

УДК 547.56 + 547.567 + 547.569.1

БИОХИМИЯ

Д. И. СТОМ, Л. П. БОБОВСКАЯ, С. С. ТИМОФЕЕВА, Г. В. КАЛМЫЧКОВ,
О. М. КОЖОВА

**ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛОВ И ПРОДУКТОВ ИХ ОКИСЛЕНИЯ
НА ВОДНЫЕ РАСТЕНИЯ И СОДЕРЖАНИЕ
В НИХ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУПП**

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 25 I 1974)

Фенольные соединения являются ингредиентами сточных вод многих производств, в частности предприятий целлюлозно-бумажной промышленности. Повышенная токсичность некоторых полифенолов связана с образованием хиноидных продуктов их окисления (¹⁻²). Изучение звеньев биохимического обмена, нарушающихся при воздействии фенолов на растения, представляется существенным по следующим соображениям: 1) позволяет выявить наиболее опасные для гидробионтов соединения фенольной природы, которые необходимо устраниć прежде всего; 2) дает возможность наметить пути ослабления отрицательного влияния фенолов; 3) помогает в исследовании физиологической роли эндогенных фенолов и условий проявления их активности в самой клетке.

Образующиеся при окислении фенолов хиноны могут вступать во взаимодействие со многими химическими компонентами протоплазмы, но особенно высокую реакционную способность они проявляют по отношению к тиолам (³). От состояния SH- и SS-групп зависит нормальное протекание основных физиологических процессов (⁴). Важная роль отводится SH-группам в представлениях о регуляции ферментативных реакций в организмах и в гипотезах, предложенных для объяснения действия ингибиторов роста и различных экстремальных факторов на растения (⁵).

На основании вышесказанного нам представлялось интересным проследить возможную взаимосвязь между способностью водных растений окислять фенолы и действием фенольных соединений на содержание SH- и SS-групп в растительных тканях.

Из водных растений использовали *Elodea canadensis*, *Nitella* sp., *Dunaliella* sp. Критерием токсичности испытуемых соединений служила минимальная концентрация веществ, останавливающих движение протоплазмы хары или хлоропластов элодеи через 15 мин. (⁶⁻⁷) и вызывающая обездвиживание клеток *Dunaliella* sp. Для получения ортохинонов использовали окисление соответствующих фенолов солями четырехвалентного церия (⁸). Кислород определяли полярографически на платиновом электроде, покрытом полиэтиловой пленкой (⁹). Точность полярографических определений $\pm 3\%$. Растительный материал брали в количестве 300 мг на 10 мл буферного раствора. Количество сульфидрильных групп находили амперометрическим титрованием с AgNO_3 (¹⁰) (средняя ошибка в наших условиях 8%). Перед гомогенизированием растения замораживали жидким азотом. Титрование проводили в аммиачно-метанольной смеси pH 9 (0,25 M NH_4OH , 0,05 M NH_4NO_3 и 13% CH_3OH). Содержание SH-групп находили по (¹⁰). В качестве основных фенольных соединений в работе использовали пирокатехин, гидрохинон, резорцин. Причины выбора этих соединений обсуждены ранее (²).

В табл. 1 показано увеличение поглощения кислорода водными растениями при добавлении растворов полифенолов. Из приведенных данных

видно, что наиболее интенсивное поглощение кислорода происходит в опытах с харой на растворах пирокатехина, а в случае *Dunaliella* и элодеи — на растворах гидрохинона.

Добавление к смеси бензолсульфиновой кислоты или анилина и последующее хроматографирование продуктов реакции⁽¹¹⁾ показало, что окисление водными растениями пирокатехина приводит к образованию ортобензохинона, а гидрохинона — к появлению парабензохинона, причем на окисление 1 моля фенола расходуется 1 моль кислорода, что находится в соответствии с литературными данными⁽¹²⁾. В гомогенатах

Таблица 1

Увеличение поглощения кислорода и снижение содержания SH-групп при обработке водных растений полифенолами

Полифенол	Концентрация фенолов, М		Время обработки, час.*	Снижение содержания SS-групп, % к контролю	Содержание SS-групп, мкмоль/г	Увеличение поглощения кислорода, % к контролю
	$\Delta \text{SH}-$	ΔO_2				
<i>Nitella</i> sp.						
Пирокатехин	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-3}$	2,5	38	0,38	91,7
Гидрохинон	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-3}$	2,5	26	0,40	50,6
Резорцин	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-3}$	2,5	2,3	0,40	12,3
<i>Elo dea canadensis</i>						
Пирокатехин	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-3}$	2,5	40,7	0,62	27,3
Гидрохинон	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-3}$	2,5	54,8	0,88	42,4
Резорцин	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-3}$	2,5	2,1	0,58	12,3
<i>Dunaliella</i> sp.						
Пирокатехин	$1 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-5}$	0,5	51,9	2,18	27,3
Гидрохинон	$1 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-5}$	0,5	72,5	2,18	65,5

* Время обработки при определении ΔO_2 равно во всех случаях 1 часу.

хары, элодеи и *Dunaliella* sp. сохранялось то же самое соотношение в скоростях окисления диксуббензолов, что и при окислении полифенолов целыми растениями. Из этого следует, что преимущественное окисление под действием одних растений — пирокатехина, а других — гидрохинона не есть результат избирательного проникновения фенолов в эти растения, а является следствием субстратной специфичности их оксидаз. Поглощение кислорода водными растениями при добавлении резорцина во всех случаях не выходило за пределы ошибки опыта.

При оценке действия фенольных соединений на водные растения получили, что наиболее токсичным для хары является пирокатехин, для элодеи и *Dunaliella* sp. — гидрохинон⁽¹³⁾. Наименьшую токсичность на всех трех объектах проявлял резорцин. Сопоставление результатов по определению влияния полифенолов на сульфигидрильные группы растений и на потребление кислорода позволяет установить наличие прямой связи между токсичностью фенольных соединений и способностью водных растений окислять данные фенолы (табл. 1). Полученный вывод хорошо согласуется с ослаблением действия пирокатехина, гидрохинона и парабензохинона на движение протоплазмы в присутствии тиоловых соединений⁽¹³⁾, которые могут восстанавливать хиноны и предотвращать окисление фенолов.

Как видно из табл. 1, наибольшее падение содержания тиоловых групп в растениях имело место при обработке их растворами хинонов и тех фенолов, которые вызывали наиболее интенсивное поглощение кислоро-

да. В случае хары — это пирокатехин, а элодеи и *Dunaliella* sp.— гидрохинон. Так как фенольные соединения не способны окислять сульфгидрильные группы, то падение содержания SH-групп при обработке гидрохиноном и пирокатехином можно рассматривать как довод в пользу того, что токсичное действие фенолов на водные растения тесно связано с появлением продуктов их окисления — хинонов. Это положение подтверждают и данные по отсутствию влияния резорцина на содержание SH-групп

в растениях (табл. 1). Уменьшение содержания

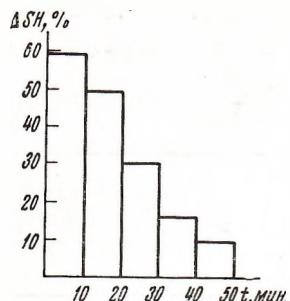


Рис. 1. Изменение содержания SH-групп элодеи при обработке раствором *o*-бензохинона, взятых в разное время с момента его получения

SH-групп? В связи с этим изучали полярографически кинетику распада ортобензохинона, хинонов кофейной и хлорогеновой кислот и способность их растворов снижать концентрацию сульфгидрильных групп в элодеи.

Из рис. 1 видно, что наиболее сильное падение содержания SH-групп происходит при обработке элодеи раствором ортобензохинона в момент его образования, т. е. когда концентрация хинона наиболее высокая. Аналогичный характер имели кривые зависимости между скоростью распада хинонов (ортобензохинона, хинонов кофейной и хлорогеновой кислот) и уменьшением концентрации сульфгидрильных групп в растворе цистеина, взятом в качестве модельного соединения. По мере распада ортохинонов и снижения их концентрации падала и способность растворов уменьшать содержание тиоловых групп в растворе.

Таким образом, на основании проведенных опытов и литературных данных можно сделать вывод, что более высокая по сравнению с другими фенолами токсичность пирокатехина и гидрохинона для водных растений связана с их способностью окислять фенолы, причем одним из наиболее вероятных биохимических механизмов проявления токсичного действия продуктов окисления фенолов является блокирование ими SH-групп. Окисление пирокатехина и гидрохинона при их поступлении в клетку, сопровождающееся снижением содержания сульфгидрильных групп, неспособность растворов парабензохинона, пирокатехина и гидрохинона при наличии в инкубационной среде тиоловых соединений подавлять движение протоплазмы, наличие общих черт в воздействии на растения хинонов и метаболического яда — парахлормеркуробензоата натрия — все это факты, позволяющие говорить о специфичном, избирательном влиянии хинонов, пирокатехина и гидрохинона на водные растения. Достоверность подобного вывода подтверждается также: 1) отсутствием снятия эффекта действия хинонов и *o*, *n*-диоксибензолов при отмывании растений и последующего перенесения их со среды с токсикантами на среду без них; 2) результатами влияния, по принципу Фергюсона, эффектов хинонов, фенольных соединений и заведомо известных наркотиков на движение протоплазмы хары. В противоположность этому, быстрое

падение токсичности, как и у наркотиков, по мере снижения термодинамических концентраций (¹⁴), восстановление движения протоплазмы после отмывания, отсутствие поглощения кислорода и сохранение на прежнем уровне меркаптогрупп при добавлении фенолов имело место при испытании другой группы фенольных соединений, а именно гваякола, диметиловых эфиров гидрохинона и широкатехина, тимола, *n*-*m*-крезолов, β-нафтола. Из этого следует, что влияние второй группы фенольных соединений на водные растения сходно с характером действия биологических депрессантов (наркотиков, неэлектролитов, структурно-неспецифических агентов). Подобное заключение находится в хорошем соответствии с данными (¹⁵, ¹⁶) о неспецифическом действии некоторых фенолов на высшие наземные растения.

В заключение авторы пользуются случаем выразить благодарность О. Н. Чернышевой за помощь при проведении эксперимента, К. С. Бокареву, Л. В. Метлицкому, О. Л. Озерецковской и В. И. Кефели за ценные советы.

Иркутский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
18 I 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. X. Tureckaia, B. I. Kefereli, Физиол. раст., т. 10, 98 (1963). M. Tomoszewski, Flora, v. 145, 146 (1957); L. B. Metlicskij, O. L. Ozereckovskaja и др., ДАН, т. 202, 228 (1972). ² D. I. Stom, ДАН, т. 186, 714 (1969). ³ H. S. Mason, Advances in Enzymol., v. 16, 105 (1955). ⁴ Ю. М. Торчинский, Сульфигидрильные и дисульфидные группы белков, М., 1971. ⁵ К. С. Бокарев, Л. М. Капелюшикова и др., Физиол. раст., т. 13, 705 (1966); I. L. J. Bilbao, Rev. cienc. agr., v. 20, 132 (1966); D. I. Stom, в кн. Рост, развитие и устойчивость растений (Тр. III конфер. физиол. и биохим. растений Сибири и Дальнего Востока), Иркутск, 1969; Н. М. Эмануэль, В кн. Фенольные соединения и их биологические функции, М., 1968. ⁶ С. В. Тагеева, Э. Н. Кизанцев, Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 885 (1962). ⁷ D. I. Stom, Г. Г. Иванова и др., Информ. бюлл. СО АН СССР, в. 10, Иркутск, 1972, стр. 23. ⁸ D. I. Stom, С. С. Тимофеева и др., там же, стр. 92. ⁹ Е. Н. Мохова, Л. Н. Некрасова, Л. П. Плетнева, Научн. докл. высш. школы, Биол. науки, № 4, 126 (1972). ¹⁰ S. Waisel, H. Kohn, J. Levitt, Plant Physiol., v. 37, 272 (1962). ¹¹ D. I. Stom, С. С. Тимофеева и др., ДАН, т. 205, 989 (1972). ¹² М. Н. Запрометов, Биохимия катехинов, М., 1964. ¹³ D. I. Stom, Г. Г. Иванова и др., Матер. координационного совещ. по водной токсикологии, Киев – Борок, 1973. ¹⁴ Э. Альберт, Избирательная токсичность, М., 1971. ¹⁵ B. I. Kefereli, P. X. Tureckaia, Физиол. раст., т. 14, 796 (1967). ¹⁶ В. Б. Иванов, Журн. общ. биол., т. 27, № 3, 299 (1966).