

CCA-401

547.751.04

Originaler wissenschaftlicher Beitrag

Zur Kinetik der katalytischen Oxydation des Indols

Z. Skurić und K. Weber

Medizinische Fakultät der Universität in Zagreb, Schule für öffentliches Gesundheitswesen »Andrija Štampar« und Institut für gerichtliche Medizin, Zagreb, Kroatien, Jugoslawien

Eingegangen am 24. November 1965.

Es wurde die Oxydationsreaktion des Indols durch Einwirkung von Natriumperborat bei Anwesenheit von Aceton und des Phosphorsäure-Esters Methyl-Paraoxon kinetisch untersucht. Die Reaktionsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Temperaturen wurden durch Messungen der Fluoreszenzintensität der Oxydationsprodukte des Indols (Indoxyl und Indigweiss) in bestimmten zeitlichen Abständen festgestellt. Dem Phosphorsäure-Ester kommt bei der Reaktion die Rolle eines Sauerstoffüberträgers zu, ähnlich wie der Peroxydase bei enzymatischen Reaktionen. Es wurde festgestellt, dass die Grundgleichungen der Kinetik enzymatischer Reaktionen auf die Indoloxydation anwendbar sind. Diese Reaktion kann also als Modellreaktion der Peroxydasewirkung betrachtet werden.

Bei der Oxydation des Indols in Lösungen durch die Einwirkung von Sauerstoffdonatoren (Wasserstoffperoxyd, Natriumperborat) bildet sich Indigo nach einem komplexen Reaktionsmechanismus,¹ der über die Zwischenprodukte Indoxyl und Indigweiss führt. Diese Zwischenprodukte haben die Fähigkeit bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht intensiv sichtbar zu fluoreszieren,¹ während Indol nur ultraviolette Fluoreszenz aufweist² und Indigo keinerlei Fluoreszenz zeigt. Es ergibt sich dadurch die Möglichkeit die Oxydationsreaktion des Indols, kurz die *Indolreaktion*, durch Messungen von Fluoreszenzintensitäten der Zwischenprodukte kinetisch zu verfolgen.

Diese Reaktion gewann an Interesse nachdem festgestellt wurde, dass bestimmte Organophosphorverbindungen — Ester der Phosphorsäure und der Thiophosphorsäure, die als Insektizide bzw. als Nervengifte bekannt sind — effektorisch auf die Oxydation des Indols einzuwirken vermögen.^{1,3,4} Man sah darin eine gute Möglichkeit Analysenverfahren zur quantitativen Bestimmung der genannten Gifte auszuarbeiten. Es zeigte sich nämlich, dass gewöhnlich zwischen der maximalen Intensität der Fluoreszenz der Zwischenprodukte und der Konzentration der Organophosphorverbindung eine lineare Beziehung vorhanden ist.

In kinetischer Beziehung wurde die Indolreaktion bisher kaum erforscht, wenn sie auch einen interessanten Fall kompliziert verlaufender Reaktion mit zusammengesetztem Mechanismus darstellt. Ist kein Katalysator vorhanden, so verläuft die Reaktion äusserst langsam und fügt man etwa den Phosphorsäure-Ester Methyl-Paraoxon in kleiner Konzentration dem Reaktionsgemisch hinzu, so erfolgt rasche Oxydation, bei gleichzeitiger Hydrolyse des Esters der Phosphorsäure. Die Wirkung dieses Stoffes und allgemein der Organophosphor-

gifte auf die Indolreaktion ist also keine reine Katalyse, weil der »Katalysator« im Verlauf der Reaktion chemisch verändert wird. Es handelt sich aber ohne Zweifel um einen Vorgang der Sauerstoffübertragung durch den Phosphorsäure-Ester vom Sauerstoffdonator auf das Indol, bzw. auf seine primären Oxydationsprodukte. Dieser Vorgang ist offenbar mit der Wirkung der Peroxydase bei manchen enzymatischen Reaktionen vergleichbar und es war wohl von Interesse festzustellen ob auf diese Reaktion der »katalytischen« Oxidation des Indols bei Anwesenheit von Organophosphorverbindungen die allgemeinen Gesetzmäßigkeiten der Kinetik enzymatischer Reaktionen formell anwendbar sind. In dieser Richtung haben wir kinetische Versuche über die Wirkung von Methyl-Paraoxon auf die Indolreaktion durchgeführt.

DIE VERSUCHSMETHODE

Die Messung der Fluoreszenzintensität während des Reaktionsverlaufes wurde mit der Apparatur vorgenommen, die schematisch die Abbildung 1. darstellt. Das Reaktionsgemisch befindet sich in dem Gefäß B, das doppelwändig ist und durch Wasserdurchfluss (U_1-U_2) auf konstanter Temperatur gehalten werden kann. Die Reaktionslösung wird von oben mit dem filtrierten ultravioletten Licht ($\lambda = 365 \text{ nm}$) der Hochdruckquecksilberlampe (L) bestrahlt. Das Fluoreszenzlicht trifft, nachdem es durch das Sperrfilter F_2 vom überschüssigen UV-Licht befreit wurde, auf das Selenphotoelement E und der Photostrom wird mit dem Spiegelgalvanometer (Empfindlichkeit: 1.10^{-9} Amp/mm) in Abhängigkeit von der Reaktionszeit gemessen.

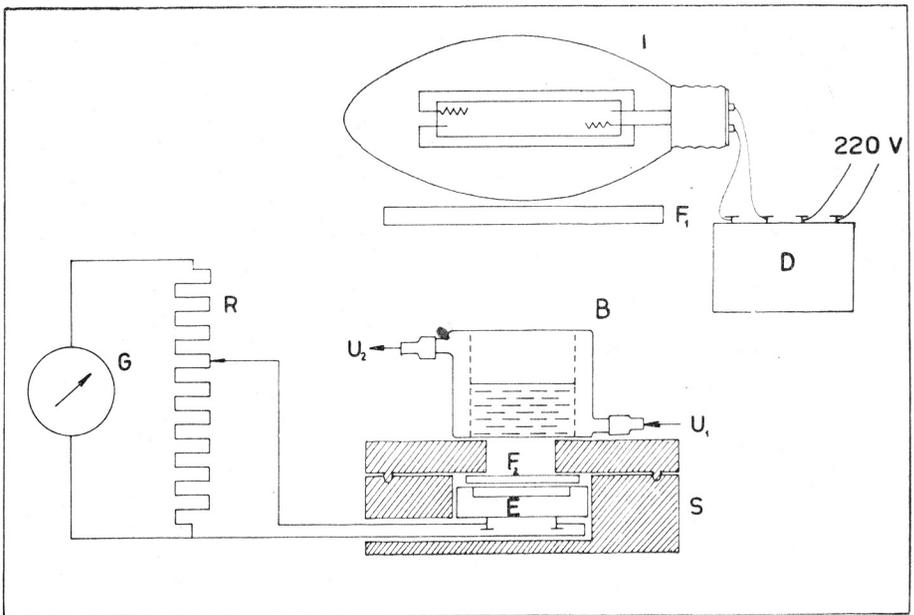


Abb. 1. Fluorometrische Messapparatur. L Quecksilberhochdrucklampe, F_1 und F_2 optische Filter, D Drosselspule, B doppelwändiger Reaktionsbecher, U_1 und U_2 Zu- und Abfluss des Termostatenwassers, E Photoelement, R Regelwiderstand, G Spiegelgalvanometer

Das Reaktionsgemisch hatte stets ein Volumen von 50 ml und wurde durch Vermischen der Komponenten in der angegebenen Reihenfolge erhalten: Wasser, Aceton, 1%ige wässrige Lösung von Natriumperborat ($\text{NaBO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$), 0,2-ige Lösung von Indol in Isopropylalkohol und Methyl-Paraoxon (Me-E 600, Dimethyl-*p*-nitrophenylphosphat) in Isopropylalkohol. Die Lösung des Phosphorsäure-Esters

wurde zuletzt der Reaktionslösung aus einer Kolbenpipette (Giftpipette) bei intensivem Rühren hinzugefügt und dieser Zeitpunkt als Reaktionsbeginn gestoppt. Das Reaktionsgemisch zeigte auch vor dem Hinzufügen des Phosphorsäure-Esters eine geringfügige Fluoreszenz (G_0), die als Anfangswert von den Fluoreszenzintensitäten während des Reaktionsverlaufes (G) abgezogen wurde. So wurden die Werte der Fluoreszenzintensität der Zwischenverbindungen der Indoloxydation (G_{kor}) erhalten und zur Darstellung der Intensitäts-Zeitkurven verwendet (vergl. Abb. 2.). Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit (v) wurde an Hand dieser Kurven durch Anlegung der Tangente an den steilsten Teil der Kurve und Bestimmung der Ordinate dieser Tangente für die Reaktionszeit von zwanzig Sekunden bestimmt.

Das verwendete Methyl-Paraoxon war ein englisches Präparat (ölige Flüssigkeit) mit 96,5% aktiver Substanz, $d_4^{20} = 1,3775$. Die anderen Stoffe waren Laboratoriumschemikalien *p. a.*

DIE VERSUCHSERGEBNISSE

In der ersten Versuchsreihe befassten wir uns mit der Bestimmung der Konzentrationen des Natriumperborats, des Acetons und des Isopropylalkohols,

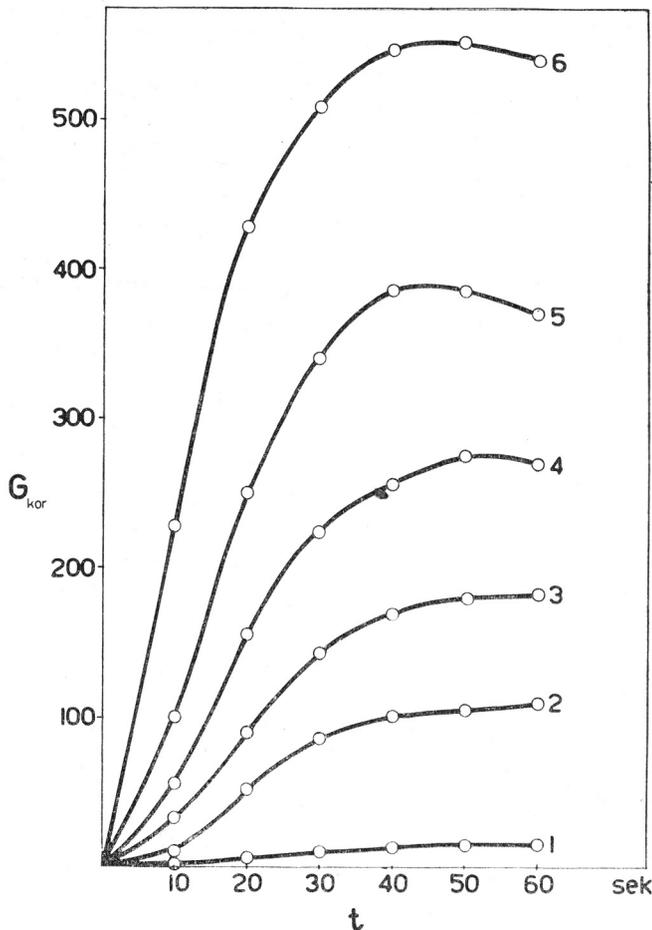


Abb. 2. Intensitäts-Zeitkurven der Fluoreszenz für verschiedene Acetonkonzentrationen. 1 ohne Acetonzusatz, 2 0,0027 M, 3 0,0055 M, 4 0,0110 M, 5 0,0275 und 6 0,5550 M Aceton im Reaktionsgemisch, G_{kor} korrigierte relative Fluoreszenzintensität, t Reaktionszeit

die als optimal für die Geschwindigkeit der Oxydationsreaktion des Indols betrachtet werden können. Auf Grund der Ergebnisse dieser Versuche wurden dann alle kinetischen Messungen mit Reaktionslösungen vorgenommen die folgende Grundzusammensetzung hatten: 28 ml Wasser, 2 ml Aceton (0,55 M im fertigen Reaktionsgemisch), 10 ml 1%-ige wässrige Lösung von Natriumperborat (0,2%), 1 ml 0,2%-ige Lösung von Indol in Isopropylalkohol ($3,6 \cdot 10^{-4} M$) und insgesamt 10 ml Isopropylalkohol.

Sehr interessant ist die Wirkung der Acetonkonzentration auf die Geschwindigkeit der Indolreaktion. Die Abbildung 2. zeigt einige Intensitäts-Zeitkurven, bei Anwesenheit von verschiedenen molaren Konzentrationen des Acetons. Bei Abwesenheit von Aceton verläuft die Indoloxydation sehr langsam, während schon sehr kleine Konzentrationen des Acetons eine wesentliche Geschwindigkeitssteigerung verursachen. Prüft man den Einfluss des Acetons auf die Reaktionsgeschwindigkeit in einem grösseren Konzentrationsbereich (bis 1,4 M), so ist nach einem anfänglichen etwa exponentiellen Anstieg, bei Acetonkonzentrationen die grösser als 0,4 M sind eine geringfügigere Abnahme der Geschwindigkeit zu beobachten. Bei Abwesenheit des Phosphorsäure-Esters wirkt Aceton nicht beschleunigend auf die Indolreaktion. Die Indoloxydation verläuft also nur dann mit nennenswerter Geschwindigkeit, wenn sowohl die Organophosphorverbindung als auch Aceton in der Reaktionslösung vorhanden sind. Diese Feststellung ist für den Mechanismus des Reaktionsverlaufs in theoretischer Beziehung wichtig.

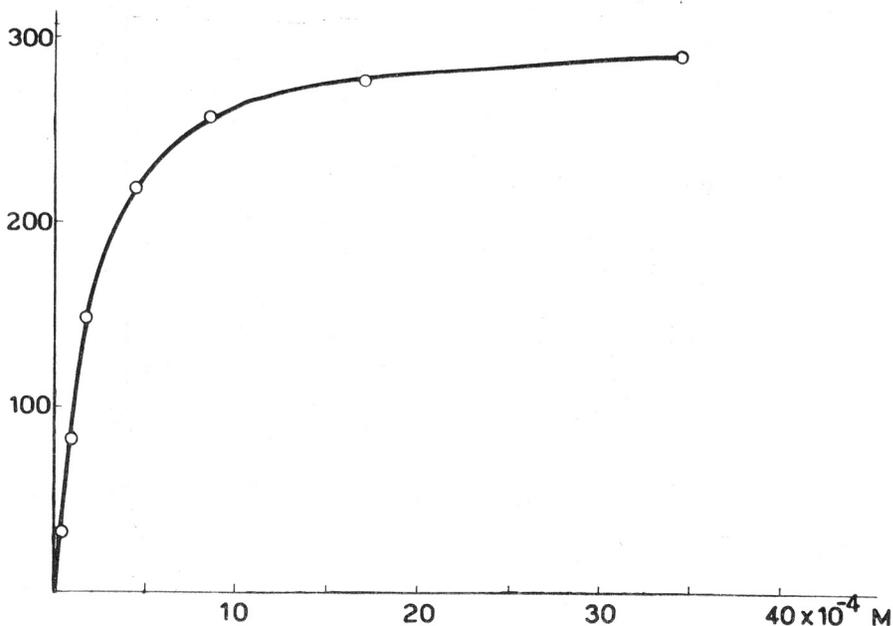


Abb. 3. Die Reaktionsgeschwindigkeit (v) als Funktion der Konzentration (c) des Methyl-Paraoxons

Die Geschwindigkeit der Indolreaktion ist natürlich wesentlich von der Konzentration des Methyl-Paraoxons abhängig. Die Abbildung 3. zeigt in gra-

phischer Darstellung diese Funktion für eine Versuchsreihe bei optimalen Konzentrationen der anderen Reaktionskomponenten. Wenn man die Indolreaktion als eine Modellreaktion⁵ der Peroxydasewirkung auffasst (Enzymmodell), wäre Proportionalität zwischen der Reaktionsgeschwindigkeit und der Konzentration des »Enzyms« (Methyl-Paraoxon) zu erwarten.⁶ Dies trifft aber nur für kleine Konzentrationen des Phosphorsäure-Esters zu. Deshalb wurde auch bei den weiteren kinetischen Messungen mit Konzentration des Methyl-Paraoxons gearbeitet, die eine lineare Beziehung zur Reaktionsgeschwindigkeit ergaben.

Zur Charakterisierung der Kinetik einer enzymatischen Reaktion ist es am zweckmässigsten die Werte der Michaelis-Konstante (K_m) zu bestimmen. Diese Konstante wird auf Grund von Messungen der Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Substratkonzentration bei konstanter Enzymkonzentration erhalten.⁷ Bei der hier zu behandelnden Modellreaktion kommt dem Indol die Rolle des Substrates und dem Methyl-Paraoxon die des Enzyms zu.

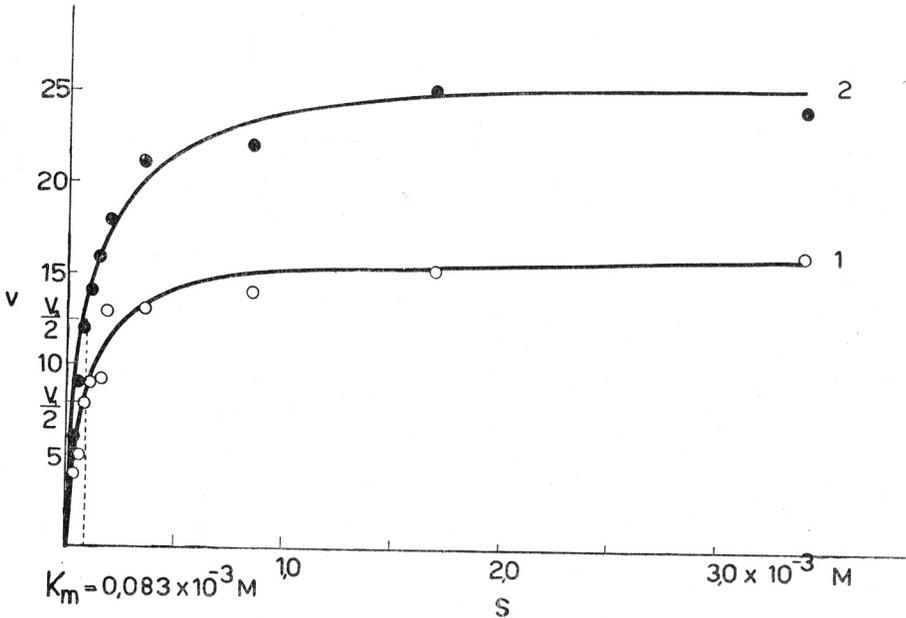


Abb. 4. Die Reaktionsgeschwindigkeit (v) als Funktion der Konzentration (S) des Indols für zwei verschiedene Konzentration des Methyl-Paraoxons: 1 $0,52 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ und 2 $0,86 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Die Abbildung 4. zeigt zwei Kurven, für zwei verschiedene Konzentrationen des Methyl-Paraoxons, die für die Reaktionsgeschwindigkeit (v) bei zunehmender Konzentration (S) des Indols erhalten wurden. Aus diesen Kurven kann man K_m bestimmen, aber es ist zweckmässiger dies graphisch oder rechnerisch mit Hilfe der Michaelis-Gleichung zu tun.⁸⁻¹⁰ Zu diesem Zwecke gibt man der Michaelis-Gleichung die Form einer Gleichung der Geraden:^{10,11}

$$\frac{s}{v} = \frac{K_m}{V} + \frac{1}{v} s \tag{1}$$

In dieser Gleichung bezeichnet S die Konzentration des Indols, v die Geschwindigkeit der Reaktion für diese Substratkonzentration, V die maximale Reaktionsgeschwindigkeit (bei sehr grosser Substratkonzentration) und K_m die Michaelis-Konstante.

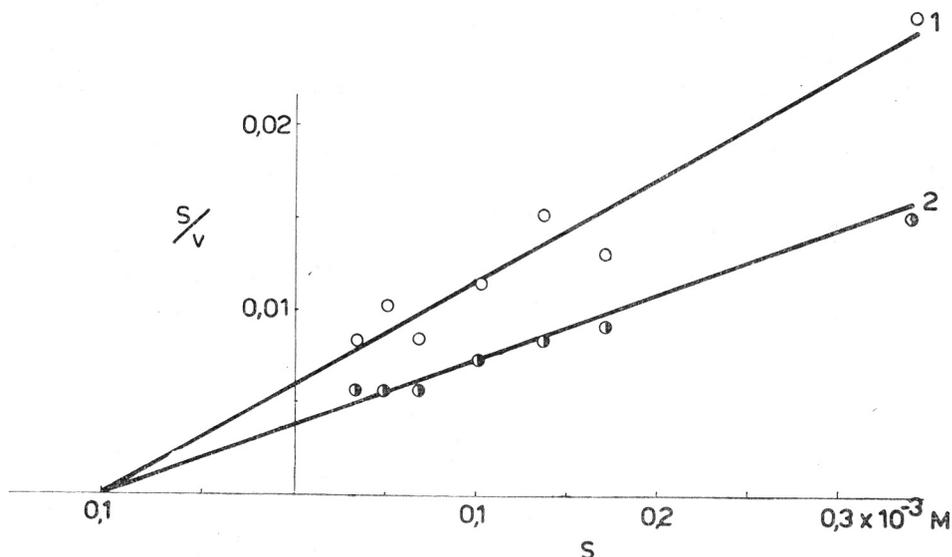


Abb. 5. Graphische Bestimmung der Michaelis-Konstante nach Gleichung (1) für zwei verschiedene Konzentrationen des Methyl-Paraoxons: 1 $0,52 \cdot 10^{-4} M$ und 2 $0,86 \cdot 10^{-4} M$

Die Abbildung 5. zeigt die graphische Darstellung der Resultate der Abbildung 4. gemäss der Gleichung (1). Es ist ersichtlich, dass sich die zwei Geraden, die sich auf zwei verschiedene Konzentrationen des Methyl-Paraoxons beziehen in einem Punkt der Abszisse treffen. Dies bedeutet aber, dass die Michaelis-Gleichung in diesem Falle zutrifft. Die Kreise der Abbildung 5 geben die Messwerte an und die eingezeichneten Geraden wurden statistisch nach der Methode der kleinsten Quadrate ermittelt.¹²

Der Temperatureinfluss auf die Geschwindigkeit von Enzymreaktionen ist oft sehr verwickelt. Eine eingehende Prüfung dieses Einflusses würde die Messung der Geschwindigkeit der einzelnen Teilreaktionen bei verschiedenen Temperaturen erfordern. Da solche Messungen in vielen Fällen nur schwer durchführbar sind, begnügt man sich gewöhnlich mit der Messung des Temperatureinflusses auf die Michaelis-Konstante und auf die maximale Reaktionsgeschwindigkeit. Solche Messungen wurden für verschiedene Konzentrationen des Methyl-Paraoxons im Temperaturintervall von $14^{\circ} C$ bis $40^{\circ} C$ vorgenommen. Die K_m -Werte wurden graphisch mit Hilfe des Verhältnisses des Abschnittes der Ordinate und der Richtungskonstante der Geraden der Gleichung (1) bestimmt. Die Fehler in der Bestimmung der K_m -Werte wurden aus den Standardfehler des Abschnittes der Ordinate und der Richtungskonstante berechnet, da K_m eine Funktion dieser beiden unabhängigen Variablen ist. Die so erhaltenen Resultate sind in der Tabelle 1. verzeichnet.

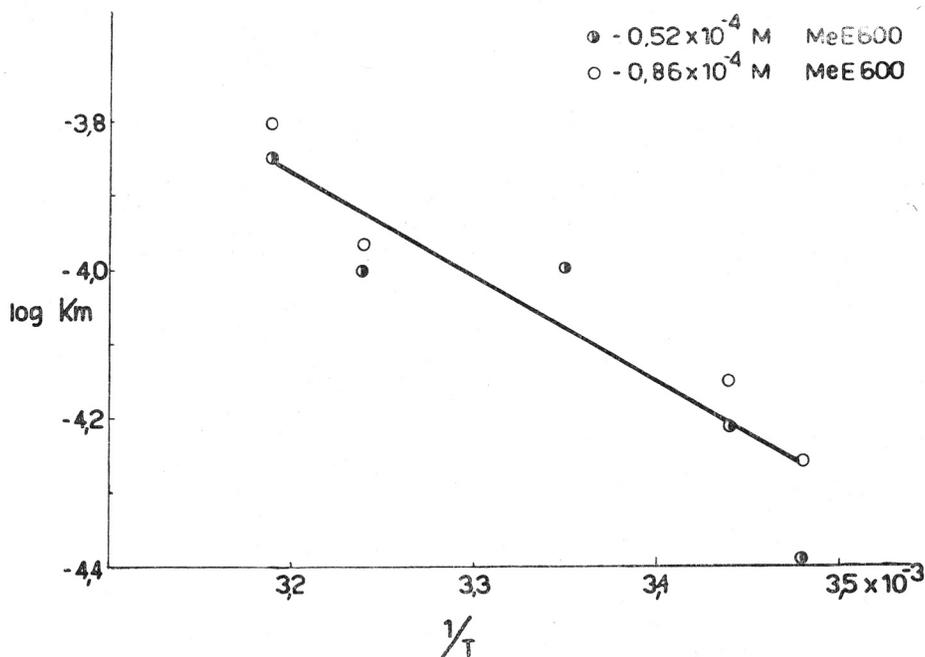
Das Verhältnis der Logarithmen der erhaltenen K_m -Werte zu den reziproken Werten der absoluten Temperaturen $1/T$ ist linear. Da den tieferen

TABELLE 1.

Werte der Michaelis-Konstante (K_m) für verschiedene Temperaturen (t) und zwei Konzentrationen des Methyl-Paraoxons (c)

t °C	$K_m \cdot 10^3$	
	$c = 0,52 \cdot 10^{-4} M$	$c = 0,86 \cdot 10^{-4} M$
14	$0,040 \pm 0,007$	$0,055 \pm 0,014$
17	$0,061 \pm 0,003$	$0,070 \pm 0,010$
25	$0,106 \pm 0,022$	$0,106 \pm 0,003$
35	$0,098 \pm 0,015$	$0,108 \pm 0,003$
40	$0,141 \pm 0,011$	$0,157 \pm 0,011$

Konzentrationen des Methyl-Paraoxons regelmässig auch tiefere K_m -Werte entsprechen, wurden die erhaltenen Geraden statistisch mit Hilfe der Methode des Vergleichs zweier Regressionsgeraden testiert.¹³ Die statistische Bearbeitung hat ergeben, dass beide Geraden zur gleichen Grundgesamtheit gehören

Abb. 6. Temperaturabhängigkeit der Michaelis-Konstante (K_m)

und dass die experimentellen Ergebnisse durch eine gemeinsame Gerade dargestellt werden können (Abbildung 6.). Aus der Richtungskonstante dieser gemeinsamen Geraden wurde im Sinne der Gleichung

$$\log K = - \frac{\Delta H}{2,303 R} \cdot \frac{1}{T} + \log A \quad (2)$$

mit Hilfe der linearen Regression die Änderung der Reaktionsenthalpie und die Fehler ihrer Bestimmung berechnet. Es wurden diese Werte erhalten:

$$\Delta H = 6722 \pm 336 \text{ cal}$$

Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit (V) für bestimmte Temperaturen und Konzentrationen des Methyl-Paraoxons wurde aus der Richtungskonstante der Geraden der Gleichung (1) berechnet (Tabelle 2). Die Temperatur-

TABELLE 2.

Werte der Maximalen Reaktionsgeschwindigkeit (V) für verschiedene Temperaturen (t) und zwei Konzentrationen des Methyl-Paraoxons (c)

t °C	V	
	$c = 0,52 \cdot 10^{-4} M$	$c = 0,86 \cdot 10^{-4} M$
14	6,791	12,619
17	10,231	15,234
25	17,699	28,019
35	33,344	49,261
40	43,678	65,694

abhängigkeit dieser Geschwindigkeit kann — unter der Voraussetzung, dass die maximale Geschwindigkeit proportional der Geschwindigkeitskonstante ist — zur Berechnung der Aktivierungsenergie (E) benützt werden.¹⁴ Dazu kann man gleichfalls die Gleichung (2) benützen wenn man in dieser Gleichung K_m durch V und ΔH durch E ersetzt. Die graphische Bestimmung ist jedoch vorteilhafter. Die Aktivierungsenergie wurde deshalb in diesem Falle mit Hilfe der linearen Regression aus der Richtungskonstante der gemeinsamen Geraden der Änderung von V als Funktion von $1/T$ für zwei verschiedene Konzentrationen des Methyl-Paraoxons bestimmt (Abbildung 7). Die Werte V sind verschieden für verschiedene Konzentrationen des Methyl-Paraoxons, die Aktivierungsenergie kann aber doch aus Geraden, die für eine Konzentration des Methyl-Paraoxons erhalten wurde, berechnet werden, weil die Richtungskonstanten in allen Fällen gleich sind. So wurden für die Aktivierungsenergie und ihre Fehler diese Werte erhalten:

$$E = 11893 \pm 1427 \text{ cal/Mol}$$

Der Einfluss der Temperatur auf enzymatische Reaktionen wird oft mit Hilfe des Temperaturquotienten nach van't Hoff (Q_{10}) ausgedrückt. Für den mittleren Temperaturquotienten der Indolreaktion bei Anwesenheit von Methyl-Paraoxon wurde aus der Temperaturabhängigkeit der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit mit Hilfe der Gleichung:

$$\log Q_{10} = \frac{10}{T_2 - T_1} \log \frac{V_2}{V_1} \quad (3)$$

der Wert

$$Q_{10} = 2,035 \text{ berechnet}$$

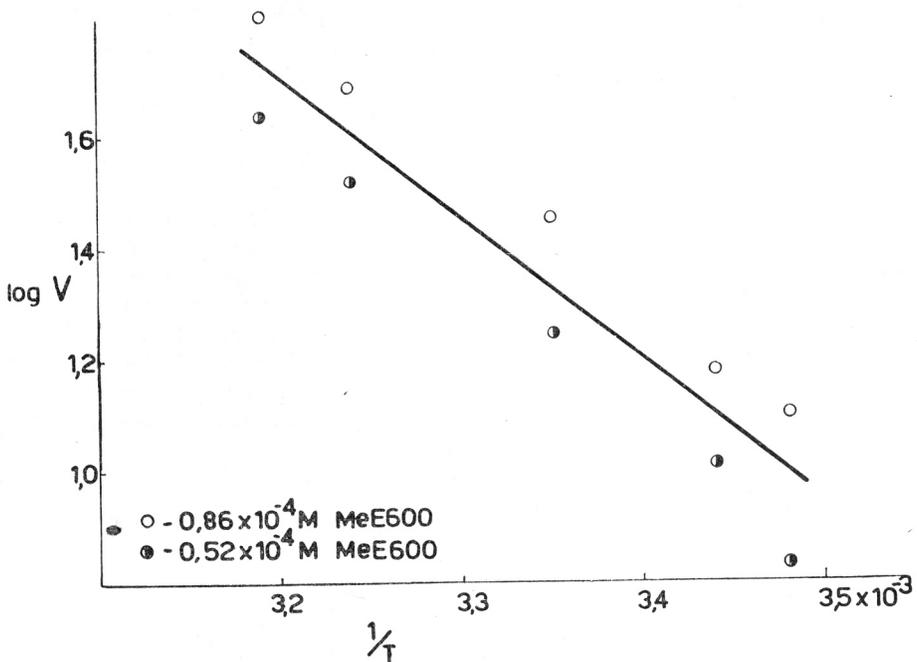


Abb. 7. Die Temperaturabhängigkeit der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit (V)

DISKUSSION

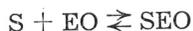
Für viele enzymatische Reaktionen wurde festgestellt, dass ihre Reaktionsgeschwindigkeit proportional der Enzymkonzentration ist.⁶ Für die Oxydation des Indols durch Natriumperborat bei Anwesenheit von Methyl-Paraoxon konnte jedoch keine so einfache Beziehung festgestellt werden. Dies hängt offenbar mit dem sehr komplizierten Mechanismus dieser Reaktion zusammen. Es handelt sich nicht um einen einfachen Oxydationsprozess, sondern um einige Oxydationsreaktionen, die nacheinander und nebeneinander verlaufen. Auch die Reaktionsprodukte haben Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit.

Für die Michaelis-Konstante bei 25° C wurden gleiche Werte für zwei verschiedene Konzentrationen des Methyl-Paraoxons erhalten. Die Fehler der Bestimmung waren dabei etwas grösser für die kleineren Konzentrationen des Methyl-Paraoxons. Wenn man aber die Werte der Michaelis-Konstante für fünf verschiedene Temperaturen näher betrachtet (Tabelle 1), ist klar ersichtlich, dass den kleineren Konzentrationen des Methyl-Paraoxons durchwegs auch kleinere Werte dieser Konstante entsprechen. Diese Unterschiede können nicht als zufällige Fehler der Bestimmung betrachtet werden. Die erhaltenen regelmässigen Unterschiede in den Werten der Michaelis-Konstante weisen darauf hin, dass diese kinetische Grösse sehr wahrscheinlich nur im Gebiet der niederen Konzentrationen des Methyl-Paraoxons als konstant zu betrachten ist. Für höhere Konzentrationen des Phosphorsäure-Ester (Enzyms) scheint die Theorie nicht genau anwendbar zu sein.

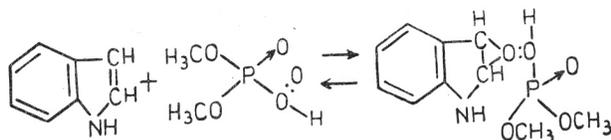
Um festzustellen ob man die erhaltenen Resultate für K_m doch zu einer Stichprobe gehörig betrachten kann, wurden die Geraden, die aus dem Ver-

hältnis $\log K_m$ zu $1/T$ für die zwei verschiedenen Konzentrationen des Methyl-Paraoxons erhalten wurden, nach der statistischen Methoden des Vergleichs zweier Regressionsgeraden testiert. Die statistische Bearbeitung ergab, dass beide Geraden zur selben Grundgesamtheit gehören und man kann so feststellen, dass man die Kinetik der Indolreaktion, innerhalb des verwendeten Konzentrationsgebietes des Methyl-Paraoxons, mit Hilfe der üblichen Methoden der Kinetik enzymatischer Reaktionen darstellen kann.

Die Messungen des Temperatureinflusses auf die Michaelis-Konstante und die maximale Geschwindigkeit der Indolreaktion ermöglichten es die Änderung der Reaktionsenthalpie (ΔH) und die Aktivierungsenergie (E) zu berechnen. Man kann annehmen, dass sich diese Werte auf die Bildung des Enzym-Substratkomplexes als aktivierten Komplexes der Reaktion beziehen. In unserem Fall also auf den Komplex des Methyl-Paraoxons, oder besser des Peroxydes des Methyl-Paraoxons mit dem Indol. In Sinne der Theorie von Michaelis-Menten würde das bedeuten, dass sich der Oxydationsreaktion des Indols ein Gleichgewicht der Form



»vorlagern« würde, das im konkreten Falle etwa die Form.



Peroxyd des hydrolysierten »Enzyms«

haben dürfte. Da die Reaktion jedoch, wie schon erwähnt, ohne Acetonzusatz sehr langsam verläuft, die Ester der Phosphorsäure aber mit Wasserstoffperoxyd sehr leicht Peroxyde (Persäuren) bilden,^{15,16} wäre zu folgern, dass sich primär ein Peroxyd des Phosphorsäure-Esters bilden könnte und dieses würde dann seinen labil gebundenen Sauerstoff auf das Aceton übertragen. Das so entstandene Peroxyd des Acetons könnte dann mit dem Indol den aktivierten Komplex der eigentlichen Oxydationsreaktion bilden. Mit Rücksicht auf den verwickelten Verlauf der Indolreaktion kann jedoch nicht mit Sicherheit festgestellt werden auf welchen Teil der Bruttoreaktion sich die experimentell formell festgestellten physikalisch-chemischen Grössen (K_m , V , ΔH und E) beziehen. Dies ist umso mehr zu berücksichtigen, als auch bei den wahren Enzymreaktionen sich die Michaelis-Konstante und die maximale Reaktionsgeschwindigkeit nur unter bestimmten Bedingungen auf ein vorgelagertes Gleichgewicht der gegebenen Formulation beziehen.

LITERATUR

1. B. Gehauf and J. Goldenson, *Anal. Chem.* **29** (1957) 276.
2. H. Zimmermann und N. Joop, *Z. Elektrochem.* **65** (1961) 61.
3. D. N. Kramer and R. M. Gamson, *Anal. Chem.* **29** (1957) 21 A.
4. K. Weber, *Arh. hig. rada* **12** (1961) 169.
5. Bezüglich Enzymmodelle vergl. z. B. G. M. Schwab und F. Rost, *Handbuch der Katalyse III. Biokatalyse*, Springer-Verl. Wien, 1941. S. 545.
6. F. W. Plapp and E. J. Caside, *Anal. Chem.* **30** (1958) 1622.
7. L. Michaelis und M. L. Menten, *Biochem. Z.* **49** (1913) 333.
8. H. Lineweaver and D. Burk, *J. Amer. Chem. Soc.* **56** (1934) 658.

9. M. Dixon, *Biochem. J.* **55** (1953) 170.
10. E. A. Dawes, *Quantitative Problems in Biochemistry*, Livingstone Ltd. Edinburgh and London 1962.
11. G. N. Wilkinson, *Biochem. J.* **80** (1961) 324.
12. W. Youden, *Statistical Methods for Chemists*, J. Wiley & Sons, London 1951.
13. L. H. C. Tippett, *The Methods of Statistics*, J. Wiley & Sons, London 1952.
14. K. D. Gibson, *Biochem. Biophys. Acta* **10** (1953) 221.
15. T. Wagner-Jauregg, *Arzneimittel-Forsch.* **6** (1956) 194.
16. L. Larsson, *Acta Chem. Scand.* **12** (1958) 723.

IZVOD

Kinetika katalitičke oksidacije indola

Izvršena su kinetička istraživanja oksidacione reakcije indola, koja se zbiva utjecajem natrijeva perborata u prisutnosti organofosfornog spoja metil-peraoksiona kao promotora. Brzina reakcije određena je mjerenjem intenziteta fluorescencije oksidacionih međuprodukata indola (indoksil i indigo bijelo). Organofosforni spoj u ulozi prenosioca kisika djeluje slično kao enzim peroksidaza. Ustanovljeni su uvjeti pod kojima se indolska reakcija i prisutnosti organofosfornog spoja može smatrati modelnom reakcijom peroksidativnog djelovanja.

SKOLA NARODNOG ZDRAVLJA »ANDRIJA ŠTAMPAR«

I

ZAVOD ZA SUDSKU MEDICINU
MEDICINSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

Primljeno 24. studenog 1965.