

УДК 547.56/567+581.142+631.547

БИОХИМИЯ

Д. И. СТОМ, С. С. ТИМОФЕЕВА, Э. Ф. КОЛМАКОВА,
А. В. КАЛАБИНА

ОБНАРУЖЕНИЕ И ИНГИБИТОРНЫЕ СВОЙСТВА ОРТО-ХИНОНОВ

(Представлено академиком М. Х. Чайлаханов 30 IX 1971)

Имеется много данных, свидетельствующих о способности полифенолов подавлять рост растений в модельных опытах. Выдвинуты гипотезы, согласно которым ингибиторные свойства полифенолов (особенно орто-изомеров) в значительной мере обусловлены продуктами их окисления, в частности хинонами ⁽¹⁾. Для проверки этих представлений важно получить достоверные доказательства образования *о*-хинонов при контакте *о*-фенолов с растительными тканями и изучить их ингибиторную активность.

Малое время жизни *о*-хинонов в водных растворах и высокая реакционная способность приводят к быстрому превращению их в другие продукты. Этот процесс еще более ускоряется в растительных тканях, так как *о*-хиноны способны вступать во взаимодействие со многими природными соединениями ⁽²⁾. Поэтому практически наиболее приемлемым способом доказательства образования *о*-хинонов является их связывание непосредственно в момент образования в виде устойчивых производных ⁽³⁾. Такими устойчивыми производными могут служить продукты взаимодействия *о*-хинонов с анилином, бензолсульфиновой кислотой, *о*-фенилендиамином. Продукт присоединения анилина к *о*-бензохинону — 4,5-дианилино-1,2-бензохинон ⁽⁴⁾. Бензолсульфиновая кислота дает с *о*-хинонами сульфоны соответствующих фенолов ^(5, 6). Конденсация *о*-бензохинона с *о*-фенилендиаминном ведет к образованию феназина ⁽⁷⁾.

Т а б л и ц а 1

Физико-химические константы производных *о*-хинонов

Вещество	Т. пл., °C	Молекулярный вес	Найдено, %		Брутто-формула	Вычислено, %		Основные линии поглощения в и.к. спектре, см ⁻¹	Валентные колебания
			N	S		N	S		
4,5-Дианилино-1,2-бензохинон	192	288	9,66	—	C ₁₈ H ₁₄ N ₂ O ₂	9,68	—	1420 1619	
2,3-Дианилинофеназин	181	362	14,9	—	C ₂₄ H ₁₈ N ₄	15,4	—	1220 1660	
Феназин	170	179	15,3	—	C ₁₂ H ₈ N ₂	15,5	—	1230 1670	
<i>о</i> -Диоксидифенил-сульфон	142	218	—	14,20	C ₁₂ H ₁₀ SO ₂	—	14,68	1140 1300	
Сульфон кофейной кислоты	132	287	—	9,50	C ₁₅ H ₁₂ SO ₆	—	10,00	1140 1300	
Сульфон хлорогеновой кислоты	129	500	—	6,20	C ₂₂ H ₂₂ SO ₁₁	—	6,30	1140 1300	

Эти производные *o*-хинонов удалось выделить и очистить из смесей растворов $5 \cdot 10^{-3}$ *М* полифенолов (пирокатехина, кофейной и хлорогеновой кислот) и $5 \cdot 10^{-3}$ *М* соединений-фиксаторов (анилина, бензолсульфиновой кислоты) после инкубирования на них растительных тканей. В качестве растительных тканей использовали семена, листья 6-суточных проростков кукурузы, листья и стебли картофеля. Растворы готовили на 0,01 *М* фосфатном буфере pH 6,5. Инкубирование проводили при 25° в темном термостате в течение 24 час.

В табл. 1 приведены физико-химические константы выделенных производных, которые совпали с константами соединений, полученных встречным синтезом (⁴⁻⁷).

Для обнаружения малых количеств производных *o*-хинонов разработана методика хроматографического определения. В табл. 2 приведены системы для разделения исходных компонентов и их производных, а также

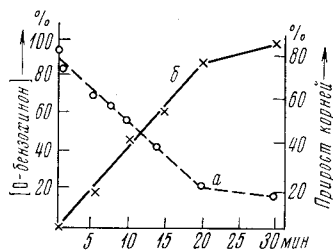


Рис. 1. Изменение концентрации (а) и ингибиторных свойств (прирост корней кресс-салата) (б) растворов *o*-бензохинона во времени

цветные реакции. В контрольных опытах (в смесях растворов фиксаторов и полифенолов без добавления растительных тканей или с добавлением предварительно убитых нагреванием, а также при инкубировании тканей на растворах фиксаторов) производные хинонов хроматографически не обнаружены.

С другой стороны, используя методику хроматографического определения, удалось показать образование сульфона эндогенной хлорогеновой кислоты при гомогенизации листьев картофеля (5 г) в растворе бензолсульфиновой кислоты (20 мл, $5 \cdot 10^{-2}$ мол/л).

Образование *o*-хинонов явилось основанием для изучения их ингибиторных свойств.

В качестве биотеста использовали прирост в длину корней кресс-салата сорта Узколистый. Корни обрабатывали в течение 2 мин. испытуемыми растворами *o*-хинонов и после отмывки переносили на 24 часа на 0,005 *М* фосфатный буфер pH 5. Точность опытов составила ± 10 .

Для получения *o*-хинонов соответствующие фенолы окисляли $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_3$. При окислении фенолов Ce^{4+} переходит в Ce^{3+} . В предварительных опытах было найдено, что ионы Ce^{3+} подавляют рост корней. Поэтому Ce^{3+} осаждали добавлением $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ и K_2HPO_4 . Эти же соли применяли для доведения pH до 4. Концентрацию *o*-хинонов определяли по методике Валера (⁸). Точку эквивалентности рассчитывали потенциометрически*.

Из рис. 1 видно, что, начиная от момента образования, концентрация *o*-бензохинона падает и одновременно с этим снижается способность его растворов подавлять рост корней кресс-салата.

Потенциометрическое определение показывает, что период полураспада *o*-хинона кофейной кислоты много меньше, чем *o*-бензохинона. Поэтому значительное подавление роста корней (на 70%) получено только при 6-минутной обработке их со смесью растворов через 30 сек. В контроле при аналогичной обработке корней эквимоллярными растворами кофейной кислоты, так же как и растворами пирокатехина, подавления роста не обнаружено.

Таким образом, *o*-хиноны характеризуются значительно более высокими ингибиторными свойствами, чем соответствующие им фенолы и продукты дальнейшего превращения. Этот факт, наряду с образованием *o*-хинонов экзогенных *o*-фенолов при контакте с растительными тканями, а также появлением хинонов эндогенных *o*-фенолов при разрушении тканей, можно рассматривать как косвенные данные в пользу предположе-

* В проведении этих опытов принимали участие Н. Г. Самилло и В. М. Дедов

Таблица 2

Значения R_f и некоторые цветные реакции производных *o*-хинонов

Вещество	Хроматография на бумаге (ленинградская средняя)							Хроматография в тонком слое							
	система	R_f	окраска в видимом свете	в у.-ф. без NH_3	в у.-ф. с NH_3	2,5% SnCl_2 в 50% CH_3COOH	реактив Гепфнера	силуфол UV_{254}		Al_2O_3 (не закрепленный)		полиамид (закрепленный)		SiO_2 (закрепленный)	
								система	R_f	система	R_f	система	R_f	система	R_f
Пирокатехин	I	0	нет	нет	нет	серая	желтая	—	—	VI	0	V	0,50	VI	0,68
	I	0	нет	нет	нет	бледно-розовая	—	—	—	IV	0	V	0,91	—	—
4,5-Дианилино-1,2-бензохинон	I	0,75	красная	нет	нет	серая	—	—	—	IV	0	V	0,70	—	—
	I	0	желтая	нет	нет	желтая	—	—	—	IV	0,55	—	—	—	—
<i>o</i> -Фенилендиамин	I	0,30	малинов-ая	нет	нет	интен-сивно малиновая	—	—	—	IV	0,91	—	—	—	—
	I	0	красная	нет	нет	красная	—	—	—	IV	0,69	—	—	—	—
2,3-Дианилино-1,2-бензохинон	I	0	красная	нет	нет	—	—	—	—	IV	0,69	—	—	—	—
Феназин	II	0,95	нет	нет	нет	—	желтая	—	—	—	—	—	—	VI	0,38
<i>o</i> -Диоксидифенил-сульфон	II	0,79	нет	сине-фиолетовая	сине-зеленая	—	коричневая	III	0,51	—	—	—	—	—	—
Кофейная кислота	II	0,85	нет	сине-зеленая	желто-зеленая	—	светло-коричневая	III	0,40	—	—	—	—	—	—
Сульфон кофейной кислоты	II	0,48	нет	синяя	сине-зеленая	—	красно-оранжевая	III	0,00	—	—	—	—	—	—
Хлорогеновая кислота	II	0,48	нет	синяя	сине-зеленая	—	красно-оранжевая	III	0,00	—	—	—	—	—	—
Сульфон хлорогеновой кислоты	II	0,63	нет	сине-зеленая	желто-зеленая	—	желтая	III	0,10	—	—	—	—	—	—

Примечания. I — бензин (110—120°): бензол 9:1 (подкисленный CH_3COOH , 2 мл на 100 мл); II — *n*-бутанол: уксусная кислота: вода 4:1:5, III — бензол: диоксан: уксусная кислота 90:20:20, IV — *n*-бутанол; V — этанол: бензол, 4:1; VI — бензол: хлороформ: уксусная кислота 45:8:4.

ния, связывающего проявление ингибиторных свойств о-фенолов с нарушением пространственной разобщенности фенолов и их оксидаз⁽⁹⁾.

Авторы выражают глубокую признательность В. И. Кефели, Л. В. Метлицкому и О. Л. Озерецковской за помощь и ценные советы при выполнении этой работы.

Иркутский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
27 IX 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ M. Tomaszewski, *Flora*, 145, 146 (1957); В. И. Кефели, Р. Х. Турецкая, *Усп. совр. биол.*, 57, 99 (1964); Л. В. Метлицкий, Н. П. Кораблева, *Биохимия покоя запасющих органов*, М., 1966; Д. И. Стом, *ДАН*, 186, № 3, 714 (1969). ² H. S. Mason, *Adv. in Enzymol.*, 16, 105 (1955); М. Н. Запрометов, *Биохимия катехинов*, М., 1964. ³ Д. И. Стом, Е. Ф. Гречкин, С. С. Тимофеева, *Прикл. биохим. и микробиол.*, 7, 1, 110 (1971). ⁴ С. Е. М. Pugh, H. S. Raper, *Biochem. J.*, 21, 1370 (1927). ⁵ O. Hinsberg, A. Himmelschein, *Ber.*, 28, 1315 (1896). ⁶ W. S. Pierpoint, *Biochem. J.*, 98, 2, 567 (1966). ⁷ F. Kehrman, M. Gordons, *Ber.*, 46, 3009 (1913). ⁸ Губен-Вейль, *Методы органической химии*, 2, М., 1967, стр. 479. ⁹ Д. И. Стом, В кн.: *Рост, развитие и устойчивость растений* (Тр. III конфер. физиологов и биохимиков растений Сибири и Дальнего Востока), Иркутск, 1969, стр. 155; Д. И. Стом, *Изв. Н.-и. инст. нефте- и углехимии синтеза*, 12, 69 (1970).