

А. М. КУЗИН и В. И. МЕРЕНОВА

## О БИОСИНТЕЗЕ НИКОТИНА, МЕЧЕННОГО $C^{14}$ , И ПРОЦЕССАХ ПЕРЕМЕТИЛИРОВАНИЯ В ЛИСТЬЯХ ТАБАКА

(Представлено академиком А. И. Опариным 29 IV 1952)

Получая глюкозу и крахмал, меченные  $C^{14}$ , из листьев табака по методу Путмена (6), мы обратили внимание на то, что никотин, отогнанный с водяным паром из этих листьев, также обладает слабой радиоактивностью. Для подтверждения сделанного наблюдения был поставлен специальный опыт в следующих условиях.

Листья табака (амфидиплоид) на растении затемнялись черной бумагой и выдерживались в темноте в течение 2 суток. Свежесрезанные листья в количестве 7 г помещались в камеру для фотосинтеза, в атмосферу которой вводилось 6,6 мг  $CO_2$  с активностью в 55,8  $\mu Ci$ . Фотосинтез проходил при освещении лампой накаливания в 300 свечей в течение 24 час.

По окончании фотосинтеза листья инактивировались опусканием в кипящую воду. К обработанным листьям добавляли еще 18 г листьев табака, вся масса листьев растиралась, подщелачивалась 20% NaOH в количестве 10 мл, и никотин отгонялся с водяным паром. В полученном отгоне алкалоиды осаждались в кислой среде кремневольфрамовой кислотой. Полученный белый кристаллический осадок после тщательного промывания давал активность 60 имп/мин·мг. Приводимые в работе активности являются средними величинами, полученными после 5 промеров по 10 мин. каждый, с различными навесками, после вычитания фона и введения поправок на самопоглощение. Измерения проводились на торцовом счетчике, на пластинке 2 см в диаметре, на расстоянии 1 мм от окна счетчика.

Кремневольфрамовокислые алкалоиды разлагались 20% NaOH и вновь отгонялись с водяным паром. Из полученного отгона никотин осаждался на холоду насыщенным раствором пикриновой кислоты. Пикрат никотина выделился при стоянии в виде прекрасно образованных игл. Пикрат никотина был отфугован, три раза промыт разбавленным раствором пикриновой кислоты, затем небольшим количеством холодной воды и перекристаллизован из горячей воды. Полученные игольчатые кристаллы дважды промывались холодной дистиллированной водой и высушивались.

Получено 16,5 мг пикрата никотина с т. пл. 216—218°. Его активность была 31 имп/мин·мг. После двукратной перекристаллизации из горячей воды эта активность не изменилась, что с несомненностью указывало на входжение  $C^{14}$  в изолированных листьях в молекулу никотина.

Желая повысить активность меченого никотина и предполагая, что входжение  $C^{14}$  в молекулу никотина является вторичным процессом, не связанным непосредственно с фотосинтезом, мы повторили опыт, причем

после 48 час. фотосинтеза листья табака выдерживались еще в темноте в течение 8 час. После изолирования пикрата никотина по вышеописанному методу мы получили активность 108 имп/мин·мг. Дальнейшая трехкратная перекристаллизация из горячей воды не меняла активность.

Работы А. Шмука, А. Смирнова и Г. Ильина (1, 2) показали, что синтез основного скелета никотина происходит в корнях, почему было мало вероятно ожидать вхождение  $C^{14}$  в изолированных листьях в циклы пиридина и пирролидина. Однако наблюдения Г. Ильина (3) о легко

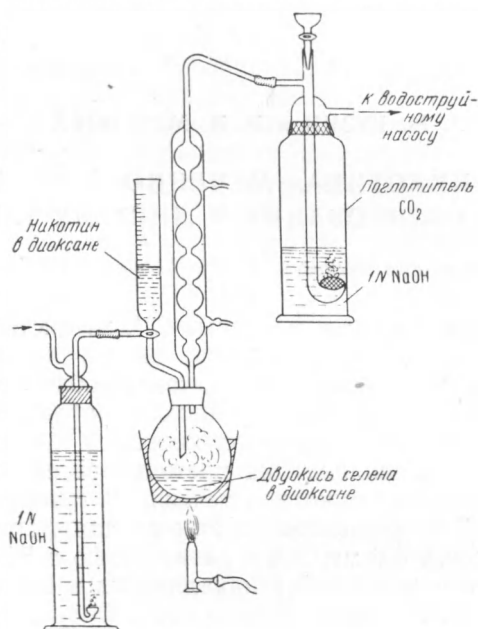


Рис. 1

идущем в листьях *Nicotiana glutinosa* и амфидиплоида процессе деметилирования никотина с образованием норникотина, естественно, приводят к мысли о возможности и обратного процесса, а следовательно, о возможном участии никотина в процессах переметилирования, на что указывал еще в 1948 г. Г. Ильин (3).

Если такое переметилирование действительно имеет место в зеленом листе табака, то в изолированном нами никотине  $C^{14}$  должен был быть в N-метильной группе пирролидинового цикла. Чтобы убедиться в отсутствии  $C^{14}$  в кольце пиридина, 5 мг пикрата никотина с общей активностью в 540 имп/мин были растворены в 2 мл концентрированной азотной кислоты, и раствор нагревался на кипящей водяной бане в течение 6 час. Как известно (4), при этом никотин почти нацело окисляется в никотиновую кислоту. По окончании окисления азотная кислота и вода были удалены в вакууме, а остаток количественно перенесен на диск для измерения активности. Его активность была 20 имп/мин, т. е. равнялась 3,7% исходной, что говорило об отсутствии  $C^{14}$  в пиридиновом цикле.

А. Садыковым (5) было показано, что при окислении никотина в диоксане двуокисью селена идет окисление только метильной группы при азоте пирролидина, причем эта группа окисляется до  $CO_2$  и никотин превращается в норникотин. При 5-часовом окислении около 40% никотина переходит в норникотин.

Мы использовали метод окисления двуокисью селена для доказательства присутствия  $C^{14}$  в метильной группе пирролидинового цикла никотина. 12 мг полученного нами меченого пикрата никотина с общей ак-

тивностью в 1296 имп/мин растворяли в 4 мл сухого диоксана и в приборе, изображенном на рис. 1, проводили окисление двуокисью селена в течение 4 час. при температуре наружной бани 150°.

Выделяющиеся газы пропускались через 1 *N* раствор х. ч. едкого натра. В течение всего окисления через прибор пропускаться слабый ток воздуха, очищенного от CO<sub>2</sub>. По окончании окисления карбонаты из поглотительной склянки были осаждены хлористым барием. Получено 182 мг углекислого бария (разбавление карбонатом, содержащимся в исходном едком натре). Полученный углекислый барий дал активность, равную 6 имп/мин · 2 мг (данные получены при многократном 15-минутном определении фона и образцов и статистической обработке результатов).

Следовательно, весь углекислый барий характеризовался активностью  $182 \times 3 = 546$  имп/мин, что составляло 40,2% от активности взятого пикрата никотина. Наблюдаемое образование радиоактивного CO<sub>2</sub> при окислении двуокисью селена говорит о присутствии C<sup>14</sup> в N-метильных группах. Выход меченого CO<sub>2</sub>, равный 40% исходного, соответствует данным Садыкова, который получил 40,4% окисления никотина в норникотин при тех же условиях.

Из приведенных опытов приходим к следующим выводам:

1. Осуществляя фотосинтез в атмосфере C<sup>14</sup>O<sub>2</sub> с изолированными листьями *Nicotiana*, можно получить никотин, меченный C<sup>14</sup> в N-метильной группе пирролидинового цикла.

2. В листьях *Nicotiana* идут процессы переметилирования с участием никотина.

Лаборатория биофизики, изотопов и излучений  
Отделения биологических наук  
Академии наук СССР

Поступило  
27 VII 1951

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. Шмук, А. Смирнов и Г. Ильин, ДАН, **32**, 365 (1941). <sup>2</sup> Г. С. Ильин, Биохимия, **14**, 552 (1949). <sup>3</sup> Г. С. Ильин, ДАН, **59**, 99 (1948). <sup>4</sup> А. А. Шмук, Химия табака и махорки, 1948, стр. 65. <sup>5</sup> А. Садыков, ЖОХ, **17**, в. 9, 1711 (1947). <sup>6</sup> E. Putman, W. Hassid, G. Kratkov and H. Barker, J. Biol. Chem., **173**, 2 (1948).