

PREMIER MINISTRE
COMMISSARIAT A
L'ÉNERGIE ATOMIQUE

Oxydation du sulfite en sulfate en présence de protohématine. I. Caractéristiques générales

par

P. FROMAGEOT et F. CHAPEVILLE

Rapport CEA n° **2011**

1961

CENTRE D'ÉTUDES
NUCLÉAIRES DE SACLAY

CEA 2011 - FROMAGEOT P., CHAPEVILLE F.

Oxydation du sulfite en sulfate en présence de protohématine - I. Caractéristiques générales (1961).

Sommaire. — La protohématine possède la propriété de catalyser l'oxydation du sulfite. Le pH optimum de cette réaction est voisin de 7 en présence d'un tampon phosphate 0.05 M. L'oxydation du sulfite n'est pas liée à la réduction de la protohématine en protohème et les substances susceptibles de former des complexes avec le fer de la protohématine sont des inhibiteurs de son action catalytique.

CEA 2011 - FROMAGEOT P., CHAPEVILLE F.

Oxidation of sulphite to sulphate in presence of protohematin - I. General characteristics (1961).

Summary. — Protohematin catalyzes the oxidation of sulphite. The optimum pH of the reaction is approximately 7 in the presence of a 0.05 M phosphate buffer. The oxidation of sulphite is not coupled to the reduction of protohematin to protohaem. Reagents able to form complexes with the iron of protohematin are inhibitors of its catalytic function.

OXYDATION DU SULFITE EN SULFATE EN PRÉSENCE DE PROTOHÉMATINE

I. CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES

P. FROMAGEOT ET F. CHAPEVILLE

*Département de Biologie, Commissariat à l'Énergie Atomique, Centre d'Études Nucléaires de Saclay,
Gif-sur-Yvette (France)*

(Reçu le 6 décembre 1960)

SUMMARY

Oxidation of sulphite to sulphate in presence of protohematin. I. General characteristics

Protohematin catalyzes the oxidation of sulphite. The optimum pH of the reaction is approximately 7 in the presence of a 0.05 M phosphate buffer. The oxidation of sulphite is not coupled to the reduction of protohematin to protohaem. Reagents able to form complexes with the iron of protohematin are inhibitors of its catalytic function.

INTRODUCTION

L'étude de l'oxydation du sulfite en sulfate par les tissus végétaux, entreprise par TAGER ET RAUTANEN^{1,2} et par notre laboratoire³, permet de penser qu'en première hypothèse, la ou les enzymes responsables possèdent un groupe prosthétique de nature héminique. Il nous a donc paru utile, à titre de modèle, d'examiner le rôle catalytique de la protohématine à l'égard de l'oxydation du sulfite en sulfate, rôle catalytique déjà signalé par SÖRBO⁴.

Conditions expérimentales

On mesure l'oxydation du sulfite dans l'appareil de Warburg, en présence d'air, à 7° ou à 37°. La vitesse d'agitation est de 220 oscillations/min. Sauf indication contraire on utilise 10 μ moles de sulfite par expérience, introduit sous forme de 0.2 ml de sa solution aqueuse et 0.02 μ mole de protohématine. La solution de protohématine employée est préparée juste avant l'emploi, en dissolvant 6.5 mg d'hémine cristallisée dans 0.7 ml de solution de soude 0.1 N, et en diluant à 100 ml avec du tampon phosphate 0.05 M (pH 6.8). Les solutions de deutérohématine et de deutéroporphyrine sont obtenues de la même façon. Après l'addition des substances dont l'effet sur l'oxydation du sulfite est étudié, le volume est complété à 2 ml avec du tampon phosphate 0.05 M (pH 7.0). Les temps sont connus à ± 5 sec près.

Inhibiteurs

Les mesures ont été faites avec une concentration en protohématine $1 \cdot 10^{-5}$ M, L'influence de l'oxyde de carbone a été étudiée à 25°, à l'obscurité et dans une atmosphère comportant CO-O₂ (95:5) par rapport à des témoins où l'azote remplace

l'oxyde de carbone. On a aussi utilisé les substances ci-dessous dans les conditions habituelles: sulfate de sodium, fluorure de sodium, cyanure de potassium, Versène, α, α' -dipyridyle, pyridine, acide rubéanique, alcool éthylique.

En outre, on a examiné l'influence sur l'oxydation du sulfite par la protohématine, de composés sulfinés ainsi que de leurs analogues carboxyliques dont la liste ainsi que les concentrations utilisées figurent dans le Tableau IV.

RÉSULTATS

Pendant le temps utilisé (10 min) pour porter les cellules de Warburg à la température de 37°, 15-20 % du sulfite s'oxydent spontanément dans l'ampoule latérale.

Dès le mélange des réactifs, la protohématine catalyse l'oxydation du sulfite. La vitesse initiale de la réaction est sensiblement proportionnelle à la concentration de la protohématine (Tableau I) et à la concentration du sulfite (Tableau II).

Si l'on réalise l'oxydation à 7°, la vitesse de la réaction est suffisamment diminuée pour que l'on puisse faire varier la concentration en sulfite dans de plus larges proportions. La consommation d'oxygène après 90 sec d'oxydation à cette température est donnée dans la Fig. 1, où l'on a porté, à titre de comparaison, les résultats obtenus dans les mêmes conditions en présence de sulfate de cuivre $5 \cdot 10^{-6} M$ comme catalyseur.

Le pH optimum de l'oxydation du sulfite en présence de protohématine est voisin de 7 en tampon phosphate 0.05 M, (Fig. 2). A ce pH, le rapport des concentrations des ions sulfite et bisulfite est de 50.

TABLEAU I

OXYGÈNE CONSOMMÉ PENDANT LES 2 PREMIÈRES MINUTES DE L'OXYDATION DU SULFITE SOUS L'EFFET DE LA PROTOHÉMATINE

Sulfite, 10 μ moles; tampon phosphate, 0.05 M (pH 7.0); température, 37°.

Protohématine	Oxygène consommé (μ l)	
	Essai I	Essai II
0	6	7.2
$1 \cdot 10^{-6} M$	19	19
$2 \cdot 10^{-6} M$	30	35.5
$4 \cdot 10^{-6} M$	65	53
$6 \cdot 10^{-6} M$		66

TABLEAU II

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN SULFITE SUR LA VITESSE DE LA CONSOMMATION D'OXYGÈNE EN PRÉSENCE DE PROTOHÉMATINE

Protohématine, $2.5 \cdot 10^{-6} M$; tampon phosphate, 0.05 M (pH 7.0); Versène, $0.75 \cdot 10^{-6} M$; température, 37°. Sulfite introduit: I, 5 μ moles; II, 10 μ moles; III, 20 μ moles.

Temps (min)	Oxygène consommé (μ l)		
	I	II	III
2	9	17	38
4	15	30	67
6	19	39	83
8	22	46	97

Si l'on suit l'oxydation du sulfite en présence de quantités de protohématine de l'ordre de 1.25 à $7.25 \cdot 10^{-6} M$, on observe que la vitesse de l'oxydation décroît rapidement. Le Tableau III montre qu'en présence d'une concentration $1.25 \cdot 10^{-6} M$ de protohématine l'oxydation devient après quelques minutes extrêmement lente bien que la quantité de sulfite encore présent soit appréciable.

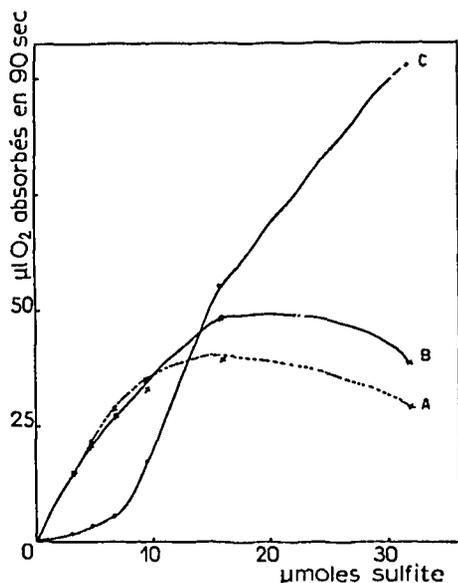


Fig. 1. Influence de la concentration en sulfite sur la vitesse initiale de son oxydation. La vitesse initiale est la quantité d'oxygène, exprimée en μl , utilisée pendant les 90 premières secondes. Tampon phosphate, $0.05 M$ (pH 7.0); température, 7° . Courbes A et B, protohématine $2.5 \cdot 10^{-6} M$, courbe C, $CuSO_4$ $5 \cdot 10^{-6} M$.

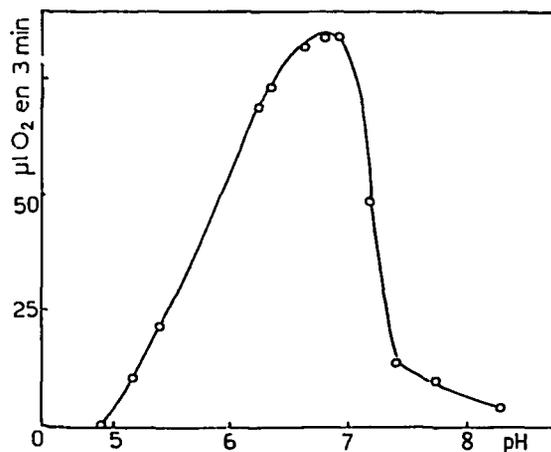


Fig. 2. Influence du pH sur l'oxydation du sulfite en présence de protohématine. Protohématine, $2.5 \cdot 10^{-6} M$; sulfite, $10 \mu moles$, tampon phosphate, $0.05 M$, température, 37° . En ordonnée sont portés les $\mu l O_2$ consommés dans les trois premières minutes pour chaque expérience, après soustraction de l'oxygène consommé dans des conditions identiques en absence d'hématine.

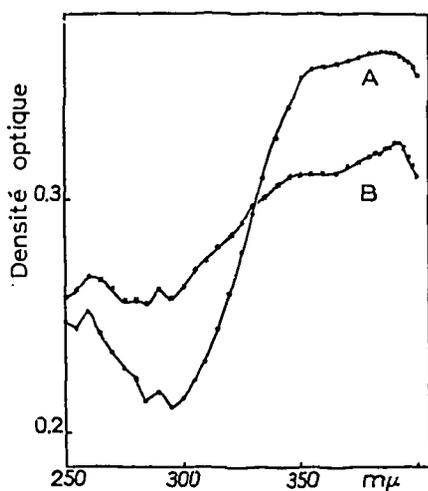


Fig. 3. Spectre de la protohématine après oxydation catalytique de sulfite en sulfate. A, courbe d'absorption d'un mélange de protohématine $1 \cdot 10^{-5} M$ avec $10 \mu moles$ de Na_2SO_4 et $2 ml$ de tampon phosphate, $0.05 M$ (pH 7.0) maintenu $15 min$ à 37° . B, courbe d'absorption d'un mélange de protohématine $1 \cdot 10^{-5} M$ avec $10 \mu moles$ de Na_2SO_3 et $2 ml$ de tampon phosphate $0.05 M$ (pH 7.0) maintenu $15 min$ à 37° . L'oxydation du sulfite est alors totale.

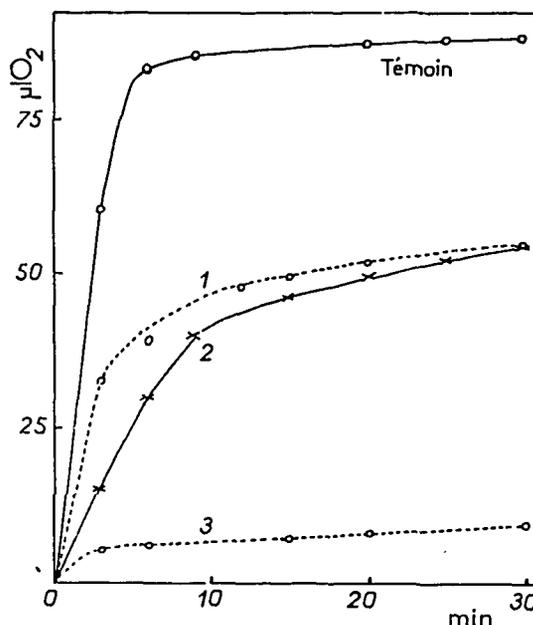


Fig. 4. Influence de l' α, α' -dipyridyle et du Versène sur l'oxydation du sulfite en présence de protohématine. Protohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$; sulfite, $10 \mu moles$; tampon phosphate, $0.05 M$ (pH 7.0); température, 37° . 1, Versène, $2 \cdot 10^{-5} M$; 2, α, α' -dipyridyle, $1 \cdot 10^{-4} M$; 3, Versène, $1 \cdot 10^{-4} M$.

La Fig. 3 permet de comparer le spectre d'absorption de la protohématine entre 250 et 400 $m\mu$, en présence de sulfate introduit directement (A) ou provenant de l'oxydation catalytique du sulfite (B).

Inhibiteurs

La catalyse de l'oxydation du sulfite par la protohématine à la concentration $1 \cdot 10^{-5} M$ n'est pas modifiée en présence de sulfate de sodium $2 \cdot 10^{-2} M$, de fluorure de sodium $1 \cdot 10^{-2} M$, de cyanure de potassium $1 \cdot 10^{-4} M$. Dans les conditions indiquées l'oxyde de carbone ne provoque aucune altération de la cinétique de l'oxydation du sulfite. La Fig. 4 montre l'influence inhibitrice du Versène et de l' α, α' -dipyridyle. La

TABLEAU III

OXYDATION DU SULFITE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN PROTOHÉMATINE ET DU TEMPS

Sulfite, 10 μ moles; tampon phosphate, 0.05 M (pH 7.0); température, 7°.

Protohématine: I, $1.25 \cdot 10^{-6} M$; II, $5 \cdot 10^{-6} M$.

Temps (min)	Oxygène consommé (μ l)	
	I	II
1	6.4	25.8
3		58
4.5	9.9	66
10	12.7	81.5
15	14.1	85.5
150	32	107
240	51	107
Sulfite restant, dosé par l'iode	5.5 μ moles	0

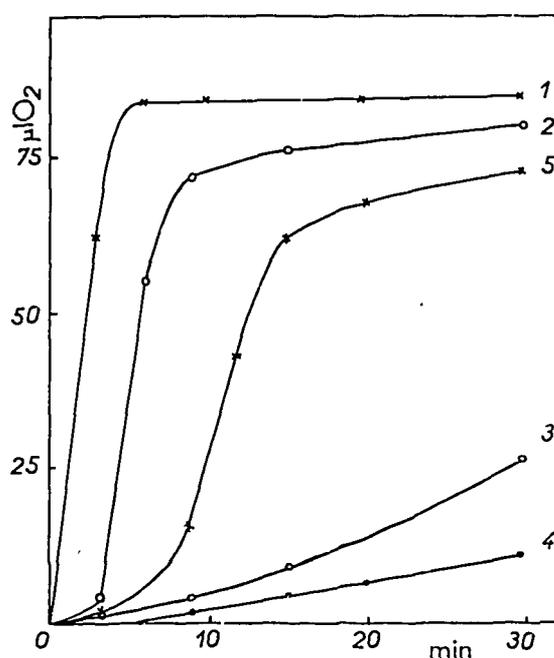


Fig. 5. Oxydation catalytique du sulfite. Sulfite, 10 μ moles; tampon phosphate, 0.05 M (pH 7.0); température, 37°; volume final, 2 ml. 1, Protohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$ ou deutérohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$; 2, protohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$ + sérum albumine, $0.7 \cdot 10^{-5} M$; 3, deutérohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$ + sérum albumine, $0.7 \cdot 10^{-5} M$; 4, deutéroporphyrine; 5, protohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$, sérum albumine, $0.7 \cdot 10^{-5} M$ + KCN $1 \cdot 10^{-4} M$.

pyridine a la même action et à la concentration $2 \cdot 10^{-4} M$ ralentit d'environ 50 % la vitesse d'oxydation du sulfite en présence de protohématine $1 \cdot 10^{-5} M$.

La substitution du tampon Tris au tampon phosphate supprime totalement les propriétés catalytiques de la protohématine (concentration: $1 \cdot 10^{-5} M$), et l'acide rubéanique (dithio-oxamide) $1 \cdot 10^{-4} M$ arrête complètement toute consommation d'oxygène. Dans les mêmes conditions, l'addition de sérum albumine à la concentration $0.7 \cdot 10^{-5} M$ provoque une modification de la cinétique de l'oxydation du sulfite se manifestant par un ralentissement très marqué de l'oxydation pendant les trois premières minutes (Fig. 5). Cette inhibition est accrue en présence de cyanure $1 \cdot 10^{-4} M$, qui seul cependant n'a pas d'influence sur l'activité catalytique de la protohématine. A la concentration $2 \cdot 10^{-5} M$, la sérum albumine inhibe complètement l'oxydation du sulfite.

En solution dans du tampon phosphate, la deutérohématine, qui possède les mêmes caractéristiques à l'égard de l'oxydation catalytique du sulfite, est cependant plus inhibée par la sérum albumine à la concentration $0.7 \cdot 10^{-5} M$ (Fig. 5), les solutions de deutérohématine et de protohématine ayant été préparées en même temps. En effet, si l'on conserve une solution de protohématine $1 \cdot 10^{-4} M$ dans du tampon phosphate $0.05 M$ (pH 7.0) pendant 4 jours à 0° , son aptitude à catalyser l'oxydation du sulfite est diminuée et l'addition de sérum albumine à la concentration $0.7 \cdot 10^{-5} M$ conduit à une inhibition totale de la catalyse. Cette évolution de la protohématine en solution à pH 7.0 est accélérée par la dilution: Une solution $5 \cdot 10^{-6} M$ de protohématine dans du tampon phosphate $0.05 M$ (pH 7.0) perd environ la moitié de son activité

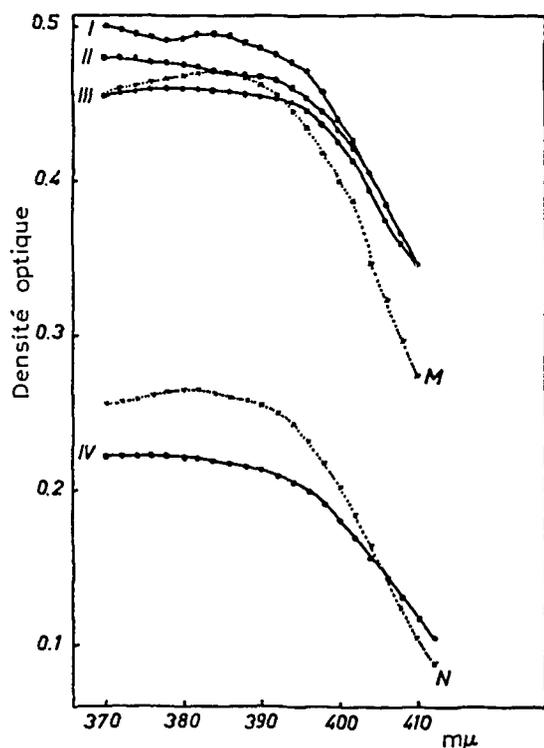


Fig. 6. Modification de la bande de Soret de la protohématine en fonction du temps et influence du Tris. Solution de protohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$ dans du tampon phosphate $0.05 M$ (pH 7.0). I, 10 min après sa préparation; II, après 40 min; III, après 90 min; IV, après 15 h. M, solution de protohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$ dans du tampon Tris $0.05 M$ (pH 7.1) et mesuré 90 min après sa préparation; N, après 15 h. Température, 25° .

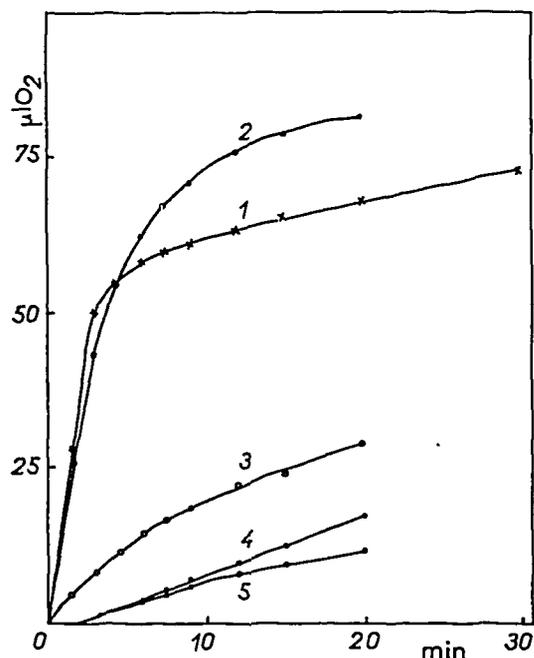


Fig. 7. Influence du cyanure sur l'oxydation du sulfite. Sulfite, $10 \mu\text{moles}$; tampon phosphate, $0.05 M$ (pH 7.0); température, 37° ; volume final, 2 ml. 1, Protohématine, $5 \cdot 10^{-6} M$; 2, protohématine + KCN, $1 \cdot 10^{-3} M$; 3, protohématine + KCN, $3 \cdot 10^{-3} M$; 4, KCN, $1 \cdot 10^{-3} M$; 5, KCN, $3 \cdot 10^{-3} M$.

catalytique en 12 h à 25°, et à la lumière du jour; simultanément, l'intensité de la bande de Soret diminue (Fig. 6). L'influence du cyanure sur la catalyse par la protohématine de l'oxydation du sulfite est donnée par la Fig. 7.

Les spectres de la protohématine en présence de Tris et de α, α' -dipyridyle ou de pyridine sont donnés par les Figs. 6 et 8.

Enfin en présence d'alcool éthylique $1.6 \cdot 10^{-2} M$, l'oxydation du sulfite par la protohématine, dans les mêmes conditions que ci-dessus est complètement arrêtée. Le spectre de la protohématine en présence d'alcool est donné par la Fig. 9.

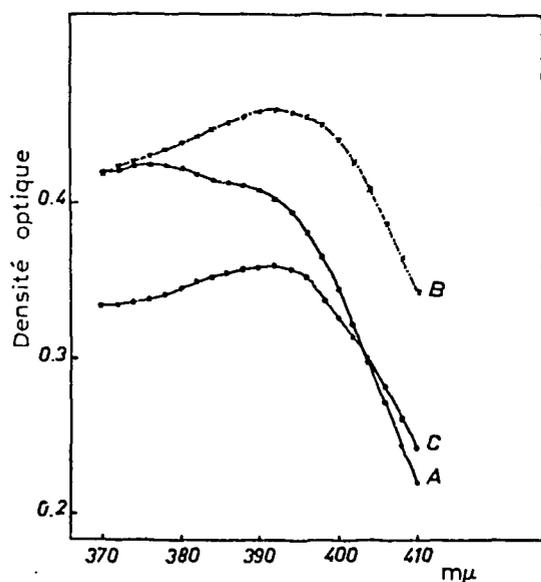


Fig. 8. Modification de la bande de Soret de la protohématine par la pyridine et l' α, α' -dipyridyle. Protohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$, en solution dans du tampon phosphate $0.05 M$ (pH 7.0). A, protohématine témoin; B, en présence d' α, α' -dipyridyle, $3.6 \cdot 10^{-3} M$; C, en présence de pyridine, $3.6 \cdot 10^{-2} M$. Mesures faites après 20 min à 25°.

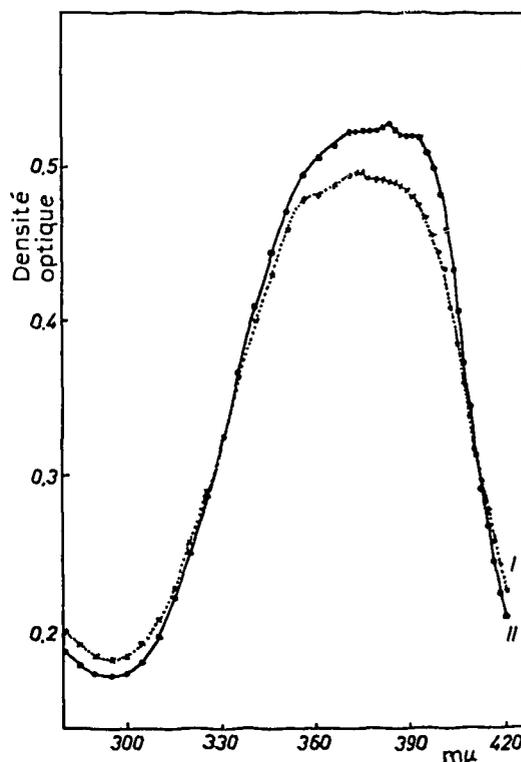


Fig. 9. Modification de la bande de Soret de la protohématine en présence d'alcool éthylique. 1, Solution de protohématine, $1 \cdot 10^{-5} M$ dans du tampon phosphate, $0.05 M$ (pH 7.05). 2, Solution constituée par 1 ml de solution de protohématine, $1 \cdot 10^{-4} M$ dans du tampon phosphate, $0.05 M$ (pH 7.0), 0.5 ml d'alcool éthylique à 95° et par du tampon phosphate, $0.05 M$ (pH 7.0), jusqu'à un volume total de 10 ml, pH final 7.1.

Inhibition par les dérivés sulfinés et par leurs analogues

Les dérivés sulfinés sont des inhibiteurs de l'oxydation du sulfite par la protohématine. Le Tableau IV montre qu'une concentration $5 \cdot 10^{-3} M$ d'hypotaurine conduit à une vitesse initiale d'absorption d'oxygène inférieure à celle du témoin sans hypotaurine. La substitution de la taurine, puis de la glycine à l'hypotaurine, se manifeste par une diminution de cette inhibition.

On retrouve cette décroissance de l'inhibition de l'oxydation du sulfite au fur et à mesure que l'on remplace un dérivé sulfiné par son homologue sulfoné puis carboxylique, dans l'action de l'acide cystéinesulfinique, de l'acide cystéique et de l'acide aspartique (Tableau IV).

Le Tableau IV donne aussi l'effet d'autres dérivés sulfinés ou sulfonés sur la catalyse hématinique de l'oxydation du sulfite ainsi que du thiosulfate.

TABLEAU IV

INFLUENCE DE DIVERS COMPOSÉS SULFINÉS OU DE SUBSTANCES ANALOGUES
SUR LA VITESSE D'OXYDATION DU SULFITE EN PRÉSENCE DE PROTOHÉMATINE

Protohématine, $1 \cdot 10^{-5}$ M; sulfite, 10 μ moles; tampon phosphate, 0.05 M (pH 7.0); température, 37°; volume total, 2 ml. Les résultats sont exprimés en μ l O₂ absorbés pendant les 2 premières minutes, en pour cent par rapport au témoin.

Substance introduite	C. absorbés (μ l)
Témoin	100
Hypotaurine $5 \cdot 10^{-3}$ M	57
Hypotaurine $10 \cdot 10^{-3}$ M	4.5
Taurine $5 \cdot 10^{-3}$ M	72
Taurine $10 \cdot 10^{-3}$ M	38
Glycine $10 \cdot 10^{-3}$ M	64
Acide cystéinesulfonique $5 \cdot 10^{-3}$ M	0
Acide cystéique $13 \cdot 10^{-3}$ M	22
Acide aspartique $15 \cdot 10^{-3}$ M	67
N-méthyltaurine $10 \cdot 10^{-3}$ M	0
Éthanesulfonate de Na $5 \cdot 10^{-3}$ M	90
Éthanesulfonate de Na $10 \cdot 10^{-3}$ M	83
Éthanesulfonate de Na $15 \cdot 10^{-3}$ M	76
Benzènesulfinate de Na $5 \cdot 10^{-3}$ M	0
Thiosulfate de Na $5 \cdot 10^{-3}$ M	0

DISCUSSION

1. Les résultats obtenus montrent que le fer ferrique, sous forme de complexe porphyrinique (protohématine, deutérohématine), est à pH 7, un actif catalyseur de l'oxydation du sulfite en sulfate. La deutéroporphyrine ne possède pas cette aptitude (Fig. 5). Les groupes vinyliques de la protohématine n'ont pas de rôle essentiel dans cette analyse, puisque la deutérohématine possède les mêmes propriétés. On sait que le spectre et le poids moléculaire apparent de la protohématine se transforment en solution aqueuse. Ces modifications, étudiées par voie spectroscopique par SHACK ET CLARK⁵ et par BLYUMENFELDT⁶ (voir aussi Fig. 6) entraînent aussi une diminution de l'activité catalytique de la protohématine à l'égard de l'oxydation du sulfite. Il est possible que de telles modifications de la protohématine soient en partie responsables de la diminution de son activité catalytique que l'on observe au cours des expériences qui mettent en oeuvre de très petites quantités de ce catalyseur (Tableau III).

2. Le sulfite ne réduit pas le fer trivalent de la protohématine, et en présence de pyridine il n'est pas possible de déceler la formation d'un hémochrome, qui dans les mêmes conditions apparaît immédiatement en présence de l'hydrosulfite. Ainsi, contrairement à ce que l'on observe pour la catalyse par les ions Cu²⁺, le rôle catalytique de la protohématine n'est pas lié au changement de valence du fer. Ce résultat est en accord avec le fait que l'oxyde de carbone n'est pas un inhibiteur; l'effet inhibiteur de l' α, α' -dipyridyle ne peut alors s'expliquer par les propriétés chélatrices du fer ferreux. On est conduit à penser que le dipyridyle se comporte comme une base azotée formant avec la protohématine un hémichrome. En effet, le spectre de la protohématine est modifié au niveau de la bande de Soret par l' α, α' -dipyridyle comme il l'est par la pyridine (Fig. 8). Ces données montrent incidemment que la substitution du carbone en α par rapport à l'azote n'exclut pas la formation d'un hémichrome, comme le pense LANGENBECK⁷. SCHELER ET JUNG⁸ étaient déjà arrivés à une conclusion identique avec

l' α -picoline et la quinoléine. Le Tris provoque aussi une modification de la bande de Soret de la protohématine (Fig. 6), et il est bien démontré que la sérum albumine forme des combinaisons avec la protohématine.

L'inhibition de la catalyse hématinique de l'oxydation du sulfite provoquée par la pyridine, l' α, α' -dipyridyle, le Tris, la sérum albumine peut donc s'expliquer par la formation d'hémichromes, toutes ces substances ayant en commun la possession d'atomes d'azote. Il est très probable que l'inhibition observée en présence de dithio-oxamide doit être rapportée au même phénomène. Toutefois, la forte absorption entre 380 m μ et 410 m μ de cette substance ne nous a pas permis d'en apporter une preuve directe.

L'effet inhibiteur de l'éthanol participe au même phénomène: formation d'un complexe avec le fer de la protohématine. L'existence d'un tel complexe est indiqué par la modification de la bande de Soret, comme MAEHLY ET AKESON⁹ l'ont montré avec une concentration en éthanol de 50 %, et comme on peut encore le voir avec des quantités d'alcool beaucoup plus petites (Fig. 9). Il apparaît ainsi que la formation d'un complexe avec le fer retire à la protohématine ses aptitudes catalytiques à l'égard de l'oxydation du sulfite.

On remarquera aussi que l'acide cystéinesulfonique, qui doit à son groupe sulfinyl la propriété de précipiter le fer ferrique de ses solutions¹⁰, est un inhibiteur de l'action catalytique de la protohématine. Lorsqu'on substitue à cet acide sulfonique, l'acide sulfonique correspondant (acide cystéique) ou son analogue carboxylé (acide aspartique), on observe un affaiblissement de cette inhibition (Tableau IV). Nous avons rapporté des faits analogues en ce qui concerne l'hypotaurine, la taurine et la glycine. De plus l'acide benzènesulfonique, qui ne possède pas de groupe aminé bloque complètement l'action catalytique de la protohématine.

Ces données nous incitent à penser que les dérivés soufrés organiques utilisés peuvent former avec le fer de la protohématine un complexe par leur groupe sulfinyle, et à un moindre degré par leur groupe sulfonyle. Un tel complexe auquel peut s'ajouter dans le cas des acides aminés ceux qui impliquent le groupe carboxylique ou le groupe aminé préviennent l'accès du substrat au fer de la protohématine et rendent compte de l'effet inhibiteur observé.

En ce qui concerne le Versène, il est très probable que ce sont les groupes carboxyliques qui sont responsables de la dissimulation du fer de la protohématine, et non l'azote, substitué par ces chaînes encombrantes. On a montré l'existence de tels complexes entre le fer hématinique et un groupe carboxylique avec l'acide benzoïque et la catalase¹¹.

Le cyanure (Fig. 7) enfin n'inhibe le rôle catalytique de la protohématine que lorsque le rapport des concentrations cyanure/protohématine est supérieur à 200. Dans ces conditions, on observe le spectre de la dicyanoferriprotoporphyrine. Cependant, en présence de sérum albumine et de cyanure (rapport des concentrations cyanure/protohématine 10), l'inhibition de l'oxydation du sulfite est supérieure à celle que provoque, seule, la même quantité de sérum albumine (Fig. 5, courbe 5). Il est possible que ce phénomène mette en évidence un hémichrome mixte cyanure-sérum albumine, analogue à celui que SHACK ET CLARK⁵ ont observé pour le système cyanure-pyridine.

On est ainsi conduit à admettre que la catalyse de l'oxydation du sulfite par la protohématine implique une combinaison avec les substrats, et en particulier, une

combinaison hématine-sulfite. Que le sulfite forme des complexes avec le fer ferrique¹² et que le thiosulfate, qui est aussi un agent complexant du fer¹³ mais non oxydable par la protohématine, inhibe complètement l'oxydation du sulfite, sont des observations en accord avec la précédente conclusion.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Dr. HORNER, Institut de Chimie Organique de l'Université de Mayence, qui a mis à notre disposition de l'acide benzènesulfonique, et le Dr. PICHAT, Section des Molécules Marquées du C.E.A., qui a préparé l'hypotaurine utilisée dans le présent travail.

RÉSUMÉ

La protohématine possède la propriété de catalyser l'oxydation du sulfite. Le pH optimum de cette réaction est voisin de 7 en présence d'un tampon phosphate 0.05 M. L'oxydation du sulfite n'est pas liée à la réduction de la protohématine en protohème et les substances susceptibles de former des complexes avec le fer de la protohématine sont des inhibiteurs de son action catalytique.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ J. M. TAGER ET N. RAUTANEN, *Biochim. Biophys. Acta*, 18 (1956) 111.
- ² J. M. TAGER ET N. RAUTANEN, *Physiol. Plantarum*, 9 (1956) 666.
- ³ P. FROMAGEOT, R. VAILLANT ET H. PEREZ-MILAN, *Biochim. Biophys. Acta*, 44 (1960) 77.
- ⁴ B. SORBO, *Colloque sur la Biochimie du Soufre*, Roscoff, 1956, p. 230.
- ⁵ J. SHACK ET N. M. CLARK, *J. Biol. Chem.*, 171 (1947) 143.
- ⁶ L. A. BLYUMENFELDT, *Doklady Akad. Nauk. SSSR*, 85 (1952) 1111.
- ⁷ H. SCHUBERT, H. GIESEMANN ET W. LANGENBECK, *Ann.*, 585 (1954) 68.
- ⁸ W. SCHELER ET F. JUNG, *Biochem. Z.*, 329 (1957) 222.
- ⁹ A. C. MAEHLY ET A. AKESON, *Acta Chem. Scand.*, 12 (1958) 1259.
- ¹⁰ J. THOMAS, *J. Chem. Soc.*, 95 (1909) 343.
- ¹¹ M. SUKUZU, T. TOMIMURA ET M. MIZUTANI, *J. Biochem. (Tokyo)*, 42 (1955) 99.
- ¹² M. V. SIDGWICK, *The Chemical Elements and their Compounds*, Vol. 2, Clarendon Press Oxford, 1950, p. 909.
- ¹³ F. M. PAGE, *Trans. Faraday Soc.*, 50 (1954) 120.

Biochim. Biophys. Acta, 50 (1961) 325-333

FIN