

# АСКОРБІНОВА КИСЛОТА В РОСЛИН: МЕТАБОЛІЗМ І ФУНКЦІЇ

Т. А. Артюшенко\*

*Криворізький ботанічний сад НАН України,  
м. Кривий Ріг, Україна*

**Анотація.** Аскорбінова кислота (вітамін С) є найбільш поширеним антиоксидантом у рослинах. Охарактеризовано можливі шляхи біосинтезу вітаміну С у рослин, зокрема через ГДФ-d-манозу та l-галактозу. Наведені молекулярно-генетичні докази, а також відмінності від біосинтезу у тваринних організмів. За винятком останнього етапу, який протікає на внутрішній мітохондріальній мембрані, біосинтез аскорбату у рослин відбувається в цитозолі. Узагальнено літературні дані щодо вмісту аскорбінової кислоти в тканинах і органах різних сільськогосподарських, культурних і дикорослих рослин та фактори, що на нього впливають. Проаналізовано особливості метаболізму аскорбінової кислоти, співвідношення відновленої й окисненої її форм за різних фізіологічних станів, а також шляхи деградації вітаміну С у рослин. Розглянуто основні функції аскорбінової кислоти в рослинних організмах. Обговорена її участь як кофактора в синтезі збагачених гідроксипроліном глікопротеїнів клітинної стінки, роль у контролі клітинного поділу та росту розтягуванням, захисті від активних форм кисню й оксидативного стресу, фотоокислення та регенерації вторинних антиоксидантів, таких як  $\alpha$ -токоферол, а також функціонування як коферменту в різних фізіолого-біохімічних процесах у рослин.

**Ключові слова:** аскорбінова кислота, дегідроаскорбінова кислота, 2,3-дикетогулонова кислота, антиоксиданти, біосинтез, деградація, ферменти, оксидативний стрес.

**Вступ.** Аскорбінова кислота (вітамін С) вперше була виділена з лимона в 1918 р., а пізніше, у 1930 р. — із капусти, надниркової залози бика та солодкого перцю. У 1933 р. її будова була остаточно встановлена та підтверджена хімічним синтезом [5]. За систематичною науковою номенклатурою IUPAC, назва «аскорбінова кислота» не зовсім правильна, оскільки за будовою вона є не кислотою, а  $\gamma$ -лактоном 2-кетогулонової кислоти в дієнольній формі. Вітамін С не має вільної карбоксильної групи, але йому притаманні кислі властивості внаслідок дисоціації одного з фенольних гідроксилів. Однак в сучасній як вітчизняній, так і закордонній літературі лишається найбільш уживаною назва вітаміну С — аскорбінова кислота. Стереоізомер l-аскорбінової кислоти — d-ізоаскорбінова







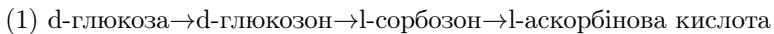
Продовження табл. 1

1	2
Табак справжній лінія ВУ-2, культура клітин	21 нг/мг с.р. – 165 мкг/г с.р. [20]
Тополя Боле, листки	0,012 мМ/г с.р. [9]
Тополя великолиста, листки	0,026 мМ/г с.р. [9]
Тополя канадська, листки	0,016–8,9 мМ/г с.р. [9, 14]
Тополя китайська, листки	0,019 мМ/г с.р. [9]
Тополя пірамідальна, листки	0,012 мМ/г с.р. [9]
Хеномелес низький, плоди	1,3 мМ/г с.р. [15]
Хеномелес японський, плоди	4,42–15,9 мМ/г с.р. [3, 16]
Шефердія срібляста, плоди	1,6–23,7 мМ/г с.р. [3, 16]
Шовковиця біла, плоди	5,7–9,7 мМ/г с.р. [16]
Шовковиця чорна, плоди	10,2 мМ/г с.р. [16]
Шипшина багатоквіткова, плоди	7,38 мМ/г с.р. [16]
Шипшина корична, плоди	86,9–175,7 мМ/г с.р. [16]
Шипшина сиза, плоди	63,6 мМ/г с.р. [16]
Шипшина собача, плоди	37,07 мМ/г с.р. [16]
Шипшина Юндзіла, плоди	52 мМ/г с.р. [16]
Шпинат огородній, листки	3,24–3,93 мкМ/г с.р. [11, 22]
аноласт	3,30 мМ/см <sup>3</sup> [11]
міжклітинний простір	3,92 мМ/см <sup>3</sup> [11]
Яблуня рясоквітуча, плоди	0,6–0,9 мМ/г с.р. [16]
Яблуня ягідна, плоди	0,08–1,0 мМ/г с.р. [16]

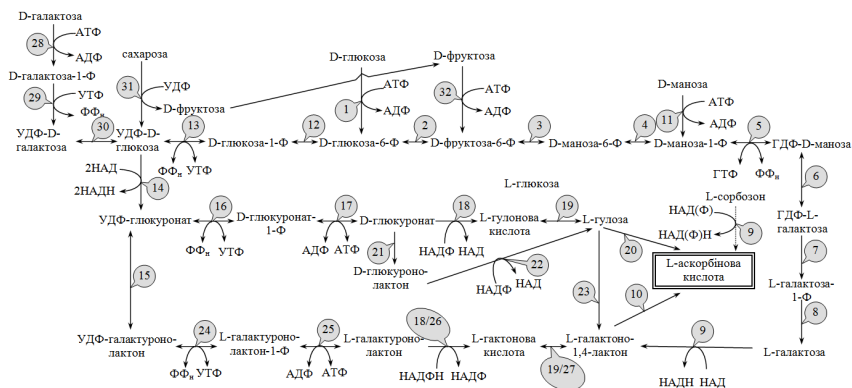
На рівень аскорбінової кислоти впливають конкретні умови зростання в районі інтродукції та природному ареалі, зокрема ґрунтові та кліматичні. Так, В. Д. Федоровським [4] показана залежність вмісту аскорбату в плодах *Ribes spicatum* Robson. та *Ribes palczewskii* (Janecz.) Rojark. від широтної зональності клімату та висотних поясів природних ландшафтів у горах. Зазначена залежність проявляється в збільшенні вмісту аскорбінової кислоти з підняттям до висоти 1500 м над рівнем моря, вище за яку знижується. Також необхідно зазначити, що в культурних популяціях її вміст вищий, ніж у природних [3, 4]. Водночас одним із ключових факторів, які впливають на накопичення вітаміну С у рослинних тканинах, є рівень освітлення [12]. Так, у плодах *Ribes hispidulum* (Janecz.) Rojark. його вміст під пологом лісу вдвічі менший, ніж на відкритій місцевості [4].

**Шляхи біосинтезу аскорбінової кислоти в рослин.** Більше 60 років тому F. A. Isherwood [10] запропонував шлях біосинтезу аскорбінової кислоти в рослин на основі обернення попередників d-галактози. Цей шлях включає обернення d-галактози — так званий «обернений» шлях, під час якого C<sub>1</sub> попередника стає C<sub>6</sub> аскорбату і навпаки. Останній етап цього шляху — окиснення l-галактоно-1,4-лактону до аскорбату ферментом l-галактоно-1,4-лактондегідрогеназою (ГЛДГ, КФ 1.3.2.3). Останній був очищений та охарактеризований у багатьох видів рослин [18]. Було продемонстровано, що метильний ефір d-галактуронової кислоти безпосередньо перетворюється на аскорбінову кислоту, також виявлений фермент, що каталізує НАДФ-залежне відновлення зазначеного ефіру. Однак його спорідненість до субстрату була низькою [13]. Незважаючи на це, прямих доказів участі d-галактози або попередників цукрів в цьому ланцюзі на сьогодні немає. Водночас у роботах групи дослідників під керівництвом F. A. Loewus [22] показано, що залучення d-глюкози до біосинтезу аскорбату переважно (80%) відбувається без обернення вуглецевого скелету. Отже, біосинтез вітаміну С з d-глюкози в рослин, на відміну від тварин, відбувається, імовірно, не за «оберненим» шляхом.

У 1990 році F. A. Loewus [11] запропонував альтернативний шлях біосинтезу аскорбату з d-глюкози, за яким обернення вуглецевого скелету не відбувається (рис. 1):



За цією схемою d-глюкоза спершу окиснюється за C<sub>2</sub> до d-глюкозону піранозо-2-оксидазою, d-глюкозон потім епімеризується за C<sub>5</sub> і утворює l-сорбозон. Аскорбінова кислота утворюється окисненням останнього. Докази цієї схеми ґрунтуються на включенні радіоактивної мітки d-глюкози та d-глюкозону до аскорбінової кислоти. Фермент, що каталізує НАДФ-залежне окиснення l-сорбозону до аскорбату, був частково очищений. Однак висока K<sub>m</sub>с орбозондегідрогенази як до l-сорбозону, так і до d-глюкозону суперечить фізіологічній ролі цього ферменту в рослин. Крім того, незважаючи на те, що піранозо-2-оксидаза була ідентифікована в деяких базидіоміцетів, здатність рослинних ферментів перетворювати d-глюкозу на d-глюкозон або d-глюкозон на l-сорбозон на сьогодні не підтверджена [9]. Водночас N. Smirnoff [23] установив, що дегідрогеназа l-галактози також здатна повільно каталізувати окиснення l-сорбозону, що може свідчити на користь цього шляху. Наведена вище схема біосинтезу вітаміну С лишається дискусійною та вважається не основною в рослин.

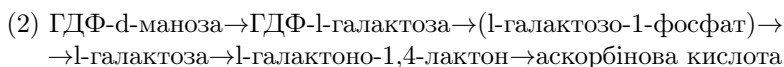


**Рис. 1. Можливі шляхи біосинтезу аскорбінової кислоти в рослин**

Figure 1. Possible ways of ascorbic acid biosynthesis in plants

1: гексокіназа, також каталізує реакцію 11; 2: глюкоза-6-фосфатізомераза; 3: маноза-6-фосфатізомераза; 4: фосфоманозомутаза; 5: маноза-1-фосфаттрансфераза; 6: ГДФ: 3,5-епімераза; 7: гідролаза; 8: фосфатаза; 9: галактоза-1-дегідрогеназа; 10: l-галактоно-1,4-лактондегідрогеназа; 11: d-манозокіназа/гексокіназа; 12: фосфоглюкомутаза; 13: УТФ-глюкоза-1-фосфатуриділтрансфераза; 14: УДФ-d-глюкозадегідрогеназа; 15: УДФ-глюкуронат-1-епімераза; 16: глюкуронат-1-фосфатуриділтрансфераза; 17: d-глюкуронокіназа; 18: d-глюкуронатредуктаза; 19/27: альдонолактоназа/спонтанно; 20: l-гулоно-1,4,лактонооксидаза/дегідрогеназа; 21: уролактоназа або спонтанна лактонізація; 22: глюкуронолактоноредуктаза, можливо, каталізує реакцію 18; 23: галактоно-1,4-лактоно-3-епімераза; 24: галактуронат-1-фосфатуриділтрансфераза; 25: галактуронкіназа; 26: d-галактуронатредуктаза; 28: d-глюкоза-4-епімераза; 29: d-галактокіназа; 30: УТФ-гексоза-1-фосфатуриділтрансфераза; 31: сахарозсинтаза; 32: фруктокіназа

На сьогодні переважним є так званий «манозний» шлях біосинтезу аскорбату через ГДФ-d-манозу та ГДФ-l-галактозу (рис. 2):



Початкові етапи цього шляху до ГДФ-l-галактози є, крім того, ланкою в синтезі попередників полісахаридів клітинної стінки. За аналогією до шляху, запропонованого F. A. Isherwood [10], останній крок каталізується ГЛДГ. Однак за цією схемою перетворення d-глюкози на

аскорбінову кислоту відбувається без оборення вуглецевого скелету гексози, що підтверджено даними F. A. Loewus [22]. Указані автори встановили, що l-галактоза є попередником аскорбату *in vivo* та частково очистили фермент дегідрогеназу l-галактози, яка каталізує НАД-залежне окиснення C<sub>1</sub> l-галактози до l-галактоно-1,4-лактону з K<sub>m</sub> для l-галактози 0,3 мМ. Цей же ензим здатен повільно окислювати l-сорбозон до l-аскорбінової кислоти з низькою спорідненістю до субстрату. Відомо, що ГДФ-l-галактоза синтезується подвійною епімеризацією ГДФ-d-манози. Ця реакція каталізується відомим, однак мало дослідженим ферментом ГДФ-d-маноза-3,5-епімеразою [7].

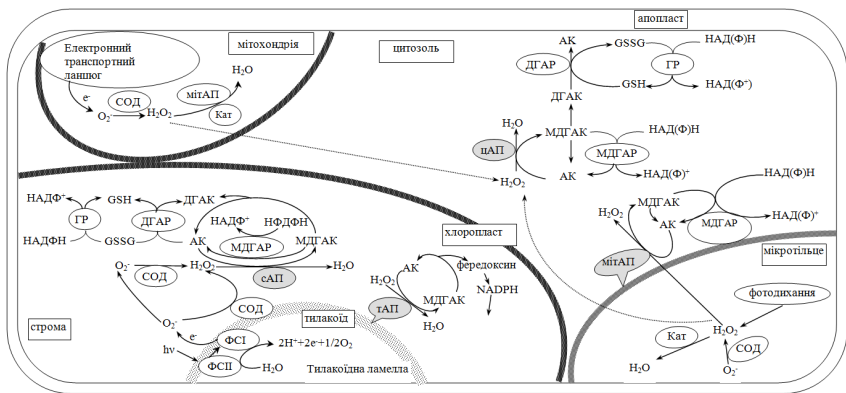


Рис. 2. Схема участі аскорбінової кислоти в детоксикації активних форм кисню та її метаболізму в рослинних клітинах

Figure 2. Scheme of ascorbic acid participation in detoxification of reactive oxygen species and its metabolism in plant cells  
 АК: ascorbic acid; ДГАК: dehydroascorbic acid; МДГАК: monodehydroascorbic acid; mitАП: mitochondrial ascorbate peroxidase; сАП: stromal ascorbate peroxidase; тАП: tylakoyidna membrane-bound ascorbate peroxidase; мАП: membrane-bound microbody ascorbate peroxidase; цАП: cytosolic ascorbate peroxidase; НП: nonspecific peroxidase; ДГАР: dehydroascorbate reductase; МДГАР: monodehydroascorbate reductase; СОД: superoxide dismutase; Кат: catalase; GR: glutathione reductase; GSH: reduced glutathione; GSSG: oxidized glutathione; ФСI: photosystem I; ФСII: photosystem II

Згідно з літературними даними перетворення сечової кислоти на l-аскорбінову кислоту вважається ще одним альтернативним шляхом біосинтезу [10, 11, 22]. Було показано, що d-глюкуронова



кислота, глюкуронолактон і метильний ефір d-галактуроної кислоти безпосередньо перетворюються на l-аскорбат *in vivo* за схемою, що передбачає обернення конфігурації структури. Дослідження інтенсивності біосинтезу вітаміну С у суспензійній культурі клітин *Arabidopsis thaliana* L. показали, що додавання l-галактози, l-галактоно-1,4-лактону та інших сполук підвищує внутрішньоклітинний рівень аскорбату *in vivo*. Був побудований наступний ряд за зростанням здатності до посилення рівня біосинтезу аскорбінової кислоти: d-глюкуронолактон < метильний ефір d-глюкуронової кислоти = l-гулоно-1,4-лактон < метильний ефір d-галактуронової кислоти = l-галактоно-1,4-лактон < l-галактоза. Метильний ефір d-галактуронової кислоти може бути відновлений неспецифічною альдо-кеторедуктазою з утворенням l-галактоно-1,4-лактону — субстрату ГЛДГ. Отже, перетворення d-глюкуронолактону, метильного ефіру d-глюкуронової кислоти та l-гулоно-1,4-лактон на аскорбінову кислоту підтверджує можливість існування окремого так званого «тваринного» шляху в біосинтезі вітаміну С у рослин. Очищена ГЛДГ з листків *Spinacia oleracea* L. та *Arabidopsis thaliana* L. характеризується абсолютною субстратною специфічністю до l-галактоно-1,4-лактону та не проявляє активності щодо l-гулоно-1,4-лактону [18]. Відмінність внутрішньоклітинної локалізації l-гулоно-1,4-лактон-залежного утворення та ГЛДГ також свідчить на користь вищезазначеної гіпотези. Взаємозв'язки між усіма можливими шляхами біосинтезу аскорбінової кислоти узагальнені на рисунку 1.

Отже, біосинтез аскорбату в рослинних організмів, очевидно, відбувається або за певних умов, або в специфічних тканинах порізно. Наприклад, d-глюкуронова та d-галактуронова кислоти — основні компоненти полісахаридів не целюлозної частини клітинної стінки. Утворення аскорбату з цих сполук, імовірно, є елементом захисту клітинної стінки від руйнування під час росту розтягненням, дозрівання пилку, розм'якшення плодів у процесі дозрівання тощо.

**Метаболізм аскорбату.** Окиснення аскорбінової кислоти відбувається у два етапи. Першим продуктом, що утворюється при цьому, є монодегідроаскорбінова кислота, яка може бути відновлена до аскорбінової або повністю окислюватися до дегідроаскорбінової кислоти. Остання є нестабільною за рН 7,0 і може відновлюватись до аскорбінової, або піддаватися незворотній гідролітичній дециклізації з утворенням 2,3-дикетогулонової кислоти [8]. Подальші реакції циклу аскорбінової кислоти в клітині спрямовані на відновлення окиснених її форм і включають як ферментативні,

так і неферментативні механізми. Ферментативні реакції відновлення монодегідроаскорбінової та дегідроаскорбінової кислот каталізуються монодегідроаскорбатредуктазою та дегідроаскорбатредуктазою відповідно [9]. Як донори протонів у цих реакціях можуть використовуватись різні сполуки (відновлений глутатіон, НАДН, аскорбінова кислота). Під час неферментативного шляху відновлення процес не досягає завершальної фази, а кінцевим продуктом цих нестехіометричних реакцій є лише дегідроаскорбінова кислота. Разом із глутатіонредуктазою, яка відновлює окиснений глутатіон, зазначені вище ферменти та сполуки утворюють аскорбат-глутатіоновий цикл (рис. 2).

Відомо, що в рослинних клітинах присутні всі три компоненти аскорбатної системи — аскорбінова, дегідроаскорбінова та 2,3-дикетогулонова кислоти. За нормальних фізіологічних умов рівновага між ними сильно зсунута до аскорбінової кислоти [6, 19], і цей стан характеризує резервні властивості антиоксидантної системи, її здатність у певних межах стабілізувати про/антиоксидантну рівновагу, зв'язуючи та знешкоджуючи активні форми кисню, органічні пероксиди [17]. Рівень співвідношення аскорбінової до дегідроаскорбінової кислот досить високий у хлоропластах *in vivo* і не змінюється на світлі та в темряві [15]. Водночас експерименти F. Tommasi зі співавторами [24] показали відсутність відновленої форми аскорбінової кислоти в сухому насінні *Pinus pinea* L., де була виявлена лише дегідроаскорбінова кислота. Вважається, що утворення відновленого аскорбату у проростаючому насінні зумовлене біосинтетичним шляхом, а не метаболітичним.

Показано, що на рівні аскорбінової та дегідроаскорбінової кислот впливає багато зовнішніх чинників, зокрема двовалентні катіони [2, 8, 9]. Підтверджено, що підвищення дегідроаскорбінової кислоти у клітинах може призвести до інгібування ряду ферментів аскорбатного циклу [8, 9]. S. Morell зі співробітниками [14] доводять, що в хлоропластах дегідроаскорбінова кислота не накопичується через високу активність монодегідроаскорбатредуктази. Разом з цим концентрація дегідроаскорбінової кислоти 50 мкМ *in vivo* інгібує активність ряду хлоропластних пігментів. Високі рівні дегідроаскорбінової кислоти, виявлені під час експозиції рослин *Helianthus annuus* L. за високих концентрацій ацетату свинцю, свідчать про непряме інгібування нею ферментів відновлення аскорбату [1]. Більше того, відбувається накопичення 2,3-дикетогулонової кислоти, а це, як відомо [7, 8], процес незворотній.

Шляхи деградації аскорбінової кислоти в рослин на сьогоднішній день з'ясовані не в повній мірі, за винятком того, що розщеплення вуглецевого каркасу l-аскорбінової кислоти дає початок тартрату й оксалату. Оксалат — нормальний продукт у тканинах вищих рослин — імовірно, бере участь в осморегуляції і контролюванні концентрації кальцію. За даними N. Smirnoff [19, 23], оксалат, утворений із апопластної l-аскорбінової кислоти разом з оксалаатоксидазою відіграє значну роль у розтягненні клітинної стінки. Було показано, що перетворення аскорбату у винну кислоту в листках *Pelargonium crispum* залежить від фази розвитку. Так, утилізація аскорбінової кислоти відбувається протягом короткого періоду, який співпадає з періодом цвітіння [21]. Оксалат утворюється з C<sub>1</sub>/C<sub>2</sub> фрагменту, тоді як треоза окислюється до l-тартрату. Причому акумуляція оксалату не завжди супроводжується накопиченням l-тартрату, що пояснюється декарбоксілюванням треози до трьохвуглецевого продукту.

У деяких видів рослин (наприклад, *Parthenocis susquinquefolia* (L.) Planch., *Vitis vinifera* L.) утворення тартрату є результатом розриву ковалентного зв'язку між C<sub>4</sub> та C<sub>5</sub> аскорбінової або дегідроаскорбінової кислот [7]. Двохвуглецевий фрагмент, що утворюється при цьому, надходить до вуглецевого метаболізму, скоріш за все, у вигляді глікоальдегіду. У видів, яким властиве накопичення винної кислоти C<sub>4</sub>/C<sub>5</sub>, розщеплення аскорбінової кислоти представляє основний шлях. Натомість в інших видів біосинтез оксалату з аскорбінової кислоти — не провідний шлях утворення щавлевої кислоти, тому що оксалат утворюється окисненням гліколевої кислоти, розщепленням ізолимонної кислоти ізоцитратліазою та щавелевооцтової кислоти оксалацетазою [9, 21]. Такий шлях біосинтезу оксалату в рослин був підтверджений за допомогою мічених атомів і вважається ланкою катаболізму аскорбінової кислоти. Перетворення останньої до оксалату є енергетично ефективним, оскільки лише 50% вуглецю, що походить з аскорбату, може бути трансформовано в центральному метаболізмі (через l-треозу). До того ж пероксид водню, який утворюється під час окиснення оксалату оксалаатоксидазою, зумовлює виникнення оксидативного стресу і, тим самим, підсилює обіг аскорбінової кислоти.

Продукт незворотного окиснення аскорбату — 2,3-дикетоглулонова кислота — спершу декарбоксілюється до l-ліксонату та l-ксилонату і надходить до пентозофосфатного циклу у вигляді d-ксилоза-5-фосфату. Останній разом з еритроза-4-фосфатом перетворюється транскетолазою на гліцеральдегід-3-фосфат і фруктоктозу-6-фосфат. У такий спосіб фруктоза поповнює клітинний пул гексоз і, також може

бути використана для біосинтезу аскорбінової кислоти. Ферменти пентозофосфатного циклу локалізовані і в стромі хлоропластів, і в цитозолі. Нез'ясованим лишається питання наявності в цитозолі повного набору необхідних ферментів [9, 20]. Функціонування такого циклу в рослинних клітинах може пояснювати відсутність специфічних ферментів катаболізму l-аскорбінової кислоти.

**Транспорт аскорбінової кислоти в рослин.** Як зазначалось вище, останній крок біосинтезу аскорбату каталізується ГЛДГ, яка є мітохондріальним ферментом [18]. Оскільки вітамін С є одновалентним аніоном і за фізіологічних рН не здатен перетинати мембрану, він має транспортуватися через мембрани всіх клітинних компартментів, включаючи хлоропласти, апопласт і вакуоль. Установлено, що в очищених хлоропластах транспорт аскорбату відбувається опосередковано за участю переносника шляхом полегшеної дифузії [20]. За даними [9, 18], приблизно 10–20% хлоропластної аскорбінової кислоти асоційовано з внутрішньою тилакоїдною мембраною, транспорт через неї відбувається лише дифузійно [9].

Апопластна аскорбінова кислота бере участь у захисті клітин від оксидативного стресу [6, 9, 19] та регуляції розтягнення клітин [16]. Для функціонування системи мембранного транспорту в рослин необхідна підтримка певної концентрації апопластного аскорбату та балансу окиснення/відновлення аскорбат/дегідроаскорбату. Було показано, що у *Glycin max* Moench. поглинання екзогенної аскорбінової кислоти коренями та листками — енергетично-залежний процес [12, 13]. Дослідження кінетики насичення під час поглинання аскорбінової та дегідроаскорбінової кислот у протопластах листків *Pisum sativum* L. засвідчило, що цей процес відбувається, імовірно, опосередковано за допомогою переносника за електрохімічним протонним градієнтом [9]. Використання очищених везикул плазматичної мембрани дозволило встановити, що шляхом полегшеної дифузії дегідроаскорбінова кислота поглинається краще порівняно з аскорбатом [9]. Поглинання зовнішньої дегідроаскорбінової кислоти *in vitro* відбувається в обмін на внутрішню (цитозольну) аскорбінову кислоту, тобто везикули з аскорбатом стимулюють поглинання дегідроаскорбату — так звана транс-стимуляція. Оптимум рН для такого транспорту 6–7,5, а  $K_m$  для дегідроаскорбінової кислоти 24 мМ [9, 14]. Ідентифікація цього носія та його взаємовідносини з іншими транспортними білками на сьогоднішній день не з'ясовані. Не встановленим також лишається питання існування додаткових переносників аскорбату/дегідроаскорбату в плазматичних мембранах рослин, однак є докази того, що транспорт вітаміну С через

плазматичну мембрану може відбуватися за допомогою переносників глюкози. Трансмембранний електронний транспорт апопластної монодегідроаскорбінової кислоти в обмін на цитозольну аскорбінову кислоту, імовірно, відбувається за аналогічною схемою з участю мембранно-зв'язаного цитохрому *b* [9, 22]. Останній становить 0,1–0,5% від загальних мембранних білків і присутній у всіх типах тканин.

Роботами А. Mozafar [16] показано, що поглинута коренями мічена ізотопами аскорбінова кислота була виявлена в інших органах рослини. Отже, окрім внутрішньоклітинного, для 1-аскорбінової кислоти характерний також транспорт всією рослиною. Проте на сьогодні немає ніякої інформації щодо дальнього транспорту аскорбінової кислоти ксилемою або флоемою, до того ж висока рН цих можливих потоків дестабілізувала б як аскорбінову, так і дегідроаскорбінову кислоти, за виключенням можливості транспорту аскорбату в стійкій формі, приміром, у формі глюкозильованих або фосфорильованих похідних.

**Функції аскорбінової кислоти в рослинних організмах.** Біологічні функції аскорбінової кислоти можна поділити на три основні групи: по-перше, функціонування як кофактора ферментів, по-друге, детоксикація вільних радикалів і, по-третє, її роль як донора/акцептора електронного транспорту в плазматичній мембрані або в хлоропластах. Крім того, у рослин аскорбат є субстратом у біосинтезі оксалату і тартрату.

Однією з найбільш досліджених функцій аскорбінової кислоти в метаболізмі як тварин, так і рослин є контролювання багатьох важливих ферментативних реакцій. Зазначені ферменти переважно є моно- або діоксигеназами, активний центр яких містить залізо або мідь [8]. Роль вітаміну С полягає в підтримці металу активного центру у відновленій формі. Діоксигенази каталізують включення  $O_2$  в органічні субстрати. Переважно вони використовують 2-оксоглутарат,  $Fe^{2+}$  й аскорбат як ко-субстрати. Однак деякі відмінності в ко-субстратній специфічності все ж існують. Наприклад, замість 2-оксоглутарату як субстрат аскорбінову кислоту використовує останній фермент біосинтезу етилену аміноциклопропан-1-карбоксилоксидаза [9], а також гіберелін-3-діоксигеназа, яка бере участь в синтезі гіберелінової кислоти. Аналогічно аскорбат окислюється віолоксантиндепоксидазою під час синтезу фотозахисних пігментів ксантофілового циклу.

Пролілігдроксилаза, яка гідрокслює залишки проліну в гідроксипролін-збагачених глікопротеїнах, також є аскорбатзалежним ферментом. Гідроксипролін-збагачені глікопротеїни є структурними протеїнами клітинної стінки. Вони відіграють важливу роль у її

зборці та захищають від оксидативного кросс-зв'язування. Таке кросс-зв'язування зміцнює клітинну стінку та перешкоджає пораненню й інвазії патогенами. Апопластний аскорбат здатний змінювати властивості плазматичної мембрани, у тому числі пригнічувати зв'язування гідроксипролін-збагачених протеїнів фенолами. Обробка коренів цибулі 3,4-dl-дегідропроліном — інгібітором пролілгідроксилази призводила до порушення знов-сформованих стінок і надмірного розтягнення клітин [9]. Водночас концентрація аскорбінової кислоти підвищувалась. Це свідчить про те, що використання аскорбату пролілгідроксилазою — основна його функція в меристемах [1].

Як зазначалось вище, аскорбінова кислота бере участь у нейтралізації супероксидних радикалів, синглетного кисню та супероксиду. Токсичність зазначених активних форм кисню (АФК), які утворюються в хлоропластах, мітохондріях та пероксисомах як побічні продукти нормального клітинного метаболізму, обумовлена їх здатністю ініціювати каскадні радикальні реакції й утворення гідроксильних радикалів. Останні здатні посилювати пероксидне окиснення ліпідів, пошкодження білків, ДНК і в результаті призводити до загибелі клітини. Тому в аеробних організмів розвинувся ряд ефективних механізмів знешкодження АФК за участю як ферментативних, так і неферментативних ланок. Серед ферментативних механізмів основні — дисмутація супероксиду до пероксиду водню, яка каталізується супероксиддисмутазою (КФ1.15.1.1) та детоксикація пероксиду водню аскорбатпероксидазою (КФ 1.11.1.11), глутатіонпероксидазою (КФ 1.11.1.9) та каталазою (КФ 1.11.1.6). Низькомолекулярні антиоксиданти такі як глутатіон, аскорбінова кислота,  $\alpha$ -токоферол, каротиноїди, а також феноли можуть безпосередньо взаємодіяти з АФК. У цьому аспекті слід наголосити на користі для організму контрольованої продукції АФК. Наприклад, під час взаємодії «рослина-патоген» хвороботворний організм стимулює розвиток оксидативного стресу й у такий спосіб координує захисну відповідь опосередковану АФК. Отже, так аскорбінова кислота контролює інтенсивність, тривалість і характер відгуку організму на стресові умови.

На світлі в хлоропластах вищих рослин, унаслідок передачі високоенергетичних електронів з відновленого фередоксину фотосинтетичного електронного транспортного ланцюгу до кисню, утворюються АФК. Таке фотовідновлення кисню в фотосистемі I називається реакцією Мехлера, а повна передача електронів води до молекулярного кисню — псевдоциклічним потокомелектронів. Останній забезпечує механізм розсіювання додаткової енергії (і продукції АТФ)

в умовах обмеженої фіксації вуглецю. Відомо, що в хлоропластах відсутня каталаза, яка локалізується в пероксисомах та гліоксисомах, і тому роль аскорбінової кислоти як субстрату аскорбатпероксидази є визначальною під час знешкодження пероксиду водню в тилакоїдах. Ізоферменти аскорбатпероксидази наявні в хлоропластах (стромальна й тилакоїдна), цитозолі, мітохондріях і пероксисомах.

Крім того, що аскорбінова кислота може реагувати з супероксидом та гідроксильними радикалами, вона також може безпосередньо відновлювати  $\alpha$ -токоферол (вітамін Е). Він є основним ліпофільним антиоксидантом, який взаємодіє з пероксильними радикалами ліпідів та  $O_2^-$ . Тому хлоропластна аскорбінова кислота представляє потенційний антиоксидантний пул, що перетворює небезпечні пероксильні радикали на нетоксичні продукти.

Важливу роль вітамін С відіграє також у захисті фотосинтетичного апарату від кисневих радикалів і перекису водню, які утворюються під час фотосинтетичної активності, та від фотоінактивації як кофактор каратиноїддепоксигенази. Інша функція аскорбінової кислоти в фотосинтезі — її участь як кофактора у фотосинтетичному електронному транспорті, що пов'язаний із фотофосфорилуванням [9]. Останній відбувається за участю аскорбатпероксидази, яка розкладає перекис водню з утворенням монодегідроаскорбінової кислоти, що є акцептором електронів на відновлюючій поверхні фотосистеми I [12]. Аскорбінова кислота використовується як відновлювач під час фотосинтетичного електронного транспорту і не завжди окиснюється до дегідроаскорбату в хлоропластах за рахунок того, що в тилакоїдах підтримується фотохімічне відновлення дегідроаскорбату [6], який може утворюватись у результаті диспропорціонування монодегідроаскорбату.

**Висновки.** Пізнання регуляторних механізмів обмінних процесів загалом, і регуляції біосинтезу таких фізіологічно активних сполук, як аскорбінова кислота зокрема, є актуальним для фізіології рослин. Аскорбінова кислота виконує важливі функції в житті рослин і людини, водночас участь вітаміну С у метаболізмі гетеротрофних організмів конкретизована більшою мірою. Що ж до автотрофів, які продукують аскорбат, то ще потребують уточнення і функції цієї сполуки, і шляхи її новоутворення. Вміст аскорбінової кислоти в рослинах визначається багатьма процесами, що протікають одночасно, а регуляція її накопичення вимагає узгодженої їх роботи. Це можливо не тільки за нормального функціонування рослин, але й у стресових

умовах, які зазвичай супроводжуються посиленням біосинтезу й використання аскорбату.

Також для всебічної оцінки ролі аскорбінової кислоти в метаболізмі рослин необхідне одночасне дослідження всієї системи аскорбату, що включає, окрім дегідроаскорбінової, ще й 2,3-дикетоглуонову кислоту, яка утворюється під час незворотньої трансформації внаслідок розриву лактонового кільця дегідроаскорбату, а також ферментні ланки, що каталізують окислення та відновлення вищезазначених сполук. Сучасний розвиток молекулярно-генетичних методів, безперечно, доповнює фізіолого-біохімічний підхід до вивчення вітаміну С і розширює простір можливостей у зв'язку з перспективою біотехнологічного використання рослинних об'єктів із метою отримання важливих метаболітів.

## References

1. Mykiiievych, I. M. (2003). Rol askorbinovoi kysloty ta fermentiv y ii metabolizmu v adaptatsii roslyn do toksychnoi dii ioniv svyntsiu [The role of ascorbic acid and enzymes of its metabolism in the adaptation of plants to the toxic effects of lead ions]. (*avtoreferat kandydatskoi dysertatsii*). Lviv, Ukraina. (in Ukrainian).
2. Ostrenko, K. S., Halochkyn, V. A., Hromova, O. A., Rastashanskiy, V. V., & Torshyn, Y. Iu. (2017). Askorbat anion — effektivni protyvostressovi lyhand novoho pokoleniya dlia lytyia. [Ascorbate anion is an effective new generation anti-stress ligand for lithium]. *Farmakokynetyka y Farmakodynamyka. [Pharmacokinetics and Pharmacodynamics]*, 2, 45–55. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/askorbat-anion-effektivnyy-protivo-stressovyy-ligand-novogo-pokoleniya-dlya-litiya> (in Ukrainian).
3. Petrova, V. P. (1986). Byokhymyia dykorastushchych plodovoyahodnykh rastenyi [Biochemistry of wild fruit and berry plants]. K.: Vyscha shkola. (in Ukrainian).
4. Fedorovskiy, V. D. (2001). Ribes spicatum Robson — smorodyna kolosystaia (systematyka, heohrafiya, yzmenchivost, yntroduktsyia). [Ribes spicatum Robson — currant (taxonomy, geography, variability, introduction)]. K.: Fitotsentr. (in Ukrainian).
5. Arrigoni, O., & De Tullio., M. C. (2000). The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed function and



- unpredictable chemical reactions. *J. Plant Physiol.*, 157, 481–488. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(00\)80102-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80102-9)
6. Conklin, P. L., & Barth, C. (2004) Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. *Plant Cell Environ.*, 27, 959–970. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01203.x>
  7. Davey, M. W., Van Montagu, M., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Iris, J. J., Benzie, I. J. J., Strain, J., Favell, D., & Fletcher, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 825–860. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<825::AID-JSFA598>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<825::AID-JSFA598>3.0.CO;2-6)
  8. De Tullio, M. C., Pacciolla, C., & Arrigoni, O. (2002). Identification and analysis of sharing dehydroascorbate reductase activity. *Biol. Plant.*, 45 (1), 145–147. <https://doi.org/10.1023/A:1015145818294>
  9. Foyer, C. H., Kynndt, T., & Hancock, R. D. (2020). Vitamin C in Plants: Novel Concepts, New Perspectives, and Outstanding Issues. *Antioxidants and Redox Signaling*, 32 (7), 463–485. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7819>
  10. Isherwood, F. A., Chen, Y. T., & Mapson, L. W. (1954). Synthesis of L-ascorbic acid in plants and animals. *Biochem. J.*, 56, 1–21. <https://doi.org/10.1042/bj0560001>
  11. Loewus, M. W., Bedgar, D. L., Saito, K., & Loewus, F. A. (1990). Conversion of L-sorbosone to L-ascorbic acid by a NADP-dependent dehydrogenase in bean and spinach leaf. *Plant Physiol.*, 94, 1492–1495. <https://doi.org/10.1104/pp.94.3.1492>
  12. Matamoros, M. A., Dalton, D. A., Ramos, J., Clemente, M. R., Rubio, M. C., & Becana, M. (2003). Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis. *Plant Physiol.*, 133, 499–509. <https://doi.org/10.1104/pp.103.025619>
  13. Matamoros, M. A., Loscos, J., Coronado, M. J., Ramos, J., Sato, S., Testillano, P. S., Tabata, S., & Becana, M. (2006). Biosynthesis of ascorbic acid in legume root nodules. *Plant Physiol.*, 141, 1068–1077. <https://doi.org/10.1104/pp.106.081463>
  14. Morell, S., Follmann, H., DeTullio, M., & Haberleim, I. (1997). Dehydroascorbate and dehydroascorbatereductase are phantom

- indicators of oxidative stress in plants. *FEBS Lett.*, 414 (3), 567–570. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01074-0](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01074-0)
15. Motoki, T., Yabuta, Y., Mieda, T., Rapolu, M., Nakamura, A., Maruta, T., Yoshimura, K., Ishikawa, T., & Shigeoka, S. (2007). Light regulation of ascorbate biosynthesis is dependent on the photosynthetic electron transport chain but independent of sugars in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.*, 58 (10), 2661–71. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm124>
  16. Mozafar, A., & Oertli, J.J. (1993). Vitamin C (ascorbic acid): uptake and metabolism by soybean. *Plant Physiol.*, 141, 316–321. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81741-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81741-4)
  17. Nito, K., Yamaguchi, K., Kondo, M., Hayashi, M., & Nishimura, M. (2001). Pumpkin peroxisomal membranes and unknown membranous structures. *Plant & Cell Physiology*, 42 (1), 20–27. <https://doi.org/10.1093/pcp/pce003>
  18. Ostergaard, J., Persiau, G., Davey, M.W., Bauw, G., & Van Montagu, M. (1997). Isolation of a cDNA coding for L-galactonog-lactone dehydrogenase: an enzyme involved in the biosynthesis of ascorbic acid in plants. *J. Biol. Chem.*, 272, 30009–30016. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.48.30009>
  19. Pallanca, J.E., & Smirnoff, N. (2000). The control of ascorbic acid synthesis and turnover in pea seedlings. *J. of Exper. Botany*, 51 (345), 669–674. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.669>
  20. Pignocchi, C., Kiddle, G., Hernández, I., Foster, S.J., Asensi, A., Taybi, T., & Foyer, C.H. (2007). Ascorbate oxidase-dependent changes in the redox state of the apoplast modulate gene transcript accumulation leading to modified hormone signaling and orchestration of defense processes in tobacco. *Plant Physiol.*, 141, 423–435. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078469>
  21. Saito, K., & Loewus, F. (1992). Conversion of D-glucosone to oxalic acid and L-(+)-tartaric acid in detached leaves of *Pelargonium*. *Phytochemistry*, 31, 3341–3344. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83681-N](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83681-N)
  22. Saito, K., Nick, J.A., & Loewus, F.A. (1990). D-Glucosone and L-sorbosone, putative intermediates of L-ascorbic acid biosynthesis in detached bean and spinach leaves. *Plant Physiol.*, 94, 1496–1500. <https://doi.org/10.1104/pp.94.3.1496>

23. Smirnoff, N. (2003). Ascorbic acid: metabolism and function of a multifaceted molecule. *Current Opinion in Biotechnology*, 3, 229–235. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)80070-9](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)80070-9)
24. Tommasi, F., Paciolla, C., de Pinto, M. C., & De Gara, L. (2001). A comparative study of glutathione and ascorbate metabolism during germination of *Pinus pinea* L. seeds. *J. of Exper. Botany*, 52(361), 1647–1654. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.361.1647>

### ASCORBIC ACID IN PLANTS: METABOLISM AND FUNCTIONS

T. A. Artiushenko

*Kryvyi Rih Botanical Garden of the NAS of Ukraine, Kryvyi Rih, Ukraine*

**Abstract.** Ascorbic acid (vitamin C) is the most common water-soluble antioxidant in plants. Several possible pathways of vitamin C biosynthesis in plants in contrast to the only pathway of biosynthesis in animals have been described. With the exception of the last stage, which takes place on the inner mitochondrial membrane, ascorbate biosynthesis in plants occurs in the cytosol. The literature data on the content of ascorbic acid in the tissues and organs of various agricultural, cultivated and wild plants and the factors influencing it are summarized. The peculiarities of ascorbic acid metabolism, the ratio of ascorbatereduced and oxidized forms at different physiological states and the ways of vitamin C degradation in plants are analyzed.

The main functions of ascorbic acid in plant organisms are considered. Including evidence of its participation as a cofactor in the synthesis of hydroxyproline-richproteins of cell wall, its role in controlling cell division and growth by elongation, protection against reactive oxygen species and oxidative stress, photooxidation and regeneration of secondary antioxidants such as  $\alpha$ -tocopherol as well as functioning as a coenzyme in various physiological and biochemical processes in plants.

However, the functions of this vitaminand the pathways of its biosynthesis still need to be clarified. The content of ascorbic acid in plants is determined by many processes that occur simultaneously, and the regulation of its accumulation requires their coordinated work. This occurs not only during the normal functioning of plants, but also under stressful conditions, which are usually accompanied by increased biosynthesis and the use of ascorbate.

At the same time, for a comprehensive assessment of the role of ascorbic acid in plant metabolism, it is necessary to simultaneously study the entire ascorbate system, including dehydroascorbic, 2,3-diketogulonic acid, which is formed during irreversible transformation due to rupture of the lactone ring the above compounds. Such approaches to vitamin C research are promising. Knowledge of the regulatory mechanisms of metabolic processes in general, and in particular the regulation of biosynthesis of physiologically active compounds, such as ascorbic acid, is relevant for plant physiology in connection with the prospect of biotechnological use of plant objects to obtain important metabolites.

**Key words:** ascorbic acid, dehydroascorbic acid, 2,3-diketogulonic acid, antioxidants, biosynthesis, degradation, enzymes, oxidativestress.

**Citation as:**

- APA** Artushenko, T. A. (2021). Askorbinova kyslota u roslyn: metabolizm ta funktsii [Ascorbic acid in plants: metabolism and functions]. *Ekolohichnyi visnyk Kryvorizhzhia [Ecological Bulletin of Kryvyi Rih District]*, 6, 13-32. <https://doi.org/10.31812/eco-bulletin-krd.v6i0>.
- ДСТУ 8302:2015** Аргюшенко Т. А. Аскорбінова кислота в рослин: метаболізм і функції. *Екологічний Вісник Криворіжжя*. 2021. Вип. 6. С. 13–32.