

INHIBITORI KATALITIČKE OKSIDACIJE INDOLA

ZDENKA SKURIĆ

Škola narodnog zdravlja »Andrija Štampar«, Medicinski fakultet Sveučilišta, Zagreb

(Primitljeno 21. VI 1966)

Ispitano je inhibitorsko djelovanje nekih organskih i anorganskih spojeva na oksidaciju indola, koja se zbiva pod utjecajem natrijeva perborata u prisutnosti organofosforne spoja metil paraoksone kao promotora reakcije. Određene su polovične koncentracije gašenja za svaki inhibitor. Ispitan je oblik krivulja gašenja primjenom hiperbolične Stern-Volmerove jednadžbe.

U toku oksidacije indola s donatorom kisika, natrijevim perboratom, stvara se indoksil, spoj koji vidljivo fluorescira, zatim indigo bijelo, spoj koji također vidljivo fluorescira i konačno indigo, plavo bojilo, spoj koji nema sposobnosti da fluorescira. U prisustvu nekih organofosforne spojeva reakcija se zbiva povećanom brzinom (1, 2). Tok reakcije može se pratiti mjerenjem promjene intenziteta fluorescencije međuprodukata oksidacije. Kako ta reakcija može služiti i za analitičko određivanje nekih organofosforne spojeva (3), ispitano je inhibitorsko djelovanje nekih organskih i anorganskih spojeva na navedenu reakciju. Određeno je inhibitorsko djelovanje alkalijskih halogenida i rodanida, grupe metalnih sulfata te organskih spojeva fenola, anilina, hidrokinona i pirogalola. Spojevi tih grupa su općenito poznati kao dobri inhibitori kemijskih reakcija i gasila fluorescencije u otopinama.

EKSPERIMENTALNI DIO

Intenzitet fluorescencije fluorescentnih međuprodukata oksidacije indola mjereno je fotoelektričnom aparaturom sa selenovim fotoelementom i zrcalnim galvanometrom uz primjenu jakog izvora ultraljubičastog zračenja (4).

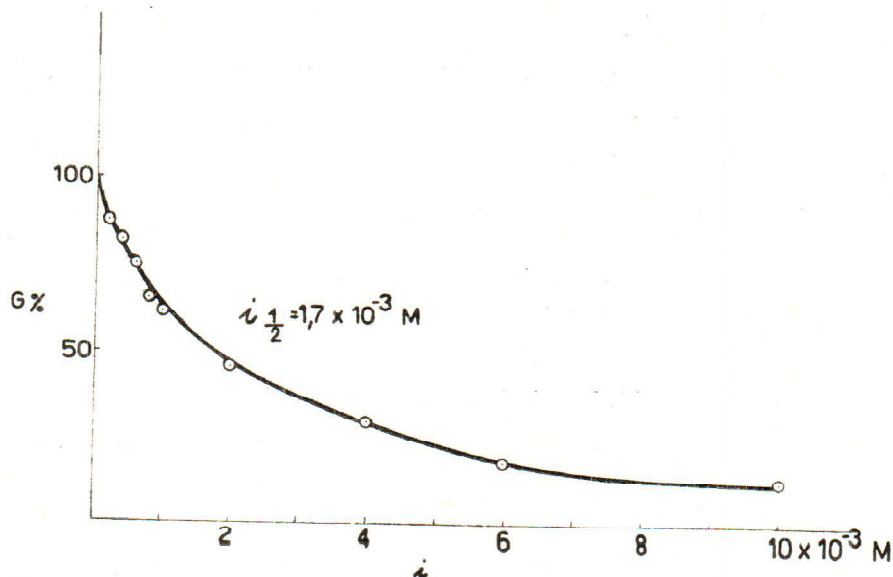
Pri određivanju inhibitorskog djelovanja navedenih spojeva, fluorimetrijski je praćen tok reakcije mjerenjima otklona galvanometra u određenim vremenskim razmacima a u prisutnosti različitih koncentra-

cija inhibitora u reakcionoj smjesi. Otopine inhibitora dodavane su osnovnoj reakcionoj smjesi, koja je u toku svih pokusa bila ista: 5 ml 1% vodene otopine natrijeva perborata, 5 ml 0,2% otopine indola u acetonu ($1,8 \cdot 10^{-4}$ M) i 1 ml 0,08% otopine metil paraoksiona u izopropilnom alkoholu ($0,86 \cdot 10^{-4}$ M). Volumen reakcione smjese bio je uvijek 50 ml.

REZULTATI

Maksimalni otklon galvanometra (G_m), koji je proporcionalan maksimalnom intenzitetu fluorescencije, može predstavljati relativnu mjeru za maksimalnu brzinu reakcije. Ako se grafički prikaže ovisnost maksimalne brzine o molarnoj koncentraciji inhibitora za određene eksperimentalne uvjete, dobiva se krivulja gašenja fluorescencije. Maksimalni otkloni galvanometra dobiveni reakcijom u prisustvu inhibitora izražavaju se u procentima maksimalne brzine reakcije bez inhibitora ($G_m = 100$). Na dobivenim krivuljama gašenja može se grafički odrediti polovična koncentracija gašenja ($i_{1/2}$). Polovična koncentracija gašenja ili polovična koncentracija inhibitoranskog djelovanja definirana je kao ona molarna koncentracija inhibitora koja smanjuje intenzitet fluorescencije na polovicu.

Na osnovu vrijednosti polovičnih koncentracija inhibitoranskog djelovanja mogu se usporediti inhibitoranske sposobnosti različitih inhibitora.



Sl. 1. Ovisnost maksimalne jakosti fluorescencije izražene u procentima ($G_m\%$) o koncentraciji kalijeva bromida (i)

Na slici 1. prikazana je krivulja gašenja fluorescencije kalijevim bromidom s odgovarajućom polovičnom koncentracijom gašenja.

U tablici 1 prikazane su polovične koncentracije inhibitorskog djelovanja ispitanih inhibitora dobivene navedenom grafičkom metodom.

Tablica 1.
Polovične koncentracije inhibitorskog djelovanja ($i_{1/2}$) nekih organskih i anorganskih inhibitora

Inhibitor	i M	Inhibitor	i M
Anilin	$1,9 \cdot 10^{-3}$	KCNS	$2,1 \cdot 10^{-5}$
Fenol	$5,3 \cdot 10^{-3}$	KJ	$0,4 \cdot 10^{-5}$
Hidrokinon	$4,1 \cdot 10^{-4}$	MnSO ₄	$2,8 \cdot 10^{-5}$
Pirogalol	$2,9 \cdot 10^{-5}$	CoSO ₄	$1,3 \cdot 10^{-5}$
KCl	1,3	CuSO ₄	$0,7 \cdot 10^{-5}$
KBr	$1,7 \cdot 10^{-3}$	FeSO ₄	$1,6 \cdot 10^{-6}$

DISKUSIJA

Iz podataka u tablici 1. razabire se da u grupi organskih inhibitora najjače inhibitorско djelovanje ima pirogalol.

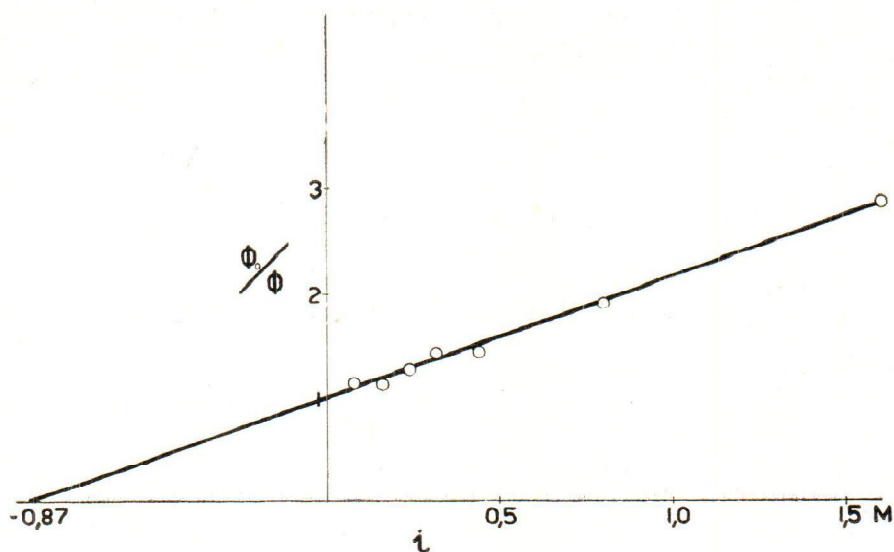
U grupi fenola inhibitorско djelovanje raste s brojem hidroksilnih grupa u molekuli. Anilin je sa svojom amino-grupom jači inhibitor od fenola.

U grupi alkalijskih halogenida i rodanida poredanih prema vrijednostima redoks potencijala potvrđuje se veza između redoks potencijala i inhibitorskog djelovanja (5, 6). Najbolji je inhibitor jodid, s najnegativnijim redoks-potencijalom. Njega slijede rodanid, bromid i klorid.

Kod kationa je ovisnost o redoks-potencijalu zamršenija, pa se na osnovu eksperimenata može reći da se inhibitorска моć povećava od Mn⁺⁺ preko Co⁺⁺, Cu⁺⁺ do Fe⁺⁺.

Pri grafičkom određivanju polovične koncentracije inhibitorskog djelovanja ne uzima se u obzir oblik krivulje gašenja, pa se ne mogu praviti zaključci o mehanizmu inhibitorskog djelovanja. Oblik krivulje gašenja može se formalno prikazati hiperboličnom jednađbom po Stern-Volmeru, eksponencijalnom jednađbom i kombinacijom hiperbolične i eksponencijalne jednađbe (7).

Na slici 2. prikazano je određivanje konstante gašenja β grafičkim putem primjenom lineariziranog oblika Stern-Volmerove jednađbe za djelovanje kalijeva klorida na oksidacionu reakciju indola pod navedenim uslovima.



Sl. 2. Ovisnost Φ_0/Φ o koncentraciji kalijeva klorida (i)

$$\Phi_0/\Phi = 1 + \beta i$$

Φ_0 = intenzitet fluorescencije bez prisustva inhibitora

Φ = intenzitet fluorescencije u prisustvu inhibitora

i = molarna koncentracija inhibitora

β = konstanta gašenja

Od ispitanih inhibitora samo se alkalijski halogenidi i rodanid vladaju prema hiperboličnoj Stern-Volmerovoj jednadžbi. Ostali ispitani inhibitori ne daju računski konstantnu vrijednost za β uz razne koncentracije inhibitora, odnosno grafički ne daju pravac.

Ta eksperimentalna činjenica postaje lako razumljiva ako se uzme u obzir kompleksnost oksidacione reakcije indola. Za vrijeme toka reakcije fluoresciraju međuprodukti indoksil i indigo bijelo koji se vremenski stvaraju jedan iza drugog. Inhibitori mogu djelovati na brzinu stvaranja jednog odnosno drugog međuprodukta, a pored toga mogu gasiti fluorescenciju utjecajem na ekscitirane molekule i jednog i drugog međuprodukta. Konačno može indigo, koji vjerojatno predstavlja zadnji produkt oksidacije, djelovati kao unutarnji optički filter kod pojave fluorescencije, a time se može smanjiti i jakost emitiranog svjetla i otklon galvanometra fluorimetrijske mjerne aparature. Jasno je da takav sistem daje mogućnost veoma zamršenog djelovanja za inhibitore, i kao rezultantu svih tih djelovanja ne možemo očekivati jednostavni funkcionalni odnos između djelovanja inhibitora i njegove koncentracije. Činjenica da ioni halogenih elemenata ipak djeluju po Stern-Volmerovoj jednadžbi očito govori za pretpostavku da ti ioni samo gasu fluorescenciju, a ne utječu na brzinu oksidacione reakcije.

Opisani rezultati ukazuju na to da prisutnost inhibitora može u znatnoj mjeri utjecati na rezultate analiza primjenom indolske reakcije. Kako svakako postoji mogućnost da kod analitičkog određivanja organofosfornih otrova uzorak sadržava tvari koje inhibiraju navedenu reakciju, treba tu mogućnost uzeti u obzir pri izvođenju analiza uzoraka iz prakse.

Literatura

1. Gehauf, B., Goldenson, J.: Anal. Chem., 29 (1957) 276.
2. Cherry, R. H., Foley, G. M., Badgett, C. O., Eanes, R. D., Smith, H. R.: Anal. Chem, 30 (1958) 1239.
3. Skurić, Z., Arh. hig. rada, 16 (1965) 3.
4. Weber, K., Ualić, F.: Arh. hig. rada, 8 (1957) 39.
Skurić, Z., Weber, K.: Croat. Chem. Acta, 38 (1966) 23.
5. Weber, K.: Z. physikal. Chem., 30 (1935) 69.
6. Weber, K.: Z. Elektrochem., 43 (1937) 633.
7. Förster, T.: Fluoreszenz organischer Verbindungen, Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen, 1951.

Summary

INHIBITORS OF THE CATALYTIC OXIDATION OF INDOLE

The inhibitory effect is studied of some organic and inorganic compounds on the oxidation of indole that occurs under the influence of sodium perborate in the presence of methyl paraoxon, an organophosphorous compound, as the promoter of the reaction. Concentrations for 50% inhibition are determined for each inhibitor. The character of the quenching curves is analysed by the Stern-Volmer hyperbolic equation.

»Andrija Štampar« School of
Public Health, Medical Faculty,
University of Zagreb, Zagreb

Received for publication
June 21, 1966