



УДК 547.915.5 : 577.152.53*991 : 581.198

© 1991 г.

А. И. Гречкин, Р. А. Куражиин, И. А. Тарчевский

ОБРАЗОВАНИЕ НОВОГО α -КЕТОЛА
ГИДРОПЕРОКСИДДЕГИДРАЗой ИЗ СЕМЯН ЛЬНА

Казанский институт биологии Казанского научного центра АН СССР

Гидропероксиддегидраза, катализирующая дегидратацию гидроперексей жирных кислот, обнаружена в семенах некоторых высших растений [1, 2] и в мягких кораллах [3]. Окиси алленов, непосредственные продукты ферментативной реакции, превращаются затем в кетола и замещенные циклопентеноны. К последним относятся простагландины и клавулоны (в кораллах) и жасмоноиды (в растениях) [1—3].

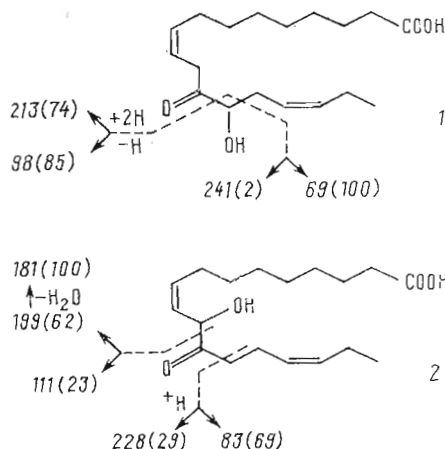
В настоящее время известно два типа кетолов, образующихся при ферментативной дегидратации 13-НРОТ: (9*Z*,15*Z*)-12-оксо-13-гидрокси-9,15-ОДК (α -кетол) и (10*E*,15*Z*)-9-гидрокси-12-оксо-10,15-ОДК (γ -кетол). В настоящей работе описано выделение и идентификация неизвестного ранее кетола, образующегося при метаболизации 13-НРОТ гидропероксиддегидразой из семян льна.

Препарат гидропероксиддегидразы получали из 5 г семян льна как описано [2]. Экстракт фермента инкубировали 1 ч при 23° С с 74 КБк [1-¹⁴C]НРОТ (0,83 МБк/ммоль) в 20 мл 25 мМ MES/NaOH-буфера (рН 5,8). Продукты экстрагировали этилацетатом и разделяли обращенно-фазовой ВЭЖХ как описано ранее [4]. Фракцию α -кетола после повторной очистки разделяли ВЭЖХ на нормальной фазе: элюент — гексан — изопропанол — уксусная кислота (99 : 1 : 0,1), скорость потока 0,8 мл/мин, одновременное детектирование по ¹⁴C счетчиком модели 171 (Beckman, США) и регистрация УФ-топограмм в диапазоне 190—370 нм. При этом фракция α -кетола была разделена на три компонента (в порядке уменьшения времен удерживания): (1), (2) и (3) (λ_{\max} 212, 211 и 229 нм соответственно). В метаболитах (1), (2) и (3) содержалось соответственно 42, 26,5 и 9,5% метки. По данным ХИМС, ЭУМС и спектра ¹H-ЯМР, соединения (3) идентифицировано как (10*E*, 15*Z*)-9-оксо-12,13-эпокси-10,15-ОДК, продукт неферментативной перегруппировки 13-НРОТ [5].

Соединение (1) идентифицировано как (9*Z*, 15*Z*)-12-оксо-13-гидрокси-9,15-ОДК. ХИМС (изобутан, прямой ввод), m/z (*I*, %): 311 [$M + H$]⁺ (52), 293 [$M + H - H_2O$]⁺ (100). ЭУМС (прямой ввод), m/z (*I*, %): 310 (M^+ , 2), 292 [$M - H_2O$]⁺ (3,6), 241 [$C1 - C13$]⁺ (1,5), 213 [$C1 - C12$]⁺ (74), 195 [$213 - H_2O$]⁺ (58), 184 [$C1 - C11$]⁺ (19), 166 [$184 - H_2O$]⁺ (39), 98 [$C13 - C18$]⁺ (85), 69 [$98 + H - H_2O$]⁺ (100).

Соединение (2) имеет строение (9*Z*, 15*Z*)-11-гидрокси-12-оксо-9,15-ОДК. ХИМС (изобутан, прямой ввод), m/z (*I*, %): 311 [$M + H$]⁺ (53), 293 [$M + H - H_2O$]⁺ (100), 275 [$M + H - 2H_2O$]⁺ (87). ЭУМС (прямой ввод), m/z (*I*, %): 310 (M^+ , 37), 292 [$M - H_2O$]⁺ (66), 274 [$M - 2H_2O$]⁺ (56), 199 [$C1 - C11$]⁺ (24), 181 [$199 - H_2O$]⁺ (100), 169 [$C1 - C10$]⁺ (14), 163 [$199 - 2H_2O$]⁺ (11), 151 [$169 - H_2O$]⁺ (29), 111 [$C12 - C18$]⁺ (15).

Сокращения: 13-НРОТ — 13(S)-(9*Z*,11*E*,15*Z*)-13-гидроперокси-9,11,15-октадекатриеновая кислота; ОДК — октадекадиеновая кислота; ХИМС и ЭУМС — масс-спектры химической ионизации и электронного удара, MES—морфолиноэтансульфоновая кислота.



Основные пути фрагментации соединений (1) и (2) при электронном ударе. В скобках после значений массы фрагментов указана относительная интенсивность пиков (%)

Спектр ¹H-ЯМР (250 МГц, CDCl₃, δ, м. д.): 0,94 (т, 18-H₃, J 7,5 Гц), 1,35 (м, 4-H — 7-H), 1,64 (м, 3-H₂), 2,03 (дк, 17-H₂), 2,24 — 2,41 (м, 8-H₂, 14-H₂), 2,34 (т, 2-H₂, J 7,4 Гц), 2,43 (м, 13-Ha), 2,57 (м, 13-Hб), 4,87 (д, 11-H, J 9,8 Гц), 5,18 (дд, 10-H, J_{9,10} 10,5 Гц), 5,23 (дт, 15-H, J_{15,16} 10,6 Гц), 5,40 (дт, 16-H), 5,86 (дт, 9-H).

При кратковременных инкубациях 13-НРОТ с гидропероксиддегидразой (10—20 с, фиксация HCl и NaOH) было найдено, что в отличие от α-кетола соединение (2) и γ-кетол образуются лишь при кислотном гидролизе интермедиата (окиси аллена).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hamberg M. // Biochim. et biophys. acta. 1987. V. 920. № 1. P. 76—84.
2. Brash A. R., Baertschi S. W., Ingram C. D., Harris T. M. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 10. P. 3382—3386.
3. Corey E. J., d'Alarcao M., Matsuda S. P. T., Lansbury P. T., Jr. // J. Amer. Chem. Soc. 1987. V. 109. № 1. P. 289—290.
4. Гречкин А. Н., Курамшин Н. В., Курамшин Р. А., Сафонова Е. Ю., Ефремов Ю. Я., Тарчевский И. А. // Биоорг. химия. 1990. Т. 16. № 3. С. 413—418.
5. Gardner H. W., Kleiman R., Weisleder D. // Lipids. 1974. V. 9. № 9. P. 696—706.

Поступило в редакцию
4.X.1990

После доработки
26.XI.1990

A. N. GRECHKIN, R. A. KURAMSHIN, I. A. TARCHEVSKY

FORMATION OF THE NOVEL α-KETOL BY HYDROPEROXIDE DEHYDRASE FROM FLAX SEEDS

Institute of Biology, Kazan Branch of the USSR Academy of Sciences, Kazan

Hydroperoxide dehydrase from flax seeds converts 13-hydroperoxide of linolenic acid into a novel ketol, (9Z,15Z)-11-hydroxy-12-oxo-9,15-octadecadienoic acid, along with the previously described (9Z,15Z)-12-oxo-13-hydroxy-9,15-octadecadienoic (α-ketol) and (10E, 15Z)-9-hydroxy-12-oxo-10,15-octadecadienoic (γ-ketol) acids.