



УДК 547.475.02 : 541.63

СТЕРЕОХИМИЯ ТРИГИДРОКСИОКТАДЕКАДИЕНОВЫХ
КИСЛОТ БРИОНИИ

Паносян А. Г.

Институт тонкой органической химии Академии наук АрмССР, Ереван

Хроматографией на силикагеле с использованием комплексообразующих агентов проведено разделение стереоизомеров метиловых эфиров тригидроксиоктадекадиеновых кислот, полученных из корней *Bryonia alba* L. На основании данных газовой хроматографии – масс-спектрометрии триметилсилильных производных полученных субфракций, а также газовой хроматографии продуктов окислительного озонлиза (-)-ментоксикарбонильных производных полученных соединений сделаны выводы о стереохимии и путях образования компонентов смеси из α -линоленовой кислоты.

Ранее из корней *Bryonia alba* L. (Cucurbitaceae) нами была выделена оптически активная фракция тригидроксиоктадекадиеновых кислот, которая повышает тонус гладкой мускулатуры подобно простагландинам и уменьшает время ретракции сгустка крови [1, 2]. Было показано также, что ТГОДК (I) – (IV) понижают уровень глюкозы в крови аллоксан-диабетических крыс [3], нормализуя при этом изменения липидного состава в печени и мозге животных [4], и оказывают стимулирующее и тонизирующее действие, повышая работоспособность мышцей в условиях повышенной мышечной деятельности [5]. Аналогичные по структуре эйкозаноиды, содержащие 1,2,5-тригидрокси-(3E)-пентеновую группировку, образуются также в тромбоцитах, лейкоцитах и легких человека и животных [6–14].

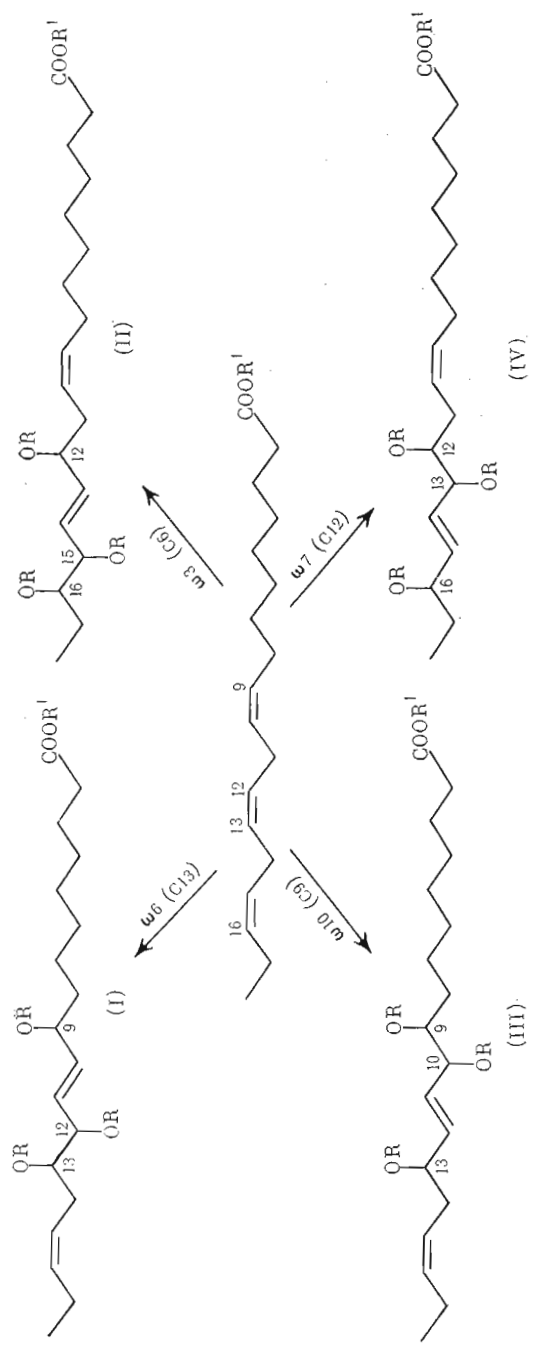
С помощью капиллярной газовой хроматографии во фракции ТГОДК нами было обнаружено в виде метиловых эфиров ТМС-производных (Ia) – (IVa) восемь компонентов, представляющих собой стереоизомерные пары четырех структурно изомерных соединений (I) – (IV) [2], образующихся в результате окисления α -линоленовой кислоты.

Изомер (I) ранее был получен ферментативным окислением линоленовой кислоты [15]. Первой стадией биосинтеза тригидроксикислот такого типа является липоксигеназное окисление $\omega 6$ (C13) и $\omega 10$ (C9) углеродных атомов линолевой или линоленовой кислот [16–18]. Компоненты (II) – (IV) фракции ТГОДК ранее не были описаны, и их биосинтез, очевидно, начинается с липоксигеназного окисления по $\omega 3$ -, $\omega 10$ - и $\omega 7$ -углеродным атомам, что также необычно и является пока единственным случаем, свидетельствующим о существовании липоксигеназ, окисляющих $\omega 3$ - и $\omega 7$ -углеродные атомы полиненасыщенных жирных кислот.

Целью настоящей работы явилось изучение стереохимии компонентов фракции ТГОДК.

Фракцию ТГОДК, дающую при хроматографии в тонком слое силикагеля гомогенное пятно, метилировали диазометаном и разделяли с помощью препаративной ТСХ последовательно на силикагеле (фракции А (R_f 0,28) и В (R_f 0,22)) и силикагеле, импрегнированном арсенитом натрия (фракции А₁ (R_f 0,77), А₂ (R_f 0,61), В₁ (R_f 0,70), В₂ (R_f 0,45)). В результате были получены четыре субфракции (А₁, А₂, В₁, В₂), которые анализировали далее в виде ТМС-производных с помощью комбинированной ГХ-МС (см. таблицу).

Сокращения: ТГОДК – тригидроксиоктадекадиеновые кислоты, ТМС – триметилсилил, МК – (-)-ментоксикарбонил, ГХ – фазовая хроматография, ГХ-МС – газовая хроматография – масс-спектрометрия, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография.



(I)-(IV) $R=R'=H$

(Ia)-(IVa) $R=TMC, R'=Me$

(Ib)-(IVb) $R=(-)-\text{ментоксикарбонил}, R'=Me$

**Состав субфракций, значения углеродных чисел при ГХ метиловых эфиров
ТМС-производных ТГОДК и идентифицированные продукты
окислительного озонлиза метиловых эфиров МК-производных ТГОДК**

Субфракция	Соединение (конфигурация хиральных центров)	Углеродное число	Продукты озонлиза (МК-производные, метиловые эфиры)
A ₁	(I) — (9 <i>S</i> , 12 <i>S</i> , 13 <i>S</i>)	22,2	(<i>S</i>)-2-Гидроксисебациновая кислота
	(II) — (12 <i>S</i> , 15 <i>S</i> , 16 <i>S</i>)	23,1	(<i>S</i>)-Яблочная кислота
	(III) — (9 <i>S</i> , 10 <i>S</i> , 13 <i>S</i>)	22,2	То же
	(IV) — (12 <i>S</i> , 13 <i>S</i> , 16 <i>S</i>)	22,6	—
A ₂	(I) — (9 <i>S</i> , 12 <i>R</i> , 13 <i>S</i>)	21,9	(<i>S</i>)-2-Гидроксисебациновая кислота
	(II) — (12 <i>S</i> , 15 <i>R</i> , 16 <i>S</i>)	23,2	(<i>S</i>)-Яблочная кислота
	(III) — (9 <i>S</i> , 10 <i>R</i> , 13 <i>S</i>)	22,8	То же
	(IV) — (12 <i>S</i> , 13 <i>R</i> , 16 <i>S</i>)	23,1	—
B ₁	(I) — (9 <i>R</i> , 12 <i>S</i> , 13 <i>S</i>)	22,7	(<i>R</i>)-2-Гидроксисебациновая кислота
	(II) — (12 <i>R</i> , 15 <i>S</i> , 16 <i>S</i>)	23,3	(<i>R</i>)-Яблочная кислота
	(III) — (9 <i>R</i> , 10 <i>S</i> , 13 <i>R</i>)	22,6	То же
	(IV) — (12 <i>S</i> , 13 <i>S</i> , 16 <i>R</i>)	23,0	—
B ₂	(I) — (9 <i>R</i> , 12 <i>R</i> , 13 <i>S</i>)	22,2	(<i>R</i>)-2-Гидроксисебациновая кислота
	(II) — (12 <i>R</i> , 15 <i>R</i> , 16 <i>S</i>)	23,5	(<i>R</i>)-Яблочная кислота
	(III) — (9 <i>S</i> , 10 <i>R</i> , 13 <i>R</i>)	22,8	То же
	(IV) — (12 <i>S</i> , 13 <i>R</i> , 16 <i>R</i>)	22,6	—

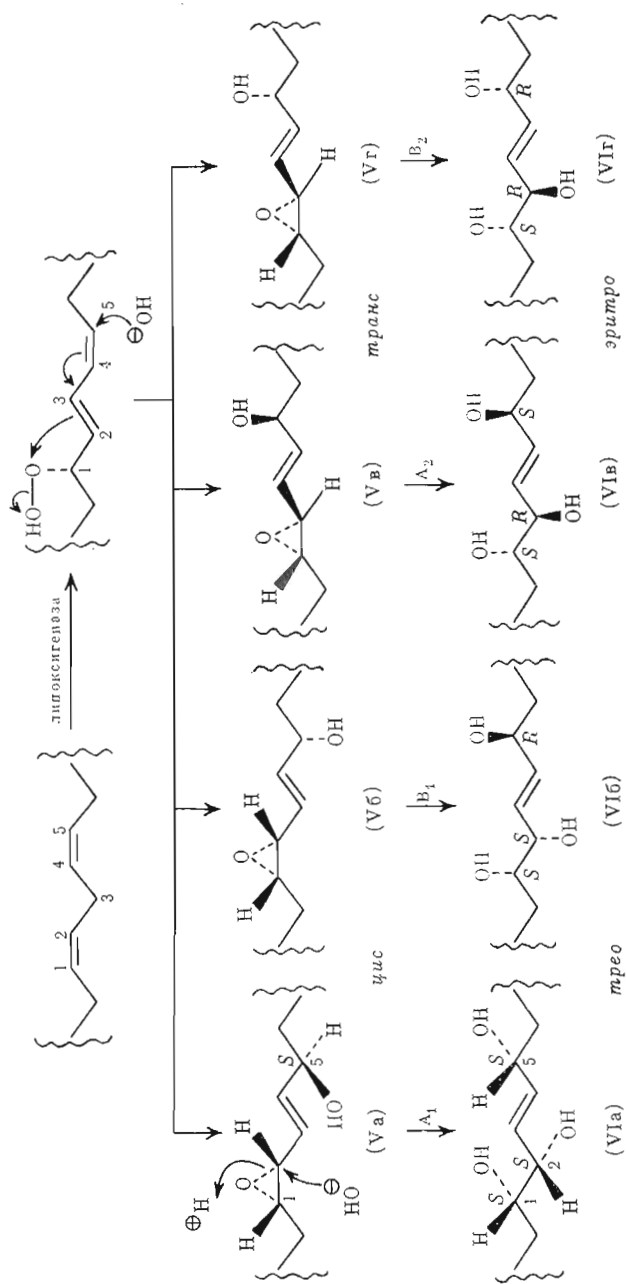
Оказалось, что каждая из субфракций состоит из четырех компонентов, являющихся структурными изомерами. Все дальнейшие попытки получить с помощью ВЭЖХ индивидуальные компоненты субфракций были безуспешными.

Далее, мы получили МК-производные (Iб) — (IVб) каждой из субфракций и подвергли их окислительному озонлизу, а в образовавшихся продуктах расщепления методом ГХ идентифицировали в виде метиловых эфиров диастереомерные МК-производные (*R*)- и (*S*)-2-гидроксисебациновой и (*R*)- и (*S*)-яблочной кислот. Как следует из полученных результатов (таблица), хроматография на силикагеле приводит к разделению диастереоизомеров, различающихся хиральностью центра С5 1,2,5-тригидрокси-(*3E*)-пентеновой группировки. Результаты хроматографии на силикагеле, импрегнированном арсенитом натрия, который, как известно, разделяет *эритро*- и *трео*-гликоли за счет более сильного удерживания *эритро*-соединений [19, 20], позволяют предполагать наличие *трео*-(VIа) и (VIб) и *эритро*-пар (VIв) и (VIг) для центров С1 и С2 1,2,5-тригидрокси-(*3E*)-пентеновой группировки и соответственно наличие в качестве предшественников смеси изомеров с *цис*-(Va) и (Vб) и *транс*-1,2-эпокси-5-гидрокси-(*3E*)-пентеновой группировкой (Vв), (Vг).

Таким образом, образование ТГОДК происходит, по всей вероятности, в результате первоначального липоксигеназного окисления по ω3-, ω6-, ω7- и ω10-углеродным атомам и дальнейших неферментативных превращений соответствующих пероксидов, протекающих аналогично превращениям, описанным для (13*S*)-13-гидроперокси-(*Z, E*)-9,11-октадекадиеновой кислоты [16—18], по схеме (см. стр. 129).

В том случае, если бы в качестве предшественников ТГОДК выступали только *транс*-эпоксиды (Vв) и (Vг), расщепляющиеся гидролитически в результате нуклеофильной атаки как по С1-, так и по С2-атому, образовывались бы только 1,2-*эритро*-изомерные триолы, разделение которых на импрегнированном силикагеле представляется менее вероятным. Результаты озонлиза указывают на конфигурацию С5-хирального центра в 12 изомерах, приведенные же выше соображения позволяют предположить вероятные конфигурации остальных хиральных центров соединений (I) — (III) в таблице, а также, по аналогии, возможные конфигурации соединений (IV).

Ранее высказывалось мнение, что при биосинтезе эйкозаноидов, содер-



жащих 1,2,5-тригидрокси-(3E)-пентеновую группировку, образование двух позиционных изомеров может происходить из одного эпоксида предшественника [9, 10]. С этой точки зрения в данном случае для α -линоленовой кислоты первоначальное окисление возможно только по ω 3- и ω 10- (или ω 7 и ω 6) углеродным атомам. Однако стереохимия таких внутримолекулярных перегруппировок неясна.

Экспериментальная часть

Выделение и очистку фракции ТГОДК из корней *V. alba* проводили ранее описанным методом [1, 2]. Препаративную ТСХ на силикагеле метиловых эфиров фракции ТГОДК осуществляли в системе этилацетат — 2,2,4-триметилпентан — вода (75 : 25 : 100, верхняя фаза) и на силикагеле, импрегнированном арсенитом натрия (10%) в системе метанол — эфир (5 : 95); пятна обнаруживали парами иода и элюировали смесью хлороформ — метанол (2 : 1). ВЭЖХ субфракций A_1 , A_2 , B_1 и B_2 проводили на колонках с силикагелем Nucleosil-sil (5 мкм; элюент — гексан — изопропанол — $AcOH$, 90 : 10 : 0,01; 1,5 мл/мин) и с алкилированным силикагелем Nucleosil-C-18 (5 мкм, элюент — метанол — вода — $AcOH$, 90 : 10 : 0,01; 1 мл/мин), детекцию проводили при 210 нм. ГХ-МС метиловых эфиров ТМС-производных ТГОДК субфракций A_1 , A_2 , B_1 и B_2 осуществляли с помощью прибора ЛКВ 9000 на колонке с 3% SE-30/Gas Chrom Q при 210°С (масс-фрагментография ионов с m/z 131, 171, 259 и 299).

Получение (-)-ментоксикарбонильных производных (ср. [21–22]). Образец ТГОДК (0,1–0,5 мг) в 112 мкл смеси бензол — пиридин — (-)-ментилоксикарбонилхлорид (получали по известной методике [22, 23]), 40 : 12 : 60, выдерживали при 20°С и очищали с помощью препаративной ТСХ на силикагеле (активирован при 120°С в течение 45 мин перед употреблением) в системе растворителей гексан — эфир, 85 : 15, обнаруживая пятна с помощью 0,2% этанольного раствора 2',7'-дихлорфлуоресцеина. Для стандартов — метиловых эфиров МК-производных (*R,S*)-яблочной, (*S*)-яблочной, (*R,S*)-2-гидроксисебациновой и (*R*)-2-гидроксисебациновой кислот, любезно предоставленных доктором М. Хамбергом (Каролинский медико-хирургический институт, Стокгольм), использовали систему растворителей толуол — диоксан, 97 : 3. Вещества с силикагеля элюировали эфиром и этилацетатом.

Окислительный озонолиз (ср. [21]). МК-производные субфракций (A_1 , A_2 , B_1 и B_2) растворяли в 0,5 мл хлороформа, раствор охлаждали до -20°С и пропускали через него ток озона в течение 2 мин. Через 10 мин стояния при 20°С растворитель упаривали, к остатку прибавляли 0,5 мл $AcOH$ и 0,1 мл 30% H_2O_2 . Через 18 ч при 50°С реакционную смесь упаривали в токе аргона, остаток обрабатывали эфирным раствором диазометана и анализировали с помощью ГХ на 5% QF-1/Gas Chrom Q при 180 и 200°С, а также комбинированной ГХ-МС (ЛКВ 9000) на колонке с 1% QF-1/Gas Chrom Q.

ЛИТЕРАТУРА

1. Паносян А. Г., Аветисян Г. М., Мнацаканян В. А., Асатрян Т. А., Варганян С. А., Боролян Р. Г., Батраков С. Г. Биоорганическая химия, 1979, т. 5, № 2, с. 242–253.
2. Panossian A. G., Avetissian G. M., Mnatsakanian V. A., Batrakov S. G., Vartanian S. A., Gabrielian E. S., Amroyan E. A. *Planta medica*, 1983, v. 47, № 1, p. 17–25.
3. Паносян А. Г., Аветисян Г. М., Карагезян К. Г., Варганян Г. С., Буциатян Г. Х. Докл. АН СССР, 1981, т. 256, № 5, с. 1267–1269.
4. Карагезян К. Г., Варганян Г. С., Паносян А. Г. Нейрохимия, 1982, т. 1, № 2, с. 139–147.
5. Пашинян С. А., Паносян А. Г., Гаспарян Г. В., Джагацянян Н. Г., Никищенко М. И., Аветисян Г. М., Мнацаканян В. А. Новые данные об адеутерококке и других адаптогенах. Владивосток: Изд. ДВНЦ АН СССР, 1981, с. 149–154.
6. Falardeau P., Hamberg M., Samuelsson B. *Biochim. et biophys. acta*, 1976, v. 441, № 21, p. 193–200.
7. Jones R. L., Kerry P. J., Poyser N. L., Walker I. C., Wilson N. H. *Prostaglandins*, 1978, v. 16, № 4, p. 583–589.
8. Bryant R. W., Bailey J. M. *Prostaglandins*, 1979, v. 17, № 1, p. 9–18.

9. *Bryant R. W., Bailey J. M.* In: Adv. Prost. Tromb. Res./Eds Samuelsson B., Ramwell P. W., Paoletti R. N. Y.: Raven Press, 1980, v. 6, p. 95-99.
10. *Bryant R. W., Bailey J. M.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1980, v. 92, № 1, p. 268-276.
11. *Pace-Asciak C. R., Mizuno K., Yamamoto S.* Prostaglandins, 1983, v. 25, № 1, p. 79-84.
12. *Pace-Asciak C. R., Mizuno K., Yamamoto S.* In: Leukotrienes and other lipoxygenase products/Eds Samuelsson B., Paoletti R. N. Y.: Raven Press, 1982, p. 71-76.
13. *Narumiya S., Salmon J. A., Flover R. J., Vane J. R.* In: Leukotrienes and other lipoxygenase products/Eds Samuelsson B., Paoletti R. N. Y.: Raven Press, 1982, p. 77-82.
14. *Narumiya S., Salmon J. A., Cottee F. H., Weatherley B. C., Flower R. J. J.* Biol. Chem., 1981, v. 256, № 18, p. 9583-9592.
15. *Graveland A.* Lipids, 1973, v. 8, № 11, p. 606-611.
16. *Hamberg M.* Lipids, 1975, v. 10, № 1, p. 87-92.
17. *Gardner N. W., Weisleder D., Kleiman R.* Lipids, 1978, v. 13, № 4, p. 246-252.
18. *Van Os C. P. A., Vliegenthart J. F. G., Crawford C. G., Gardner H. W.* Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 713, № 1, p. 173-176.
19. *Morris L. J. J.* Chromatogr., 1963, v. 12, № 3, p. 321-326.
20. *Morris L. J., Wharry D. M.* Lipids, 1966, v. 1, № 1, p. 41-46.
21. *Hamberg M.* Analyt. Biochem., 1971, v. 43, № 2, p. 515-526.
22. *Hammarström S.* In: Methods in Enzymology, 1975, v. 35, p. 326-334.
23. *Westley J. M., Halpern B. J.* Org. Chem., 1968, v. 33, № 10, p. 3978-3980.

Поступила в редакцию
1.XII.1983
После доработки
20.VI.1984

STEREOCHEMISTRY OF TRIHYDROXYOCTADECADIENOIC ACIDS FROM *BRYONIA ALBA* L.

PANOSYAN A. G.

*A. L. Mnjoyan Institute of Fine Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the Armenian SSR, Yerevan*

The stereomeric methyl trihydroxyoctadecadienoates from *Bryonia alba* L. roots were separated by chromatography on silica gel using complexones. The data obtained by GC-MS analysis of the trimethylsilyl derivatives as well as by GC analysis of the products of oxidative ozonolysis of the (-)-menthoxycarbonyl derivatives of the four subfractions allowed the conclusions to be drawn on the stereochemistry and the pathways of formation of the mixture components from α -linolenic acid.