

44. Πρὸς Demidoff εἰς Φλωρεντίαν, ἐξ Ἀγκῶνος 27 Νοεμβ./9 Δεκεμβ. γαλλιστί.
 45. Πρὸς πανοσιώτατον Χρυσάνθον Κονοφάον, διάκονον τῆς ἐκκλησίας τῆς Trieste, ἐξ Ἀγκῶνος 30 Νοεμβ./12 Δεκεμβ. ἐλληνιστί.
 46. Πρὸς Δημ. Ποστόλακκαν, εἰς Βιέννην, ἐξ Ἀγκῶνος 4/16 Δεκεμβ. ἐλληνιστί.
 47. Πρὸς κόμιτα Βιάρων, εἰς Κέρκυραν, ἐξ Ἀγκῶνος 8/20 Δεκεμβ. γαλλιστί.
 48. Πρὸς Hentsch de Chastel, εἰς Γενεύην, ἐξ Ἀγκῶνος 8/20 Δεκεμβ. γαλλιστί.
 49. Πρὸς Ραδινόν, εἰς Γενεύην, ἐξ Ἀγκῶνος, 8/20 Δεκεμβ. ἐλληνιστί.
 50. Πρὸς Μητροπολίτην Ἰγνάτιον, εἰς Πίζαν, ἐξ Ἀγκῶνος 14/26 Δεκεμβ. γαλλιστί.
 51. Πρὸς Μουστοξύδην, εἰς Βενετίαν, ἐξ Ἀγκῶνος, 14/26 Δεκεμβ. γαλλιστί.
 52. Πρὸς τοὺς ἀρχηγοὺς τῆς Ἀδελφότητος τῆς ἐλληνικῆς ἐκκλησίας τῆς Μάλτας, ἐκ Μάλτας 1/13 Ἰανουαρίου 1828, ἐλληνιστί.
 53. Ἐπιστολὴ Ἀνδ. Μουστοξύδη πρὸς Καποδίστριαν ἐκ Τουρίνου 1/13 Νοεμβ. 1827.
 Εἰς τὴν σελ. 7 ὑπάρχει ἐν σημείωμα μὲ τὰ ὀνόματα τῶν ἐξῆς νεαρῶν Ἑλλήνων σπουδαζόντων εἰς Γενεύην: Γεράσιμος Χοῦδᾶς, Νικόλ. Λεπενιώτης, τρεῖς ἀδελφοὶ Quirino, Βολτέρρας, Βουδούρης, Βασιλόπουλος, Ἐλευθεροῦδης, Τομπάζης, Γκιώνης, Σπανιολάκης. Περὶ τοῦ καταλόγου αὐτοῦ ὁ Καποδίστριας κάμνει λόγον εἰς τὴν ἐπιστολὴν του πρὸς τὸν Eynard, ἐκ Γενεύης 24 Ὀκτ./5 Νοεμβ. 1827, εἰς τὴν ὁποίαν τὸν ἐπισυνάπτει. (Correspondance, τ. 1^{ος}, σελ. 285).

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ.—Ἐπὶ τοῦ μηχανισμοῦ τῆς ἀναστολῆς τῆς διὰ τοῦ χαλκοῦ ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος, διὰ τῆς ἐπιδράσεως πρωτεϊνῶν καὶ ἄλλων τινῶν οὐσιῶν, ὑπὸ Ἑμμαν. Β. Νειάδα*. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ κ. Γεωργ. Ἰωακείμογλου.

Τὸ ἀσκορβικὸν ὀξύ εἶναι μία ἐκ τῶν περισσότερον μελετηθεισῶν βιταμινῶν, ἐν τούτοις ἐλάχιστα γνωρίζομεν ὡς πρὸς τὸν μηχανισμόν τῆς ἐπιδράσεώς του εἰς τὴν ἀνταλλαγὴν τῶν κυττάρων τῶν ζῳικῶν ἰστών. Ἐμελετήθησαν πλεῖσται ἀντιδράσεις εἰς τὰς ὁποίας τὸ ἀσκορβικὸν ὀξύ δρᾷ ὡς καταλύτης (1), σπανίως ὅμως κατεδείχθη ἡ βιολογικὴ σημασία αὐτῶν. Μία τοιαύτη ἀντίδρασις περιεγράφη τελευταίως ὑπὸ τοῦ Nason καὶ ἄλλων (2) (3) ὡς καὶ ὑπὸ τῶν Kern καὶ Rocker (4). Οὗτοι ἐμελέτησαν τὴν ὀξειδωσιν τῆς ὑδρογονωμένης δι-φωσφο-πυριδινο-νουκλεοτίδης (D.P.N.H.) διὰ τῆς εἰδικῆς ὀξειδᾶσης της, ἡ ὁποία λαμβάνεται ἀπὸ τὰ πῖσα ἢ ἄλλους μικροοργανισμούς. Ἡ ὡς ἄνω ἀντίδρασις ἐνεργοποιεῖται δι' ἐνὸς ἐνδιαμέσου προϊόντος τῆς ὀξειδώσεως

* EMM. B. NEIADAS, Sur le mécanisme de l'inhibition de l'oxydation cuprique de l'acide ascorbique par les protéines et quelques autres substances.

τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος καὶ δὴ πιθανώτατα τῆς ἐλευθέρας ρίζης ΑΗ. Ἡ ρίζα αὕτη λαμβάνεται διὰ τῆς ἀποβολῆς ἐνὸς ἡλεκτρονίου καὶ ἐνὸς πρωτονίου ἐκ τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος ΑΗ₂. Μόνον τὸ ἀσκορβικὸν ὀξύ ΑΗ₂ εἶναι δραστικὸν ἐν προκειμένῳ, τὸ δὲ προῖδον τῆς ὀξειδώσεώς του Α, δὲν δύναται νὰ τὸ ἀντικαταστήσῃ εἰς τὴν ἀντίδρασιν αὐτήν. Αἱ ὑπὸ τῶν προαναφερθέντων συγγραφέων μελετηθεῖσαι οὐσίαι, αἱ λαμβάνουσαι μέρος εἰς τὴν ἀντίδρασιν εἶναι ἡ D.P.N.H., ἡ ὀξειδάση τῆς, τὸ ἀσκορβικὸν ὀξύ καὶ μία οὐσία ἱκανὴ νὰ καταλύῃ τὴν ὀξειδῶσιν τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος, ὅπως ἡ εἰδικὴ ὀξειδάση του, ἡ προστιθεμένη ὑπὸ μορφὴν ὁποῦ σικουῦ.

Δεδομένου ὅτι οἱ ζωικοὶ ἴστοι δὲν περιέχουν εἰδικὴν ὀξειδάσιν τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος, δὲν εἶναι ἀπίθανον ὅ ἐν τοῖς ζωικοῖς ἴστοις ὑπάρχων χαλκὸς νὰ ἀντικαθιστᾷ τὴν ὀξειδάσιν τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος εἰς τὴν ὀξειδωτικὴν τῆς ἐνέργειαν.

Οἱ Stotz, Harrer καὶ King (5) ἀναφέρουν ὅτι ἐπέτυχον τὴν ἐνεργοποίησιν τῆς διὰ τοῦ χαλκοῦ ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος δι' ὠρισμένων πρωτεϊνῶν. Μία τοιαύτης φύσεως εἰδικὴ ὀξειδῶσις θὰ ἦτο ἰδιαιτέρως σημαντικὴ, διότι θὰ παρεῖχε τὴν ρίζαν ΑΗ, ἀπαραίτητον διὰ τὴν βιολογικὴν ὀξειδῶσιν τῆς D.P.N.H.

Ἐξ ἄλλου ὁ Barac (6) ἐσημείωσεν ἀναστολὴν τῆς ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος παρουσίᾳ πρωτεϊνῶν καὶ ἀπουσίᾳ χαλκοῦ.

Ἐπανελάβομεν τὴν μελέτην αὐτὴν διὰ νὰ ἐξετάσωμεν ἐὰν ὁ χαλκὸς ὁ ὁποῖος εὐρίσκεται ἠνωμένος μὲ διαφόρους πρωτεΐνας ἐντὸς τῶν κυττάρων, δύναται νὰ καταλύσῃ τὴν ὀξειδῶσιν τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος.

Διὰ νὰ συμπληρώσωμεν τὴν μελέτην ταύτην ἐξητάσαμεν τὴν ἐπίδρασιν καὶ ἄλλων τινῶν οὐσιῶν ἐπὶ τῆς διὰ χαλκοῦ ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος, ἥτοι τῆς ἀκετόνης, ὠρισμένων ἀμινοξέων καὶ τῆς τετρα-οξικῆς αἰθυλενο-διαμίνης (E.D.T.A.).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΝ ΜΕΡΟΣ

Μέθοδος ἐργασίας. Χρησιμοποιηθεῖσαι οὐσίαι.— Τὸ ἀσκορβικὸν ὀξύ καὶ τὰ ἀμινοξέα ἦσαν τοῦ Οἴκου Hoffman la Roche. Ἡ κρυσταλλικὴ ὀρολευκωματίνη βοὸς τοῦ Οἴκου Armours. Ἡ ἰσοηλεκτρικὴ πηκτὴ (Gelatin) τοῦ Kodak. Ἡ καζεΐνη «κατὰ Hammarsten» τοῦ Οἴκου Merck. Ἡ αἰμοσφαιρίνη ἐλήφθη ὑπὸ κρυσταλλικὴν μορφήν συμφώνως πρὸς τὰς γνωστὰς μεθόδους.

Τὰ διαλύματα παρεσκευάσθησαν δι' ὕδατος ἀποσταχθέντος εἰς δοχεῖον ἐκ χαλαζίου. Αἱ μετρήσεις τῶν πιέσεων ἐγένοντο διὰ συσκευῆς τοῦ Warburg, εἰς θερμοκρασίαν 36,5°K. καὶ κατὰ κανόνα ὑπὸ τὰς ἀκολούθους συνθήκας. Τὸ κεντρικὸν τμήμα τῆς φιάλης τῆς συσκευῆς περιεῖχε διηθητικὸν χάρτην ἐμπεποτισμένον εἰς διάλυμα 5% καυστικοῦ καλίου. Εἰς τὸ κεντρικὸν τμήμα αὐτῆς ἐτίθετο τὸ ὑδατικὸν διάλυμα τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος καὶ αἱ πρωτεΐναι ἢ αἱ ἄλλαι μελετηθεῖσαι οὐσίαι, διαλελυμέναι εἰς 0,50 κ.ἐκ. ὕδατος ἢ ρυθμιστικοῦ φωσφορικοῦ διαλύματος pH 7,2 καὶ τέλος ὕδωρ,

μέχρι συμπληρώσεως συνολικού όγκου 2,5 κ.έκ. Τὰ διαλύματα τοῦ χαλκοῦ ἐτίθεντο εἰς τὸ πλάγιον τμήμα τῆς φιάλης. Ἡ συσκευή ἀνεταράσσεται ἐπὶ 15 λεπτά διὰ νὰ ἐπιτευχθῇ ἡ θερμικὴ ἰσορροπία, ἀνemiγνύοντο κατόπιν τὰ διαλύματα καὶ ἐσημειοῦντο αἱ ἐνδείξεις τῶν πιέσεων ἀνὰ 15 λεπτά καὶ ἐπὶ χρονικὸν διάστημα διαρκείας 2 ὥρων. Μετὰ τὴν πάροδον τοῦ διώρου ἐμετρεῖτο τὸ pH τοῦ μίγματος.

Διὰ τὰς μετρήσεις τοῦ pH ἐχρησιμοποιήθη ἡλεκτρονικὸν pHμετρον ἀκριβείας $\pm 0,05$. Οἱ ποσοτικοὶ προσδιορισμοὶ τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος ἐγένοντο διὰ τῆς γνωστῆς μεθόδου τῆς διχλωροφαινολινδοφαινόλης. Διὰ τὴν ἔκφρασιν τῶν ἀποτελεσμάτων ἡμῶν ἐχρησιμοποιήσαμεν κυρίως 1) τὴν ταχύτητα ὀξειδώσεως $\frac{-dO_2}{dt}$, ἐκπεφρασμένην εἰς χιλιοστὰ κ.έκ. O_2 κατὰ λεπτόν, καὶ 2) τὴν συνολικὴν ποσότητα τοῦ ἀπορροφηθέντος O_2 ἐντὸς ὠρισμένου χρονικοῦ διαστήματος π.χ. $120' = Q_{120'}$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

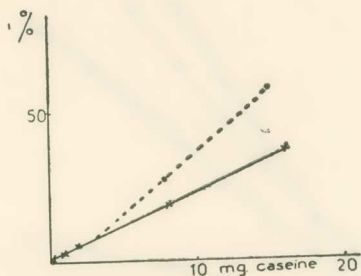
1) Ἐπίδρασις τῶν πρωτεϊνῶν ἐπὶ τῆς διὰ τοῦ χαλκοῦ ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος. Ὁ πίναξ 1 δεικνύει τὴν ἐπιτευχθεῖσαν ἀναστολὴν τῆς διὰ τοῦ χαλκοῦ

ΠΙΝ. I.—Ἐπίδρασις διαφόρων πρωτεϊνῶν
ἐπὶ τῆς ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος (28 μM)

Πρωτεΐναι	χλστγρ.	Cu++ μM	Ἀναστολὴ ἐπὶ τῆς %		pH
			τῆς ἀρχικῆς ταχύτητος	τῆς $Q_{120'}$	
Πηκτὴ	2	0,01	88	79	6,50
	4	0,01	90	83	6,60
	4	0,1	86	96	7,00
	4	1	0	0	6,65
Καζεΐνη	4	0,1	87	90	6,50
	15	0,1	90	95	7,00
Ὁρολευκωματίνη βοῦς	2	0,1	95	97	6,30
	10	0,1	95	97	6,50
	2	0,2	97	97	6,20
	10	0,2	94	96	6,40
	2	1,0	0	0	6,10
	6	1,0	22	0	6,10
Αἰμοσφαιρίνη	2	0,01	88	93	6,70
	10	0,01	39	65	7,00
Ἰνῶδες	2	0,1	75	77	6,5
	10	0,1	70	73	6,9

όξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος, τῇ ἐπιδράσει διαφόρων πρωτεϊνῶν. Αἱ εἰκόνες 1 καὶ 2 δεικνύουν τὴν ἀναστολὴν ταύτην συναρτήσεϊ τῆς πυκνότητος τῶν διαλυμάτων τῶν πρωτεϊνῶν καζεΐνης καὶ ἰνώδους (Fibrine).

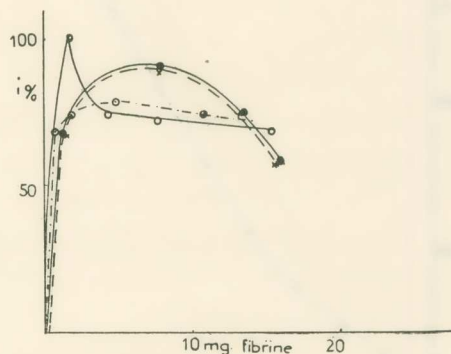
Ἡ εἰκὼν 3 δεικνύει τὴν πορείαν τῆς ἀντιδράσεως ἐπιδράσει ὀρολευκωματίνης τοῦ βοός. Δὲν παρατηρήθη ἐνεργοποίησις τῆς ἀντιδράσεως. Τῇ ἐπιδράσει ἰνώδους, τὸ ὁποῖον προστίθεται ὑπὸ μορφὴν ἐναιωρήματος, ἡ ἀναστολὴ τῆς διὰ τοῦ χαλκοῦ ὀξειδώσεως τοῦ AH_2 αὐξάνει κατ' ἀρχὰς ταχέως, ἀναλόγως τῆς ποσότητος τοῦ προστεθέντος ἰνώδους καί, ἀφοῦ σταθεροποιηθῇ εἰς ἓν μέγιστον, ἐλαττοῦται ἐν συνεχείᾳ βραδέως. Εἰς μεγαλύτερας συγκεντρώσεις χαλκοῦ καὶ ἰνώδους παρατηρήθη ἐνεργοποίησις τῆς ἀντιδράσεως, ἥτοι ἡ κατανάλωσις τοῦ O_2 ὑπερέβη τὴν καταναλωθεῖσαν ποσότητα ὀξυγόνου διὰ τὴν αὐτὴν πυκνότητα χαλκοῦ ἄνευ ἰνώδους. Τὸ φαινόμενον τοῦτο



Εἰκ. 1. Ἀναστολὴ τῆς ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος (5 mg.), συναρτήσεϊ τῆς πυκνότητος τῆς καζεΐνης.

Cu^{++} 1 μM

· — · — · ταχύτης ὀξειδώσεως
× — × — × Q_{120}



Εἰκ. 2. Ἀναστολὴ τῆς ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος (5 mg.), συναρτήσεϊ τῆς πυκνότητος τοῦ ἰνώδους.

+ — — — + Q_{120} 0,01 μM Cu^{++}

· — — — · ταχύτης ὀξειδώσεως 0,01 μM Cu^{++}

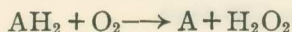
○ — — — ○ Q_{120} 0,1 μM Cu^{++}

ο — — — ο ταχύτης ὀξειδώσεως 0,1 μM Cu^{++}

δύναται νὰ ἐξηγηθῇ ἐκ τοῦ γεγονότος ὅτι τὸ ἰνώδες, ὡς ἀδιάλυτον, προστίθεται ὑπὸ μορφὴν ἐναιωρήματος, τὰ ἐναιωρήματα δὲ ταῦτα σχηματίζουν μετὰ τοῦ χαλκοῦ δύο διάφορα σύμπλοκα, ἡ ἀναλογία τῶν ὁποίων ἐξαρτᾶται ἐκ τῶν πυκνοτήτων χαλκοῦ καὶ ἰνώδους. Ἐκ τῶν συμπλόκων αὐτῶν τὸ ἐν ἐνεργοποιεῖ, τὸ δὲ ἕτερον ἀναστέλλει τὴν ὀξείδωσιν. Ἀνάλογον σχηματισμὸν δύο διαφόρων συμπλόκων παρατήρησαν οἱ B' Robert καὶ M. Macheboeuf κατὰ τὴν μελέτην τῆς ὀξειδώσεως τῶν ὁμάδων—SH τῶν πρωτεϊνῶν. παρουσίᾳ χαλκοῦ (17).

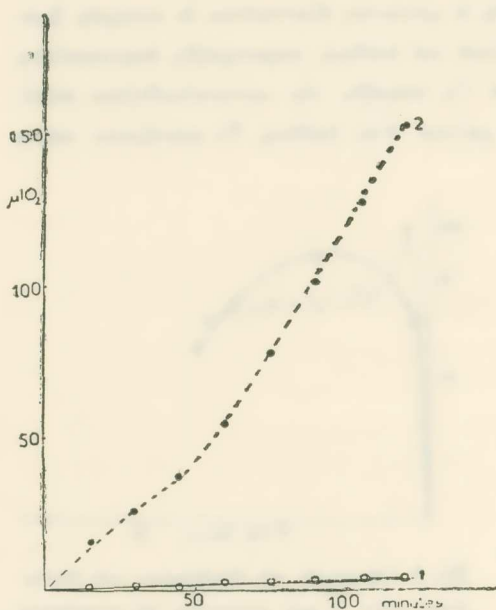
Εἰς μεγάλας πυκνότητας αἰμοσφαιρίνης, ἡ ἀναστολὴ τῆς ἀντιδράσεως ἐλαττοῦ-

ται, πιθανώς λόγω της υπεροξειδώσεως του ασκορβικού οξέος, τη επιδράσει της αιμοσφαιρίνης και του O_2H_2 , το όποιον παράγεται εκ της αντιδράσεως



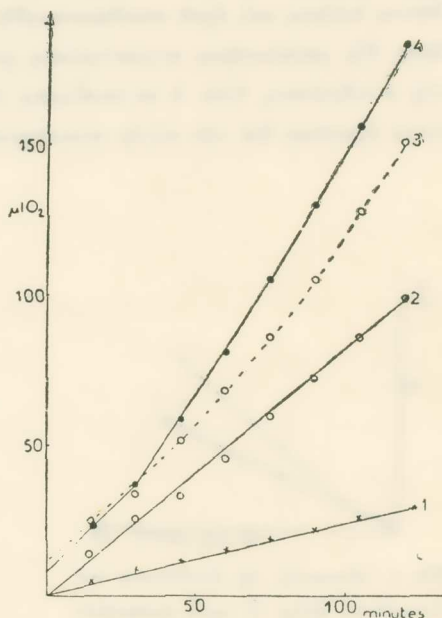
Τούτο δύναται να εξηγηθῇ διὰ τοῦ ἐνδιαμέσου σχηματισμοῦ τῆς μεθαιμοσφαιρίνης.

Αυξανόμενων τῶν πυκνοτήτων τοῦ ασκορβικοῦ οξέος και τοῦ χαλκοῦ ($1\mu M$)



Εἰκ. 3. Ἀναστολή τῆς ὀξειδώσεως τοῦ ασκορβικοῦ οξέος (5 mg.) διὰ τῆς ὀρολευκωματίνης τοῦ βοός, Cu^{++} $0,2\mu M$

- 1) 2 mg. ὀρολευκωματίνης, pH 6,20
- 2) ἄνευ ὀρολευκωματίνης, pH 6,10



Εἰκ. 4. Ὄξειδωσις τοῦ ασκορβικοῦ οξέος (5 mg.) παρουσίᾳ ὁροῦ ἀνθρώπου Cu^{++} $1\mu M$

- 1) Ὅρος 1 ml, pH 6,30
- 2) Ὅρος 0,5 ml, pH 6,10
- 3) Ὅρος 0,1 ml, pH 6,25
- 4) Ἀσκορβικὸν ὀξύ ἄνευ ὁροῦ pH 6,15

παρατηρεῖται ἀσθενὴς ἐνεργοποίησις τῆς ἀντιδράσεως.

Ἡ εἰκὼν 4 δεικνύει τὴν ἐπίδρασιν ὁροῦ ἀνθρώπου ἐπὶ τῆς ἀντιδράσεως, παρουσίᾳ $1\mu M$ χαλκοῦ.

Αἱ πρωτεΐναι, αἱ ὁποῖαι περιέχονται ἐν τῇ ποσότητι τοῦ προστεθέντος ὁροῦ, δὲν ἐνεργοποιοῦν τὴν ὀξειδωσιν τοῦ ασκορβικοῦ οξέος, ὁ δὲ προστιθέμενος χαλκὸς δεσμεύεται ἀπὸ τὰς πρωτεΐνας αὐτάς.

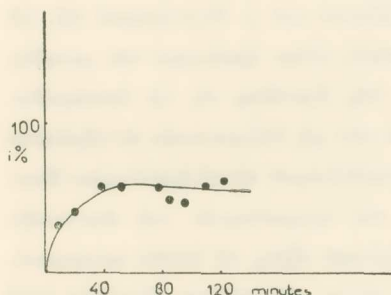
- 2) Ἀναστολή τῆς ὀξειδώσεως ὀφειλομένη εἰς τὴν EDTA.

Ἡ τετραοξική αἰθυλενοδιαμίνη (EDTA) ἀναστέλλει τὴν ὀξειδῶσιν τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος.

Ἡ εἰκὼν 5 δεικνύει τὸ ποσοστὸν τῆς ἀναστολῆς αὐτῆς συναρτήσῃ τοῦ χρόνου, παρατηροῦμεν δὲ ὅτι ἡ ἀναστολὴ αὐξάνει συνεχῶς ἐπὶ χρονικὸν διάστημα 40'. Ἀπὸ τοῦ σημείου αὐτοῦ παραμένει σταθερά.

Ἡ εἰκὼν 6 δίδει τὴν ἀναστολὴν τῆς ὀξειδῶσεως αὐτῆς συναρτήσῃ τῆς πυκνότητος τῆς EDTA.

Ἡ EDTA σχηματίζει λίαν σταθερὰ σύμπλοκα μετὰ τῶν δισθενῶν μετάλλων, οὕτω δὲ ἐμφανίζει ὅλως ἰδιαίτερον ἐνδιαφέρον ἢ μελέτῃ τῆς ἐπιδράσεώς της ἐπὶ τῆς

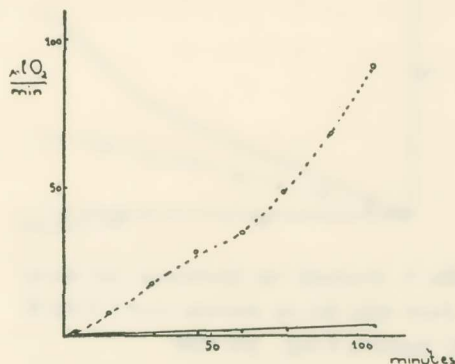


Εἰκ. 5. Ἀναστολὴ τῆς ὀξειδῶσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος διὰ τῆς EDTA.

Τεταγμένη: Ἀναστολὴ ἐπὶ τοῖς ἑκατόν.

Τετιμημένη: Χρόνος εἰς πρῶτα λεπτά, μετὰ τὴν προσθήκην τῆς EDTA (0,05μM)

Ἀσκορβικὸν ὀξύ 5 mg., Cu⁺⁺ 0,1μM.

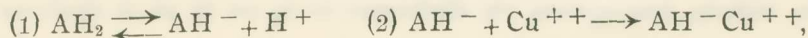


Εἰκ. 6. Ἀναστολὴ τῆς ὀξειδῶσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος διὰ τῆς EDTA.

• ——— • EDTA 0,1μM, Cu⁺⁺ 0,1 μM.

o ——— o ἄνευ EDTA, pH 6,20

διὰ τοῦ χαλκοῦ ὀξειδῶσεως τοῦ AH₂. Ἡ ἐξήγησις τοῦ μηχανισμοῦ τῆς ἐπιδράσεώς της δύναται νὰ εἶναι ἀνάλογος τῆς προταθείσης ὑπὸ τοῦ GERO (7) καὶ (8), εἰς τὴν περίπτωσιν τῆς ἀναστολῆς τῆς ὀξειδῶσεως τοῦ AH₂ ἐπιδράσει τῆς ἀνευρίνης. Ὁ χαλκὸς τῇ ἐπιδράσει τοῦ AH₂ ἀνάγεται εἰς μονοσθενῆ ὡς ἐξῆς:



διὰ μεταβιβάσεως δὲ ἐνὸς ἡλεκτρονίου εἰς τὸν χαλκὸν ἔχομεν:



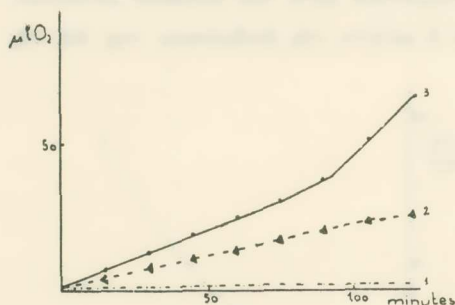
Ἐὰν δεχθῶμεν ὅτι ἡ EDTA ἀντιδρᾷ μὲ τὸν οὕτω ἀναχθέντα χαλκόν, δυνάμεθα νὰ ἐξηγήσωμεν τὴν ἀναστολὴν ταύτην τῆς ὀξειδῶσεως τοῦ AH₂. Ἡ EDTA κατὰ τὴν ἐξήγησιν ταύτην δεσμεύει τὰ ἰόντα τοῦ χαλκοῦ, οὕτω δὲ ἐμποδίζεται ἡ ἐκ νέου ὀξειδῶσις τοῦ μετάλλου καὶ ἀναστέλλεται ἡ καταλυτικὴ του δράσις.

3) Ἐπίδρασις τῆς ἀκετόνης ἐπὶ τῆς ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος.

Ἡ ἀκετόνη εἰς μεγάλην πυκνότητα ἀναστέλλει τὴν ὀξειδωσιν ταύτην. Ἡ ἀντίδρασις τῆς ὀξειδώσεως τοῦ AH_2 εἰς μεγάλην πυκνότητα (28 μM), παρουσία χαλκοῦ καὶ ἀκετόνης, δὲν εἶναι μονομοριακή.

Ἡ εἰκὼν 7 δεικνύει τὴν ὀξειδωσιν ταύτην παρουσία, ὡς καὶ ἀπουσία, ἀκετόνης.

Ἡ ἀκετόνη σχηματίζει μετὰ τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος, ὡς ἐπίσης καὶ μετὰ τοῦ χαλκοῦ σύμπλοκα, οὗτω δὲ ἐξηγεῖται ἡ ἀναστολή αὕτη, καθὼς καὶ ἡ πιθανὴ σημασία



Εἰκ. 7. Ἀναστολή τῆς ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος διὰ τῆς ἀκετόνης Cu^{++} 0,01 μM .

1) Ἀκετόνη 5 mg., pH 6,80

2) Ἀσκορβικὸν ὀξύ 5 mg., ἀκετόνη 5 mg. pH 6,50

3) Ἀσκορβικὸν ὀξύ 5 mg., pH 6,25

τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος εἰς τὸν μεταβολισμόν τῶν κετονικῶν σωμάτων. Ἡ ἀναστολή αὕτη δύναται νὰ ἐξηγηθῇ πιθανόν τὰς παρατηρήσεις τῶν M. Polonovski, P. Valdigué καὶ J. Feychenné (9). Οἱ συγγραφεῖς οὗτοι ἠρεύνησαν τὸν μεταβολισμόν τῆς ἀκετόνης εἰς τὰ ἐπινεφρίδια.

Ἐκ τῶν μὴ ἐνζυματικῶν ἀντιδράσεων τοῦ μεταβολισμοῦ αὐτοῦ ἐμελέτησαν ἰδιαιτέρως τὸν σχηματισμὸν τοῦ ἀκετονοδικαρβοξυλικοῦ ὀξέος, τὸ ὅποιον κετεσκευάσθη ἐξ ἄλλου καὶ ὑπὸ τῶν Vargha (15) καὶ Reichstein (16).

Ὁ πίναξ 12 τῆς ἀνακοινώσεώς των (9) δεικνύει ὅτι οἱ ἀνωτέρω, δύο φορὰς ἐπὶ

τριῶν περιπτώσεων, διεπίστωσαν ἀναστολήν τῆς ὀξειδώσεως τῶν ἐπινεφριδίων παρουσίᾳ ἀκετόνης. Αἱ παρατηρήσεις μας εἶναι δυνατόν νὰ δίδουν ἱκανοποιητικὴν ἐξήγησιν τῶν διαπιστώσεων τῶν συγγραφέων τούτων.

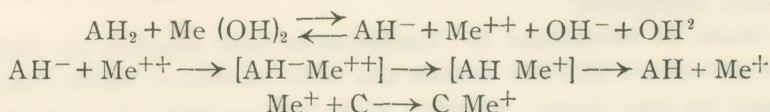
Αἱ περιγραφεῖσαι ἐργασίαι, ἐν συμφωνίᾳ μὲ τὰ συμπεράσματα τοῦ Barac, κατέδειξαν ὅτι δὲν ἐπιτυγχάνεται ἐνεργοποίησις τῆς διὰ τοῦ χαλκοῦ ὀξειδώσεως τοῦ AH_2 διὰ τῶν πρωτεϊνῶν. Ἄν καὶ εἶναι δυνατόν νὰ ἐπιτευχθῇ ὑπὸ εἰδικᾶς συνθήκας σχετικῶς ἀσθενῆς ἐνεργοποίησις τῆς ὀξειδώσεως αὐτῆς καὶ δὴ μὲ τὸ ἀδιάλυτον ἰνῶδες καὶ τὴν αἰμοσφαίρινην, ἡ ὁποία παρουσίᾳ χαλκοῦ κέκτεται εἰδικᾶς ὑπεροξειδωτικᾶς ιδιότητος, ἐν τούτοις ἡ ἐνεργοποίησις αὕτη εἶναι λίαν ἀσθενὴς διὰ νὰ τῆς ἀποδοθῇ βιολογικὴ σημασία.

Αἱ ἐργασίαι τοῦ Nason καὶ ἄλλων, καθὼς καὶ αἱ τοῦ Staudinger καὶ ἄλλων (10) (11) (12), κατέδειξαν ὅτι ἡ ἐνεργοποίησις τῆς ὀξειδώσεως τῆς DPNH ὀφείλεται εἰς τὴν ἐλευθέραν ρίζαν AH . Εἶναι ἐπομένως δυνατόν ὅτι ὁ χαλκὸς καὶ αἱ πρωτεΐναι τῶν κυττάρων παράγουν τὴν ρίζαν αὐτήν, ἡ ὁποία, εἰς μικρὰς πυκνότητας χρησιμεύει

ὡς μεταφορεὺς ἡλεκτρονίων. Δεδομένου ὅτι τὸ ἀφυδρογονωμένον ἀσκορβικὸν ὀξύ Α, δὲν δύναται νὰ ἀντικαταστήσῃ τὸ ἀσκορβικὸν ὀξύ ΑΗ₂ εἰς τὰς ἀντιδράσεις αὐτάς, αἱ οὐσίαι αἱ ὁποῖαι δύνανται νὰ σχηματίζουσιν σταθερὰ σύμπλοκα μὲ τὰ βαρέα μέταλλα (οὐσίαι C) χρησιμεύουσιν εἰς τὴν ἀναστολὴν τῆς ὀξειδώσεως τοῦ ΑΗ₂.

Αἱ ὑδροξυλιώσεις τῶν ἀρωματικῶν ἐνώσεων, αἱ ὁποῖαι ὡς γνωστὸν (13) (14), ἐπιτυγχάνονται τῇ ἐπιδράσει μιγμάτων ἀσκορβικοῦ ὀξέος, χαλκοῦ ἢ σιδήρου καὶ μιᾶς οὐσίας C, δύνανται νὰ ἐξηγηθῶν ὡς ἑξῆς:

Τὸ μέταλλον σχηματίζει σύμπλοκα μετὰ τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος.



Τὸ ἀνηγμένον μέταλλον δεσμεύεται ἐν συνεχείᾳ ἀπὸ τὴν οὐσίαν C, οὕτω δὲ ταχέως τὸ ΑΗ₂ μετατρέπεται εἰς ἐλευθέραν ρίζαν ΑΗ διὰ τῆς ὁποίας ἐπιτυγχάνεται ἡ μεγίστη ἀπόδοσις τῶν συνδεδεασμένων ὀξειδοαναγωγικῶν αὐτῶν ἀντιδράσεων. Ἀπουσία οὐσίας C τὸ ἀνηγμένον μέταλλον ὀξειδοῦται ἐκ νέου καὶ συνεχίζει τὴν ὀξειδωσιν τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος μέχρι πλήρους καύσεως αὐτοῦ. Ἐπομένως ἡ οὐσία C ἐξασφαλίζει τὴν μεγίστην συγκέντρωσιν ἐλευθέρας ρίζης ΑΗ καὶ τὴν προστασίαν τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος ἀπὸ τῆς πλήρους ὀξειδώσεώς του. Ἡ σημασία τῶν ἀντιδράσεων τῆς ὑδροξυλιώσεως αὐτῆς *in vivo* ἀρωματικῶν ἐνώσεων διὰ τὸν σχηματισμὸν τῶν ὑδροξυλιωμένων στεροειδῶν, παρουσία ἀσκορβικοῦ ὀξέος, χαλκοῦ καὶ οὐσιῶν C, ἔχει καταδειχθῇ ἤδη (10) (12).

Περὶληψις. — Ἡ παροῦσα ἐργασία ἀναφέρεται εἰς τὸν μηχανισμὸν τῆς ἀναστολῆς τῆς διὰ τοῦ χαλκοῦ ὀξειδώσεως τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος διὰ τῆς ἐπιδράσεως πρωτεϊνῶν καὶ ἄλλων τινῶν οὐσιῶν.

Αἱ πλεῖσται τῶν μελετηθεισῶν πρωτεϊνῶν (πηκτὴ, καζεΐνη, ὀρολευκωματίνη βοός, ὀρὸς ἀνθρώπου) ἀναστέλλουσιν τὴν ἀντίδρασιν ταύτην.

Ὑπὸ εἰδικὰς συνθήκας διεπιστώσαμεν ἀσθενῆ ἐνεργοποίησιν τῆς ἀντιδράσεως, ἐπιδράσει ὀξυαιμοσφαιρίνης καὶ ἰνώδους. Εἰς τὴν ἐνεργοποίησιν ταύτην δὲν δύναται νὰ ἀποδοθῇ ἰδιαιτέρα βιολογικὴ σημασία.

Ὅπως κατεδείχθη ἀπὸ τὴν μελέτην μας ἐπὶ τοῦ μηχανισμοῦ τῆς ἀναστολῆς τῆς ἀντιδράσεως ταύτης διὰ τῆς τετραοξικῆς αἰθυλενοδιαμίνης (EDTA), αὕτη δεσμεύει τὰ ἰόντα Cu⁺⁺, Cu⁺, τὰ ὁποῖα προέρχονται ἐκ τοῦ μετὰ τοῦ χαλκοῦ συμπλόκου τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος καὶ ἐμποδίζει οὕτω τὴν ἐκ νέου ὀξειδωσίν των.

Κατ' αὐτὸν τὸν τρόπον ἐμποδίζεται ἡ περαιτέρω ὀξειδωσις τοῦ ἀσκορβικοῦ ὀξέος. Ἡ ἀκετόνη εἰς μεγάλας πυκνότητας ἀναστέλλει ἐπίσης τὴν ὀξειδωσιν ταύτην.

Τέλος ὑπεδείξαμεν τὴν βιολογικὴν σημασίαν τῶν παρατηρήσεων αὐτῶν.

R É S U M É

Nous présentons une étude de l'influence des protéines et quelques autres substances sur l'oxydation cuprique de l'acide ascorbique.

La plupart des protéines étudiées (Gélatine, Caséine, Sérum albumine de bœuf, Sérum humain) inhibent cette réaction selon un mécanisme non compétitif. Bien qu'il soit possible d'obtenir dans des conditions spéciales une activation relativement faible de l'oxydation (avec la fibrine insoluble et l'hémoglobine douée d'activité peroxydasique en présence de $1\mu\text{M}$ de cuivre) cette activation est trop faible pour qu'on puisse lui attribuer une importance biologique.

L'étude du mécanisme de l'inhibition de cette réaction par l'éthylène-diamine tetracétate (EDTA) montre que cette substance inhibe l'oxydation en captant les ions cuivre - cuivreux après la dissociation du complex acide ascorbique - cuivre

Nason et al. et Staudinger et al. ont montré que c'est le radical AH qui entre dans la réaction comme activateur de l'oxydation du DPNH. Il est possible ainsi que le rôle du cuivre et de la protéine cellulaire soit la production de ce radical, qui en concentration relativement faible peut fonctionner comme transporteur d'électron. Comme l'acide déhydroascorbique ne peut pas remplacer l'acide ascorbique dans ces réactions, les complexants des métaux lourds produiraient une économie d'acide ascorbique.

Les hydroxylations des molécules aromatiques réalisables avec des mélanges d'acide ascorbique, plus métal (cuivre, fer) sont activés par des complexants. Il est probable que dans ces réactions aussi, c'est encore le radical AH qui entre comme intermédiaire actif. L'importance de ces réactions dans la biogénèse des stéroïdes hydroxylés semble acquis (Kersten et al.).

L'acétone à fortes concentrations inhibe aussi l'oxydation de l'acide ascorbique. Nous discutons l'importance biologique de ces constatations.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. E. NEIADAS, *Thèse de Sci.* Paris, 1949.
2. A. NASON, W. D. WOSILAIT, A. J. TERRELL, *Arch. Biochem. Biophys.* **48**, 1954, 233.
3. W. D. WOSILAIT, A. NASON, A. J. TERRELL, *J. Biol. chem.* **206**, 1954, 271.
4. M. KERN, E. RACKER, *Arch. Biochem. Biophys.* **48**, 1954, 235.
5. E. STOTZ, C. J. HARRER, C. G. KING, *J. Biol. chem.* **119**, 1937, 511.
6. G. BARAC, *C. R. soc. biol.* **145**, 1951, 1900.
7. E. GERO, *C. R. ac. sci.* **235**, 1952, 397.
8. E. GERO, *Bull. soc. chim. biol.* **36**, 1954, 1003, et 1335.
9. M. POLONOVSKI, P. VALDIGUÉ, J. FREYCHENNÉ, *Bull. soc. chim. biol.* **33**, 1951, 461, 475, 225, 743.
10. H. KERSTEN, W. KERSTEN, HJ. STAUDINGER, *Biochem. Z.* **327**, 1955, 284.

11. H. KERSTEN, W. KERSTEN, HJ. STAUDINGER, *Biochem. Z.* **328**, 1956, 24.
12. H. KERSTEN, W. KERSTEN, HJ. STAUDINGER, *Biochem. biophys. acta*, **18**, 1955, 312.
13. S. UDENFRIEND, C. T. CLARK, J. AXELROD, B. B. BRODIC, *J. biol. chem.* **208**, 1954, 731, 741.
14. L. ROBERT, *Discuss, Farad. Soc.* No 20, 1955, p. 265.
15. I. VARGHA, *Nature*, **130**, 1932, 847.
16. T. REICHSTEIN, A. GRUSSNER, *Hel. chim. acta* **17**, 1934, 311.
17. B. ROBERT, M. MACHEBOEUF, *Bul. soc. chim. biol.* **35**, 1953, 399.