

Л. А. ГОЛОВЛЕВА, И. И. ЧЕРВИН, Х. Г. ГАНБАРОВ,
Н. М. ИСМАИЛОВ, член-корреспондент АН СССР Г. К. СКРЯБИН

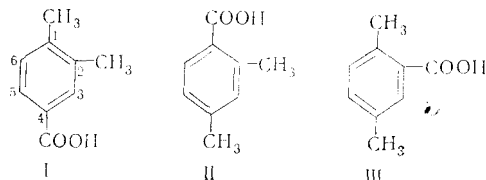
ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПСЕВДОКУМОЛА МИКРООРГАНИЗМАМИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Бактериальное окисление ароматических углеводородов изучено микробиологами широко и обстоятельно. Детально исследованы превращения центральных соединений обмена ароматических веществ — пирокатехина, протокатеховой и гомогентизиновой кислот. Менее изучен периферийный обмен, особенно первичная ферментативная атака углеводородной молекулы, закономерности гидроксирования ароматического ядра и алкильных заместителей. Эти процессы представляют особый интерес. Во-первых, потому что изучение таких реакций является ключом для понимания и регулирования микробиологического воздействия на многие ксенобиотики — пестициды, детергенты и т. п. Во-вторых, как показали наши предыдущие исследования, очень часто результатом первичного окисления является накопление продуктов в среде без дальнейшего их использования культурой, т. е. микробиологическая трансформация, что имеет как практическое значение, так и теоретический интерес, поскольку свидетельствует о своеобразной регуляции метаболизма этих соединений.

Мы изучали начальные этапы окисления псевдокумола (1,2,4-триметилбензола) культурой *Pseudomonas aeruginosa* штамм 7.

Имеющиеся в литературе данные по микробиологическому окислению метилбензолов свидетельствуют о том, что их метаболизм у разных микроорганизмов начинается или с гидроксирования метила и образования соответствующих кислот (например, *n*-ксилол — *n*-толуиловый спирт — *n*-толуиловый альдегид — *n*-толуиловая кислота) или с введения гидроксила в кольцо с образованием метилкатехолов и их дальнейшим расщеплением^(1, 2).

Первичным продуктом окисления псевдокумола, по данным Оммори и Ямада, является 3,4-диметилбензойная кислота (3,4-ДМБК), которая затем превращается в диметилфенол и далее в диметилкатехол; последний метаболизируется с расщеплением кольца^(1, 2a). При изучении процесса окисления псевдокумола культурами *Pseudomonas aeruginosa*, выделенными из почвы нефтяных месторождений в районе Баку и использующими псевдокумол и *m*-ксилол в качестве единственного источника углерода, мы обнаружили, что в культуральной жидкости накапливается не только 3,4-диметилбензойная кислота (I), но и 2,4-диметил(II)- и 2,5-диметилбензойные (III) кислоты.



Идентификация продуктов окисления проводилась с помощью у.-ф., и-к. и масс-спектроскопии, а стросные изомеров алкил-бензойных кислот подтверждались измерением спектров п.м.р.*. Так, например, в случае первого изомера в спектре наблюдается шестипротонный одиночный сигнал (2,29 м.д.) от метильных протонов. Ароматические протоны отражены

* Спектры п.м.р. соединений I, II, III в растворах дейтерированного метанола (CD_3OD) измерены на спектрометре «Varian» HA-100D. Внутренний стандарт — тетраметилсилан.

дублетами: δ 7,77 м.д. (Н-3); δ 7,18 м.д. (Н-6); δ 7,73 м.д. (Н-5), $J_{C(3)H-C(5)H}$ 1,2 гц, $J_{C(5)H-C(6)H}$ 8,0 гц.

Отнесение сигналов протонов в изомерах II и III сделано по значениям химических сдвигов, протонов Н-3 (7,15 м.д. для II и 7,41 м.д. для III) и протонов Н-6 (7,81 м.д. для II и 7,20 м.д. для III). Соотношение изомеров регистрировалось измерением интегральной интенсивности сигналов от метильных протонов (δ MeI 2,29 м.д., δ MeII 2,5 м.д., δ MeIII 2,15 м.д.). Динамика трансформации псевдокумола в диметилбензойные кислоты представлена на рис. 1.

Накопление диметилбензойных кислот происходит наиболее интенсивно в период экспоненциальной фазы (6—18 час. роста). В период замедления роста (линейный участок на кривой (18—25 час. развития) скорость аккумуляции диметилбензойных кислот резко падает из-за частичного расщепления 3,4-ДМБК и 2,4-ДМБК в конструктивном обмене, а также из-за менее активного синтеза всех трех изомеров.

О замедлении синтеза кислот в этот период можно сделать вывод также на основании динамики накопления третьего изомера — 2,5-ДМБК, который, вероятно, практически не потребляется в конструктивном обмене. Падение общей скорости роста (25-й — 38-й часы) приводит к некоторому возрастанию концентрации 3,4-ДМБК- и 2,4-ДМБК-изомеров в связи с менее активным их расщеплением и использованием в качестве источников роста и энергии. Концентрация 2,5-ДМБК не спадает до конца процесса (5—10 суток).

Представленные результаты свидетельствуют о своеобразии первичной энзиматической атаки псевдокумола культурой *Pseudomonas aeruginosa* штамм 7. Оксигеназа, окисляющая метильный заместитель, гидроксيليрует один (но любой) из трех метилов, наиболее интенсивно — находящийся в 4-м положении, менее интенсивно — метилы в 1-м и во 2-м положениях. Образовавшиеся спирты не обнаруживаются в культуральной жидкости, очевидно, окисляются с высокой скоростью до кислот. В дальнейшем только два изомера образовавшихся диметилбензойных кислот используются в конструктивном обмене. Третий изомер все время присутствует в среде.

Описанный процесс может служить примером одного из механизмов микробиологической трансформации органических соединений, заключающегося в том, что в результате различий в субстратной специфичности ферментов катаболической последовательности продукт действий менее специфичного фермента накапливается в среде. Представленные данные также акцентируют внимание на том, что результатом первичного микробиологического окисления необычных для микробной клетки субстратов может быть образование побочных продуктов, которые не имеют отношения к основному пути катаболизма исходного соединения.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
Академии наук СССР
Пушино-на-Оке

Отдел микробиологии
Академии наук АзербССР
Баку

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- * T. Omori, S. Horiguchi, K. Yamada, *Agr. Biol. Chem.*, v. 31, 11, 1337 (1967).
2 T. Omori, K. Yamada, *Agr. Biol. Chem.*, а) v. 33, 7, 979 (1969); б) v. 34, 5, 659 (1970).

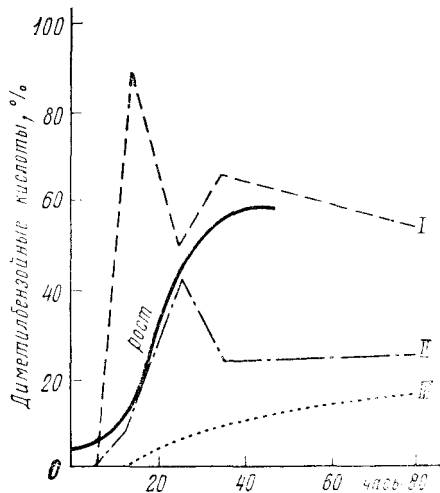


Рис. 1. Динамика накопления изомерных диметилбензойных кислот в процессе роста *Pseudomonas aeruginosa*, штамм 7, на псевдокумоле. I — 3,4-ДМБК, II — 2,4-ДМБК, III — 2,5-ДМБК

Поступило
3 III 1975