

Л. А. ГОЛОВЛЕВА, И. Б. РОМАНОВА, М. Ю. НЕФЕДОВА,
И. И. ЧЕРВИН, В. М. АДАНИЦ, Н. В. ВИНОКУРОВА,
член-корреспондент АН СССР Г. К. СКРЯБИН

КОМЕТАБОЛИЗМ ЗАМЕЩЕННЫХ ТОЛУОЛОВ

Микробиологическая трансформация органических соединений с каждым днем находит все более широкое применение в органическом синтезе. Наряду с традиционными направлениями ферментативной химии, использующими энзиматическую активность микроорганизмов для превращений углеводов и стероидов, развился ряд новых — трансформация нуклеотидов, органических кислот, аминокислот. Одной из наиболее характерных черт современного этапа развития микробиологической трансформации органических соединений является широкое использование микроорганизмов для превращения различных необычных для живой клетки веществ — продуктов синтетической деятельности человека и трудноатакуемых соединений природного происхождения. К этим веществам, для которых в мировой литературе все шире применяется термин «ксенобиотики», относятся углеводороды различных классов и их производные, гетероциклические соединения, полимеры и т.д.

Успехи в области микробиологической трансформации ксенобиотиков в значительной степени связаны с изучением кометаболизма. Кометаболизмом мы называем процессы трансформации органических веществ, которые осуществляет культура, растущая за счет другого субстрата, служащего источником углерода и энергии. Изучение кометаболизма, предпринятое в нашей лаборатории, показало, что в этих условиях микроорганизмы проявляют функциональные свойства, которые обычно ускользают от внимания исследователей, применяющих традиционные методы исследования трансформации органических соединений микроорганизмами.

В предыдущих работах мы показали, что трансформация циклических соединений в большой степени зависит от природы органического вещества, используемого культурой в качестве источника углерода и энергии⁽¹⁻³⁾. Гидроксилирующая активность некоторых микроорганизмов, в частности культуры *Nocardia species 1A*, проявляется только при наличии в среде определенных ростовых субстратов, а ее количественное выражение также определяется природой этих соединений. В данной работе мы представляем материалы, которые свидетельствуют о том, что в условиях кометаболизма, т. е. при наличии в среде соответствующего источника углерода, культура способна проявлять не только окислительную активность в отношении циклических соединений, а целый спектр новых реакций, причем характер трансформационной реакции определяется не только природой ростового субстрата, но и структурой трансформируемого вещества.

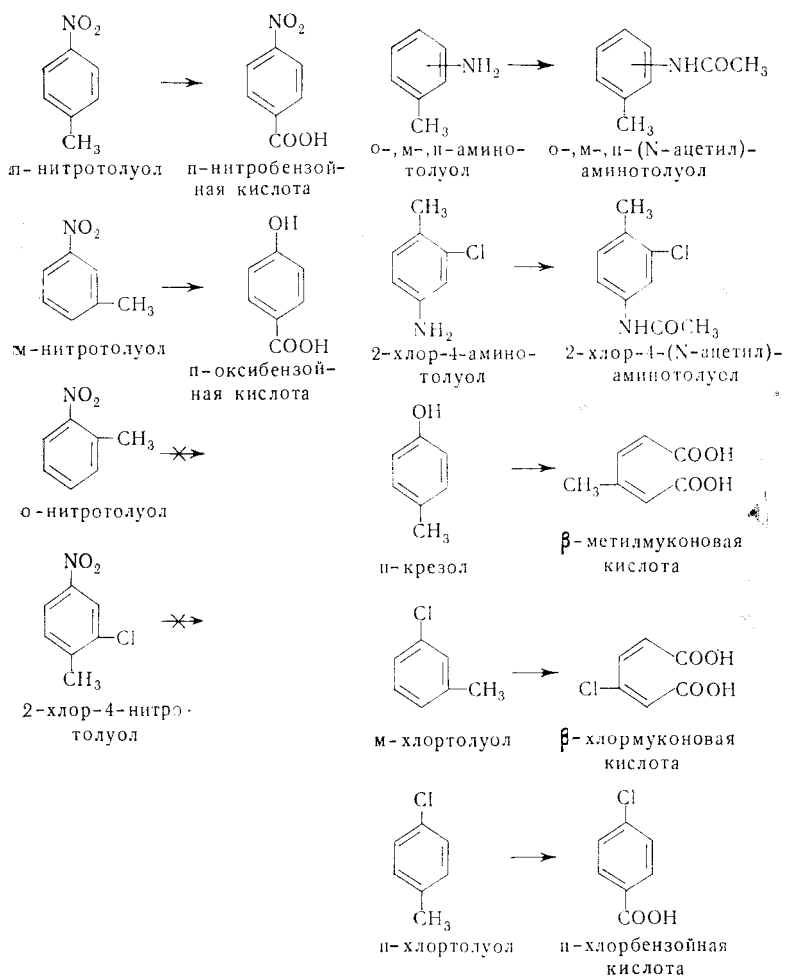
Была изучена трансформация нитро-, amino- и хлорзамещенных толуолов в условиях кометаболизма. Мы обнаружили целый спектр различных реакций, которыми одна и та же микробная культура *Nocardia sp. 1A* реагировала на изменение структуры субстрата*.

При окислении *n*- и *m*-нитротолуолов были получены соответственно *n*-нитробензойная и *n*-оксибензойная кислоты, т. е. процесс был аналогичен

* Анализ продуктов трансформации осуществляли с помощью у.-ф., и.-к., я.м.р. и масс-спектрокопии.

окислению ксилолов и метилнафталинов (⁴, ⁵). Ортоизомер и 2-хлор-4-нитротолуол не окислялись в данных условиях совсем (схема 1).

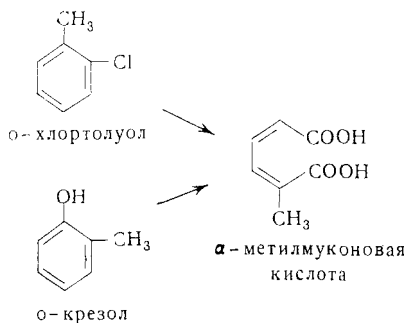
Схема 1



Замена нитрогруппы аминогруппой радикально изменила характер микробного воздействия на трансформируемый субстрат. В этом случае окисления метила не наблюдалось, но было обнаружено ацелирование аминогруппы, причем ацилировались все три изомера и даже хлорзамещенный толуидин. Отмытые ацилирование не проводят, процесс идет только при наличии соответствующего источника углерода, т. е. в условиях кометаболизма. При трансформации *м*- и *п*-хлортолуолов и крезолов мы наблюдали еще один вариант микробного воздействия на модифицированные толуолы — раскрытие кольца с образованием хлор- и метилмуконовых кислот (схема 1).

Особого упоминания заслуживает трансформация *о*-изомеров хлортолуола и крезола. В данном случае мы получили один и тот же продукт α-метилмуконовую кислоту. Это означает, что при трансформации *о*-хлортолуола наблюдалось дехлорирование субстрата (схема 2). По-видимому, процесс гидроксирования ароматического кольца идет через образование арен-оксидов с миграцией хлора в смежное положение — феномен, известный сейчас как NIH-shiff. Идет ли дехлорирование до или после раскрытия кольца — неизвестно.

Схема 2



Природа ростового субстрата существенно влияла на характер и количественные характеристики описанных процессов. Раскрытие кольца при трансформации *o*- и *m*-хлортолуолов и крезолов наблюдалось только при росте за счет *n*-гексадекана, при использовании глюкозы в качестве ростового субстрата ароматическое кольцо сохранялось. Кроме того, реакции шли энергичнее и с большим выходом продуктов на гексадекане, нежели на глюкозе; *o*-хлортолуол, *o*-нитротолуол, *m*-крезол на глюкозе фактически не трансформировались. Во всех случаях результатом трансформации было образование стабильных продуктов, которые, по нашим наблюдениям, не подвергались дальнейшим метаболическим превращениям. Резюмируя представленный экспериментальный материал, следует сделать вывод, что условия кометаболизма позволяют микробной клетке, используя богатейший арсенал реакций, причем не только окислительных, но и ферразных, а также, вероятно, и других типов, атаковать и трансформировать самые разнообразные субстраты.

Решающее значение для осуществления этих реакций трансформации чужеродных веществ имеет как природа источника углерода, так и структура атакуемого субстрата. Большая часть реакций кометаболизма осуществляется только при росте на вполне определенных источниках углерода и не осуществляется отмытыми клетками.

Природа ростового субстрата часто определяет характер трансформационных реакций. И, наконец, незначительные модификации трансформируемого субстрата приводят к радикальному изменению характера микробной атаки.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
Академии наук СССР
Пушкино Московской обл.

Поступило
29 VII 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Г. К. Скрябин, Л. А. Головлева, Микробиол. пром., № 6, 53 (1970). ² Г. К. Скрябин, Л. А. Головлева и др., ДАН, т. 25, № 1, 224 (1974). ³ Г. К. Скрябин, Л. А. Головлева, Т. Ф. Соловьева, ДАН, т. 245, № 2, 454 (1974). ⁴ Г. К. Скрябин, И. И. Старовойтов, Л. А. Головлева, ДАН, т. 202, № 4 (1972). ⁵ Г. К. Скрябин, Л. А. Головлева и др., Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 232 (1972).