

Отдел I. Оригинальные статьи.

Из Лаборатории Физиологической Химии Казанского Университета.
(Заведующий—проф. А. А. Панормов).

К учению о витаминах.

Влияние экстрактивных веществ картофеля на экспериментальный полиневрит голубей.

(Сообщено в Обществе Врачей при Казанском Университете).

Е. Потеряева.

Экспериментальный полиневрит голубей, кур и других животных наступает при некоторых условиях аномального питания. Е у k m a n n ¹⁾ впервые заметил заболевание кур при кормлении их исключительно одним полированным рисом,—куры через 2—3 недели от начала опыта погибали при проявлениях истощения, параличей и сведения конечностей. Он назвал эту болезнь „polyneuritis gallinarum“. Контрольные куры, получавшие неполированный рис, не заболевали. Вред питания исключительно одним полированным рисом и наступление заболевания полиневритом были подтверждены целым рядом исследований других авторов, и в настоящее время такое питание большинством признается, как причина известной на Востоке болезни „бери-бери“.

Weill и Mouiquard ²⁻⁴⁾ указали, что полиневрит у голубей наступает при кормлении их не только полированным рисом, но и другими декортицированными злаками, напр., ячменем и пшеницей. Стерилизация злаков при 125°C в течении 1 1/2—2 часов тоже вызывает заболевание полиневритом.

Признаками полиневрита голубей и кур, по словам большинства авторов, являются следующие расстройства: потеря аппетита, исхудание, параличи конечностей и судорожное сведение мышц шеи, вследствие чего получается характерное запрокидывание головы назад, наступающее за 1—3 дня до смерти и появляющееся в виде припадков от 5 до 10 раз в сутки, особенно при внешнем раздражении. Иногда смерть наступает во время одного из таких припадков. F u n k ⁶⁾ отмечает наличие перерождения периферических нервов у заболевших полиневритом голубей. Weill, Cluzet

и Mouriquard⁷⁾ приходят к заключению, что глубоких перерождений в периферических нейронах и мускулах при этом не наблюдается, и что они способны к регенерации, чем и объясняется быстрое выздоровление заболевших полиневритом животных при переводе их на обыкновенный корм.

Является ли причиной заболевания полиневритом отсутствие в декортицированных злаках особых веществ (витаминов) и разрушение их при стерилизации, или разрушение, при стерилизации, белков, жиров и проч., вследствие чего получают продукты, менее усвояемые организмом и даже вредно действующие на него, виновато ли, далее, здесь солевое голодание, или психические причины вследствие однообразного питания, — пока не выяснено.

Некоторые авторы, как, например, Eukhann, Schann, Edie и Ewans⁸⁾, Graeser и Stauton⁹⁾, Suzuki, Odake и Schimamura¹⁰⁾, Funk¹²⁾, Ракочи¹¹⁾ и др. придерживаются витаминной теории, т.е. думают, что в пищевых продуктах растительного и животного происхождения имеются особые вещества, которые необходимы, как катализаторы, для правильного обмена веществ, причем животный организм сам построить эти вещества не в состоянии. В рисе, ячмене, пшенице и др. злаках эти вещества находятся в периферическом слое зерна, при удалении которого декортикацией зерно лишается витамина. Животные, питаемые обыкновенной пищей, накапливают некоторый запас витаминов в своем организме; питаемые же лишенной витаминов пищей, они испытывают витаминное голодание (авитаминоз), вследствие чего у них происходит расстройство обмена веществ и заболевание, напр., полиневритом.

В доказательство витаминной теории сторонниками ее приводятся опыты кормления животных безвитаминной пищей с последующей прибавкой содержащих витаминные вещества, а также попытки получения витаминов в чистом виде и исследования над физиологическим их действием.

Из этих опытов можно сделать вывод, что в пищевых веществах находится особое действующее начало (витамин), которое может быть получено путем химической обработки в сравнительно чистом виде. Это вещество не может служить само по себе питательным средством, ввиду незначительности его содержания в пищевых продуктах, но действует предупреждающим и излечивающим образом на полиневрит голубей и кур. Повидимому, оно разрушается при нагревании выше 125—130°C. Правда, Вотчал¹²⁾ на основании наблюдений над ростом плесневых организмов (*penicillium glaucum* и *sacharomycetes cerevisiae* Hansen I) на средах

содержащих витамины, нашел, что последние не разрушаются и при нагревании выше 130°C , так как и при этих условиях он получал некоторое ускорение роста, но его опыты нельзя считать вполне доказательными.

В противовес витаминной теории R ö h m a n ¹⁴⁾ полагает, что животный организм может нормально существовать, если только будет питаться в достаточном количестве „полноценными“ белками, жирами, углеводами и солями. Этот автор различает среди белков полноценные и неполноценные, причем последние при гидролизе не дают всех тех продуктов распада (аминокислот), которые необходимы для жизни организма. Кроме указанных двух групп белков R ö h m a n признает, впрочем, еще дополнительные вещества, которые в рисе, маисе и пр. находятся в периферическом слое зерна. Таким образом он в сущности не идет против витаминной теории, так как природа витаминов и его дополнительных веществ еще не выяснена.

Основываясь на данных, добытых защитниками витаминной теории, можно было бы предположить, что, питаясь нормальными пищевыми веществами, не лишенными витаминов, как, напр., неполированный рис, ячмень и овес, — голуби и куры должны были бы оставаться здоровы и не убывать в весе, так как эти вещества содержат достаточное количество белков, углеводов, жиров и солей. Однако на деле это оказывается не так: из работ F u n k'a и A r c h i b a l d'a ¹⁵⁾ мы видим, что при продолжительном кормлении кур обыкновенным рисом они более 2 месяцев не живут, а цыплята не растут и, хотя живут до 7 месяцев, но выглядят, как 5—6-недельные. То же получилось и в одном из моих опытов, где контрольный голубь, получавший в достаточном количестве обыкновенный овес, через 126 дней потерял 22% веса тела, имел плохой аппетит и выглядел очень слабым. Все это говорит за то, что при так называемых „авитаминозах“ имеет значение не только витаминное голодание, но и какие-то другие неизвестные факторы.

Ограничиваясь, за недостатком места, этими краткими данными по интересующему нас вопросу, перейду теперь к изложению своих опытов, целью которых было — выяснить, каково физиологическое действие картофельного экстракта при экспериментальном полиневрите голубей, и содержатся ли в нем сходные с витаминами вещества.

Для получения картофельных экстрактов и изолирования содержащегося в них действующего начала, картофель брался одного сорта, причем употреблялся только периферический слой клубня, толщиной в 2—3 миллиметра, т. е. картофельная шелуха. Картофель тщательно промывался водой и просушивался часа 2—3 на воздухе, после чего шелуха с него снималась, измельчалась и вместе с образовавшимся соком переносилась в большую колбу, где экстра-

гировалась 5 порциями спирта на водяной бане с обратным холодильником. При дальнейшей обработке я придерживался способа Suzuki¹⁰⁾ и др., причем получила таким образом 2 фракции: 1) после осаждения спиртового экстракта фосфорно-вольфрамовой кислотой, взбалтывания с эфиром и сгущения, — назовем его „спиртовым экстрактом I“ и 2) после растворения этого экстракта в воде, осаждения танином, разложения осадка баритом, освобождения фильтра от бария и сгущения, — назовем этот экстракт „спиртовым экстрактом II“. Действие обоих экстрактов испытывалось на голубях.

Чтобы получить у голубей заболевание полиневритом, мною было взято 5 голубей, которым давался в пищу полированный рис, для питья же обыкновенная вода. Другая группа из 5 голубей получала вместо рису овес, стерилизованный в автоклаве при 125°С в течение 2 часов. Клетки, в которых находились голуби, содержались в чистоте, чтобы в пищу не попадали посторонние вещества. Контрольные голуби получали обыкновенный овес. Ежедневно производилось взвешивание голубей.

Через неделю голуби, посаженные на рис, потеряли аппетит и начали умирать в весе. У голубя № 1 на 20-й день, а у голубя № 2 на 21-й день появились припадки, выразившиеся в запрокидывании головы назад вследствие судорожного сведения мышц шеи (полиневрит). Припадки наступали от 2 до 5 раз в день и при каждом внешнем раздражении. Голубь № 1 погиб на 25-й день, № 2 — на 22-й день и № 3 — на 20-й день. Голубь № 4, заболевший на 18-й день, с этого дня стал ежедневно получать 2 грм. спиртового экстракта I, разведенного до 5 куб. сант. водой, причем доза экстракта вычислялась так: голубь съедает ежедневно в среднем, 30 грм. рису, рис содержит сухой массы в $3\frac{1}{3}$ раза больше, чем картофельная шелуха; поэтому дозу экстракта приходится вычислять из 100 гр. шелухи, а так как его было получено 80 грм. из 4 кило шелухи, то доза будет равна $\frac{80 \cdot 100}{4000} = 2$ грм. Такая доза оказалась, однако, недостаточной, — припадки у голубя № 4 вначале исчезли, и появился аппетит, но вскоре голубь этот снова заболел и погиб на 36-й день. Поэтому, когда заболел голубь № 5, на 21-й день, то я стал с этого дня ежедневно давать ему уже не 2, а 3 грм. спиртового экстракта I. Уже через 8 часов после того припадки исчезли, у голубя появился аппетит, вес тела его начал постепенно увеличиваться, и голубь остался жив.

Признаки заболевания у голубей №№ 6, 7, 8, 9 и 10, получавших стерилизованный овес, были таковы же, что и у голубей, получавших рис. Голубь № 6 заболел на 24-й день, № 7 — на 26-й

день и № 8—на 20-й день. Смерть наступила у № 6 на 26-й день, у № 7—на 28-й и у № 8—на 22-й. У голубя № 10, кроме припадков запрокидывания головы, развился паралич ног; заболел этот голубь на 19-й день, а № 9 на 17-й день. С момента заболевания оба голубя получали ежедневно по 3 грамма спиртового экстракта I, разведенного до 5 к.с. водой. У обоих уже через сутки припадки исчезли, появился аппетит, начал прибывать вес тела. Голуби остались живы.

Кроме этих опытов, мною был произведен еще следующий: голубь получал в пишу стерилизованный овес и с первого дня опыта—дозу спиртового экстракта I, голубь этот остается здоров (опыт продолжался 20 дней) и не обнаружил убыли в весе.

Два контрольные голубя, № 12 и № 13, получали обыкновенный овес и остались здоровы. Голубь № 13 через 31 день был выпущен на волю. Вес его тела остался таким же, как и вначале опыта; за то голубь № 12, оставшейся на обыкновенном овсе в течение 126 дней, потерял в весе 22%, не имел аппетита и выглядел слабым.

Для проверки действия спиртового экстракта II было взято 2 голубя (№ 14 и № 15) и посажены на стерилизованный овес. Голубь № 14 заболел на 20-й, а № 15—на 17-й день. С момента заболевания оба голубя стали получать ежедневно по 0,1—0,05 гр. спиртового экстракта II. Вскоре припадки прошли, и голуби начали прибывать в весе.

В общем итоге падение веса тела опытных голубей и сроки заболевания их могут быть представлены в виде следующей таблицы:

	№ № голубей.	Первоначальн. вес тела.	День заболевания.	Вес тела.	% потери веса.	День смерти.	Вес тела в день смерти.	% потерн веса.	День окончаннн опыта.	Вес тела.
Полиро- ванный рис.	I	320,0	20	185,0	—	25	176,0	45%	—	—
	II	310,0	21	180,0	—	22	172,0	44,5%	—	—
	III	290,0	17	173,0	—	20	160,0	44,9%	—	—
Идем + экстр. I со дня заболе- вания.	Сред- нее.	306,6	19	179,3	41,6%	22,3	169,3	44,8%	—	—
	IV	300,0	18	178,0	40,7%	36	164,0	45,4%	—	—
	V	312,0	21	186,0	40,7%	—	—	—	31	248,0

	№ № голу- бей.	Первоначальн. вес тела.	День забо- левания.	Вес тела.	% потери веса.	День смер- ти.	Вес тела в день смер- ти.	% потери веса.	День окон- чания опы- та.	Вес тела.
Стерилизо- ванный овес.	VI	335,0	24	201,0	—	26	191,0	43%	—	—
	VII	300,0	26	170,0	—	28	162,0	46%	—	—
	VIII	315,0	20	190,0	—	22	179,0	43,2%	—	—
	Сред- нее.	316,6	23,3	187,0	41%	25,3	177,3	44%	—	—
Идем + экстр. I со дня заболева- ния.	IX	425,0	17	252,0	40,7%	—	—	—	27	335,0
	X	372,0	19	212,0	43%	—	—	—	31	287,0
Стерилизов. овес+экстр. I с начала опыта	XI	324,0	—	—	—	—	—	—	20	319,0
	XII	333,0	—	—	—	—	—	—	126	260,0 потеря 22%
Обыкновен- ный овес.	XIII	310,0	—	—	—	—	—	—	32	311,0
	XIV	315,0	20	189,0	40%	—	—	—	28	260,0
Стерилизов. овес+экстракт II со дня за- болевания.	XV	300,0	17	174,0	42%	—	—	—	27	235,0
	Общее среднее	—	—	20	—	41,2%	—	—	—	—

Кроме спиртового экстракта, мною была получена из картофельной шелухи и водная вытяжка, а из нее опять-таки спиртовый экстракт и потом кристаллическое вещество.

Для этого 4750 грм. шелухи было измельчено и отжато на Rubner'овском прессе при давлении в 100 атмосфер. Отжатый сок был слит в стакан, а остаток стерт в ступке с песком и небольшим количеством воды и снова отжат при том же давлении, каковая операция была проделана 3 раза. Всего водной вытяжки получилось 7,5 литров. В ней содержалось: сухого остатка—2,857%, органических веществ—2,157%, минеральных—0,7%. Все это количество водной вытяжки было затем подкислено серной кислотой до 3% и осаждено 30% фосфорно-вольфрамовой кислотой, осадок отфильтрован, промыт и подвергнут в ступке такой же обработке гидратом окисей бария, как это указано относительно спиртового экстракта. Получившийся фильтрат был освобожден серной кислотой от бария,

сгущен до малого объема и повторно взболтан в делительной воронке с эфиром для удаления жиров. Эфирные вытяжки были отброшены, а остаток нагреваемым на водяной бане был освобожден от эфира и затем экстрагирован 95% спиртом в колбе с обратным холодильником. Спиртовый экстракт отфильтрован от образовавшегося осадка и сгущен при низкой температуре до малого объема. Получилось 2 грамма густого коричневого сиропа слабо-кислой реакции.

Доза этого экстракта в 0,05—0,1 грамма оказала целебное действие на заболевших полиневритом голубей. Голуби эти, — числом 2, — получали стерилизованный овес. Голубь № 16, весом в 340 грм., заболел на 20-й день, потеряв в весе 40,3%, голубь № 17, весивший 320 грм., заболел на 24-й день, потеряв 41% веса тела. Со дня заболевания оба голубя стали получать по 0,1—0,05 грм. указанного экстракта. Через сутки припадки у них совершенно прошли, и оба голубя начали прибывать в весе. К сожалению, в виду малого количества полученного экстракта, опыт пришлось прекратить раньше, чем голуби достигли первоначального веса.

В дальнейшем 1 грм. полученного экстракта был растворен в 20 куб. сант. воды и осажден 20% раствором танина, осадок декантирован 1% раствором танина, высушен в эксикаторе и растворен в ацетоне. Ацетоновый раствор разложен насыщенным раствором едкого барита и отфильтрован от осадка, после чего фильтрат был освобожден серной кислотой от бария и отфильтрован. После этого фильтрат сгущен выпариванием при низкой температуре до малого объема и затем высушен в сушильном шкафу при 70°C. Сухой остаток растворен в небольшом количестве горячего спирта и был поставлен в кристаллизационной чашке в эксикатор. Спустя 3 дня, на дне чашки выпал мелко-игльчатый кристаллический осадок. Перекристаллизованный еще раз из спирта и высушенный в эксикаторе, он весил 0,23 грм. Температура плавления его была 229—230°C., из водного раствора он осаждался фосфорно-вольфрамовой кислотой и танином в виде хлопчатого осадка, давал диазореакцию и реакцию Molisch'a (слабую), Millon'овской реакции и других цветовых реакций не давал. При ферментативном переваривании *in vitro* прибавление незначительных количеств раствора этого вещества, оказалось, увеличивает переваривающую силу фермента; но трудно сказать, принадлежит ли здесь ускоряющее действие действующему началу (витамину), или, может быть, каким-либо другим примесям. Ускорение ферментации *in vitro* выразилось так:

1) Переваривание рисового крахмала птиалином (слюной) с прибавкой витамина происходило в $1\frac{1}{2}$ —2 раза быстрее, чем без витамина. Опыты ставились так: к 200 куб. сантиметрам 3% раствора рисового крахмала прибавлялась разведенная в 3 раза водой слюна (предварительно профильтрованная), весь раствор после взбалтывания разделялся тотчас же на 2 равные порции, и к одной из них прибавлялся 1 куб. сантиметр 0,01% раствора вышеописанного кристаллического вещества, а другая оставлялась без прибавки, и обе порции одновременно ставились в водяную баню, где поддержи-

налась t° в 37,5°С., через 20 минут обе порции одновременно ставились в кипящую воду на 10 минут, после чего параллельно производилось определение сахара по Fehling'sy*. В 5 опытах получились следующие средние цифры:

		Опыты I	II	III	IV	V
Птиалин +	{ крахмал + витамин	1,1%	1,16%	0,94% ₂	1,21%	1,25% сахара
	{ крахмал без витамина	0,6%	0,59%	0,52%	0,61%	0,62% сахара

2) Переваривающая сила пепсина (Witte) с прибавкой витамина и без витамина относились, как 1,4 к 1. Определение производилось по способу Mett'a. Длины переваренных столбиков при 38°С в течении 48 часов выразились так:

{ + витамин	7,3 мм.	5,6 мм.
{ без витамина	5,2 мм.	4,0 мм.

3) Определенные по этому же методу скорости переваривания настоем поджелудочной железы крови + витамин и без витамина оказались относившимися друг к другу, как 1,2:1, а именно, величины переваренных столбиков в миллиметрах:

{ + витамин	4,7 мм.	4,8 мм.
{ без витамина	3,9 мм.	4,0 мм.

Интересно отметить, что при переваривании птиалином крахмала из неполированного риса синее окрашивание с иодом исчезало прежде, чем у крахмала из полированного риса, количество же сахара в результате получалось одно и то же, или даже в последнем случае было несколько больше (на 0,1—0,15%).

Вышеописанное кристаллическое вещество в количестве 0,01 грм. оказало целебное действие на заболевшего полиневритом голубя. Голубь этот (№ 18), весом в 320 грм., заболел на стерилизованном овсе на 19-й день; со дня заболевания он стал получать ежедневно 0,01 вышеописанного вещества, растворенного в 1 куб. сант. воды, причем уже через 6 часов припадки исчезли, а через 4 дня голубь прибавился в весе на 98 грм.

Другой голубь (№ 19), весом в 331 грм., получал в пищу стерилизованный овес и заболел на 21-й день. С этого дня он стал получать также по 0,01 кристаллического вещества, но предварительно простерилизованного в автоклаве при 125°С. в течении 2 часов. После стерилизации оказалось, что вещество потеряло излечивающую силу: голубь погиб на 23-й день, потеряв 73,4% веса.

Резюмируя результаты своих опытов, я прихожу к выводу, что картофель тоже содержит какое-то вещество, сходное по терапевтическому действию на полиневрит голубей с витамином F u n k'a и оризанином японских авторов. По энергичному терапевтическому

*) Раствор кристаллического вещества оказался не восстанавливающим Fehling'овской жидкости; синее окрашивание крахмала с иодом не уменьшалось от прибавления витамина.

действию его на заболевших голубей, а также на основании того факта, что при безвитаминовом корме одни голуби погибают, другие же, получающие кроме того витамин, в течении того же времени остаются здоровы и не убывают в весе,—можно заключить, что витамины имеют большое значение для жизни животных. Однако всецело отнести причину заболевания голубей полиневритом к авитаминозам затруднительно, так как, во-первых, это заболевание еще мало изучено, а во-вторых, еще неизвестна химическая природа витамина.

Литература.

- 1) Eukmann. Virchow's Arch., Bd. 148.—2-5) Weill et Mouriquard. C. R. de la Soc. biol., 1916.—6) Funk. Die Vitamine, ihre Bedeutung für die Phys. und Path., 1914.—7) Weill, Cluzet et Mouriquard. C. R. de la Soc. biol., 1917.—8) Edie a. Ewans. Maly's Jahr. f. Thierchemie, Bd. 42.—9) Fraeser a. Stauton. Etiology of beri-beri. Lancet, 1900.—10) Suzuki, Otake и Schimamura. Bioch. Zeit., Bd. 43.—11) А. Г. Ракочи. Очерк учения о витаминах. Докл. в Общ. Вр. при Каз. Ун., 1916.—Новый взгляд в учении о питании. Докл. там же.—12) Ветчал. Значение витаминов для жизни растений. Казань, 1920.—13) Funk u. Archibald, Hoppe-Seiler's Zeit., 1914.—14) Röhmann. Цит. по Реф. Мед. Ж., 1920, № 1.