

Н. А. ТРОИЦКАЯ и С. Д. БАЛАХОВСКИЙ

**О ВОЗМОЖНОМ АКТИВИРОВАНИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО
КИСЛОРОДА ВИТАМИНОМ А И БЛИЗКИМИ К НЕМУ
ВЕЩЕСТВАМИ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 2 XI 1951)

Среди большого числа гипотез, предложенных для объяснения действия витамина А, особый интерес представляют предположения о роли его в качестве катализатора окислительных процессов. Такого рода предположения высказывали А. Н. Бах и ряд других исследователей. На основании опытов, в которых субстратом служил пирогаллол, а каротин брался растворенным в вазелиновом масле, О. Н. Бородина⁽¹⁾ пришла к убеждению, что каротин может играть роль оксигеназы в пероксидазной системе. В нашей лаборатории Е. В. Будницкая⁽²⁾ поставила аналогичные опыты, заменив каротин витамином А и рядом веществ, близких к нему или к продуктам его распада. Однако в условиях этих опытов оксигеназного действия обнаружить не удалось.

Поскольку при обычных условиях в моче витамина А не обнаруживается, естественно предположить, что в организме он испытывает значительные превращения. Такое допущение подтверждается исследованиями Г. В. Троицкого, обнаружившего в животном организме «хромогены 420 и 570», являющиеся продуктами окисления витамина А⁽³⁾, равно как и обнаружением в моче беременных кобыл гидрированных производных α -иона⁽⁴⁾.

Для выяснения вопроса о том, какую физиологическую роль может играть в организме витамин А и продукты его распада, существенное значение имеет исследование химических и биологических свойств названных веществ или веществ, близко им родственных. В нашей лаборатории уже раньше производились такого рода исследования, в результате которых были обнаружены аналгетические, противогистаминные, противовоспалительные, антиаллергические, антисимпатомиметические и другие ценные свойства ряда таких соединений⁽⁵⁻⁸⁾. Упомянутые исследования привели к широкому внедрению цитраля и водно-коллоидного каротина в медицинскую практику.

В настоящем сообщении излагаются опыты, поставленные для изучения способности витамина А, цитраля и цитронеллала, гераниола, β -иона и метилиона активировать окисление молекулярным кислородом. В отличие от ранее упомянутых опытов Е. В. Будницкой и опытов О. Н. Бородиной, настоящее исследование проводилось в водной среде. В качестве субстрата служил индигосульфоновокислый калий в 0,001 М растворе, исследуемые же вещества брались в виде водно-коллоидных растворов в различных концентрациях. Опыты ставились либо в атмосфере воздуха, либо в атмосфере чистого кислорода. Контрольные опыты ставились двойного рода: в одних раствор исследуемого

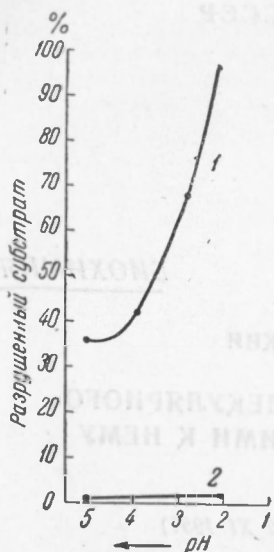


Рис. 1. Влияние pH на окисление индигосульфоновокислого калия (1 моль) кислородом воздуха в присутствии витамина А (1 моль). Длительность опыта 24 часа. 1 — в присутствии витамина А, 2 — контроль

следовании способности цитраля, цитронеллала, ионана, метилиона и гераниола активировать окисление того же субстрата кислородом воздуха (см. рис. 2). Как и в случае с витамином А, активация тем сильнее, чем выше концентрация водородных ионов. Резкий перелом кривой наблюдается в зоне между pH 4 и pH 5.

Влияние концентрации активатора на быстроту окисления индигосульфоновокислого калия кислородом воздуха. Как и в случае с витамином А, дуемые вещества проявляют тем более значительное действие, чем концентрация их выше. Это иллюстрируется опытом, представленным в виде диаграммы на рис. 3, где на 1 моль субстрата приходится от 1 до 10 мол. активатора.

Влияние температуры на скорость окисления исследовалось при кислых pH в пределах от 20 до 80°. Скорость реакции с повышением температуры равномерно возрастала в присутствии гераниола, цитраля и цитронеллала. В присутствии метилиона и цитронеллала наибольшая скорость реакции была достигнута при 65°.

вещества заменялся водой, в других же проверочных опытах кислород или воздух заменялись углекислотой. О степени окисления судили по обесцвечиванию субстрата, которое измерялось фотометрически. Наличие перекиси в растворе определялось реактивом Кана (9), позволяющим обнаружить до 0,5 γ перекиси в 1 мл жидкости. Наши опыты показали, что исследуемые вещества обладают способностью ускорять окисление субстрата кислородом воздуха, причем быстрота окисления зависит от ряда факторов.

Влияние pH на окисление индигосульфоновокислого калия кислородом воздуха. Как известно, это окисление в нейтральном растворе протекает очень медленно. Однако в присутствии витамина А скорость окисления становится, по нашим данным, легко измеримой, причем (см. опыты, приведенные на рис. 1) скорость окисления возрастает с увеличением концентрации водородных ионов. Так например, при pH 5 за 24 часа окислилось 35% субстрата, а при pH 2,2 98% субстрата. В то же время в контроле (без витамина А) обнаруживается лишь незначительное окисление, близкое к ошибке опыта.

Аналогичные результаты получены при ис-

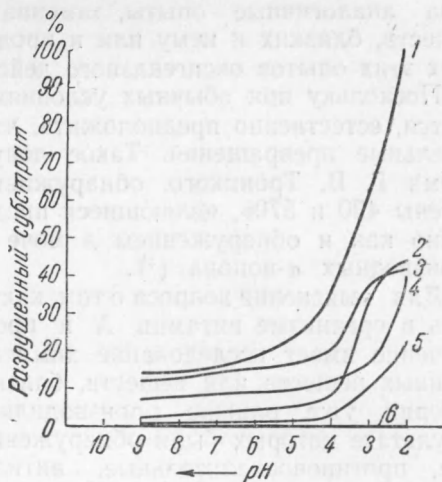


Рис. 2. Окисление индигосульфоновокислого калия кислородом воздуха в присутствии веществ, близких витамину А (при разных pH). Исследуемого вещества 10 мол., субстрата 1 моль. 1 — цитронеллаль, 2 — цитраль, 3 — β-ион, 4 — метилион, 5 — гераниол. 6 — контроль (субстрат + буфер — без изменений)

Окисление в атмосфере чистого кислорода. При рассмотрении вышеприведенных результатов мог возникнуть вопрос, не определяются ли они какой-нибудь не окислительной реакцией между субстратом и активатором, при которой наступает обесцвечивание индиго.

Чтобы разрешить этот вопрос, были поставлены опыты в атмосфере чистого кислорода; при контрольных опытах атмосфера кислорода была заменена атмосферой углекислоты. Один из таких опытов приведен на рис. 4, А. В то время как в атмосфере углекислоты окисление вовсе не идет, в атмосфере кислорода оно протекает очень активно. В этом опыте 1 моль цитраля приходится на 10 мол. субстрата. Можно подсчитать, что за 4 часа при рН 2,2 на 1 моль цитраля приходится 2,5 мол. субстрата. Поскольку для обесцвечивания 1 мол. индиго необходимо несколько атомов кислорода, настоящий опыт можно рассматривать как убедительный аргумент в пользу того, что цитраль активирует именно окислительную реакцию, причем 1 мол. цитраля или витамина А переносит несколько атомов молекулярного кислорода на субстрат.

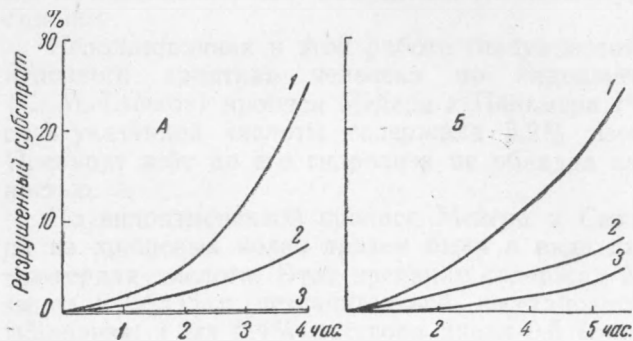


Рис. 4. А — окисление индигосульфоновокислого калия (10 мол.) в атмосфере кислорода в присутствии цитраля (1 моль). 1 — рН 2,2. 2 — рН 3,8. 3 — контроль. Б — окисление индигосульфоновокислого калия (1 мол.) в присутствии витамина А (1 моль) и цитраля (1 моль) в атмосфере кислорода при рН 4,5. 1 — витамин А, 2 — цитраль, 3 — контроль (субстрат в атмосфере кислорода при том же рН)

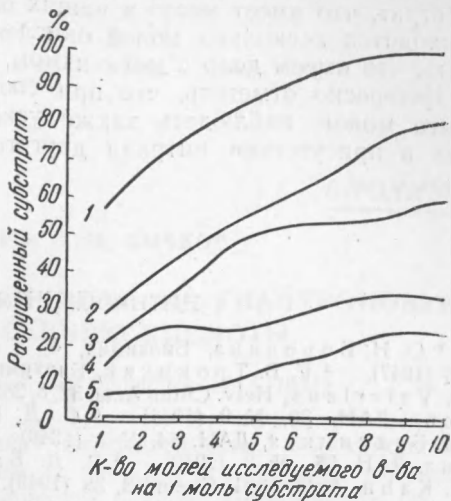


Рис. 3. Влияние концентрации исследуемых веществ (1—10 мол.) на быстроту окисления 1 моля субстрата. рН 2,8. Время наблюдения 3 часа. 1 — цитронеллаль, 2 — метилуион, 3 — β -ион, 4 — гераниол, 5 — цитраль, 6 — контроль (без изменений)

При рН 4,5 были произведены опыты сравнительного действия витамина А и цитраля. В одном из таких опытов, изображенном на рис. 4, Б, мы видим, что 1 моль витамина А способствует окислению кислородом 2,4 моля индигосульфоновокислого калия за 5,5 час. В тот же самый промежуток времени в контрольном опыте окисление шло приблизительно в 10 раз медленнее.

Таким образом, из вышесказанного следует, что как витамин А, так и ряд близких ему веществ обладают способностью активировать молекулярный кислород. Каков же механизм этой активации? Об этом можно пока высказывать только гипотезы. Наиболее вероятной из них будет предположение, согласно которому исследуемые вещества образуют с кислородом перекиси, которые в свою очередь отдают свой кислород субстрату. Как уже

говорилось выше, наличие перекисей в некоторых случаях удалось установить; если молекула перекиси, отдав свой кислород субстрату, вновь окисляется за счет молекулярного кислорода и продолжает окислять субстрат, что имеет место в наших опытах, когда на 1 моль активатора приходится несколько молей окисленного субстрата, мы можем допустить, что имеем дело с механизмом, напоминающим оксигеназный.

Интересно отметить, что при соответственно подобранных условиях опыта можно наблюдать также ускорение окисления кислородом воздуха в присутствии цитраля другого субстрата — пирогаллала.

Поступило
20 X 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ О. Н. Бородина, Биохимия, 4, 3 (1939). ² Е. В. Будницкая, ДАН, 67, № 5 (1947). ³ Г. В. Троицкий, Биохимия, № 1 (1941); № 1 (1948). ⁴ V. Prelog и В. Vaterlaus, Helv. Chim. Acta, 32, 6, 282 (1949). ⁵ М. Л. Рохлина и А. А. Борова, ДАН, 30, № 9 (1941). ⁶ С. Д. Балаховский, В. В. Бородагов и Е. В. Будницкая, ДАН, 54, № 3 (1946). ⁷ С. Д. Балаховский и Д. Е. Рывкина, ДАН, 65, № 3 (1949). ⁸ С. Д. Балаховский, Клин. мед., № 2 (1941). ⁹ М. Kahn, Acta Anal. Chem., 3, 38 (1949).