

Е. В. БУДНИЦКАЯ

К ВОПРОСУ ОБ ОКСИГЕНАЗНЫХ СВОЙСТВАХ ВЕЩЕСТВ, РОДСТВЕННЫХ ВИТАМИНУ А

(Представлено академиком А. И. Опариным 17 VI 1949)

Выяснение процессов, связанных с биологическим окислением каротина, витамина А и родственных им полиеновых соединений, представляет большой интерес.

Предположение о том, что при ферментативном окислении ненасыщенных соединений возможно образование нестойких перекисей, было впервые высказано А. Н. Бахом (1). Экспериментально установленное участие каротиноидов в окислительных реакциях как неферментативных (2), так и при взаимодействии с ферментами (3) подтвердило это предположение А. Н. Баха.

Оказалось, что каротиноиды могут играть роль оксигеназ, образующих при окислении двойных связей нестойкие перекиси (3).

В работе О. Я. Бородиной (3) показано прямое образование перекиси каротина при его аутооксидации. О. Я. Бородина наблюдала, что при пропускании воздуха при комнатной температуре в раствор каротина в жидком парафине накапливаются перекиси, которые в присутствии пероксидазы из хрена энергично окисляли пирогаллол в пурпурогаллин.

Указание на окисление каротина под влиянием оксидаз картофельного сока (4), а также экспериментальное подтверждение ранее существовавшего мнения о превращении каротина в ксантофилл при окислительно-восстановительных реакциях (5) проливают свет на вопрос об участии каротина в ферментативных окислительных реакциях. В 1944 г. Пепковиц наблюдал также образование перекиси при фотоокислении каротина (6).

Мейтилл и сотрудники нашли, что каротин служит промотором при аутооксидации ненасыщенных жирных кислот, значительно уменьшая период, предшествующий реакции (7).

Таково же действие и витамина А из рыбьего жира. Эйлер нашел, что витамин А ускоряет окисление липоидов печени (8).

Физиологическое действие каротина и образующегося из него витамина А, объясняемое участием этих веществ в биологических окислительных процессах, говорит о важном биологическом значении перекисей каротиноидов.

Однако имеющаяся противоречивость в экспериментальных данных, касающихся участия каротиноидов в окислительных реакциях (9), а также важность выяснения вопроса об оксигеназных свойствах ненасыщенных, обладающих легко окисляющимися сопряженными двойными связями соединений побудила нас обратить внимание на выяснение возможности участия витамина А и родственных ему полиеновых соединений в качестве оксигеназ при ферментативном окислении.

Для изучения кинетики оксигеназного действия мы воспользовались методом, принятым в работе О. Я. Бородиной (3). При исследовании окислительного процесса был использован аппарат Варбурга.

Окисление, как и в опытах Бородиной, проводилось кислородом воздуха при 37° и при улавливании углекислоты 10% раствором КОН в течение 3 час.

Препарат растительной пероксидазы был получен из хрена по Вильштеттеру и очищен на адсорбенте — Сγ. О достаточно высокой активности препарата пероксидазы говорило пероксидазное число, равное 1000. Для опыта брался разбавленный раствор пероксидазы в фосфатном буфере (1 : 40).

В опытах применялся раствор исследуемых соединений в вазелиновом масле, содержащий 1 мг испытуемого вещества в 1 мл. Применение этого растворителя, рекомендованного О. Я. Бородиной (3), облегчает учет конечного продукта окисления — пурпурогаллина. Опыты проводились при постоянном рН — оптимальном для действия пероксидазы (6,9—7,15).

В состав опытной смеси входили: исследуемое вещество, пирогаллол, пероксидаза. Контрольные опыты не содержали исследуемого вещества, часть контрольных опытов проводилась с инактивированным ферментом.

Об оксигеназном действии судили по общему поглощенному кислороду и по количеству образовавшегося пурпурогаллина, определяемого колориметрически в ступенчатом фотометре.

Исследовались оксигеназные свойства следующих полиеновых соединений: цитраля, псевдоионона, β-ионона, гераниола, гераниевой кислоты, витамина А (кристаллического) и витамина А₂, полученного нами синтетически. Все опыты повторялись трижды.

В табл. 1 приведены средние данные опытов.

Таблица 1

Оксигеназные свойства полиеновых соединений, родственных витамину А

Исследуемое вещество	О ₂ , поглощенный за 3 часа, в мм	% пурпурогаллина, образовавшегося за 3 часа
Контроль:		
пирогаллол	34,6	0,009
пирогаллол + пероксидаза	31,8	0,010
Цитраль	95,0	0,009
Псевдоионон	24,0	0,010
β-ионон	29,0	0,010
Гераниол	30,5	0,008
Гераниевая кислота	32,0	0,008
Витамин А (кристаллический)	23,8	0,0108
Витамин А ₂ (синтетический)	18,9	0,015
Перекись водорода (0,1 мг)	134,0	0,118

Как видно из приведенных данных, во всех пробах, как правило, образуется пурпурогаллина и поглощается кислорода то же количество, что и в контрольных опытах (без испытуемого вещества). Только в опыте с витамином А и синтетическим витамином А₂ количество образовавшегося пурпурогаллина несколько выше.

Однако на основании наших данных нельзя говорить об активации молекулярного кислорода витамином А, как это было показано в опытах с каротином.

В случае опыта с цитралем имело место значительное большее, по сравнению с контролем, поглощение кислорода, который шел, очевидно, на окисление самого цитраля, так как реакционная смесь окрасилась в коричневый цвет, количество же пурпурогаллина не изменилось.

Псевдоионон, β -ионон, гераниол и гераниевая кислота в течение опыта не проявили оксигеназных свойств.

В контрольных опытах по окислению одного исследуемого вещества в вазелиновом масле кислород не поглощался за все время опыта. С инактивным ферментом реакция окисления практически не шла.

За помощь в работе выражаю благодарность Т. Н. Проскурниковой и Н. П. Лисовской.

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

Поступило
6 VI 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. Бах и Р. Шода, Ber., **36**, 606 (1903) ² H. Erscher, Helv. Chim. Acta, **15**, 1421 (1932); R. Kuhn u. K. Meyer, Zs. phys. Chem., **185**, 193 (1929). ³ О. Я. Бородина, Биохимия, **4**, в. 3, 356 (1939). ⁴ В. А. Кирсанова, Биохимия, **3**, 191 (1938). ⁵ Д. Сапожников, Биохимия, **2**, 730 (1937). ⁶ L. Perkovitz, Biol. Chem., **155**, 219 (1944). ⁷ H. Matill and oth., Journ. Biol. Chem., **90**, 141 (1931); **91**, 105 (1931); **93**, 59, 65 (1931). ⁸ H. Euler, Zs. phys. Chem., **204**, 168 (1931). ⁹ W. Franke, Lieb. Ann. d. Chem., **498**, 129 (1932); B. Monaghan and F. Schmidt, Journ. Biol. Chem., **96**, 387 (1932); A. Fodor u. K. Schoenfeld, Biochem. Z., **233**, 243 (1931).