

UDK 542.943.6:547.681

Marika KOSK*, Uuve KIRSO*

BENSO(a)PÜREEN-KINOONIDE OKSÜDATSIOON

3. TAIMSETE ENSÜÜMIDE TOIME

Mitmetuumaliste e. polütsükliiliste areenide (PA) reas esineb palju mutageense ja/või kantserogeense aktiivsusega ühendeid. PA-de oksüdeeriv lagunemine kulgeb oksüproduktide moodustumise kaudu. PA-de metabolismi loomses organismis on põhjalikult uuritud ja leitud lähteainest tunduvalt tugevama toimega kantserogeene, näiteks diolepoksiidid benso(a)püreenist (BaP)^[1, 2]. Suhteliselt harva on käsitletust leidnud PA-de lagunemine taimedes, eriti protsessi kineetiline külg, mis pakub huvi ka ökotoksikoloogilisest aspektist.

Lähtudes eeltoodust valiti siinses töös uurimisobjektiks tuntud kantserogeense PA — BaP — tüüpilised oksüdatsiooniproduktid — kinoonid. Artiklite sarja varasemates uurimustes käsitleti BaP-kinoonide autooksidatsiooniseaduspärasusi^[3] ja 6-hüdroksü-BaP lagunemise kineetikat oksüdeerijate (molekulaarse hapniku, vesinikperoksiidi, taimsete oksüdaaside) toimel^[4]. Praeguse uurimuse eesmärk on välja selgitada seaduspärasused, mis toimivad BaP-kinoonide edasisel lagunemisel paljude taimede fermentsüsteemide, nagu peroksüdaasi (PO) ja o-difenooloksüdaasi (DFO) mõjul.

BaP lagunemine erinevate oksiidoreduktaaside toimel on üldtuntud fakt, mis ei vaja tõestamist. Küll aga esineb vastakaid arvamusi BaP oksüderivaatide edasise lagunemise kohta. Ühed uurijad näitavad, et selles reaktsioonis pole ensüümi(de) osalemine vajalik^[5], teised väidavad vastupidist^[6–8]. Et kinoonid on üldjuhul nii toksilised kui ka kantserogeensed^[2], siis keskkonna isepuhastuse seisukohalt on huvipakkuv nende moodustumise ja lagunemise vaherkord ning seda mõjutavad tegurid.

Metoodika

BaP-kinoonid (Q) 1,6-Q, 3,6-Q ja 6,12-Q sünteesiti fotokeemiliselt, kiiritades BaP 2-mM lahust atsetonis elavhõbedalambiga, λ_{\max} 360 nm. Kinoonide fraktsioon eraldati ja puhastati õhukesekihilise kromatograafia meetodil, üksikud ühendid identifitseeriti neeldumisspektrite järgi spektrofotomeetriliselt (Specord M40).

Katsed BaP-kinoonidega tehti vesilahustes (konts. 5–50 nM) mehaanilisel segamisel neljaliitristes reaktorites, pH 7,6 (0,02-M fosfaatpuhver). Kineetilistes katsetes võeti kindlatel ajavahemikel reaktsioonisegu proovid (500 ml), millest reageerimata lähteaine ekstraheeriti eelnevalt puhastatud dietüületriiga. Pärast solventi eraldamist viidi kuiv jääk metanooli lahusesse ja analüüsiti kas spektrofotomeetriliselt (Specord M40) või kasutades vedelikukromatograafi Knauer (SLV), kolonn ODS Zorbax 6×150 mm, eluent — metanool. Kromatograferimise tingimused: voolu kiirus 1,5 ml min⁻¹, rõhk 3,0 MPa, temperatuur 30 °C. UV-detekterimine toimus lainepikkusel kas 368, 435 või 469 nm vastavalt 6,12-, 1,6- ja 3,6-kinoonile. Kromatograafia eluendid olid metanooli ja vee segu (2:8)

* Eesti Teaduste Akadeemia Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituut. Rävälä pst. 10, EE-0100 Tallinn, Eesti.

ning metanool, viimase kontsentratsiooni hoiti esimesel 10 minutil 10% piires, järgneva 30 minuti jooksul viidi 90%-ni.

Taimseteks ensüümideks oli valitud kaks tüüpilist ja laialt levinud oksüdaasi: mädarõika PO («Биохимреактив», RZ=2,75, EC 1.11.1.7), mille kontsentratsiooni varieeriti vahemikus 2—20 mg l⁻¹, ja kartuli mugulatest meetodika [9] järgi eraldatud ja puhastatud DFO aktiivsusega valgupreparaat. Varasema klassifikatsiooni järgi kannab DFO numbrit 1.10.3.1, aga oma toimemehhanismi läheduse tõttu monooksügenaaside omale on DFO viidud käesoleval ajal ensüümide klassi numbriga 1.14.18.1. Kasutatud DFO-preparaatides määrati Lowry järgi [10] valgu sisaldus, mida varieeriti piirkonnas 0,3—5,0 µg l⁻¹.

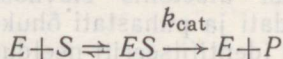
PO-d kasutati koos keemiliselt puhta vesinikperoksiidiga, ensüümi kontsentratsiooni mõõdeti spektrofotomeetriselt [11].

Katsete eksperimentaalne osa toimus Eesti TA Keemia Instituudis.

Tulemused ja arutelu

Uuritud BaP-kinoonide lagunemine H₂O₂/PO mõjul on tunduvalt kiirem kui keemiline oksüdatsioon H₂O₂-ga (joon. 1). See annab tunnistust PO ensümaatilise aktiivsusest. Varasemates töödes näidati PO katalüütilist toimet BaP [12] ja 6-OH-BaP [4] lagunemisele. Kinoonidel on erinev reaktsioonivõime H₂O₂/PO suhtes. Kui 1,6- ja 3,6-Q reageerivad lähedase kiirusega: [13] järgi arvutatud efektiivsed kiiruskonstandid (k_{eff} , 10⁻³ s⁻¹) on vastavalt 0,19 ja 0,54, siis 6,12-Q reaktsioon kulgeb nii kiiresti (joon. 1), et kõnealuse meetodika kasutamine ei võimalda määrata tõepäraselt k_{eff} väärtust. Küll aga on võimalik kõiki kolme kinooni võrrelda algkiiruse põhjal. Lähedastes tingimustes, s. t. sama substraadi ja PO lähtekontsentratsiooni puhul erineb oluliselt kõigi kolme kinooni oksüdeerimiskiirus (v_0 , pM s⁻¹), moodustades arvuliselt järgmised väärtused: 6,12-Q puhul 23,5, 1,6-Q 7,67 ja 3,6-Q 4,67. Seega 6,12-Q on ligikaudu viis korda vähem stabiilne kui 3,6-derivaat. Kirjeldatud nähtust pole võimalik seletada PO suure aktiivsusega 6,12-Q suhtes, sest juba keemiline oksüdeerimine H₂O₂-ga toimus sellel kinoonil väga suure kiirusega [3]. Molekulaarse hapniku puhul kinoonide reaktsioonivõimes olulisi erinevusi ei täheldatud [3]. Reaktsiooni kontsentratsiooniline järk (n_c) on substraadi suhtes vahemikus 0,75—0,80, s. t. lähedane ühele. Seega reaktsioon on pseudomonomolekulaarne, sest teine reagent (H₂O₂/PO) on suures liias. Reaktsiooni ajaline järk (n_t) on lähedane nullile ja produktidega inhibeerimist ei esine.

Tüüpilise reaktsiooni puhul, kus substraat (S) reageerib ensüümiga (E) ning mille tulemusel tekib kompleks (ES) ja sellest produktid (P)



rakendati Michaelise-Menteni võrrandit.

Erijuhul, kus $E_0 \gg S_0$ substraadi halva lahustumise tõttu, on vastav võrrand [13]:

$$v_0 = \frac{k_{\text{cat}}[E]_0[S]_0}{K_M + [E]_0}$$

kus v_0 — algkiirus,

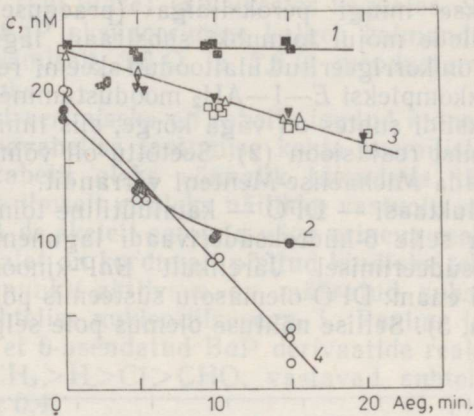
$[E]_0$ — ensüümi algkontsentratsioon,

$[S]_0$ — substraadi algkontsentratsioon,

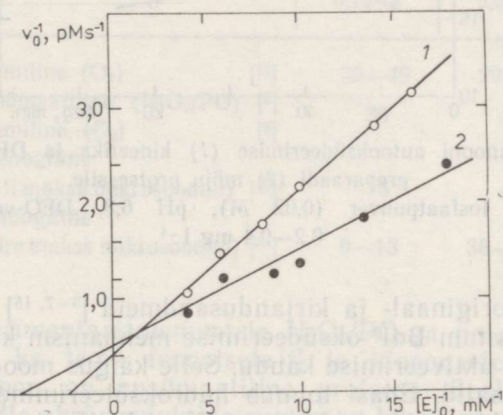
K_M — Michaelise (näilik) konstant,

k_{cat} — katalüütiline kiiruskonstant.

Võrrandi töötlust koordinaatides $1/v_0$ ja $1/E_0$ (joon. 2) saadud Michaelise konstantide väärtused 1,6-Q-l 0,44 ja 3,6-Q-l 0,19 µM annavad tunnistust PO rohkem kui kahekordsest afiinsuse erinevusest nende kahe kinooni suhtes. Katalüütilise konstandi k_{cat} , 10⁻³ s⁻¹ suurused on samuti erinevad:



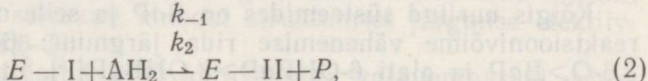
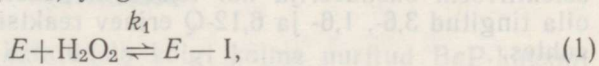
Joon. 1. BaP-kinoonide oksüdeerimise kineetika vesinikperoksiidiga ja vesinikperoksiid/peroksüdaasiga. 1 — 1,6-Q ja 3,6-Q H_2O_2 -ga, 2 — 6,12-Q H_2O_2 -ga, 3 — 1,6-Q ja 3,6-Q H_2O_2/PO -ga, 4 — 6,12-Q H_2O_2/PO -ga.
 Katse tingimused: fosfaatpuhver (0,02 M), pH 7,6, PO kontsentratsioon 5 mg l^{-1} (3) ja 3 mg l^{-1} (4), $H_2O_2 = 0,1\%$.



Joon. 2. BaP-kinoonide ensümaatilise oksüdeerimise (H_2O_2/PO) kineetiliste andmete väljendamine Lineweaveri-Burki koordinaatides. 1 — 1,6-Q, 2 — 3,6-Q. Katse tingimused vt. joon. 1.

1,6-Q-l 0,24 ja 3,6-Q-l 0,78. Otsustades bimolekulaarse kiiruskonstandi k_{cat}/K_M , $M^{-1} s^{-1}$ väärtuse järgi — 3,6-Q-l $4,1 \times 10^3$ ja 1,6-Q-l $1,1 \times 10^3$ — on uuritav ferment mõlema kinooni suhtes keskmise ensümaatilise aktiivsusega, kuid 3,6-Q on peaaegu neli korda parem substraat kui 1,6-Q. Meenutatagu, et BaP suhtes oli H_2O_2/PO aktiivsus lähedane kinoonide omale [12]. Tähelepanuväärselt efektiivseks osutus aga H_2O_2/PO 6-OHBP oksüdeerimisel: $k_{cat}/K_M = 2 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ [4].

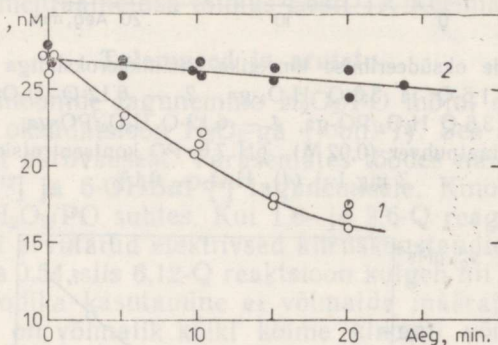
Kirjanduse andmetel [6, 7, 14] on üldine PO reaktsiooniskeem vesinikperoksiidi ja substraadiga (AH_2) järgmine:



kus E on PO, $E - I$ — PO kompleks vesinikperoksiidiga, $E - II$ — PO kompleks substraadiga.

PO aktiveerimiseks mingi peroksiidiga (praegusel juhul H_2O_2 -ga) kompleksideks, millede mõjul toimubki substraadi lagunemine. Viimaste andmete alusel [14] on korrigeeritud ülalloodud skeemi reaktsioone sellisel, et leiab aset kolmikkompleksi $E-I-AH_2$ moodustumine. Kuna PO spetsiifilisus vesinikperoksiidi suhtes on väga kõrge, siis limiteerib summaarset substraadi lagunemist reaktsioon (2). Seetõttu oli võimalik katseandmete töötlemiseks kasutada Michaelise-Menteni võrrandit.

Teise oksiidoreduktaasi — DFO — katalüütiline toime avaldus selgesti nii BaP [12] kui ka selle 6-hüdroksüderivaadi lagunemisel [4], kuid mitte BaP-kinoonide oksüdeerimisel. Järelikult BaP-kinoonid ei ole DFO substraadid. Veelgi enam: DFO olemasolu süsteemis põhjustas reaktsiooni inhibeerimise (joon. 3). Sellise nähtuse olemus pole selge ning vajab lisa-uurimist.

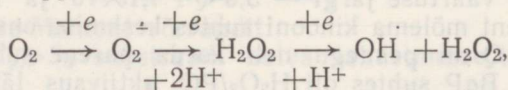


Joon. 3. BaP 3,6-kinooni autooksideerimise (1) kineetika ja DFO aktiivsusega valgu-preparaadi (2) mõju protsessile.

Katse tingimused: fosfaatpuhver (0,02 M), pH 6,8, DFO-valgu kontsentratsioon 0,2–0,4 mg l⁻¹.

Analüüsides originaal- ja kirjandusandmeid [5–7, 15] võib järeldada, et teoreetiliselt soositum BaP oksüdeerimise mehhanism kulgeb tuuma asendite 6>12>1>3 aktiveerimise kaudu. Selle käigus moodustuvad vastavad ioonid või radikaalid. Edasi toimub hüdroksüdeerimine, s.t. fenoolide ja kinoolide kaudu kinoonide tekkimine. Ka suhteliselt stabiilsemate vaheproduktide (fenoolide, kinoonide) edasise lagunemise kiirus on tunduvalt suurem kui nende tekkimise kiirus. Näiteks autooksideerimisel on BaP ja BaP-kinoonide efektiivsed kiiruskonstandid vastavalt 0,17 ja 1,28 × 10⁻³ s⁻¹, seega kinoonid lagunevad tunduvalt kiiremini kui lähteareen.

Üldjuhul vastab molekulaarse hapniku üheelektronne redutseerimine järgmisele skeemile [5]:



mille järgi moodustuvad aktiivsed oksüdeerijad — superoksiid-anioon-radikaal, vesinikperoksiid ja hüdroksüülradikaalid. H_2O_2 lisamine süsteemi genereerib viimaste moodustumist. Võib oletada, et $OH \cdot$ on tunduvalt selektiivsem oksüdeerija kui teised moodustunud osakesed. Sellest võib olla tingitud 3,6-, 1,6- ja 6,12-Q erinev reaktsioonivõime H_2O_2 ja H_2O_2/PO suhtes.

Kõigis uuritud süsteemides on BaP ja selle oksüderivaatide suhteline reaktsioonivõime vähenemise rida järgmine: 6-OHBAp ≫ 6,12-Q > 1,6-Q, 3,6-Q > BaP ja alati 6-OHBAp > 3-OHBAp [16]. Et 6-OHBAp ja 6,12-Q on kõige vähem stabiilsed BaP fenoolide ja kinoonide esindajad, siis saab mõistetakvaks, miks neid on kirjandusallikates BaP produktidena identifit-

seeritud nii harva (kui üldse) ja väikestes kogustes. Seega mitmete autorite järeldust, et BaP oksüdeerimine kulgeb kolmanda asendi hüdroksüleerimise ning peamiselt 3,6-Q ja 1,6-Q moodustumise kaudu, ei saa pidada põhjendatuks.

Probleemi illustreerimiseks on tabelis toodud mõned kirjandusandmed BaP-kinoonide omavahelise jaotumise kohta keemilistes ja bioloogilistes süsteemides. Kui tabelit oleks võimalik täiendada lähteaine konversatsioonistmega, siis ilmselt ei oleks näilikku vastuolu eri autorite tulemustes. Üldiselt on PA-de skeleti aatomid väga erineva reaktsioonivõimega^[19], mille suhtelist skaalat on korduvalt püütud kindlaks teha^[20]. Ühe ja sama asendatud tuuma punkti aktiivsus on määratud substituentide elektron-efektidega, s. t. suhtelise nukleofiilsusega. L. Paalme ja M. Gubergrits^[16] näitasid veenvalt, et 6-asendatud BaP derivaatide reaktsioonivõime kahaneb reas $\text{OH} \gg \text{OCH}_3 > \text{H} > \text{Cl} > \text{CHO}$, vastavad suhtelised väärtused on 16,4 : 1,8 : 1,0 : 0,5 : 0,4.

BaP-kinoonide omavaheline jaotus BaP ja 6-OH BaP (6-O-BaP) keemilisel ja bioloogilisel oksüdeerimisel

Lähteaine	Oksüdeeriv süsteem	Kinoonide jaotus %		
		6,12-Q	3,6-Q	1,6-Q
6-OH BaP	keemiline (O ₂) ^[16]	39—49	29—32	22—29
6-OH BaP	ensümaatiline (H ₂ O ₂ /PO) ^[5]	36	29	27
6-O-BaP	keemiline (O ₂) ^[5]			
6-OH BaP	bioloogiline (roti maksa mikrosoomid) ^[17]	15	44	41
BaP	bioloogiline (hiire maksa mikrosoomid) ^[18]	9—13	38—46	45—50

Toetudes eksperimentaaltulemustele H₂O₂/PO-ga pole kahtlust, et nii BaP enda^[12] kui ka tema fenoolsete^[4] ja kinoonsete vaheproduktide edasine oksüdatsioon on ensümaatiline protsess. Sealjuures H₂O₂/PO afiinsus BaP ja selle oksüproduktide suhtes on lähedane mikrosomaalsete, nn. segafunktsionaalsete oksüdaaside omale. Näiteks 7,8-dihüdro-7,8-dihüdroksü-BaP oksüdeerimisel viimastega on K_M väärtus 0,41 μM, BaP oksüdeerimisel samas süsteemis 0,76 μM^[21], BaP-kinoonide oksüdeerimisel taimse PO-ga on K_M 0,19 ja 0,44 μM, BaP puhul aga suurem. Tähelepanu väärib 3,6-Q madalam afiinsus reduktaasile (vastav K_M = 1,29 μM^[21]) kui oksüdaasile.

Analüüsides toodud andmeid ökotoksikoloogilisest aspektist võib järeldada, et kantserogeense BaP oksüdeerival lagunemisel pole üldjuhul tõenäone tervisele ohtlike kinoonsete vaheproduktide kogunemine. See võib juhtuda ainult neis süsteemides (taimedes), mis sisaldavad suurel hulgal DFO-ensüüme. Viimased võivad takistada BaP-kinoonide lagunemist.

Järeldused

Mädarõika peroksüdaas katalüüsib kõigi kolme uuritud BaP-kinooni oksüdeerivat lagunemist sõltuvalt kinooni struktuurist järgmise efektiivsusega: 6,12-Q > 3,6-Q > 1,6-Q.

Kartulimugulatest eraldatud DFO aktiivsusega valgupreparaat erinevalt varem uuritud BaP-st ja 6-hüdroksüderivaadist inhibeerib BaP-kinoonide oksüdatsiooni reaktsiooni.

1. *Buening, M. K., Wislocki, P. G., Levin, W., Yagi, H., Thakker, D. R., Akagi, H., Koreeda, M., Jerina, D. M., Conney, A. H.* Tumorigenicity of the optical enantiomers of the diastereomeric benzo(a)pyrene 7,8-diol-9,10-epoxides in newborn mice: Exceptional activity of (+) -7 β , 8 α -dihydroxy- 9 α 10 α -epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene. — Proc. Natl. Acad. Sci., 1978, **75**, 5358—5365.
2. *Smith, M. T.* Quinones as mutagens, carcinogens, and anticancer agents: introduction and overview. — J. Toxicol. Environ. Health, 1985, **16**, 665—672.
3. *Коск М., Курсо У.* Окисление бенз(a)пирен-хинонов. 1. Воздействие кислорода воздуха и перекиси водорода. — Изв. АН ЭССР. Хим., 1987, **36**, 1, 53—59.
4. *Коск М., Курсо У.* Окисление бенз(a)пирен-хинонов. 2. Воздействие оксидаз на 6-гидроксибенз(a)пирен. — Изв. АН ЭССР. Хим., 1988, **37**, 2, 83—87.
5. *Lorentzen, R. J., Caspary, W. J., Lesko, S. A., Ts'O, P. O. P.* The autoxidation of 6-hydroxy-benzo(a)pyrene and 6-oxobenzo(a)-pyrene radical, reactive metabolites of benzo(a)pyrene. — Biochemistry, 1975, **14**, 3970—3977.
6. *Yagi, M.* Oxidation of benzo(a)pyrene and 7,8-dihydro-7,8-dihydroxybenzo(a)pyrene by horseradish peroxidase-H₂O₂ intermediate: Fluorometric study. — Cancer Biochem. Biophys., 1984, **7**, 155—174.
7. *Agagawa, S., Momoi, H., Yagi, M.* Binding of benzo(a)pyrene with peroxidase and its oxidation by peroxidase-H₂O₂ intermediate. — Cancer Biochem. Biophys., 1984, **7**, 213—229.
8. *Morgenstern, R., DePierre, J. W., Lind, C., Guthenberg, C., Mannervik, B., Ernster, L.* Benzo(a)pyrene quinones can be generated by lipid peroxidation and are conjugated with glutathione by glutathione S-transferase B from rat liver. — Biochem. Biophys. Res. Comm., 1981, **99**, 682—690.
9. *Бузун Г. А.* Выделение ферментов из растений в присутствии эндогенных фенолов. — Успехи биол. хим., 1972, **13**, 102—115.
10. *Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Furr, A. L., Randall, R. J.* Protein measurements with the Folin phenol reagent. — J. Biol. Chem., 1951, **193**, 265—275.
11. *Keilin, D., Hartree, E. F.* Purification of horseradish peroxidase and comparison of its properties with those of catalase and methemoglobin. — Biochem. J., 1951, **49**, 88—97.
12. *Kirso, U., Belykh, L., Stom, D.* Kinetics of benzo(a)pyrene oxidation in aqueous solution. — Oxidation Comm., 1983, **4**, 35—44.
13. *Березин И. В., Мартинек К.* Основы физической химии ферментативного катализа. Высшая школа, Москва, 1977.
14. *Метелица Д. И.* Моделирование окислительно-восстановительных ферментов. Наука и техника, Минск, 1984.
15. *Rogan, E., Roth, R., Cavalieri, E.* Manganic acetate and horseradish peroxidase/hydrogen peroxide: *In vitro* models of activation of aromatic hydrocarbons by one-electron oxidation. — Rmt.: *Björseth, A., Dennis, A. J.* (toim.). Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. Chemistry and Biological Effects. Battelle Press, Columbus, Ohio, 1980, 259—266.
16. *L. Paalme ja M. Gubergritsi artiklid kogumikus:* Окисление канцерогенных полициклических углеводородов производных бенз(a)пирена. Валгус, Таллинн, 1978.
17. *Lesko, S., Lorentzen, W. C. R., Ts'O, P. O. P.* Enzyme formation of 6-oxobenzo(a)-pyrene radical for liver homogenates from carcinogenic benzo(a)pyrene. — Biochem. J., 1975, **14**, 3978—3984.
18. *Sydor, W., Lewis, K. F., Peng, R., Yang, C. S.* Effects of butylated hydroxyanisole on the metabolism of benzo(a)pyrene. — Rmt.: *Cooke, M., Dennis, A., Fischer, G. L.* (toim.). PAH. Physical a. Biological Chemistry. 6th Int. Symp. Battelle Press, Columbus—Richland, 1982, 791—800.
19. *Паальме Л., Туулметс А., Курсо У., Губергриц М.* Реакционная способность полициклических ароматических углеводородов в процессах фотоннизированной деградаци. — Реакц. способность орг. соед., 1974, **11**, 313—322.

20. Zander, M. Structure-property relationships in the field of PAH basic principles and examples. — Rmt.: 13th International symposium on polycyclic aromatic hydrocarbons, Oct. 1991, Bordeaux. Abstracts, OC 21.
21. Shen, A. L., Fane, W. E., Wrighton, S. A., Jefcoate, C. P. Inhibition of benzo(a)pyrene and benzo(a)pyrene 7,8-dihydrodiol metabolism by benzo(a)pyrene quinones. — Cancer Res., 1979, 39, 4123—4129.

Toimetusse saabunud

29. I 1993

Marika KOSK and Uuve KIRSO

OXIDATION OF BENZO(a)PYRENE QUINONES

3. INFLUENCE OF PLANT ENZYMES

The oxidation of three benzo(a)pyrene (BaP) quinones (Q) — intermediate products of BaP degradation — by horseradish peroxidase (PO)/H₂O₂ and *o*-diphenol-oxidase (DFO) from potato tuber in aqueous solution was studied. In relation to degradation by PO/H₂O₂ the quinones exhibited considerable differences. The reaction rate decreased in the order 6,12-Q > 1,6-Q > 3,6-Q > BaP. The affinity of PO for the quinones was 4—6 times higher than for BaP. The values of bimolecular rate constants, k_{cat}/K_M , 10³ M⁻¹ s⁻¹, 4.1 and 1.1 for 3,6-Q and 1,6-Q, respectively, show that PO was a medium efficient enzyme for the oxidation of BaP quinones.

The DFO completely inhibits the decomposition of BaP-quinones, at the same time this enzyme catalyzes the BaP and 6-hydroxy-BaP oxidation.

Марика КОСК, Ууве КИРСО

ОКИСЛЕНИЕ БЕНЗ(а)ПИРЕН-ХИНОНОВ

3. ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Исследовано превращение бенз(а)пирен (БаП)-хинонов (X) как промежуточных продуктов окисления БаП под влиянием двух растительных ферментов — пероксидазы (ПО) из хрена и *o*-дифенолксидазы (ДФО) из клубней картофеля в водной среде. Реакционная способность БаП-X относительно H₂O₂/ПО существенно различалась между собой, скорость реакции уменьшалась в ряду 6,12-X > 1,6-X > 3,6-X > БаП. Афинность ПО относительно X была в 4—6 раз выше, чем для БаП. Бимолекулярные константы скоростей, $k_{кат}/K_M$, 10³, составляли 4,1 и 1,1 М⁻¹·с⁻¹ для 3,6-X и 1,6-X соответственно. Это свидетельствует о том, что данный фермент обладает средней каталитической активностью относительно БаП-X.

В присутствии ДФО окисление БаП-X полностью ингибировалось, хотя относительно БаП и его 6-гидроксипроизводного этот фермент проявлял свойства катализатора.

