

С. Д. БАЛАХОВСКИЙ и Н. А. ТРОИЦКАЯ

О ВОЗМОЖНОМ АКТИВИРОВАНИИ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА ВИТАМИНОМ А И БЛИЗКИМИ ЕМУ СОЕДИНЕНИЯМИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 25 XI 1951)

Вопрос о том, какое значение имеют перекиси, образующиеся в организме во время процессов обмена, и о том, как они используются, давно привлекает внимание исследователей. Согласно перекисной теории окисления А. Н. Баха, образующиеся органические перекиси играют важную роль в процессах дыхания ⁽¹⁾.

Образование перекиси рассматривается как процесс, при помощи которого происходит активация кислорода. В свою очередь, кислород перекиси активируется ферментом пероксидазой, которая переносит кислород перекиси на субстрат.

В предыдущем сообщении ⁽²⁾ мы показали, что некоторые полиены могут активировать молекулярный кислород. В настоящем сообщении исследуется вопрос о способности полиеновых соединений активировать кислород перекиси водорода.

Как показывают описываемые ниже опыты, активировать кислород перекиси водорода может не только фермент пероксидаза, но также и ряд полиеновых соединений, к числу которых принадлежит витамин А, цитраль и другие вещества, близкие к витамину А.

Опыты ставились следующим образом: субстратом служил индигосульфоновокислый калий в 0,001 М растворе, который обесцвечивался при окислении. В стаканчике или пробирке смешивали раствор субстрата с раствором цитраля или коллоидным раствором высокоактивного концентрата витамина А, содержащим более 30% витамина. Рассчитывались эти растворы по количеству и. е., определяемых при помощи реакции с трихлористой сурьмой.

Коллоидный раствор готовился из спирта, после чего спирт удалялся пропусканием водяного пара в бескислородной среде. Растворы цитраля готовились длительным взбалтыванием цитраля с водой, нагретой до

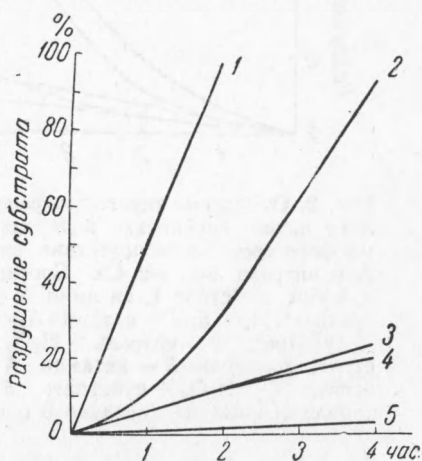


Рис. 1. Действие витамина А и цитраля на окисление индигосульфоновокислого калия перекисью водорода при рН 4,5. Соотношения в молях: субстрат 1, витамин А 1, цитраль 2, H_2O_2 500; 1 — субстрат + витамин А + перекись, 2 — субстрат + цитраль + перекись. Контроли: 3 — витамин А + субстрат, 4 — цитраль + субстрат, 5 — перекись + субстрат (среднее 5 опытов)

100°, с последующим фильтрованием. Концентрация полученного таким образом раствора может доходить до 220 мг%.

Концентрация эта устанавливалась либо спектрофотометрически, либо по бензидиновой реакции, предложенной и разработанной у нас в лаборатории Н. А. Троицкой.

К смеси субстрата с витамином или цитралем прибавляли буфер и перекись водорода. Параллельно ставились контроли — без витамина и без цитраля. Смеси помещались в вакуум-эксикатор; воздух из него эвакуировался, эксикатор заполнялся азотом и ставился в термостат при температуре 37°. Мерилом степени окисления служило обесцвечивание субстрата, которое измерялось колориметрически.

Как показывают опыты, представленные на рис. 1, в присутствии витамина А окисление индигосульфоновокислого калия перекисью водорода протекает значительно быстрее, чем в отсутствие его. При взятых здесь соотношениях витамин А ускоряет окисление приблизительно в 9 раз. Цитраль тоже ускоряет окисление по сравнению с контролем, но слабее, чем витамин А.

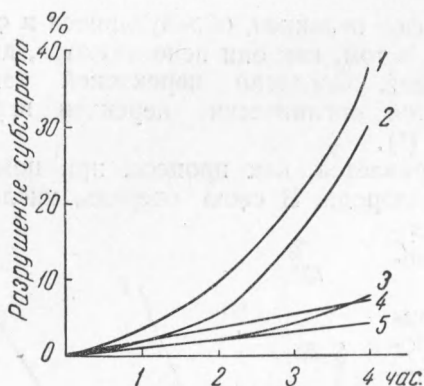


Рис. 2. Окисление индигосульфоновокислого калия перекисью водорода в атмосфере азота в присутствии витамина А и цитраля при pH 4,5. Соотношения в молях: субстрат 1, витамин А 0,1, цитраль 0,1, H_2O_2 5; 1 — витамин А + H_2O_2 + субстрат; 2 — цитраль + H_2O_2 + субстрат; контроли: 3 — витамин А + субстрат, 4 — H_2O_2 + субстрат; 5 — цитраль + субстрат (среднее 3 опытов)

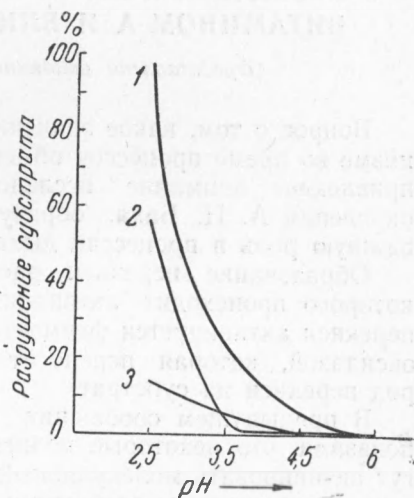


Рис. 3. Влияние pH на активацию кислорода перекиси витамином А в атмосфере азота. Продолжительность наблюдения 2 часа. Соотношения в молях: субстрат 1, витамин А 1, перекись водорода 5; 1 — витамин А + H_2O_2 + субстрат, 2 — субстрат + H_2O_2 , 3 — субстрат + витамин А

Такого рода опыты были повторены, но при других взаимоотношениях между компонентами: на 1 моль субстрата взято лишь 5 мол. перекиси и 0,1 моля активатора. В этих условиях, как и следовало ожидать, реакция протекает медленнее и активация менее значительна.

Тот факт, что в контроле прибавление витамина А или цитраля в бескислородной среде и в отсутствие перекиси водорода все же вызывало некоторое небольшое окисление индигосульфоновокислого калия, объясняется тем, что в растворах этих веществ успели образоваться следы органической перекиси (см. рис. 2).

В другой серии опытов мы попытались выяснить влияние pH на описываемую нами активацию перекиси водорода. В этих опытах контролем являлась смесь субстрата с раствором витамина и субстрата с раствором перекиси, а основным опытом — смесь субстрата с перекисью и витамином. Смеси эти при помощи буферов доводились до разных pH и ставились в термостат при 37°, после чего фотометрировались.

Опыт, представленный на рис. 3, показывает большое влияние реакции среды на описываемую активацию.

Каков же механизм, наблюдаемый в вышеприведенных опытах активации перекиси водорода полиенами? Наиболее простым объяснением будет допущение, согласно которому под влиянием действия неорганической перекиси на полиен образуется органическая перекись, более активная для некоторых субстратов, нежели перекись водорода. Против этого предположения есть, однако, возражение: в опытах с другими субстратами полиены могут вести себя и как отрицательные катализаторы окисления.

В связи с этим вопросом возникает и другой вопрос: с какой частью молекулы связана активация перекиси? Предварительными опытами, проведенными с Е. В. Воскресенской, было установлено, что гидроксильная группа в некоторой, правда слабой, степени может оказывать активирующее влияние на окисление перекисью водорода. В ряде же других опытов, проведенных одним из нас с Н. Н. Дроздовой, удалось показать, что некоторые, не содержащие кислорода полиены, как, например, каротин, обладают в высокой степени способностью активировать окисление индигосульфоновокислого калия перекисью водорода.

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

Поступило
20 X 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. Н. Бах, ЖРФХО, 44, № 1—2 (1912). ² Н. А. Троицкая и С. Д. Балаховский, ДАН, 82, № 1 (1952).