



УДК 57.037

КИНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСИНТЕЗА
ПРОСТАГЛАНДИНОВ. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ*

Линес И., Лонес Иланес Р., Хенрикес Р. Д.

Отдел информации, Биологический факультет
Гаванского университета, Гавана, Куба

Родригес Леон Д. А.

Институт химической и экспериментальной биологии
Академии наук Кубы, Гавана

Для описания кинетики биосинтеза простаноидов у кораллов *Plexaura homomalla* предложена математическая модель, предсказывающая изменение концентрации простагландина A_2 при различной температуре и концентрации ионов натрия и цитрата, если последние не слишком велика. Показано, что распад промежуточных соединений биосинтеза простагландина A_2 протекает как две последовательные реакции первого порядка. Скорость второй реакции возрастает с увеличением концентрации простагландина A_2 , по-видимому, благодаря автокаталитическому характеру процесса.

Сложная ферментативная система кораллов *Plexaura homomalla* способна осуществлять биосинтез простаноидов [1–3], однако механизм этого процесса еще недостаточно изучен.

Биосинтез простагландина A_2 (PGA_2) зависит, как было показано ранее [4, 5], от концентрации цитрата, а также ионов Na^+ , выполняющих роль активатора [6]. In vivo этот процесс вначале характеризуется сигмоидальной кривой [4, 7], которая в исследованной области концентрации лимонной кислоты, Na^+ -ионов и температуры заканчивается участком с кинетикой нулевого порядка [8].

Поведение этой системы не подчиняется уравнению Михаэлиса — Ментен. Следует отметить, что применимость уравнения Михаэлиса — Ментен для сложных ферментных систем является скорее исключением, и для анализа кинетики катализируемых ими реакций предложено применять методы математической статистики [9].

На первом этапе мы попытались для описания биосинтеза PGA_2 использовать сравнительно простую математическую модель. Динамику образования PGA_2 можно описать аппроксимирующим полиномом третьего порядка:

$$D = a + bt + ct^2 - dt^3 \quad (r > 0,97),$$

где D — оптическая плотность в области поглощения PGA_2 ; a , b , c и d — коэффициенты, зависящие от условий (табл. 1), а t — время. Скорость реакции V_c dD/dt определяли последовательно несколько раз в каждом опыте. Из рис. 1 видно, что во всех экспериментах, кроме тех, которые проводились при $30^\circ C$, скорость реакции проходит через максимум, что указывает на возможность автокаталитического характера процесса [5, 10, 11].

Константу скорости реакции k и кажущийся порядок реакции n рассчитывали методом наименьших квадратов из зависимости $\log D - \log V_c$. Эти параметры оказались зависящими от времени, что указывает на сложность исследуемой системы [12]. Тем не менее была найдена общая временная зависимость кажущегося порядка реакции

$$n = a - bt^2 \quad (r > 0,9)$$

* Перевод с английского Ю. В. Капитанникова.

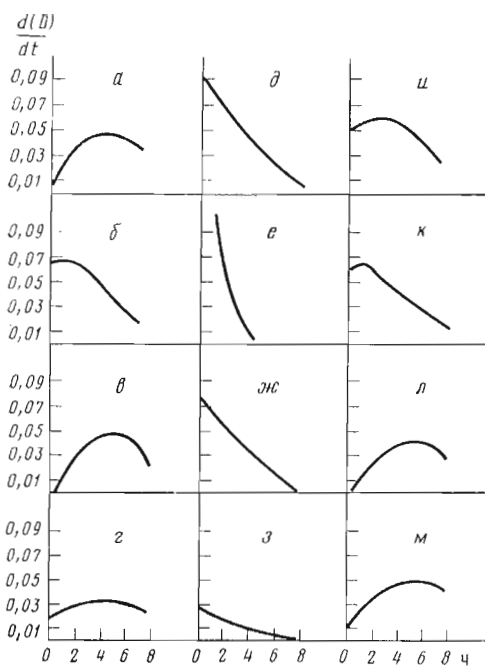


Рис. 1

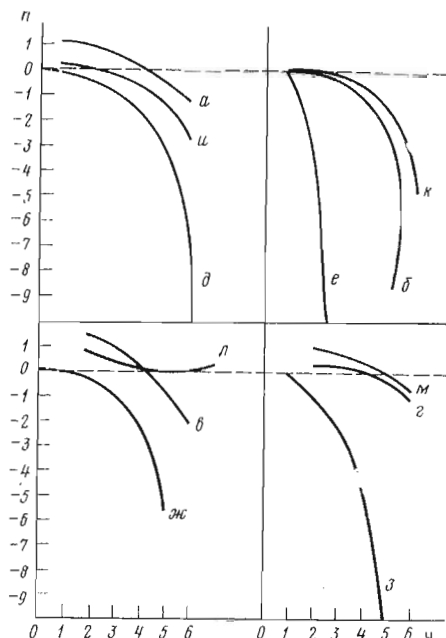


Рис. 2

Рис. 1. Изменения скорости биосинтеза простагландина A_2 (условия см. табл. 1)

Рис. 2. Изменения кажущегося порядка реакции (n) биосинтеза простагландина A_2 в соответствии с аппроксимирующим уравнением $n=a-bt^2$ (условия см. табл. 1)

(a и b — коэффициенты, зависящие от условий (табл. 2)), а также уравнение, связывающее параметры k и n :

$$\log k=0,7223n-1,2862.$$

Из рис. 2 видно, что во многих случаях в определенный момент порядок реакции становится нулевым и сохраняется таковым некоторое время. Это согласуется с данными работы [8], полученными классическими методами определения порядка реакции.

Таким образом, исследуемый процесс может быть описан не уравнением простейшего вида:

$$V_c=k[\text{PGA}_2]^n,$$

а более сложным уравнением:

$$V_c=0,0517 \cdot e^{1,663(a-bt^2)} \cdot [\text{PGA}_2]^{(a-bt^2)}.$$

Таблица 1

Коэффициенты аппроксимирующего полинома $D=a+bt+ct^2+dt^3$

{Лимонная кислота}, М	[Na+], М	Температура, °С	Условия, см. рис. 1	a	b	c	d
0,1	0,1	35	a	0,0358	0,0485	0,0056	0,0008
0,1	0,2	35	$б$	-0,0019	0,0671	-0,0028	0,00003
0,2	0,1	35	$в$	-0,0026	-0,0036	0,0091	0,0006
0,2	0,2	35	$г$	0,0422	0,0071	0,0079	0,0005
0,1	0,1	26	$д$	0,0422	0,0071	0,0079	0,00005
0,1	0,2	26	$е$	0,0081	0,0688	0,0009	0,00006
0,2	0,1	26	$ж$	0,0129	-0,0114	0,0128	0,0009
0,2	0,2	26	$з$	-0,0009	0,0153	0,0039	0,0003
0,1	0,1	30	$и$	0,0405	0,0875	-0,0063	-0,0001
0,1	0,2	30	$к$	0,0375	0,2119	-0,0414	-0,0026
0,2	0,1	30	$л$	0,0217	0,0777	-0,0056	-0,00003
0,2	0,02	30	$м$	0,0451	0,0252	-0,0025	-0,00008

Коэффициенты аппроксимирующего полинома $n = a - bt^2$

Условия *	<i>a</i>	<i>b</i>	Условия *	<i>a</i>	<i>b</i>
<i>a</i>	0,4708	0,0907	<i>ж</i>	1,5542	0,0780
<i>б</i>	0,5313	0,1034	<i>з</i>	0,3095	0,0263
<i>в</i>	1,8346	-0,0243	<i>и</i>	1,1609	0,2460
<i>г</i>	1,4593	0,2979	<i>к</i>	0,0243	0,3652
<i>д</i>	0,9976	0,0499	<i>л</i>	0,4579	0,2025
<i>е</i>	0,5634	0,2580	<i>м</i>	-0,1624	0,3202

* См. табл. 1.

Таблица 3

Сопоставление значений V_c и V_e

Температура, °С	[Na+], М	[Лимонная кислота], М	<i>t</i> , ч	Согласие	Различие, %
35	0,1	0,1	0-3	Хорошее	10-30
30	0,1	0,1	0-3	»	10-30
26	0,1	0,1	0-5	Удовлетворительное	20-50
35	0,2	0,1	0-3	Хорошее	10-30
30	0,2	0,1		Слабое	
26	0,2	0,1	0-3	Хорошее	10-30
35	0,1	0,2		Слабое	
30	0,1	0,2	0-3	Очень хорошее	10
26	0,1	0,2	3-6	Удовлетворительное	20-50
35	0,2	0,2	3-6	»	20-50
30	0,2	0,2		Слабое	
26	0,2	0,2		»	

Таблица 4

Константы скорости реакции

Температура, °С	[Na+], М	[Лимонная кислота], М	k_1	k_2
35	0,1	0,1	0,21	0,57
30	0,1	0,1	0,28	0,50
26	0,1	0,1	0,13	0,29
35	0,2	0,1	0,14	0,35
30	0,2	0,1		0,69
26	0,2	0,1	0,19	0,34
35	0,1	0,2	0,04	0,14
30	0,1	0,2		0,21
26	0,1	0,2	0,10	0,16
35	0,2	0,2	0,05	0,19
30	0,2	0,2		0,05
26	0,2	0,2	0,05	0,14

Из табл. 3 видно, что в большей части экспериментов наблюдается хорошее соответствие между вычисленной (V_c) и найденной (V_e) скоростью биосинтеза PGA₂. Однако в опытах с относительно высокой концентрацией цитрата (0,2 М) соответствие либо незначительно, либо вообще не наблюдается.

Полученные результаты обусловили необходимость другого подхода. Было найдено, что экспериментальная зависимость $\log[\text{PGA}_2]$ от времени при 26 и 35°С может быть интерпретирована как результат двух последовательных реакций первого порядка, тогда как при 30°С имеет место одностадийная реакция первого порядка (рис. 3). Первая стадия определяет скорость процесса в целом в течение первых 2-3 ч, а вторая — в последующие 6-8 ч.

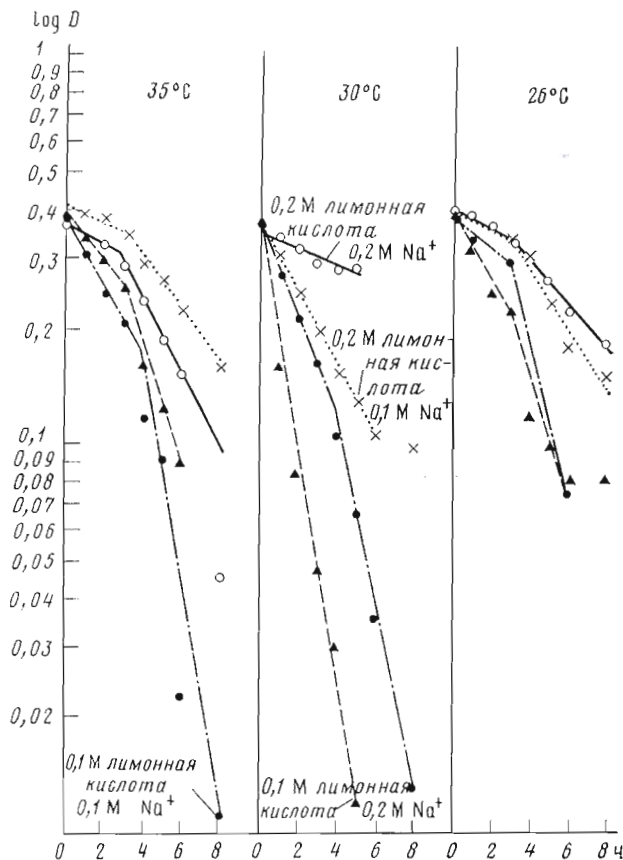


Рис. 3. Изменения концентрации простагландина A_2 в ходе его биосинтеза

Такой характер кинетики биосинтеза можно объяснить образованием и распадом промежуточных соединений. Увеличение скорости через 3 ч реакции происходит на фоне увеличения концентрации PGA_2 , и поэтому его можно объяснить автокаталитическим эффектом. В настоящее время уже получены экспериментальные подтверждения образования промежуточных соединений в ходе биосинтеза PGA_2 .

Исходя из двухстадийной схемы, мы вычислили константы скорости реакции, приведенные в табл. 4. В течение первых 3 ч процесса хорошая корреляция между V_c и V_e наблюдается при значениях $k_1=0,14-0,28$, тогда как в последующие 3 ч такую корреляцию можно получить при $k_2=0,16-0,29$.

Экспериментальная часть

Концентрацию простагландина A_2 определяли по поглощению при 278 нм [13] в течение 8 ч с интервалом в 1 ч. Инкубацию кораллов *Plexaura homotalla senenquima* проводили при концентрациях цитрата 0,1 и 0,2 М, ионов Na^+ 0,1 и 0,2 М [6] и при различных значениях температуры (26, 30 и 35°С) в условиях производственного метода получения простагландина A_2 [14].

Полиномиальную аппроксимацию экспериментальных данных проводили с помощью ЭВМ СИД 201-В. По уравнениям, приведенным в работах [12, 15], рассчитывали скорость реакции, кажущийся порядок реакции (n) и константу скорости (k).

Авторы выражают благодарность сотрудникам отделения математики и вычислительной техники СЕНИС за участие в данной работе.

1. Miyamoto T., Ogino N., Yamamoto S., Hayaishi O. J. Biol. Chem., 1976, v. 251, № 9, p. 2629.
2. Morse D. E., Kayne M., Tidyman M., Anderson S. Biol. Bull., 1978, v. 154, p. 440.
3. Weinheimer A. J., Spraggins R. L. Chemistry of the coelenterates, 1969, p. 311-314.
4. Henriques R. D. (1976). Rol de los ácidos orgánicos en la obtención de prostaglandinas del coral *Plexaura homomalla*. Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de La Habana. Congreso de la Sociedad Cubana de Farmacia (1978).
5. *Levenspiel*. Chemical Reaction Engineering. John Wiley & Sons Inc., 1972, p. 149.
6. Lines Y., Marchante P., Castillo M., Henriques R. D. Interacción entre algunos iones metálicos y el sistema endógeno de *Plexaura homomalla*. I Symposium Latinoamericano de Fármacos Naturales. La Habana, 1980.
7. Lines Y., Berdayes O., Córdoba M., Varela C., Henriques R. D. Obtención de PGA_2 en *Plexaura homomalla* variando algunos parámetros de estado. II Semana Científica I. Q. B. E., A. C. C., 1980.
8. Lines Y., Cajiao C., Henriques R. D. Rasgos cinéticos en la obtención de PGA_2 utilizando el sistema endógeno de *Plexaura homomalla* (I y II). VII Seminario Científico del CENIC. La Habana, 1980.
9. Solano-Muñoz F., McGinlay P. G., Woolfson R., Bardsley W. G. Biochem. J., 1981, v. 193, p. 339-352.
10. Bray H. G., White K. Genética y termodinámica en bioquímica / Ed. Acribia, 1958, p. 228-231.
11. Frost A. A., Pearson R. G. Kinetics and Mechanisms (2nd. ed.) Editora Revolucionaria, Instituto Cubano del Libro, 1968, p. 169.
12. Simon J., Buzágh-Gere E., Gal S. Contribution to the field of kinetic thermal studies. Thermal Analysis Vol. 2. Proceedings 3rd. Icta Pavos, 1971, p. 393-408.
13. Córdoba M., Lines Y., Henriques R. D. Determinación cuantitativa de PGA_2 en cenénquima de *Plexaura homomalla*. I. Q. B. E., A. C. C. (Inedit), 1980.
14. Henriques R. D., Moreda E. Patent No. 34172, Cuba, 1974.
15. Sestak J. J. Therm. Anal., 1979, v. 16, p. 503-520.

Поступила в редакцию
7.VI.1982

KINETIC STUDY OF PROSTAGLANDIN BIOSYNTHESIS.
A MATHEMATICAL MODEL

LINES Y., LÓPEZ PLANES R., HENRIQUES R. D.,
RODRIGUEZ LEÓN J. A.

*Pharmaceutical Science Department, Biology Faculty, Havana University;
Institute of Chemical and Experimental Biology, Academy
of Sciences of Cuba, Havana*

A mathematical model has been suggested to describe the kinetics of the prostanoide biosynthesis in the *Plexaura homomalla* coral. It allows to predict the changes in prostaglandin A_2 concentration at various pH and concentration of sodium ions citrate when the latter is not too high. The degradation of prostaglandin biosynthesis intermediates is shown to proceed as two consecutive first-order reactions. For the second step the reaction rate grows with the raise of prostaglandin A_2 concentration, apparently due to autocatalytic character of the process.