

М. А. Тер-Карапетян, чл.-корресп. АН Армянской ССР

О ферментативной природе образования тиосульфата у высших позвоночных

(Представлено 30 V 1949)

Появление тиосульфата в обмене веществ у высших позвоночных является процессом давно известным (Шмидеберг, Мейсснер, Блюм, Салковский, Вольгемут). Однако, до настоящего времени не имеется объяснения механизма его образования.

Имея целью с одной стороны — изучить возникновение тиосульфата в общих рамках биологического окисления серы, с другой — разъяснить элементарные реакции, ведущие к образованию различных кислородных соединений серы, мы сделали попытку осуществить это изучение при помощи свежих препаратов животных тканей (вытяжек, срезов, кашиц) и субстрата сернистого натрия ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), роль которого в образовании сульфатов хорошо известна.

В настоящей работе изложены некоторые результаты проведенных нами исследований (1-4).

Методика экспериментов та же, которая была описана нами раньше (1,2).

В процессе биологического окисления *in-vitro* растворов щелочных сульфидов, 10—15% серы субстрата окисляются в SO_4^- , а значительно большая часть — в титруемое иодом вещество.

В таблице 1 приведены результаты некоторых из наших опытов.

В таких условиях прежде всего необходимо установить природу редуцирующего вещества, а затем доказать, что оно является продуктом окисления субстрата, а не продуктом редукции веществ, находящихся в тканях (S — S и др.), превращенных в восстановительную группу (SH) под действием H_2S .

а) Фракционное титрование фильтратов иодометрическим путем показало нам, что большая часть восстановительного вещества, возникающего в процессе инкубации тканевых препаратов в присутствии сульфидов, могла быть тиосульфатом, а очень небольшая часть — сульфитом; возможность же наличия гидросульфита отвергается тем фактом, что восстановительное вещество, находясь под действием

света и воздуха в течение нескольких дней, не претерпевает заметного окисления.

Таблица 1

Фосфатный буфер = М/15; рН = 7,2; T° = 38° С; атмосфера = воздух; субстрат = раствор Na ₂ S · 9 H ₂ O — 0,04 м							Тиосульфатная сера
Активная система	Субстрат	Время инку- бации	Иодитруемые вещества: Иод N/50				
			(Na ₂ S)	Активная система	Na ₂ S + Активная система	Биолог. окисление 3 — (1 + 2)	
	(γ)	(мин.)	(мл) 1	(мл) 2	(мл) 3	(мл) 4	(γ) 5
Печень крысы (кашица) . . .	2630	60	0,17	0,57	2,27	1,53	1950
Почка крысы (кашица) . . .	2630	60	0,17	0,95	1,87	0,75	1180
Вытяжка из пе- чени крысы . . .	2400	30	0,10	0,37	1,60	1,22	1410
Вытяжка из пе- чени барана . . .	2420	30	0,12	0,25	0,77	0,40	510
Вытяжка из почки быка . . .	2420	30	0,12	0,40	1,05	0,53	680

С другой стороны, наличие тиосульфата подтверждается реакцией серебряного тиосульфата и осаждением серы путем окисления, согласно техники перемещения паром по Салковскому⁽⁸⁾. Колонна 5 табл. 1 показывает, что тиосульфат представляет собою редуцирующее вещество, образовавшееся в процессе биологического окисления сульфидов.

Таблица 2

Вытяжка из печени собаки в фосфатном буфере = М/15; рН = 7,2; T° = 38°С; атмосфера = воздух; субстрат = раствор Na ₂ S · 9 H ₂ O — 0,04 м								
	Общий азот в см ³	Субстрат S (Na ₂ S)	Иод N/50				Тиосульфат- ная сера	Q S ₂ O ₃
			S (Na ₂ S)	Активная система	Активная система	Биологиче- ское окис- ление		
	(γ)	(γ)	(мл)	(мл)	(мл)	(мл)	(γ)	
Вытяжка	620	2400	0,08	0,53	1,36	0,75	960	34
Вытяжка без бел- ков	67	2400	0,08	0,12	0,71	0,51	655	196
Осадок (белков)	—	2400	0,08	0,46	0,58	0,04	50	—

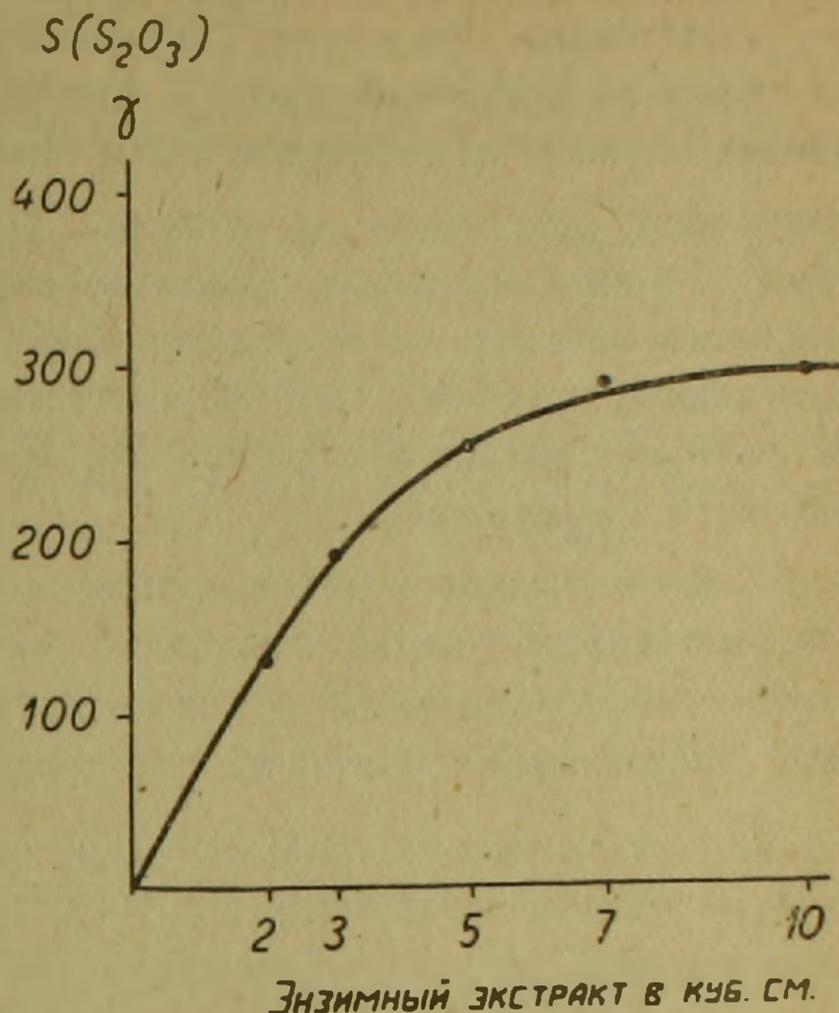
Q S₂O₃ = количество серы тиосульфата на 1 мг азота экстракта.

б) Титруемое иодом вещество должно рассматриваться как продукт окисления сульфидов, а не как продукт восстановления активной системы (SH и др.), по следующим причинам:

Вещества типа RSH и RS — SR (глутатион, цистин, цистеин) не дают реакции серебряного тиосульфата.

Удаление большей части тканевых протеинов из вытяжек путем фракционного осаждения очень незначительно снижает их окисляющее действие, как это видно из таблицы 2 (на стр. 174).

Если бы титруемость иодом зависела от редуцирующих групп, образующихся в самом препарате, то количество редуцирующих веществ увеличилось бы в соответствии с увеличением количества препарата, согласно линейной функции. Опыт же показывает, что в данном случае мы имеем, наоборот, логарифмическую кривую, известную в

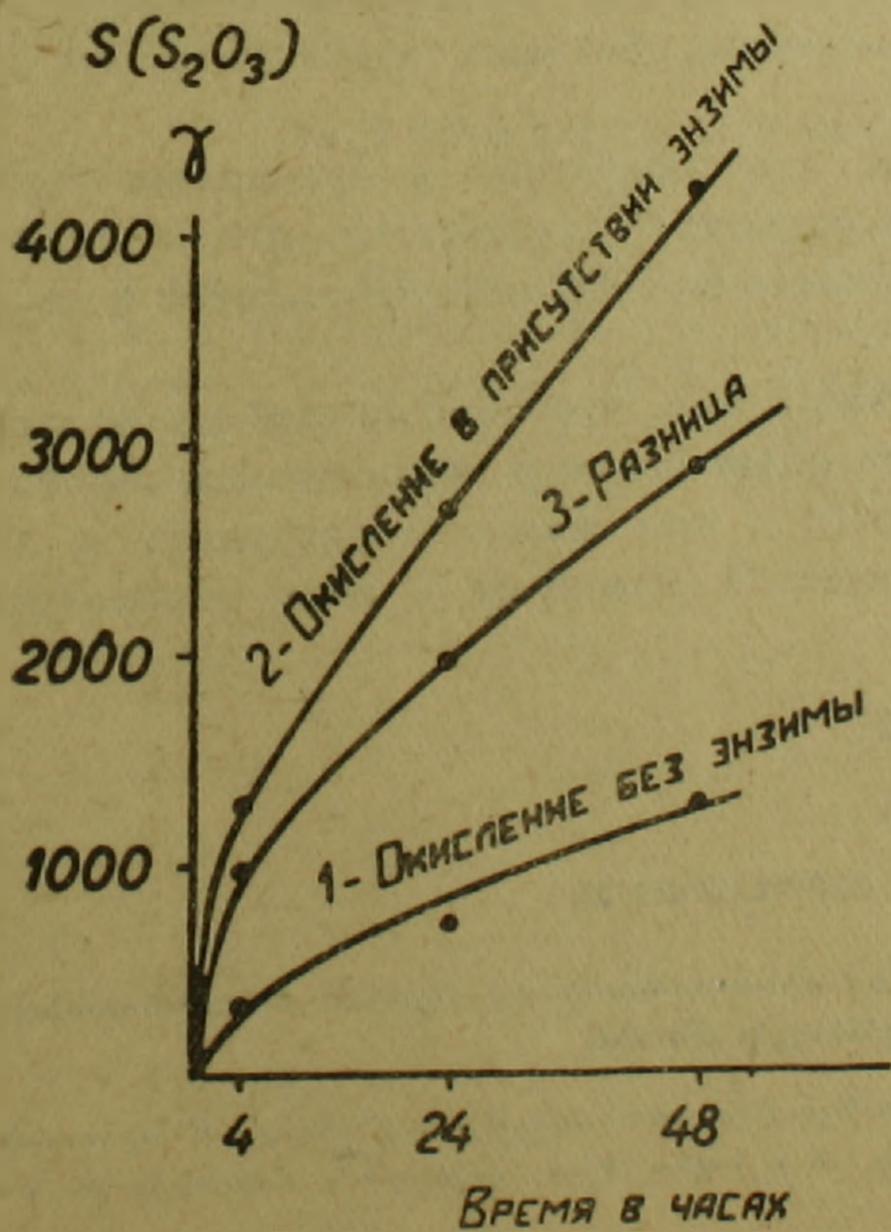


Фиг. 1.

области энзимологии (фигура 1). С другой стороны, в присутствии самого малого количества активной системы и излишка сульфидов количество восстановительного вещества прямо пропорционально времени инкубации (фигура 2). Следовательно, редуцирующее вещество образуется не за счет ткани, а за счет субстрата.

По вопросу этапов образования тиосульфата высших позвоночных имеются две основные теории:

1. Согласно гипотезе Медеса (5), тиосульфат образуется путем отщепления сульфоксидовой

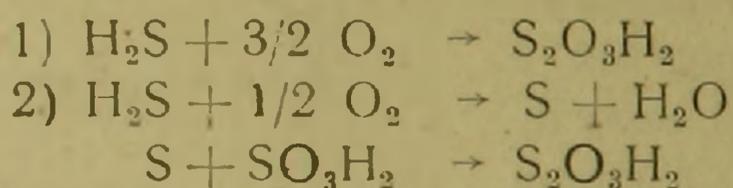


Фиг. 2.

кислоты от цистеинсульфиновой кислоты, которая в свою очередь превращается в тиосульфат. Однако, гипотеза эта до настоящего времени не получила экспериментального подтверждения.

2. Прохождение через сероводород. В противовес сказанному, мы стоим на той точке зрения, что сероводород может быть промежуточным этапом, приводящим серу органической молекулы в состояние тиосульфата. Легкость, с каковой H_2S окисляется в $S_2O_3^{2-}$ в присутствии биокатализаторов, исчезновение в процессе биологического окисления некоторого количества H_2S , аналогичного образовавшемуся тиосульфату, наличие H_2S в качестве естественного субстрата — все эти реакции позволяют допустить, что здесь имеется путь физиологического прохождения.

Хотя в процессе наших работ нами и были выявлены следы SO_2 и коллоидальная сера, высказать определенное мнение по вопросу о механизме окисления сульфидов, могущих быть представленными в настоящее время одной из следующих общих реакций:



не представляется возможным.

Результаты наших экспериментальных работ позволяют сделать следующие выводы:

1. Инкубация растворов щелочных сульфидов в присутствии кашицы из органов вызывает появление в среде значительного количества титрующегося иодом вещества, большая часть которого представляет собою тиосульфат.

2. Считая установленным, что тиосульфат в препаратах органов в свою очередь окисляется в сульфат^(1,7), можно сделать вывод, что мы имеем дело с новым механизмом образования сульфатов у высших позвоночных.

3. Наконец, мы можем заключить, что образование сульфатов не требует связывания кислорода обязательно с органической серой, как это было принято до сих пор^(5,6): оно может происходить и после освобождения серы из органической молекулы в виде сероводорода.

Институт животноводства
Академии Наук Армянской ССР
Ереван, 1949, апрель.

Մ. Ա. ՏԵՐ-ՎԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

**Բարձր ոգնաօրգանոսների մոտ իրոսուլֆատի գոյացման ճեղքնեօաթիվ
բնույթի մասին**

Բարձր ոգնաշարավորների մոտ նյութափոխանակության ընթացքում տիրոսուլֆատի առաջացումը հայտնի պրոցես է, բայց և այնպես նրա գոյացման մեխանիզմի մասին մինչև օրս չկա բացատրություն:

Նպատակ ունենալով, մի կողմից՝ ուսումնասիրել տիոսուլֆատի գոյացումը ծծմբի բիոլոգիական օքսիդացման ընդհանուր շրջանակի մեջ, մյուս կողմից՝ պարզարանել էլեմենտար սեպիդիաները, որոնք տանում են ծծմբի թթվածնային տարրեր միացությունների գոյացմանը, մենք փորձեցինք այս ուսումնասիրությունն իրագործել կենդանի հյուսվածքների թարմ պրեպարատների (քամվածք, ճզմվածք և այլն) օգնությամբ:

Էքսպերիմենտների մեթոդիկան նույնն է, ինչ որ առաջ նկարագրված է եղել մեր կողմից:

Հետազոտությունների ընթացքում պարզվել է, որ հիմքային սուլֆիդների ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) օքսիդացման պրոցեսում, ծծմբի 10—15 տոկոսը օքսիդանում է սուլֆատի, իսկ կարևորագույն մասը յոգով տիտրվող նյութերի:

Այս պայմաններում հարկավոր է հաստատել սեպուկցող նյութերի բնույթը և այնուհետև ապացուցել, որ նրանք հանդիսանում են սուբստրատի օքսիդացման պրոդուկտ և ոչ թե հյուսվածքներում գտնվող RSSR և նման նյութերի վերականգնման պրոդուկտ, որոնք H_2S -ի ազդեցության տակ վեր են ածվում սեպուկցող խմբերի (RSH):

Յոգումետրիկ եղանակով ֆիլտրատի ֆրակցիոն որոշումները ցույց տվին, որ սեպուկցող նյութերի մեծ մասը հանդիսանում է տիոսուլֆատ, իսկ շատ շնչին մասը՝ սուլֆիտ (SO_3^{2-}): Փորձերով ապացուցվեց նույնպես, որ յոգով տիտրվող նյութերը պետք է դիտվեն որպես սուլֆիդներ օքսիդացման պրոդուկտ և ոչ ակտիվ սիստեմի RSSR և այլ խմբերի վերականգնման պրոդուկտ:

Մեր էքսպերիմենտալ աշխատանքները բերում են հետևյալ եզրակացություններին.

1. Օրգաններից պատրաստված ճզմվածքների ներկայությամբ հիմնային սուլֆիդների լուծույթների ինկուբացիան միջավայրում առաջացնում է յոգով տիտրվող նյութերի զգալի քանակ, որի մեծ մասը տիոսուլֆատ է:

2. Հաստատված համարելով, որ օրգանների պրեպարատներում տիոսուլֆատն իր հերթին օքսիդանում է սուլֆատի, կարելի է հետևություն անել, որ բարձր ողնաշարավորների մոտ գործ ունենք սուլֆատի գոյացման նոր մեխանիզմի հետ:

3. Վերջապես, կարելի է եզրակացնել, որ սուլֆատները գոյացումը չի պահանջում թթվածնի միացումն անպայման օրգանական ծծմբի հետ, ինչպես ընդունված էր մինչև օրս, այլ նա կարող է կատարվել և օրգանական մոլեկուլից ծծմբի անջատումից հետո՝ ծծմբաջրածնի ձևի տակ:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. M. A. Der Garabedian. Dissert. Doct. Sc. Nat. Paris, 1944.
2. M. A. Der Garabedian. C. R. Soc. Biol. **138**, 399, 1944.
3. M. A. Der Garabedian. C. R. Acad. Sc., **220**, 373, 1945.
4. M. A. Тер-Каранетян. Тезисы докладов I Закавказского съезда физиологов, биохимиков и фармакологов, 158—161, Москва, 1948.
5. G. Medes a. N. Floyd. Biochem. J., **36**, 259, 1942.
6. N. W. Pirie. Biochem. J., **28**, 305, 1934.
7. N. W. Pirie. Biochem. J., **28**, 1063, 1934.
8. E. Salkowski. Pflüger's, Arch. **39**, 1209, 1886.