

С. М. МАНСКАЯ

УЧАСТИЕ ОКСИДАЗ В ОБРАЗОВАНИИ ЛИГНИНА

(Представлено академиком А. И. Опариным 10 VII 1948)

Исходным моментом для развития биохимических исследований процесса образования лигнина послужило установление ароматической природы лигнина. Из литературных обзоров (1-3) известен обширный круг исследований, посвященных выделению ароматических дериватов лигнина. Недавно Н. Н. Шорыгиной, Т. Н. Кефели и А. Н. Семечкиной (4) было выделено из лигнина ели низкомолекулярное вещество, оказавшееся оксигидроконифероловым спиртом. Удачно использовав реакцию П. П. Шорыгина расщепления простых эфирных связей металлосоединением натрия в жидком аммиаке, Н. Н. Шорыгина и сотрудники показали, что лигнин хвойных является продуктом конденсации кониферолового и оксигидрокониферолового спирта, а может быть, и глюкозида кониферина. Это становится особенно вероятным, если вспомнить, что в камбиальном соке дерева содержится кониферин.

Мы подошли к изучению лигнина и его дериватов, исследуя их при образовании из камбия. В течение четырех лет (1945—1948 гг.) автором совместно с группой Н. Н. Шорыгиной (лаборатория целлюлозы и лигнина Института органической химии АН СССР) производился сбор камбия и вновь образовавшегося слоя древесины сосны. Н. Н. Шорыгиной была прослежена динамика образования и использования кониферина на основании его выхода в разные сроки вегетационного периода.

Одновременно с этим мною было исследовано изменение активности окислительных ферментов, обнаруженных в камбиальном соке и молодых слоях древесины. Мы исходили из того положения, что камбиальная ткань является живой, интенсивно дышащей тканью, и присутствующие в ней окислительные ферменты, пероксидаза и полифенолоксидаза, участвуют в процессе дыхания, катализируя обратимое окисление ароматических соединений.

В. И. Палладин еще в 1919 г. (5) в дополнение к своим представлениям о дыхательных хромогенах как водородных акцепторах показал, что хромогены — вещества пирокатехинового ряда, в том числе он упоминает конифероловый спирт и ванилин.

Ниже мы приводим кривые активности пероксидазы и полифенолоксидазы в камбии и прикамбиальном слое в средней пробе из материала, снятого со всего ствола 5 деревьев (сосны 15-летнего возраста) для каждого сбора (рис. 1—4).

Из кривых рис. 1—4 видно, что обнаружена высокая активность пероксидазы и полифенолоксидазы в прикамбиальном слое (молодые клетки нового годичного слоя) древесины. Наибольший подъем кри-

вой приходится на конец июня (1946 г.) — начало июля (1947 г.), затем начинается постепенное снижение кривой, и в осенние сборы отмечена почти полная инактивация ферментов.

Необходимо отметить, что в 1946 г. активность пероксидазы и полифенолоксидазы определялась в экстрактах из древесной стружки

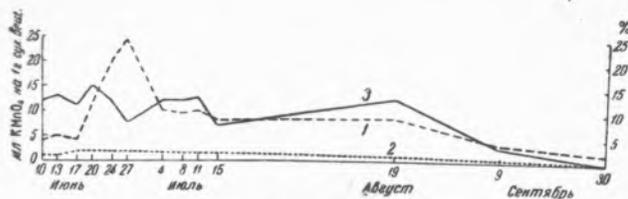


Рис. 1. 1 — активность пероксидазы в прикамбиальном слое древесины; 2 — в камбиальном соке; 3 — выход кониферина в % от сухого веса (сбор 1946 г.)

(прикамбиальный слой), методом Баха и Збарского, а в 1947 г. в болтушке в присутствии стружки: пероксидазы колориметрически по Вильштеттеру, а полифенолоксидазы — по окислению аскорбиновой кислоты в присутствии пирокачетина.

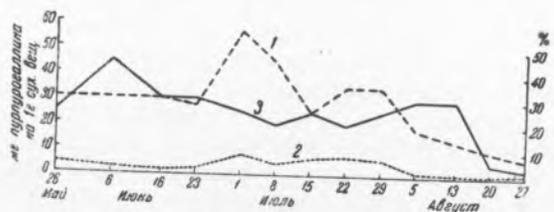


Рис. 2. 1 — активность пероксидазы в прикамбиальном слое древесины; 2 — в камбиальном соке; 3 — выход кониферина в % от сухого веса (сбор 1947 г.)

Однако направление кривых за два года, особенно в периоды наибольшей активности, очень близко. В отдельном опыте определялась активность пероксидазы и полифенолоксидазы в экстрактах из

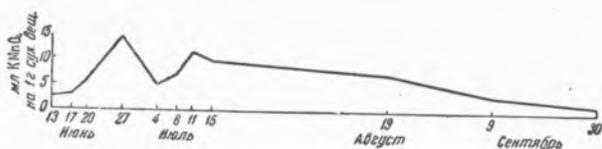


Рис. 3. Активность полифенолоксидазы (сбор 1946 г.)

стружки и в болтушке в присутствии стружки. При этом выяснилось, что в раствор переходит небольшая часть фермента, большая же часть остается адсорбированной на стружке, что совпадает с новыми данными М. А. Бочувава (6) для чайного листа.

При сравнении кривых активности пероксидазы с кривой выхода кониферина видно, что направление их взаимно противоположно. Это особенно ясно из результатов 1947 г., когда учитывалась активность не только растворимой, но и адсорбированной пероксидазы.

В начале сезона (конец мая) — высокий выход кониферина и относительно небольшая активность ферментов (особенно пероксидазы), в середине лета (сборы 27 VI 1946 г. и 1 VII 1947 г.) — резкий подъем активности ферментов и снижение выхода кониферина, в середине

августа — падение активности ферментов и увеличение выхода кониферина.

Из этого можно заключить, что кониферин или его производные являются субстратом для окислительных ферментов. В конце августа — начале сентября выход кониферина резко падает, вероятно, в связи с прекращением его нового образования.

Исходя из предположения, что кониферин является субстратом для окислительных ферментов в живом растении, мы поставили модельные опыты окисления кониферилового спирта чистым препаратом фермента пероксидазы, полученным из хрена по методу Вильштеттера, и экстрактами из древесной стружки (прикамбиальный слой древесины сосны). Кониферин был выделен из камбиального сока сосны, конифериловый спирт был получен из кониферина путем гидролиза эмульсион.

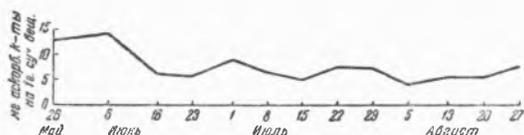


Рис. 4. Активность полифенолоксидазы (сбор 1947 г.)

Эти опыты являются продолжением наших исследований⁽⁷⁾ ферментативного окисления изоевгенола с получением кристаллического ванилина, изосафрола с получением кристаллического гелиотропина, анетола с получением обенина. Эти вещества были обнаружены многими исследователями в древесине. Позднее Фрейденберг⁽⁸⁾ окислял ферментом, полученным им из сока шампиньонов, фенолы гваяцилового и сирингового ряда, учитывая при этом поглощение кислорода в аппарате Варбурга и получая более близкие к лигнину полимеризованные продукты.

При окислении кониферилового спирта ферментом пероксидазой мы получили смесь веществ, разделенных затем фракционированной экстракцией. На основании определения точки плавления и по другим характерным признакам можно заключить, что продуктами окисления являются частично полимеризованный конифериловый спирт, а также некоторые производные кониферилового спирта, полученные до сих пор синтетически, или выделенные химическим путем из готовой древесины. В контрольной пробе, где фермент был инактивирован кипячением, конифериловый спирт оставался без изменения и легко экстрагировался эфиром.

Выводы. 1. Камбиальная ткань и древесина нового годичного слоя содержат активные окислительные ферменты — пероксидазу и полифенолоксидазу.

2. Кониферин камбиальной ткани и его производные служат субстратом для окислительных ферментов.

Пользуюсь случаем принести благодарность акад. В. Н. Сукачеву за предоставленную возможность сбора камбия на участке Института леса АН СССР.

Институт геохимии и аналитической химии
им. В. И. Вернадского
и
Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии Наук СССР

Поступило
26 VI 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. И. Никитин, Химия лигнина, 1941. ² H. Hibbert, App. Rev. Biochem., 11, 183 (1942). ³ С. М. Манская, Усп. совр. биол., 23, в. 2, 200 (1947).
⁴ Н. Н. Шорыгина, Т. Я. Кефели и А. Н. Семечкина, ЖОХ, 17, в. 11 (1947); 12 (1947); Ж. гидролиз. пром. СССР, № 2 (1948). ⁵ В. И. Палладин, Изв. Таврич. ун-та, № 2, I (1919). ⁶ М. А. Бокучава, Биохимия, 13, № 1 (1948). ⁷ С. М. Манская и М. П. Емельянова, Биохимия, 7, в. 3 (1942).
⁸ K. Freudenberg u. H. Richtzenhain, Ber. Deutsch. chem. Ges., 76, 10, 997 (1943).