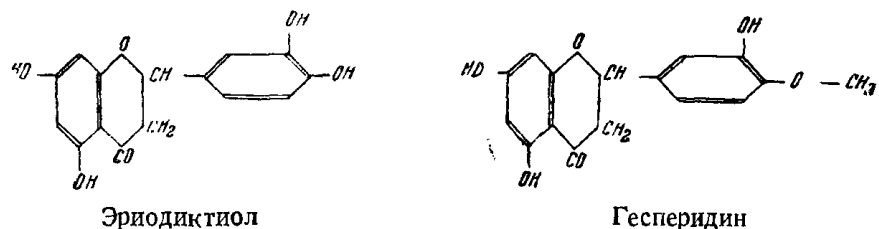
ВИТАМИН Р

Ряд исследователей, изучая действие аскорбиновой кислоты на течение цынги, пришли к убеждению, что больные с типичными цынготными поражениями не всегда реагируют на введение даже массивных доз синтетического витамина С; геморрагические диатезы исчезали у больных, когда вместо аскорбиновой кислоты им выдавался лимонный сок.

Сцент-Гьорги и Ружняк (1), сравнивая действие аскорбиновой кислоты и лимонного сока на организм животного, пораженного цынгой, имели возможность убедиться, что повышенная проницаемость капиллярных стенок, обуславливающая геморрагические явления, приходит к норме лишь в том случае, если в организм вводится не синтетический витамин С, а естественные продукты (экстракт красного перца, лимонный сок и т. д.). Указанные авторы высказали предположение, что в лимонном соке находится фактор, способствующий нормальной резистентности стенок капилляров. Были изучены активные фракции лимонного сока и выделено из них красящее вещество хиноидной структуры. Этот продукт был в дальнейшем исследован и оказался смесью двух веществ: гесперидина и эриодиктиол-глюкозида. Добавленный к аскорбиновой кислоте, он снимает у цынготных животных геморрагические явления. Предполагая для этого вещества витаминную природу, Сцент-Гьорги назвал его витамином Р.

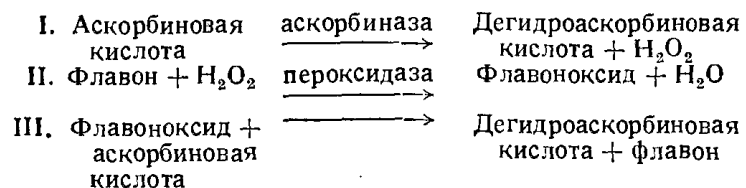
Витамин Р, цитрин, относится к флавонам¹, образует бледно-желтые кристаллы, представляет смесь гесперидина 75% (темп. плавл. 261°) и эриодиктиола 25% (темп. плавл. 267°). Гесперидин в воде практически нерастворим (эриодиктиол растворяется), растворим в ледяной уксусной кислоте, из которой осаждается добавлением воды или нейтрализацией раствора аммиаком. Оба вещества растворимы в алкоголе и щелочах.

Структурные формулы веществ, представляющих цитрин, следующие:

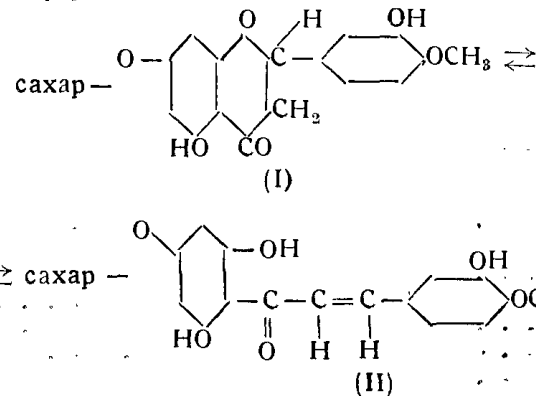


¹ Другие флавоны, как кверцетин и кверцитрин Р-витаминным действием не обладают.

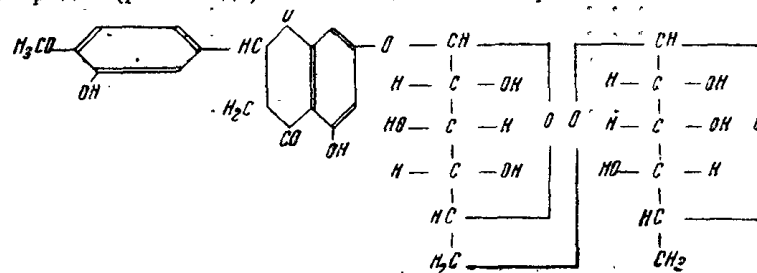
Физиологическое значение цитрина заключается в большой реагентоспособности этих веществ; согласно Сцент-Гьорги, они образуют с аскорбиновой кислотой окислительно-восстановительные комплексы, играющие важную роль в обмене веществ у растений. Для иллюстрации можно привести схему участия флавонов в растительной клетке: аскорбиновая кислота, окисляясь в присутствии аскорбиназы, образует дегидроаскорбиновую кислоту и перекись. Перекись в свою очередь, окисляя флавоны под действием пероксидазы, образует флавоноксид, который окисляет новую молекулу аскорбиновой кислоты, при этом сам он восстанавливается:



Опубликованы новые, весьма интересные данные о природе действия витамина Р: в растворе цитрина желтый эриодиктиол находится в химическом равновесии с гесперидином и этим объясняется кстати трудность их препаративного разделения. Указанное равновесие зависит от концентрации водородных ионов раствора, что удалось выявить путем перевода одного соединения в другое и извлечением каждого из них отдельно. Гесперидин (I)¹ может превращаться в халкон (II):



¹ Гесперидин-(рамнозидо)-d-глюкозид имеет строение:



причем эта реакция обратима, и ею объясняется сущность участия этих соединений в окислительно-восстановительных процессах.

Халкон может существовать в комбинации с протеинами, как часть ферментной системы лимонных корок. Такой халконопротеиновый комплекс выделен из лимонной мякоти и при испытании на животных показал высокую способность повышать устойчивость капиллярной стенки. В соответствии с этим разработаны способы получения витамина Р из естественных продуктов. Пользуясь одним из них Вадова и Топеха получили в 1945 г. во ВНИВИ препарат этого витамина.

Чистый Р-авитаминоз неизвестен. Витамин Р является спутником аскорбиновой кислоты в растительных объектах, и только в присутствии ее отмечается положительный результат действия цитрина. Не отрицая возможности участия цитрина в активизации физиологического действия аскорбиновой кислоты на организм животного, мы считаем нужным отметить, что вопрос о его витаминной природе, а равно и о необходимости его для человека и животных еще окончательно не решен (2).

В табл. 43 приведены сведения о содержании гесперидина в разных объектах, составленные на основании опубликованных данных.

Таблица 43

Содержание гесперидина в растениях

Наименование растений	Содержание гесперидина (в мг %)	Наименование растений	Содержание гесперидина (в мг %)
Вишни	60	Петрушка, листья	130
Водяной кресс (апрель)	10	Ревень, черешок	80
» » (октябрь)	70	Редька	20
Горох, разные сорта	40—100	Рябина	300
Капуста белокочанная (апрель)	60	Салат кочанный (май)	80
Капуста белокочанная (октябрь)	100	» » (сентябрь)	100
Капуста цветная	40	Свекла столовая	15
Картофель (апрель)	25	Сливы	50
» (июнь)	40	Томаты (июнь)	70
Малина	60	» (август)	60
Морковь (апрель)	10	Турнепс	20—30
» (август)	40	Шиповник	400
Одуванчик, листья	30	»	600
Орех грецкий, зеленый	100	Шпинат	130
Пастернак, корень	40	Щавель	20
		Яблоки	60

Методы определения витамина Р основаны на том, что флавоны реагируют в определенных условиях с хлористым магнием и HCl, образуя интенсивно окрашенный комплекс, легко поддающийся колориметрированию. Техника метода следующая.

К 1 мл раствора, содержащего 0,5—3 мг витамина Р в метаноле, добавляют 0,3 г хлористого магния, охлаждают до 15° и затем прибавляют по каплям 20%-ный раствор соляной кислоты до прекращения вскипания смеси. Смесь отфильтровывают, доводят соляной кислотой до объема 25 мл и по истечении 30 мин. красный раствор колориметрируют визуальнo с стандартом или в фотометре Пульфриха.

Некоторые из аналогов витамина Р представляют значительный интерес. Так, флаванол-гликозид, рутин (C₂₇H₃₀O₁₆·3H₂O), выделенный из цветов и листьев гречихи, кроме своего Р-витаминного действия, оказывает положительное влияние в лечении гипертонической болезни. В связи с этим интерес к этому соединению все более и более возрастает.

Дальнейшее изучение витамина Р показало, что не только эриодиктиол и гесперидин (или, вернее, халконы) обладают витаминным действием, но также и эпикатехин, широко распространенный и легкодоступный, и 6,7-диоксикумарин. (Как известно, последний является «антивитамином» витамина К).

ВИТАМИН Т

В сезамовом масле и яичных желтках обнаружен фактор, способствующий увеличению количества тромбоцитов в крови крыс и человека. Фактор получил название витамина Т. Он растворим в жирах, разрушается под влиянием ультрафиолетовых лучей, устойчив к нагреванию. В рыбьих жирах и оливковом масле витамина Т не обнаружено.

ВИТАМИН U

В дрожжах, люцерне и пшеничных отрубях обнаружен фактор, необходимый для роста цыплят. Вещество нерастворимо в эфире, ацетоне и бутаноле, растворяется в 50%-ном метиловом спирте, адсорбируется фуллеровой землей. При автоклавировании дрожжей при рН 1,7 в течение 1 часа витамин U не разрушается, при автоклавировании в этих же условиях люцерны—наблюдается потеря активности витамина. В связи с этим высказывается предположение о существовании термостабильного фактора U₁ и термолабильного U₂. Существование витамина Т и U находится, однако, под сомнением.

ФАКТОР, ПРЕДОХРАНЯЮЩИЙ ОТ ПЕРНИЦИОЗНОЙ АНЕМИИ

В печени присутствует особое вещество, так называемый «внешний фактор Кестле» (extrinsic factor), который, соединяясь с «внутренним фактором Кестле» (intrinsic factor), выделяемым стенками желудка, образует соединение, в отсутствии которого у человека развивается пернициозная анемия. Показано, что этот фактор является комплексом пиридоксина с фолиевой кислотой, в состав которой входит ксантоптерин.

Синтез ксантоптерина осуществлен из пиримидина и глиоксальной кислоты.

ДРУГИЕ ВИТАМИНЫ

В дополнение к изложенному отметим, что рядом авторов полученные данные, свидетельствующие о существовании еще других добавочных факторов питания, как, например, ф о л и е в а я кислота, выделенная из листьев зеленых растений и необходимая для развития некоторых микроорганизмов.

При помощи така-диастанзы удалось расщепить фолиевую кислоту, полученную из печени. В продуктах расщепления был обнаружен ксантоптерин, на основании чего считают, что это вещество является частью комплексной молекулы фолиевой кислоты. Дальнейшая работа в этом направлении дала основание полагать, что фолиевая кислота идентична антианемическому фактору В_с и является, таким образом, одним из компонентов фактора Кестля (пиридоксин+фолиевая кислота).

За последнее время получены новые данные о фолиевой кислоте. Так, показано, что у цыплят в отсутствие фолиевой кислоты образуется гипохромная макроцитарная анемия. Витамин поддерживает нормальный объем и число эритроцитов, а также уровень гемоглобина крови¹. Он способствует нормальному оперению и повышает яйценоскость птиц. В отсутствие фолиевой кислоты у морских свинок наблюдается остановка роста и смерть при явлениях летаргии.

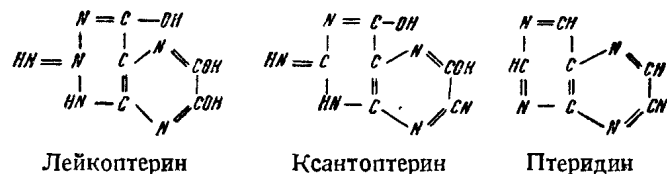
Есть также указания о том, что М-авитаминозные обезьяны, проявляющие симптомы лейкопении, анемии и диарреи, быстро излечиваются дрожжевыми вытяжками, богатыми фолиевой кислотой. Труфанов предполагает, что витамин М имеет отношение к фолиевой кислоте.

Крысы обладают способностью синтезировать, при помощи кишечной микрофлоры, фолиевую кислоту. Введение сульфамидных препаратов подавляет этот синтез и приводит, в конечном итоге, к гибели животных (3).

Чистые растворы фолиевой кислоты обладают в ультрафиолетовом свете синезеленой флуоресценцией. Фолиевая кислота относится к весьма лабильным соединениям: она неустойчива к окислителям, восстановителям, кислотам, щелочам, свету, нагреванию, ацетилованию, метилированию, бензоилированию, этерификации.

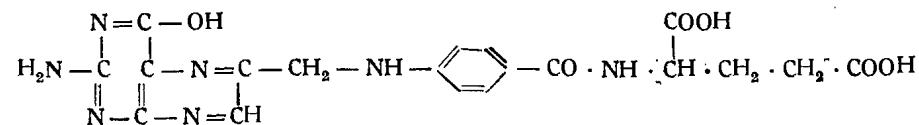
В естественных продуктах фолиевая кислота содержится в связанном с нуклеопотеидами состоянии, являясь, повидимому,

¹ Ксантоптерин и его дериваты участвуют в кроветворной функции организма



активной группой фермента, обуславливающего в организме синтез тимина. Отщепления кофермента можно добиться не только с помощью ферментативного гидролиза, но также и под влиянием ультрафиолетового облучения.

Новейшие исследования дали возможность расшифровать строение фолиевой кислоты. В молекулу ее входят ксантоптерин, *p*-аминобензойная и глутаминовая кислоты (4):



Трудность установления формулы этого витамина заключалась в том, что в молекуле ксантоптерина в положении 6 могут находиться разные группировки (ОН—ксантоптерин и лейкоптерин, Н—изоксантоптерин; СООН—кислота).

Можно считать доказанным, что фолиевая (птероилглутаминовая) кислота, в виде кофермента, в сочетании с декарбоксилазой, активной группой которой является система пиридоксин↔пиридоксаль, служит активно действующим началом «внешнего» фактора Кестле и имеет исключительное значение в лечении пернициозной анемии.

Эти данные интересны еще и в том отношении, что они дали возможность отождествить фолиевую кислоту с витамином В_с (а возможно, и с витамином М).

Из свойств фолиевой кислоты отметим дополнительно еще следующие. Этерификация приводит к потере 90% исходной активности; гидролиз эфира нормальным раствором щелочи при 30° возвращает ей прежнюю активность. Ацетилованием разрушается. Растворимость в воде довольно ограничена: при 30° в 1 мл воды растворяется 2 мг кислоты. Слегка растворима в ледяной уксусной кислоте и в слабом растворе аммиака; в органических растворителях (спирты, эфиры, ацетон, хлороформ, бензин и т. п.) не растворяется. Образует соли. Аммониевая соль отлично растворима в воде. При нагревании с *N* раствором Н₂SO₄ или NaOH до 100° за полчаса разрушается на 50%. Молекулярный вес около 450.

Представляют интерес также фактор растительного сока, отличный от фолиевой кислоты, необходимый для поддержания веса морских свинок; м ы ш и н ы й ф а к т о р, выделенный из зародышевой пшеницы, предохраняющий мышей от дерматитов и некоторых глазных заболеваний; и н о з и т о л — ф а к т о р, предохраняющий от выпадения волос и плешивости (alopecia)¹, один из компонентов биоса (см. стр. 238)—вещество, имеющее исключительное значение для жизни растений и животных и *p*-а м и н о б е н з о й н а я к и с л о т а, фактор, предохраняющий от ахромотрихии, т. е. поседения волос².

¹ Кстати это обстоятельство экспериментально не подтверждается.

² Это также не получило экспериментального подтверждения.

Приводим строение инозитола и *p*-аминобензойной кислоты:

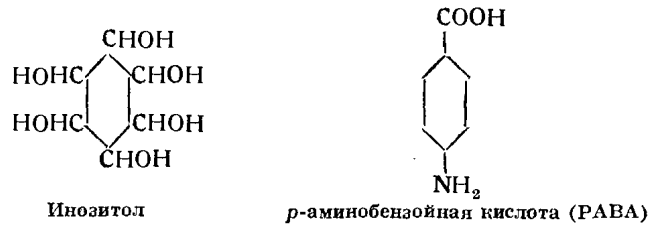


Таблица 44

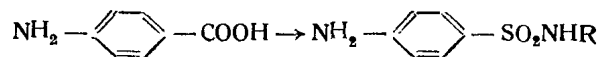
Содержание *p*-аминобензойной кислоты в разных объектах

Наименование объектов	Содержание <i>p</i> -аминобензойной кислоты в γ на 1 г свежей ткани	Наименование объектов	Содержание <i>p</i> -аминобензойной кислоты в γ на 1 г свежей ткани
Морковь	0,22	Свинина	0,8
Картофель	0,36	Печень бычья	2,5
Шпинат	0,6	Мясо говяжье	0,64
Дрожжи свежие	4,0	Селезенка крысы	0,7
Молоко коровье	0,1	Почки	1,8
Батат	0,1	Сердце	1,35
Яйца куриные	0,4	Кровь	0,27
Пшеница, зародыши	1,8	Мышцы	1,7
» зерно	0,6	Моча человека	0,5

Следует отметить, что в 1944 г. из дрожжей выделен пептид, который представлял собою комплекс *p*-аминобензойной кислоты с 10—12 остатками глутаминовой кислоты, соединенными с нею через карбоксильную группу. Это представляется интересным для расшифровки механизма физиологического действия биокатализаторов в живой клетке.

Дальнейшие исследования показали, что *p*-аминобензойная кислота входит составной частью в молекулу антианемического витамина, фолиевой кислоты, которая, в свою очередь, как выше сказано, является коферментом¹.

Было показано, что большинство патогенных микробов не могут развиваться в отсутствие *p*-аминобензойной кислоты. Если в среду, где развиваются микроорганизмы, вводить сульфаниламидные препараты, то последние блокируют *p*-аминобензойную кислоту; в связи с чем рост микробов прекращается:



R-ацетил, остатки гуанидина, тиазола, пиримидина и пр.

¹ Фолиевая кислота относится к классу птеринов; некоторые пуриновые соединения (мочевая кислота, гуанин и теобромин) обладают биологическим действием, близким к действию фолиевой кислоты.

Наоборот, прибавка к такой «заблокированной» среде новых порций *p*-аминобензойной кислоты возобновляет рост микробов. *p*-аминобензойная кислота широко распространена в природе, как это видно из табл. 44.

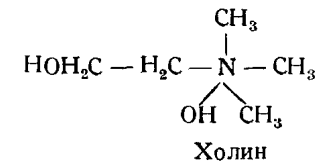
Некоторые жирные кислоты, как линоленовая, линолевая и арахионовая¹ (комплекс которых имеет название витамина F), аминокислоты (лизин, триптофан, гистидин, фенилаланин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, валин, аргинин и др.), а также многие минеральные соли, обычно встречаемые в организме в ничтожных количествах и поэтому носящие название микроэлементов, хотя и не являются в прямом значении этого слова витаминами, но в значительной мере способствуют проявлению физиологического действия и тиамина, и аскорбиновой кислоты, и каротина, и других жизненно необходимых веществ.

Наконец, большое значение для организма имеет также холин.

Холин—бесцветное основание, растворимое в воде, устойчивое к кислотам, неустойчивое к щелочам. Холин предохраняет от избыточного отложения нейтральных жиров и способствует синтезу фосфатидов в печени.

Холин является важнейшим фактором метилирования в животном организме, так как служит источником метильных групп. Кроме того, недостаток холина в организме приводит к явлениям гипопротромбинемии, аналогично тому, что наблюдается при явлениях К-витаминной недостаточности.

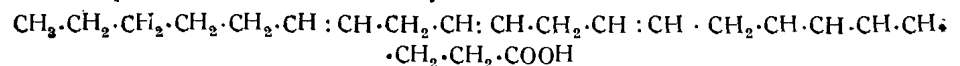
Строение холина следующее:



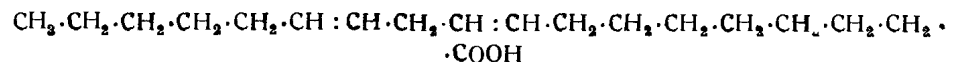
Данные по содержанию холина в продуктах приведены в табл. 45.

В плазме крови человека содержится до 230 мг %, а в плазме крови собак—до 280 мг % холина. Холин обладает высокой способностью стимулировать перистальтику кишечника.

¹ Строение этих веществ следующее:



Арахионовая кислота



Диенолевая кислота

Содержание холина в продуктах

Наименование продуктов	Холин в мг на г	Наименование продуктов	Холин в мг на г
Зародыши пшеницы	4,2	Турнепс сушеный	0,9
» кукурузы	1,1	Багат »	0,4
Овес	1,5	Яичный желток	17,0
Пшеница	1,4	Печеночный экстракт	16,0
Ячмень	1,4	Мука люцерны	1,4
Рис полированный	0,8	Орехи разные	до 1,4
Мука пшеничная	0,5	Молочный порошок	1,6
Кукуруза желтая	0,3	Сыры разные	0,5
Соя зеленая	3,0	Молоко свежее	0,1
Шпинат	2,3	Масло сливочное	следы
Спаржа	1,3	Печень телячья	6,5
Масло хлопковое	0,05	» бычья	6,3
» кукурузное	0,05	Мясо телячье	1,1
» соевое	0,05	» говяжье	0,8
Картофель сушеный	1,1	» разных рыб	3,0—4,0
Морковь сушеная	0,9	Рыбий жир	следы

ЛИТЕРАТУРА

1. Szent-Györgyi a. Ruszpyak, Nature 138, 3479, 1936.
2. Матусис, Бюлл. exper. биол. и мед. 4, 6, 1937.
3. Труфанов, Успехи совр. биол. 22,3: 331, 1946.
4. Шемякин, Усп. химии, 16, 3; 279, 1947, а также см. обзор: Преображенский и Наградзе, Усп. химии, 15, 4; 427, 1946.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы видели, что проблема витаминов есть прежде всего проблема рационального питания; и не случайно витаминная промышленность Советского Союза организована А. И. Микояном в системе пищевой промышленности.

Физиологически нормальное состояние организма может быть обеспечено только такой пищей, в состав которой, наряду с белками, жирами, углеводами, минеральными солями, входят и витамины в количествах, соответствующих потребности в них организма. Все, что лежит ниже этой нормы, будет патологией или состоянием, граничащим с патологией. В этом случае витамины уже становятся лекарством, оказывающим замечательные результаты в руках опытного клинициста.

Исследования последних лет показывают нам, что было бы ошибкой изучать физиологическое действие «изолированных» ви-

таминов. Эти соединения, помимо того, что они являются тесно связанными с белками, жирами, углеводами и т. п., еще интимнейшим образом связаны и между собой. Достаточно вспомнить благоприятное комплексное действие на организм витаминов группы В, факт наличия в молекуле фолиевой кислоты *p*-аминобензойной кислоты, присутствие никотинамида в некоторых флаво-пиримидин-протеиновых ферментах, наличие в организме токоферол-инозитовых и токоферол-линолевых комплексов, возможность образования А-витаминных эфиров линоленовой кислоты и мн. др. Из обзора этого вопроса с несомненностью вытекают следующие моменты, характеризующие витамины как биологически важные вещества:

1. Витамины—дополнительные факторы полноценного питания, отсутствие которых в пище приводит к ряду серьезных нарушений обмена веществ.

2. Витамины—биокатализаторы, наряду с ферментами (каковыми они в большей части и сами являются), гормонами и другими веществами, катализирующие процессы обмена веществ у животных и растений.

3. Витамины, будучи весьма различны по своей природе и строению, лишь условно объединяются в одну группу «витаминов».

4. Витамины расходуются в процессе обмена веществ в животном организме и убыль их должна систематически пополняться.

Все это, вместе взятое, свидетельствует о чрезвычайной сложности и многогранности витаминной проблемы в целом. Лишь недостаточность наших знаний заставляет нас пока что рассматривать изолированно отдельные участки обмена веществ в животном и растительном организме.

Однако исключительно широкий размах работ в области витаминологии, проводимых нашими учеными, и наметившиеся уже решения ряда важнейших проблем, связанных с управлением процессами обмена веществ в человеческом организме, несомненно, позволят в ближайшем будущем поднять советскую науку о здоровье человека на невиданную еще высоту.

Терапевтические дозы витаминов, рекомендуемые Витаминной комиссией Фармакологического к-та УМС МЗдр СССР

Витамины	Дети				Взрослые				Примечание
	Per os		Парентерально		Per os		Парентерально		
	pro dosi	pro die	pro dosi	pro die	pro dosi	pro die	pro dosi	pro die	
С	100 мг	до 300 мг		50—300 мг	100 мг	до 500 мг		100—500 мг	Детям, в зависимости от возраста Детям, в зависимости от возраста Детям, в зависимости от возраста Парентерально—в физиологич. растворе, 2—3 инъекции Детям парентерально, в зависимости от возраста, 2—3 инъекции *) при пеллагре
В ₁	2—10 »	» 20 »		до 10 »	10 »	» 50 »		до 30 »	
В ₂	2—10 »	» 20 »			10 »	» 50 »			
РР	10—20 »	» 50 » » 200 »*		» 50 » » 200 мг*	50 » 100 »*	» 200 » » 500 »*	50 мг 100 »*	» 100 » » 300 »*	
А	5—10 000 и. е.	до 20 000 и. е.			10—25 000 и. е.	до 100 000 и. е.			Продолжительность приема — в соответствии с решением IV Всес. съезда педиатров, 1947 г. Не свыше 3 дней подряд Для детей и беременных рекомендуется викасол или виказин
Д		5—10 000 и. е.				10—20 000 и. е.			
К { викасол, виказин мегинон		5 мг				до 15 мг			
		5 » (однократно)				15 »			

Примечание. При назначении доз, превышающих рекомендуемые, врач обязан сделать в рецепте соответствующее указание.

Ростовые факторы и ингибиторы роста микроорганизмов

Соединение	Объекты, на которых роль данного соединения в качестве пищевого фактора		Компонентами какой энзиматической системы являются	Ингибиторы (антивитамины)
	обнаружена впервые	установлена в дальнейшем		
Тиамин	Высшие животные	Бактерии, низшие грибы, одноклеточные, корни высших растений	Коккарбоксилаза	Пиритиамин Тиазол-пирифосфат 2-л-бутил-пиримидин
Рибофлавин	»	»	Флавопротеиновые ферменты	Изорибофлавин, галактофлавин Дигидро-феназин Дихлор-аллоксазин Мелакрин Метиленовая синь
Пиридоксин	»	»	Кофермент тирозин-декарбоксилазы, трансампаза	2,4-диметил-3-окси-5-оксиметил-пиридин
Пиримидин-нуклеотиды	—	Высшие животные, корни растений	Козэнзимы I и II Пиримидиновые ферменты	*
Никотиновая кислота	—	То же	Козэнзимы I и II Пиримидиновые ферменты	Пиримидин-3-сульфоновая кислота Пиримидин-3-сульфамид-3-ацетил-пиримидин-сульфидин
Биотин	Дрожжи	Бактерии, высшие животные, насекомые, низшие грибы	Пиримидиновые энзимы	Авидин (из яичного белка) Сульфид-биотин Уреилден-бензойленовый дерибат

Соединения	Объекты, на которых роль данного соединения в качестве пищевого фактора		Компонентами какой энзиматической системы являются	Ингибиторы (ангивитамины)
	обнаружена впервые	установлена в дальнейшем		
Пимелиновая кислота Пантотеновая кислота	Дрожжи	Бактерии, высшие животные, насекомые	Роль в синтезе биотина Кофермент ацетилазы	Уреиден-цикло-гексановый дериват Дестиво-биотин Диаминно-карбоновые кислоты Пимелиновая кислота Биотин
β -аланин	Дрожжи	—	Роль в синтезе пантотеновой кислоты	Пантоил-таурин, пантоил гидразид, β -аланин, α -метил, β -аланин, изосерин, β -аминомасляная кислота
<i>p</i> -аминобензойная кислота	Бактерии	Высшие животные, насекомые, низшие грибы	Роль в синтезе фолиевой кислоты	Пантотеновая кислота
Инозит	Дрожжи	Мыши, насекомые, плесени	—	6-амино-3-карбоксихипридин 3-нитроглюкофен—2-карбоксамид. Сульфаниламид и его производные
Урацил	Staph. aureus (ант-эроб)	—	—	—
Глутаминовая кислота	Стрептококки	—	Роль в синтезе фолиевой кислоты	—
2-метил-3-фитил-1,4-нафтохинон (вит. K ₁)	—	—	Роль в образовании протромбина	Кумарин, дикумарин

Приложение 3

Таблица микроорганизмов, применяемых для определения витаминов (по Работновой)

Витамин	Микроорганизмы	Принцип определения	Длительность опыта	Стандарт
Тиамин (B ₁)	Lactobacterium fermentatum	Мутность	16—18 час.	0—5 мγ
	Leuconostoc mesenterioides	Мутность или кислотность	72 »	0—3 мγ
	Propionibacterium pentosaceum	Выделение CO ₂	4 »	0—5 мγ
	Staphylococcus aureus	Мутность	36 »	0—2 γ
	Streptococcus selivatus	»	24 »	0—2 мγ
Рибофлавин (B ₂)	Lactobacterium casei	Кислотность	72 »	0—0,05 γ
	L. Jugart	»	72 »	0—0,12 γ
	Lactobacillus arabinosus	»	72 »	0—0,1 γ
Пантотеновая кислота (B ₅)	Lactobacterium casei	»	72 »	0—0,12 γ
	Leuconostoc mesenterioides	Мутность или кислотность	72 »	0—10 мγ
	»	Мутность	24 »	0—10 мγ
Холин	Pneumococcus, тип III	»	12—24 »	0—6 γ
	Neurospora	Вес мицелия	5 дней	—
Ниацин (B ₃)	Acetobacter suboxydans	Мутность	48 час.	0,25—3 γ
	Bacterium proteus	»	30 »	0—0,1 γ
	Lactobacillus arabinosus	Кислотность	72 »	0—0,1 γ
	L. casei	»	72 »	0—0,1 γ
	Leuconostoc mesenterioides	Мутность или кислотность	72 »	0—0,1 γ
Пиридоксин (B ₆)	Lactobacillus casei	Кислотность	72 »	0—0,1 γ
	Leuconostoc mesenterioides	Мутность или кислотность	72 »	0—0,025 γ
	Clostridium butylicum	Мутность	72 »	0,01 γ
Биотин (H)	Lactobacillus arabinosus	Кислотность	72 »	0—1 мγ
	Lactobacterium casei	»	72 »	0—1 мγ
	Leuconostoc mesenterioides	Мутность или кислотность	72 »	0—1 мγ
	Rhizobium trifolii	Мутность	72 »	—
Инозитол	Saccharomices cerevisiae	»	—	—
	Streptococcus lactis R.	»	24 »	0—200 γ
<i>p</i> -амино-бензойная кислота	Lactobacterium casei	Кислотность	72 »	экстракта печени
	Acetobacter suboxydans	Мутность	48 »	0—0,03 γ концентрата
	Clostridium acetobutylicum	»	20—24 »	0—10 мγ
	Lactobacillus arabinosus	Кислотность	72 »	0—0,15 мγ
	Leuconostoc mesenterioides	Мутность	15 »	0—0,05 мγ
	Neurospora crassa	Диаметр колоний	—	—

История изучения и получение в чистом виде	140
Физико-химические свойства	142
Методы количественного определения	142
Распространение в природе	143
Физиологическое действие	144
Литература	145

ГЛАВА VII. В и т а м и н С (аскорбиновая кислота)

История изучения и получение в чистом виде	146
Физико-химические свойства	152
Методы количественного определения	162
Содержание аскорбиновой кислоты в растениях и ее роль в процессе обмена веществ растительной клетки	167
Витамин С в организме животного и человека, в норме и патологии	183
Литература	193

ГЛАВА VIII. В и т а м и н D

История изучения и получение в чистом виде	197
Физико-химические свойства	202
Методы количественного определения	207
Распространение провитамина D и витамина D в растительном мире	209
Стероиды и витамин D в теле животного и человека и их роль в обмене веществ	211
Литература	219

ГЛАВА IX. В и т а м и н E

История изучения и получение в чистом виде	220
Физико-химические свойства	223
Методы количественного определения	227
Распространение в природе	230
Физиологическое действие	233
Литература	235

ГЛАВА X. В и т а м и н H (биотин)

История изучения	237
Физико-химические свойства и препараты биотина	238
Методы определения	242
Распространение в природе	242
Физиологическое действие	244
Литература	245

ГЛАВА XI. В и т а м и н K

История изучения и получение	246
Физико-химические свойства витамина K и других антигеморрагических веществ	247
Методы количественного определения	251
Распространение в природе	252
Значение витамина K для растений и животных	254
Литература	257

ГЛАВА XII. М а л о и з у ч е н н ы е в и т а м и н ы

Витамин B ₈	258
Витамин B ₄	258

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
Введение	5

ГЛАВА I. В и т а м и н A

История изучения и способы получения	13
Физико-химические свойства каротина и витамина A	18
Методы количественного химического определения витамина A и каротина	28
А. Определение содержания витамина A	28
Б. Определение содержания каротина	31
Содержание каротина в растительных объектах и его роль в растении	35
Витамин A в теле животного и человека и его роль в обмене веществ	42
Литература	54

ГЛАВА II. В и т а м и н B₁ (аневрин или тиамин).

История изучения и способы получения	56
Физико-химические свойства витамина B ₁	62
Методы количественного определения аневрина	67
Распространение аневрина в природе и его роль в обмене веществ	72
Аневрин в организме животного и человека	80
Литература	86

ГЛАВА III. В и т а м и н B₂ (рибофлавин)

История изучения и получение в чистом виде	88
Физико-химические свойства рибофлавина	92
Химические методы количественного определения рибофлавина	93
Распространение рибофлавина в природе и его значение для растений	102
Рибофлавин в организме животного и человека	107
Литература	110

ГЛАВА IV. В и т а м и н B₆ (адермин, или пиридоксин)

История изучения и получение в чистом виде	112
Физико-химические свойства	113
Химические методы определения адермина	115
Распространение адермина в природе	116
Физиологическое действие адермина	117
Литература	121

ГЛАВА V. В и т а м и н PP (никотиновая кислота)

История изучения и получение в чистом виде	122
Физико-химические свойства	124
Химические методы определения	126
Распространение в природе	130
Физиологическое действие	133
Литература	138

Витамин В ₆	259
Витамин В ₇	259
Витамин В ₈	260
Витамин В ₉	260
Витамин В ₁₂	261
Витамин В ₁₅	261
Витамин J	261
Витамины L-комплекса	261
Витамин M	262
Витамин P	265
Витамин T	265
Витамин U	265
Фактор, предохраняющий от пернициозной анемии	266
Другие витамины	270
Литература	270
Заключение	
Приложение 1. Терапевтические дозы витаминов, рекомендованные Витаминной комиссией Фармакологического комитета УМС МЗдр СССР	272
Приложение 2. Ростные факторы и ингибиторы роста микроорганизмов	273
Приложение 3. Таблица микроорганизмов, применяемых для определения витаминов	275

Редактор П. А. Вшивцев.

Техн. ред. Е. И. Кисина.

Л-99319. Сдано в набор 20/XII 1947 г. Подписано к печати 16/VI 1948 г. Объем 17½ печ. л. Уч.-изд. л. 21. Знаков в печ. л. 47 472. Форм. 84×110¼.
Тираж 6 000 экз. Заказ 1509. Цена 21 руб.

16-я типография треста «Полиграфкнига» ОГИЗа при Совете Министров СССР.
Москва, Трехпрудный, 9.