

Академик АН ГрузССР С. В. ДУРМИШИДЗЕ, А. Г. ШАЛАШВИЛИ

УСВОЕНИЕ И ПРЕВРАЩЕНИЕ (+)-КАТЕХИНА КОРНЯМИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Катехины широко распространены в растительном мире и принимают активное участие в процессах жизнедеятельности многих растений (¹⁻³). В настоящее время выяснены основные вопросы биосинтеза катехинов, изучены превращения C¹⁴-катехинов при их введении в растение через срезы стеблей (⁴⁻⁷). Детально исследован метаболизм (+)-катехина в организме животных (⁸⁻¹⁰). Однако возможность усвоения и превращения катехинов корнями высших растений еще не изучена. Исследования в этом аспекте расширили бы наши представления об отношении корней к полифенолам. Как известно, в состав органического вещества почвы входят соединения фенольной природы, которые поглощаются корнями и включаются в метаболизм (¹¹⁻¹³).

Недавно нами было изучено усвоение и превращение кверцетина корнями высших растений (¹⁴). Целью данной работы является изучение превращения C¹⁴ (+)-катехина при его усвоении растениями через корни.

Препарат радиоактивного (+)-катехина был получен из листьев *Rhododendron ponticum* L. Срезанные побеги помещались в камеру из оргстекла емкостью 77 л. В камеру вводили 7 мкС C¹⁴O₂ (из BaC¹⁴O₃). Экспозиция продолжалась 144 часа. Затем растительный материал фиксировался водяным паром (10 мин.) и высушивался при комнатной температуре. Сухие листья после измельчения (600 г) экстрагировались 80% этанолом. Длительность каждой экстракции 30 мин. Этаноловые экстракты объединялись и фильтровались. Фильтрат сгущался в вакууме при 45° до 150 мл, промывался хлороформом и хроматографировался на колонке (85 × 5 см) полиамида. Сначала для элюции использовали дистиллированную воду, а затем водный этанол различной концентрации (отбор проб по 30 мл). Контроль процесса элюции осуществлялся с помощью ванилинового реактива. Элюаты анализировались методом хроматографии на бумаге (система растворителей: *n*-бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:5) (БУВ)). Элюаты, имеющие одинаковый состав, объединялись, упаривались и высушивались в вакууме. Было получено несколько фракций. Из фракций катехинов (+)-катехин был выделен методом препаративной хроматографии на бумаге «Батман ЗММ» (восходящий способ; 5% уксусная кислота). Полоса с *R_f* 0,46, имеющая характерные для катехинов качественные реакции, вырезалась, измельчалась и экстрагировалась 85% этанолом при комнатной температуре. Экстракт после фильтрации выпарили в вакууме при 40°. Остаток высушили в вакуум-эксикаторе над P₂O₅. В результате был получен аморфный препарат катехина с удельной активностью 88160 имп/мин·мг (измерение радиоактивности проводилось на установке типа ПП-8 с торцовым счетчиком БФЛ-25 эффективностью 17,2%). Идентичность полученного катехина с аутентичным (+)-катехином подтверждена методом хроматографии на бумаге в разных системах растворителей. При смеси БУВ *R_f* 0,67, в воде *R_f* 0,29, в 15% уксусной кислоте *R_f* 0,50, в фенале *R_f* 0,43. Окраска на хроматограммах при опрыскивании ванилиновым реактивом красная, а железосамонийными квасцами — зеленая (¹⁵).

С радиоактивным (+)-катехином опыты проводились на 10-дневных сеянцах кукурузы сорта «Тетри аджамети», выращенных в стерильных ус-

ловиях. Ставилось два опыта. В I опыте (экспозиция 3 часа, 14 семян) в раствор C^{14} (+)-катехина (10 мг растворяли в 0,5 мл этанола и разбавляли 20 мл стерильной водой) погружалась нижняя $\frac{1}{3}$ корней, тогда как $\frac{2}{3}$ оставались на воздухе. В этом опыте выделенная радиоактивная углекислота не улавливалась. Во II опыте (экспозиция 91 час, 10 семян) корни полностью погружались в раствор C^{14} (+)-катехина (26 мг растворяли в 1 мл этанола и разбавляли 30 мл стерильной водой) и ставились в 20-литровые стеклянные камеры, вокруг которых температура днем равнялась 27° , а ночью 18° . После опытов материал фиксировался кипящим этанолом и анализировался (¹⁶). Радиоактивность выделенного CO_2 во II опыте определялась в виде $BaC^{14}O_3$.

В I опыте семена кукурузы сырым весом 42 г усвоили 0,629 мг C^{14} (+)-катехина, а во II опыте (сырой вес семян 23,9 г) количество усвоенного вещества составило 3,33 мг.

В органах кукурузы усвоенная радиоактивность распределялась следующим образом: в I опыте в корнях, погруженных в опытный раствор, сосредотачивается 66,6% и во II 86,5%, в облиственных стеблях соответственно 17,4 и 9,5%, а в верхней части корней, не погруженных в опытный раствор, 16% (I опыт). При этом в корнях, погруженных в опытный раствор, значительная часть радиоактивности обнаруживается во фракции, нерастворимой в 80% этаноле, а в облиственных стеблях и в корнях, не погруженных в опытный раствор (I опыт), — во фракции, растворимой в 80% этаноле (табл. 1). Можно предполагать, что в корнях, в зоне первичного усвоения катехина, имеет место не только превращение, но и связывание некоторых продуктов его окисления (хиноны и др.) с белками или другими полимерами клетки. А более простые фрагменты превращения катехина передвигаются в облиственные стебли.

Таблица 1

Включение радиоактивных углеродных атомов (+)-катехина во фракции органических кислот, аминокислот и сахаров

Опыт	Органы растений (кукуруза)	Сырой вес, г	Радиоактивность отдельных фракций, % к Σ фракций		Радиоактивность каждой фракции, % к Σ фракций, растворимых в 80% этаноле		
			растворимые в 80% этаноле	нерастворимые в 80% этаноле	органические кислоты	аминокислоты	сахара
I (экспозиция 3 часа)	Корни, погруженные в опытный раствор нижней частью	5	39,2	60,8	44,6	44,6	10,8
	Корни, не погруженные в опытный раствор (верхняя часть)	10	63,2	36,8	46,6	24,4	29,0
	Облиственные стебли	27	77,2	22,8	31,1	45,5	23,4
II (экспозиция 91 час)	Корни, полностью погруженные в опытный раствор	9,2	14,5	85,5	55,7	25,5	18,8
	Облиственные стебли	14,7	89,4	10,6	54,2	16,5	29,3

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, углеродные атомы (+)-катехина распределяются между органическими кислотами, аминокислотами и сахарами. Как в I, так и во II опыте основная часть радиоактивности во всех органах кукурузы приходилась на органические кислоты. Однако в I опыте в облиственных стеблях радиоактивность аминокислот превалировала над органическими кислотами. Сравнивая эти опыты с опытами по превращению кверцетина (¹⁴), следует отметить, что в этом случае основная часть радиоактивности была сосредоточена в аминокислотах (около

90%), а радиоактивные сахара вообще не были обнаружены. В опытах с радиоактивными (+)-катехином, наоборот, в сахарах сосредотачивалось значительное количество радиоактивности.

Во II опыте в виде $C^{14}O_2$ было выделено примерно 4% усвоенной радиоактивности. Это значительно меньше того количества $C^{14}O_2$, которое образовалось при усвоении C^{14} -кверцетина корнями кукурузы (¹⁴). По-видимому, характерной особенностью (+)-катехина при введении в растение через корни является то, что это вещество в малой степени окисляется до CO_2 . К такому же выводу пришли и другие исследователи, которые вводили радиоактивный (+)-катехин в черенки *Chamaecyparis pisifera* (¹⁷). Они установили, что (+)-катехин не превращается в другие флавоноидные соединения и с трудом используется на дыхание.

Таким образом, (+)-катехин при его усвоении корнями кукурузы превращается в различные соединения и включается в общий метаболизм: часть продуктов его превращения используется и для биосинтеза органических кислот, аминокислот и сахаров.

В дальнейших исследованиях будут идентифицированы промежуточные продукты метаболизма (+)-катехина.

Институт биохимии растений
Академии наук ГрузССР
Тбилиси

Поступило
10 VII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. В. Дурмишидзе, Дубильные вещества и автоцианы виноградной лозы и вины. Изд. АН СССР, 1955. ² М. Н. Запрометов, Биохимия катехинов, «Наука», 1964. ³ Биохимия фенольных соединений, под ред. Д. Харборна, М., 1968. ⁴ N. P. Das, L. A. Griffiths, Biochem. J., **105**, 1, 73 (1967). ⁵ М. Н. Запрометов, В. Я. Бухлаева, Физиол. раст., **18**, 4, 787 (1971). ⁶ М. Н. Запрометов, ДАН, **125**, 1359 (1959). ⁷ М. Н. Запрометов, В. Я. Бухлаева, Физиол. раст., **14**, 804 (1967). ⁸ L. A. Griffiths, Biochem. J., **92**, 1, 173 (1964). ⁹ N. P. Das, L. A. Griffiths, Biochem. J., **10**, 3, 449 (1968). ¹⁰ N. P. Das, L. A. Griffiths, Biochem. J., **115**, 4, 831 (1969). ¹¹ М. М. Копопова, Органическое вещество почвы, М., 1963. ¹² Р. И. Царева, В. М. Терентьева, Т. А. Семенова, Тез. докл. семинара по физиологии и биохимии фенольных соединений растений, Тарту, 1972, стр. 22. ¹³ W. Flaig, C. R. Acad. agric. France, **51**, 17, 11, 18 (1965). ¹⁴ С. В. Дурмишидзе, А. Г. Шалашвили, ДАН, **181**, 1489 (1968). ¹⁵ А. Г. Шалашвили, Сообщ. АН ГрузССР, **46**, № 1, 115 (1967). ¹⁶ Р. Я. Школьник, Н. Г. Доман, Биохимия, **25**, в. 2, 276 (1960). ¹⁷ M. Hasegawa, M. Yasue, J. Japan Forest. Soc., **44**, 244 (1962).