

М. А. ТЕР-КАРАПЕТЯН

**О БИОЛОГИЧЕСКОМ ОКИСЛЕНИИ СУЛЬФИДНОЙ СЕРЫ
У ВЫСШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ***(Представлено академиком А. И. Опариным 5 I 1950)*

Сероводород, образующийся в животном организме в виде продукта деградации серосодержащих аминокислот или поступающий в организм через кишечный тракт, легкие и кожу, подвергается в организме определенным изменениям. Он участвует в реакциях восстановления и синтеза и может также дать продукты окисления, в числе которых наиболее известны свободные и эфирные сульфаты.

Окисление сероводорода в сульфат подтверждено рядом работ: посредством введения в организм растворов щелочных сульфидов^(1, 2); путем принятия минеральных вод Сочи—Мацеста⁽³⁾, а в последнее время посредством радиоактивной серы (Na_2S^{35})⁽⁴⁾. Но работы эти не дают точного понятия о промежуточных этапах и активных системах окисления серы в живой клетке.

Окисление сульфидной серы у ряда исследователей изучалось с помощью моделей биологических катализаторов. В работах^(5, 6) манометрическим методом изучалось каталитическое действие тяжелых металлов и геминных соединений на окисление серы. При этом в основном был изучен катализ реакции, $\text{H}_2\text{S} + \text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{S}_2$, но в указанных работах не сообщается никаких данных об образовании других, за исключением сульфата, продуктов окисления сульфидов, т. е. S , $\text{S}_2\text{O}_3^{--}$, SO_3^{--} и др. В работе⁽⁷⁾ изучалось окисление щелочных растворов сульфидов в присутствии иона Cu^{++} , в основном с точки зрения образования сульфита и тиосульфата. В этих последних работах изучались не все продукты окисления и не действительные биологические катализаторы.

С целью изучения биологического окисления сульфидов мы, после установления стандартных условий их окисления в неорганических растворах, перешли к изучению реакций окисления серы в присутствии биологических катализаторов.

Опыты проводились на фосфатном и бикарбонатном буферах. В качестве субстрата добавлялся раствор $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, а в качестве активной системы — кашлица или экстракт различных тканей (печень, почки и др.). Количество сульфатов определялось нефелометрическим путем и бензидином, а сульфиды, сульфиты и тиосульфат — иодометрическим методом и качественными реакциями после осаждения белков гидратом цинка. Хотя во время биологического окисления сульфидов получается ряд продуктов окисления, мы в настоящей работе приводим только результаты, касающиеся сульфата и тиосульфата.

Окисление сульфида в сульфат активными системами, находящимися в печени высших позвоночных.

Таблица 1

Активная система — печень мыши (кашица—500 мг сух. вещ.);
 субстрат — раствор 0,02—0,04 M $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (pH 7,3, температура 38°;
 время инкубации 120 мин.)

Растворы	Атмосфера	Сульфидная сера в γ	Образующая сульфатная сера в γ		
			сульфид	сульфид+ +печень*	сульфид+ +кипяченая печень*
Фосфатный буфер . . .	Воздух	2480	50	240	30
» » . . .	»	2525	45	160	—
» » . . .	Кислород	2455	190	350	140
» » . . .	Азот	2455	0	15	—
» » . . .	»	2580	0	10	—
Рингер	$\text{CO}_2 + \text{O}_2$	1470	160	235	170
»	То же	2945	225	500	245
» (экстракт) . . .	» »	3295	170	275	—

* Общее количество сульфатов минус сульфаты одной ткани без добавления субстрата.

В присутствии тканевых препаратов мышей сероводород окисляется в сульфат, и этот процесс прекращается при нагревании кашицы на кипящей водяной бане. Активная система, производящая реакцию окисления, переходит в различные буферные растворы — фосфатный, бикарбонатный, и в условиях наших опытов окисляет не более 10—15% субстрата.

Образование иодотитруемых продуктов окисления. При инкубации тканевых препаратов с растворами щелочных сульфидов в среде образуется значительное количество иодотитруемых веществ. Табл. 2 показывает результаты наших исследований.

Таблица 2

Активная система — кашица различных тканей мыши; субстрат — раствор 0,04 M $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (температура 38°; атмосфера—воздух; pH 7,3)

Ткань	Сульфидная сера в γ	Время инкубации в мин.	Иодотитруемые вещества после инкубации (мл N/50 J)			
			I. Сульфид	II. Ткань	III. Сульфид+ +ткань	Продукты биол. окисления III — (I+II)
Печень мыши . . .	2525	30	0,09	0,77	1,27	0,41
» » . . .	2525	120	0,34	0,82	2,40	1,24
» » . . .	2635	60	0,17	0,57	2,27	1,53
Почки мыши	2635	60	0,17	0,95	1,87	0,75

Фракционное определение иодотитруемых веществ показало, что незначительная их часть состоит из сульфитов, а большая часть титруется как тиосульфат.

В табл. 3 показаны некоторые результаты биологического образования тиосульфата при тех же экспериментальных условиях, что и в табл. 2.

Нагревание тканевой кашицы на кипящей водяной бане в течение 60 мин. не полностью прекращает окисляющую способность ткани, из чего можно заключить, что активная система сравнительно термостабильна.

Таблица 3

Т к а н ь *	Время инкуба- ции в мин.	Сульфидная сера в γ	Тиосульфатная сера при биологич. окислении в γ
Печень мыши	60	2630	1960
Почки »	60	2630	960
Печень собаки	30	2360	755
Почки »	30	2360	755
Печень кролика (экстракт)	30	2460	640
Печень быка	30	2400	870
Почки »	30	2400	1280
Печень теленка	30	2560	1150
Печень овцы	30	2420	510
Почки »	30	2420	680

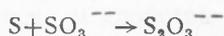
* Кашица тканей суспендировалась в буферном растворе; опыты проводились с тканевыми экстрактами, соответствующими 1 г свежей ткани.

На основании отсутствия иодотитруемых веществ и осадка серы, Смайдом⁽⁸⁾ было высказано предположение о невозможности образования тиосульфата во время инкубации тканевых препаратов в присутствии сульфидов. Наши исследования показали, что при тех же условиях в фильтрах гидрата окиси цинка получается значительное количество иодотитруемых веществ. В этих фильтрах наличие тиосульфата можно доказать качественными реакциями образования серебрянокислого тиосульфата и осаждением серы по методу Салковского.

Результаты эти подтвердились еще и тем, что иодотитруемые вещества во время инкубации образуются не за счет других восстанавливающихся веществ тканей, а за счет субстрата, сера которого окисляется благодаря молекулярному кислороду⁽⁹⁾.

В последние годы некоторыми авторами была выдвинута гипотеза образования тиосульфата как промежуточного продукта распада серусодержащих аминокислот в животном организме. Медес⁽¹⁰⁾ предполагает, что тиосульфат образуется в результате освобождения от цистеинсульфиновой кислоты, сульфоксиловой кислоты и соединения двух молекул последней без перехода через H_2S . Гипотеза эта не проверялась на биологическом материале, и поэтому принять ее окончательно нельзя; даже в случае экспериментального подтверждения не исключается возможность образования тиосульфата через сероводород.

Можно выдвинуть также гипотезу образования тиосульфата двумя последовательными реакциями:



но и эта схема экспериментально еще не доказана.

Наконец, Фромажо⁽¹¹⁾ выдвигает гипотезу окисления H_2S в сульфат через тиосульфат, основываясь на опытах Шеберля⁽⁷⁾, проведенных без биокатализаторов и при очень высоких значениях рН, не соответствующих условиям окисления в живой клетке. Но ранее гипотеза эта была выдвинута нами^(12, 9) и подтверждена рядом экспериментальных фактов при изучении особенностей активной системы и кинетики биологического окисления серы. Нами^(13, 14) был доказан ферментативный характер этого процесса, и система, окисляющая сульфид в тиосульфат, была названа сульфидооксидазной системой.

У высших позвоночных нашими экспериментами установлено следующее:

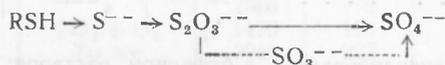
1. Обнаружена ферментная система, окисляющая сульфиды в сульфат. Сероводород, образуясь из серосодержащих аминокислот, является промежуточным звеном в процессе перехода из серы в сульфат.

2. Обнаружена ферментная система, окисляющая сульфиды в тиосульфат.

3. Совокупность экспериментальных данных (Пири⁽¹⁵⁾ и наших) дает основание заключить, что образование сульфатов из сульфидов может происходить через тиосульфат.

4. При биологическом окислении сероводорода были найдены также другие продукты окисления, как, например, S , SO_3^{--} и др., место которых в цепи окисления серы в сульфаты пока еще не выяснено.

5. Можно считать, что окисление серы в организме происходит по схеме



которая является обратным процессом реакции восстановления сульфатов при помощи сульфаторедуцирующих бактерий⁽¹⁶⁾.

6. Из наших опытов можно заключить, что сера органических соединений не обязательно связывается с кислородом в молекуле органического вещества, как это считалось до сих пор, но может происходить и после отщепления серы из этой молекулы в виде сероводорода.

Институт животноводства
Министерства сельского хозяйства Арм.ССР

Поступило
19 X 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. W. Haggard, Journ. Biol. Chem., 49, 519 (1921). ² W. Denis and L. Reed, *ibid.*, 72, 385 (1927). ³ В. И. Ойвин и А. С. Сапина, цит. по Чиликину. Центр. санат. Красной Армии им. Ворошилова, Сборн. тр., 4, 41 (1941). ⁴ D. D. Dzewiatowski, Journ. Biol. Chem., 161, 723 (1945). ⁵ H. A. Krebs, Biochem. Zs., 204, 340, 343 (1929). ⁶ F. Haurowitz, Enzymol., 10, 141 (1941). ⁷ A. Schöberl, Lieb. Ann., 567, 111 (1933). ⁸ C. V. Smythe, Arch. Biochem., 2, 259 (1943). ⁹ М. А. Тер-Карапетян, Доклады АН Арм.ССР, 10 (4), 173 (1949). ¹⁰ G. Medes and N. Floyd, Biochem. Journ., 36, 259 (1942). ¹¹ Cl. Fromageot, Adv. Enzymol., 7, 369 (1947). ¹² М. А. Дер-Гарабедян, С. R. Soc. Biol., 138, 399, 445, 823 (1944). ¹³ М. А. Дер-Гарабедян, С. R., 220, 373 (1945). ¹⁴ М. А. Тер-Карапетян, Тезисы докл. I-го Закавказск. съезда физиол., биохим. и фармак., М., 1948, стр. 153. ¹⁵ N. W. Pirie, Biochem. Journ., 28, 1063 (1934). ¹⁶ Л. Г. Даниличенко и Н. Н. Чигирин, Тр. Особ. биол. лабор. и Севастопольск. биол. станц. АН СССР, сер. 2 (5—10), 191 (1926).