

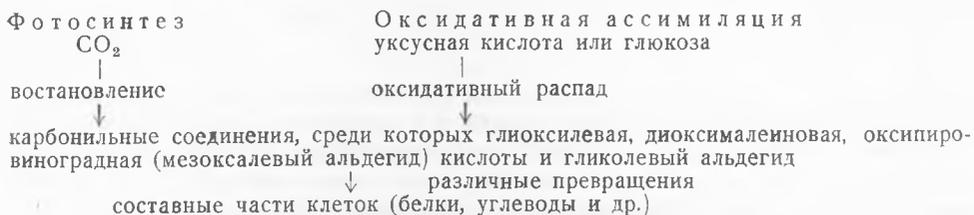
П. А. КОЛЕСНИКОВ

ОБ ОКИСЛЕНИИ ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ В ЗЕЛЕННЫХ КЛЕТКАХ

(Представлено академиком А. И. Опариным 9 IV 1948)

В предыдущих работах ⁽¹⁾ был сообщен ряд фактов, свидетельствующих о том, что при освещении одноклеточных зеленых организмов (хлореллы) образуются карбонильные соединения. Из этих карбонильных соединений были идентифицированы в виде гидразонов глиоксилевая кислота и гликолевый альдегид и обнаружена качественными реакциями диоксималеиновая кислота. Эти же соединения образуются и при оксидативной ассимиляции глюкозы и уксусной кислоты в темноте.

Тогда же было высказано предположение, что вышеуказанные карбонильные соединения могут являться промежуточными продуктами при ассимиляции углекислоты в процессе фотосинтеза, а также промежуточными продуктами при оксидативной ассимиляции глюкозы и уксусной кислоты. Это было изображено следующей схемой



С целью получения дальнейших доказательств высказанного предположения были предприняты новые исследования. В качестве объекта были взяты листья ячменя. Оказалось, что если свежие, зеленые листья ячменя растереть в ступке с очень разбавленной серной кислотой, то в фильтрате после осаждения белков обнаруживается глиоксилевая кислота.

Глиоксилевая кислота определялась по методу Юнга с сотрудниками ⁽²⁾. Метод основан на реакции Шрайвера ⁽³⁾. Шрайвер эту реакцию применял, как он считал, для обнаружения формальдегида, образуемого при освещении хлорофилла, однако Фосс ⁽⁴⁾ показал, что она в такой же степени применима и для обнаружения глиоксилевой кислоты.

Это воспроизведено и нами, но, кроме того, выяснено, что этой реакцией обнаруживается также и оксипировиноградная кислота (альдегид глицериновая кислота), полученная из оксинитроцеллюлозы. Глиоксилевая кислота и оксипировиноградная кислоты осаждаются хлористым кальцием или уксуснокислым свинцом в присутствии аммиака. Оказалось, что соединения, дающие реакцию Шрайвера

в испытуемом нами экстракте из листьев, тоже осаждаются вышеупомянутыми реактивами.

Следовательно, наряду с формальдегидом (если он вообще имеется) в испытуемом экстракте находятся обе или одна из вышеупомянутых кислот. При растирании листьев с водой в экстракте этих соединений не обнаруживается, следовательно, они являются продуктами распада каких-то соединений, образующихся в процессе растирания листьев со слабой кислотой. Однако, если суспензию из растертых с водой листьев подвергнуть освещению в течение нескольких часов, то в экстракте обнаруживаются эти соединения, причем наблюдается частичное исчезновение хлорофилла в экстракте. Такие явления наблюдали Шрайвер (3), Юарт (5), Вагер (6), Остерхаут (7) при освещении пленок хлорофилла.

При дальнейших исследованиях обнаружено, что если к зеленой суспензии из листьев прибавить гликолевую кислоту, то исчезновение хлорофилла и накопление карбонильных соединений значительно ускоряются и имеют место без освещения. Результаты одного из большого числа опытов приводятся в табл. 1.

Таблица 1

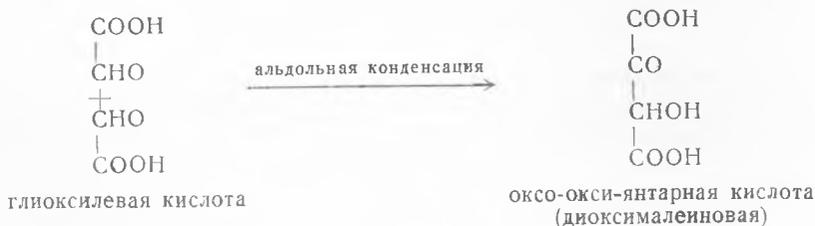
Влияние гликолевой кислоты на превращение хлорофилла и накопление карбонильных соединений

(5 мл суспензии, соответствующие 300 мг листьев; исходное количество хлорофилла 0,420 мг; продолжительность опыта 9) мин.; в приборе Варбурга; pH = 7,0, t = 25° C)

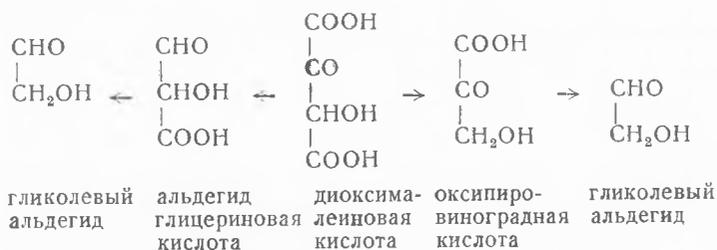
	Поглощено O ₂ в мл	Исчезло хлорофилла		Относительное количество карбонильных соединений
		в мг	в %	
Контроль	19	0,012	—	—
0,01 M гликолевая кислота	214	0,216	60	+
0,01 M гликолевая кислота и 0,001 M гидроксилламин	207	0,291	55	+++

Из табл. 1 видно, что гликолевая кислота увеличивает поглощение кислорода, исчезновение хлорофилла и накопление карбонильных соединений. В специальных опытах с большим количеством суспензии и в присутствии гликолевой кислоты выделена в качестве продуктов окисления в виде *p*-нитрофенилгидразонов глиоксилевая кислота, т. пл. 200°, и гидразон с т. пл. 177—178°, по всей вероятности, гидразон оксипировиноградной кислоты. Эти гидразоны перекристаллизуются путем растворения их в 10% растворе соды и осаждением из щелочного раствора подкислением соляной кислотой. Кроме того, выделен гидразон, не растворимый в соде, с т. пл. 170—180°, характерный для гидразона гликолевого альдегида.

Глиоксилевая кислота может быть продуктом окисления гликолевой кислоты: $\text{CH}_2\text{ONCOOH} + \text{O} = \text{CHCOOH} + \text{H}_2\text{O}$. Два других соединения могут быть продуктами превращения глиоксилевой кислоты, как это обнаружено А. Степановым и А. Кузиным (8) у дрожжей



По Нейбергу ферментативное превращение диоксималеиновой кислоты совершается по следующему пути:



При таком превращении глиоксилевой кислоты мы не должны наблюдать поглощения кислорода. Действительно, в специальных опытах обнаружено, что глиоксилевая кислота исчезает в суспензии и не вызывает добавочного поглощения кислорода по сравнению с опытом без добавления глиоксилевой кислоты. Как промежуточный продукт, должна образовываться диоксималеиновая кислота.

Качественными реакциями, примененными А. Степановым и А. Кузиным в опытах с дрожжами⁽⁸⁾, диоксималеиновая кислота обнаружена нами в экстракте из листьев. Как известно, она очень лабильна и при слабом нагревании распадается. Если экстракт из листьев нагреть на кипящей водяной бане, то он уже не дает реакций на диоксималеиновую кислоту, это подтверждает факт ее нахождения в экстракте.

Эти факты делают вероятным предположение, что в экстракте из листьев имеет место превращение гликолевой кислоты по вышеприведенным схемам. Однако, как было показано, карбонильные соединения образуются в суспензии при освещении и без добавления гликолевой кислоты, поэтому вполне вероятно, что обнаруженные нами карбонильные соединения могут являться и продуктами окисления других веществ, находящихся в суспензии из листьев. Этот вопрос требует дальнейших исследований.

Обнаружено, что гликолевая кислота увеличивает дыхание живых листьев.

Таким образом, в листьях ячменя обнаружены неизвестные до настоящего времени окислительные реакции, а также найдены соединения, которые раньше были нами обнаружены у хлореллы. Высказанные нами раньше предположения о возможной важной роли этих соединений в обмене веществ в зеленых клетках получили дальнейшее подтверждение.

Приношу глубокую благодарность проф. Д. М. Михлину за ценные указания и помощь в работе.

Институт биохимии
им. А. Н. Баха
Академии Наук СССР

Поступило
22 III 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ П. Колесников, ДАН, 27, № 4 (1940); Сб. научных работ комсомольцев-биологов АН СССР, 1940; Диссертация, М., Ин-т биохимии, 1940. ² E. Young, C. MacPherson, H. Wentworth and W. Hawkins, J. Biol. Chem., 152, 245 (1944). ³ S. Schriver, Proc. Roy. Soc., B., 82, 226 (1910). ⁴ R. Fosse et H. Heilli, C. R., 179, 637 (1924). ⁵ A. Ewart, Proc. Roy. Soc., B., 80, 30 (1908). ⁶ H. Wager, ibid., B., 87, 386 (1914). ⁷ W. Osterhaut, Am. J. Bot., 5, 511 (1918). ⁸ А. Степанов и А. Кузин, Журн. Русск. физ.-хим. об-ва, 62, 267 (1930).