

Академик АН ГрузССР С. В. ДУРМИШИДЗЕ, Т. В. ДЕВДАРИАНИ,  
Л. К. КВАТРАДЗЕ, Л. Ш. КВАРЦХАВА

### УСВОЕНИЕ И ПРЕВРАЩЕНИЕ 3,4-БЕНЗПИРЕНА РАСТЕНИЯМИ В СТЕРИЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Полициклический углеводород 3,4-бензпирен (БП) является активным канцерогеном, загрязняющим окружающую среду, в частности, воздух, почву и сточные воды. Изучение циркуляции БП, возможно, выявит некоторые пути очистки окружающей среды от канцерогенных полициклических углеводородов.

Исследованиями А. М. Шабада и его сотрудников, а также других авторов показано, что БП может переходить из воздуха в почву, из почвы в растения, а затем в корма сельскохозяйственных животных, в пищу человека, а также может разрушаться почвенными микроорганизмами (1). Однако судьба БП в растениях остается неизученной. Недавно применением меченного по углероду БП нами было показано, что семена кукурузы (*Zea mays*) и фасоли (*Phaseolus vulgaris*), выращенные в стерильных условиях, усваивают корнями и листьями БП, превращая его в различные химические соединения (2). В настоящей статье рассматриваются результаты окислительного превращения БП в различные индивидуальные соединения в корнях и листьях растений.

Эксперименты проводились на 14-дневных растениях люцерны (*Medicago sativa*), райграса (*Lolium multiflorum*), нута (*Cicer arietinum*), огурцов (*Cucumis sativus*), тыквы (*Cucurbita*), ежи сборной (*Dactylis glomerata*), вики (*Vicia faba*), выращенных стерильно на питательной среде Кюппа.

Меченый 1,2-<sup>14</sup>C-БП был синтезирован в несколько стадий (3) с использованием в качестве исходных соединений фталевого и 1,2-<sup>14</sup>C-уксусного ангидрида. Полученный препарат очищали методом препаративной тонкослойной хроматографии на окиси алюминия. Идентификацию 1,2-<sup>14</sup>C-БП проводили способом Э. Ц. Шпольского (4), который позволяет получить в замороженных кристаллических растворах нормальных парафиновых углеводородов квазилинейчатые высокоиндивидуальные спектры люминесценций большого ряда сложных полициклических углеводородов. Температура плавления и полосы поглощения спектра люминесценции соответствовали литературным данным (5). Удельная радиоактивность составляла 2 мкС/г. Метод Шпольского был положен нами и в основу количественного определения 1,2-<sup>14</sup>C-БП.

Опыты проводили в специальных двухъярусных стерильных камерах из органического стекла, в которых помещали подопытные растения. БП подавался растениям из корней или из листьев. В первом случае растения корнями погружались в питательный раствор Кюппа с 1,2-<sup>14</sup>C-БП, а во втором — среда Кюппа с 1,2-<sup>14</sup>C-БП наносилась на поверхность листьев в стерильных условиях. Концентрация 1,2-<sup>14</sup>C-БП составляла 1 ммол/л. На 1 г сырой биомассы приходилось 0,4 мг 1,2-<sup>14</sup>C-БП. Продолжительность эксперимента при усвоении 1,2-<sup>14</sup>C-БП из корней составляла 92 часа (объем камеры 20 л), а в случае усвоения 1,2-<sup>14</sup>C-БП из листьев — 220 час. (объем камеры 40 л). В условиях эксперимента растения находились в темноте при непрерывной фиксации углекислого газа (20% раствор КОН). Температура при опытах — 18—22°. После опыта мате-

Таблица 1

Включение радиоактивности 1,2-<sup>14</sup>C-БП в разные фракции веществ

Растение	Орган растения	Суммарная радиоактивность на 1 г сырого веса, дмп/мин	Распределение радиоактивности низкомолекулярных веществ между органами растений, %	Радиоактивность, дмп/мин на 1 г					<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	Радиоактивность <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> от суммарной радиоактивности биомассы, %
				фр. биополимеров	фр. низкомолекулярных веществ	фр. органических кислот	фр. аминокислот	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>		
Райграс	Корни	65,6	69,2	8	56,8	40,1	--	1,6	1,7	
	Листья	26	30,8	--	25,2	14,7	--			
Нут	Корни	398,7	93,0	217	181	110,0	11,6	1,5	0,3	
	Листья	25,2	7,0	11	13,5	17	18,3			
Тыква	Корни	834,6	59,6	52	782	714	135	1,8	0,1	
	Побеги	535,6	37,9	38	497	435	13			
Огурец	Листья	48,6	2,5	15	33	66,3	8	1,8	0,1	
	Корни	728,3	91,9	150	577	98,7	48,6			
Люцерна	Листья	52,3	8,1	--	51	23,4	10,2	2,6	0,3	
	Корни	934,4	--	86	768	467	36,8			
Ежа сборная	Корни	656,3	--	232	417,6	168	120	6,7	1,0	
	Листья									
Райграс	Листья	380,7	95,7	18	352,8	89	46	19,8	4,8	
	Корни	25,9	4,3	--	16	4,6	2,2			
Нут	Листья	2334,7	92,2	11,5	2322	54	87	2,5	0,1	
	Корни	206,2	7,8	8,9	196	1,4	65			
Тыква	Листья	234,5	96,1	7	224	145,0	32,0	7,1	2,3	
	Корни	64,1	3,9	51,3	9,2	3,1	1,8			
Огурец	Листья	113,3	67,0	8,2	104	41,2	--	2,1	1,1	
	Корни	65,3	33,0	14,2	51	4,7	--			
Вика	Листья	234,3	95,0	23	210,9	138,0	52,0	0,9	0,3	
	Корни	55,7	5,0	44	11,2	2,7	2,6			

риал фиксировался и экстрагировался 80% этанолом. Получали две фракции: фракция растворимая в 80% этаноле и содержащая в основном низкомолекулярные вещества и фракция в виде сухого остатка, представляющего собой смесь биополимеров. Спиртовой экстракт концентрировался и методом хроматографии на бумаге из него выделяли суммарные фракции органических кислот, аминокислот и сахаров (6, 7). Из растительной ткани был выделен также свободный, не превращенный растениями 1,2-<sup>14</sup>C-БП, который обнаруживался при хроматографии на бумаге с помощью ультрамикроскопа типа «Хроматоскоп» и извлекался экстрагированием *n*-октаном. Экстрагированию подвергался и питательный раствор Кнопла. Разность между количествами введенного и извлеченного БП может служить приблизительной мерой его усвоения растениями. Раствор щелочи с целью удаления адсорбированного 1,2-<sup>14</sup>C-БП многократно обрабатывался эфиром. Из раствора щелочи меченый углерод осаждали в виде карбоната бария, осадок промывали водой, этанолом, эфиром и сушили при 80°. Измерение радиоактивности производили на сцинтилляционном счетчике SL-30 с эффективностью 95%.

Количественная сторона экспериментов оценивалась по усвоенному и метаболизированному растительной тканью меченому углероду (табл. 1 и 2).

Результаты экспериментов показывают, что корни и листья различных растений усваивают БП и подвергают его глубоким химическим превращениям. Продукты превращения транспортируются из корней к листьям, а из листьев к корням. Наиболее радиоактивными оказались низкомолекулярные соединения, в частности органические кислоты.

Распределение радиоактивности низкомолекулярных веществ между органами растений зависит от места первичного усвоения 1,2-<sup>14</sup>C-БП.

Включение радиоактивности  $1,2-^{14}\text{C}$ -БП в органические кислоты

Растение	Орган растения	Радиоактивность органических кислот от суммарной радиоактивности низкомолекулярных веществ, %	Радиоактивность, % от общей радиоактивности органических кислот						
			фумаровая	янтарная	лимонная	глиоксилиевая	малоновая	щавелевая	неизвестная
Райграс	Корни	48,7	7,5	12,2	--	--	37,8	--	42,7
	Листья	17,9	27,5	17,2	--	--	13,8	--	41,3
Нут	Корни	56,5	7,5	9,5	22,5	20,7	20,8	--	18,8
	Листья	8,9	9,8	20,8	19,2	3,8	18,3	--	28,1
Тыква	Корни	5,4	25,9	20,0	17,4	2,1	16,3	--	18,1
	Побеги	3,3	24,3	31,9	0,6	1,0	0,5	--	41,7
Огурец	Листья	5,0	17,7	12,8	23,7	1,9	20,4	2,7	20,5
	Корни	15,7	16,9	27,6	--	--	4,7	--	50,8
Люцерна	Листья	3,7	25	32	5,0	5,0	18,0	--	15
	Корни	60,8	7,2	25,0	--	--	24,3	--	42,8
Ежа сборная	Корни	40,2	53,4	41,9	--	--	2,0	1,4	1,1
	Листья								
Райграс	Корни	1,2	37,5	--	--	--	--	--	62,5
	Листья	24,4	15,1	9,8	30,1	--	15,1	--	36,1
Нут	Корни	0,06	23,3	--	--	10,2	33,8	--	33,2
	Листья	2,1	7,3	9,4	23,9	1,4	39,8	--	18,2
Тыква	Корни	1,3	14,8	14,8	6,3	6,3	17,1	--	40,5
	Листья	62,2	17,2	18,9	10,4	5,2	17,2	--	31
Огурец	Корни	3,0	26,6	20,0	33	6,6	33,3	--	20
	Листья	26,5	3,1	8,8	--	--	35,2	--	13,1
Вика	Корни	1,2	--	62,5	--	--	--	--	37,5
	Листья	62,1	26,4	13,3	--	9,4	7,5	15	28,3

При усвоении БП корнями наиболее радиоактивны низкомолекулярные соединения самих корней, а в случае усвоения БП листьями — низкомолекулярные соединения листьев. Такая же закономерность наблюдается в распределении радиоактивности между органами растения и при органических кислотах.

Радиоактивность органических кислот при усвоении БП корнями колебалась от 5,4 до 56,5% общей радиоактивности биомассы корней, а при усвоении БП листьями радиоактивность составляла 2,1—62,2% от общей радиоактивности биомассы листьев. При превращении БП как в корнях, так и в листьях образовывались одни и те же меченые органические кислоты.

Небольшая часть радиоактивности БП включается в аминокислоты (до 18%), а часть выделяется в атмосферу в виде  $^{14}\text{CO}_2$ . Радиоактивность  $^{14}\text{CO}_2$  у различных видов растений колеблется в пределах от 0,1 до 9,0 от общей радиоактивности биомассы; количество метаболитированного  $1,2-^{14}\text{C}$ -БП, в зависимости от вида растений, в условиях наших опытов — от 2 до 18% усвоенного растениями БП. Следует отметить сравнительно высокую радиоактивность в некоторых случаях и фракции биополимеров (веществ, перастворимых в 80% этаноле), обусловленную, очевидно, адсорбцией БП полимерными макромолекулами. Обращает на себя внимание значительная радиоактивность таких органических кислот, как фумаровая, малоновая и янтарная. Подобное явление было отмечено и при расщеплении простого ароматического углеводорода — бензола (<sup>8</sup>, <sup>9</sup>).

Высокая радиоактивность органических кислот указывает на то, что они являются одними из первичных продуктов биологического окисления БП. На основе литературных данных о метаболизме БП в животных и микроорганизмах и наших экспериментов можно предположить, что и в

растениях первичным актом превращения БП является его гидроксильрование в разных положениях, а затем образование ортодоксипроизводного с последующим расщеплением ароматического кольца, по аналогии бензола (<sup>8-10</sup>). Так, например, в организме животных из БП образуются 1,2- или 9,10-диоксипроизводные (<sup>10</sup>).

Таким образом, если допустить, что в растениях БП окисляется по аналогичной схеме, то первичное расщепление ароматического кольца должно произойти между углеродными атомами в положениях 1,2, следовательно, полученные данные выявляют возможность деградации только первого кольца БП. При этом не исключена возможность того, что в наших экспериментах молекула, расщепляясь по связи C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, образует полициклическую дикарбоновую кислоту, дикарбоксилирование которой приводит к образованию нового полициклического ароматического углеводорода, не содержащего меченый углерод. Весьма вероятно, что деградация молекул БП продолжается и дальше с образованием алифатических продуктов превращения и в первую очередь органических кислот. Анализ фракции аминокислот показывает, что меченый углерод БП включается в состав алифатических и ароматических аминокислот, при этом основная масса меченого углерода приходится на долю алаина, лейцина, серина, валина, триптофана, фенилаланина и аспарагина.

Резюмируя приведенные исследования, можно заключить, что высшие растения способны усваивать БП как из почвы, так и из воздуха. После аккумуляции в растениях БП подвергается глубокому окислительному превращению, расщепляя кольцо А бензпирена; его углеродные атомы включаются в обычные для клетки метаболиты, органические кислоты, аминокислоты, <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> и другие соединения. Растения с высокой способностью расщеплять БП могут быть использованы для очистки окружающей среды от канцерогенных полициклических углеводородов.

Исследования продолжаются с целью установления химизма окисления БП в растениях и выявления более активных видов растений, способных к глубокому превращению 3,4-бензпирена.

Институт биохимии растений  
Академии наук ГрузССР  
Тбилиси

Поступило  
23 VII 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. М. Шабал, О циркуляции канцерогенов в окружающей среде, М., 1973.  
<sup>2</sup> С. В. Дурмишидзе, Д. Ш. Угрехелидзе и др., Сообщ. АН ГрузССР, т. 70, № 2, 469 (1973). <sup>3</sup> Н. Е. Schroeder, F. B. Stilmar, F. S. Palmer, J. Am. Chem. Soc., v. 78, 446 (1956). <sup>4</sup> Э. В. Шпольский, А. А. Ильина, Л. А. Климова, ДАН, т. 87, 935 (1952).  
<sup>5</sup> Э. Клар, Полициклические углеводороды, т. 1, т. 2, М., 1971, стр. 138, стр. 155.  
<sup>6</sup> Р. Я. Школьник, Н. Г. Доман, Биохимия, т. 25, в. 2, 276 (1960). <sup>7</sup> Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений, М., 1962. <sup>8</sup> С. В. Дурмишидзе, Д. Ш. Угрехелидзе, Сообщ. АН ГрузССР, т. 45, № 3 (1967). <sup>9</sup> С. В. Дурмишидзе, Д. Ш. Угрехелидзе, ДАН, т. 184, № 4, 228 (1969). <sup>10</sup> J. W. Cook, R. S. Lundwiczak, R. Schoental, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Part 36, 1112 (1971).