



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.152.113*411.2.042'

© 1990 г.

*И. А. Бутович, В. А. Соломонов, В. А. Солоденко,
В. П. Кухарь*

АКТИВАЦИЯ 5-ЛИПОКСИГЕНАЗЫ ЛИПОФИЛЬНЫМИ *n*-АЛКИЛСОДЕРЖАЩИМИ КИСЛОТАМИ — АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС

Институт биоорганической химии АН УССР, Киев

Ранее нами было показано, что 5-липоксигеназа (КФ 1.13.11.12) из клубней картофеля является гистерезисным ферментом, который активируется субстратом, линолевой кислотой [1]. Представляло интерес выяснить механизм этого процесса. Равновероятными могли быть два пути активации липоксигеназы: 1) участие двух (или нескольких) молекул субстрата в собственно каталитическом процессе; 2) аллостерическая активация фермента липофильной кислотой. Для проверки этих предположений были синтезированы и исследованы карбоновые, фосфоновые и сульфокислоты с заместителями различной структуры и гидрофобности (таблица), не являющиеся субстратами фермента.

Было обнаружено, что липофильные кислоты, например соединения (1)–(3) и (9), заметно ускоряют липоксигеназное окисление линолевой

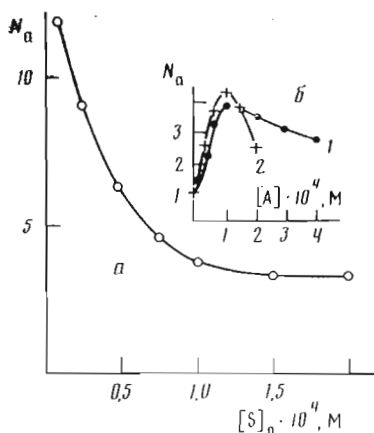
Влияние амфифильных кислот и их производных на 5-липоксигеназное окисление линолевой кислоты

Концентрация эффектора и субстрата по 10^{-4} М

Шифр	Эффектор Структура	Степень активации N_a^{**}
1	$n-C_{12}H_{25}O-SO_2-ONa$	3–4 12–32 **
2	$n-C_{12}H_{25}-P(O)(OH)_2$	2–2,5
3	$n-C_{13}H_{27}-CH=CH-CH_2-C(OH)(CF_3)CO_2H$	3–3,5
4	$n-C_{13}H_{27}-CH=CH-CH_2-C(OH)(CF_3)-CO_2CH_3$	0,3
5	$n-C_9H_{17}-CH=CH-CH_2-C(OH)(CF_3)CO_2H$	1
6	$CH_2=CH-CH_2-C(OH)(CF_3)CO_2H$	1
7	$C_6H_5-C(OH)(CF_3)CO_2H$	1
8	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3-(Cl)C \begin{array}{l} \nearrow \text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \searrow \text{CH}_2-\text{CH}_2 \end{array} CH-C(Cl)(CH_3)-CH_2-C(OH)(CF_3)CO_2H \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2 \end{array} $	0,5
9	$C_8F_{17}CO_2H$	2–3

* Степень активации (N_a) равна отношению скоростей реакции с эффектором и без него. Приведены средние величины для 4–5 измерений. Условия реакции: температура 25° С; 0,1 М натрий-фосфатный буфер, рН 6,3; 0,02% луброл РХ; объем смеси 2,5 мл; $\lambda=235$ нм. N_a зависит от степени очистки фермента: удаление низкомолекулярных примесей диализом или гель-фильтрацией увеличивает N_a .

** Концентрация субстрата 10^{-5} М.



Зависимость степени активации (N_a) 5-липоксигеназы от концентрации линолевой кислоты (субстрат) (а) и активаторов (б). Условия см. в подписи к таблице. а — эффектор — додецилсульфат натрия 10^{-4} М; б — $[S] = 10^{-4}$ М, активаторы: 1 — *n*-додецилсульфат натрия, 2 — соединение (3)

кислоты, причем степень активации фермента увеличивается при уменьшении концентрации субстрата (таблица, рисунок, а) и мало зависит от природы активатора. При постоянной концентрации субстрата путем варьирования концентраций эффектора была определена «оптимальная» (вызывающая максимальный эффект) концентрация последнего: 10^{-4} М для соединений (1) и (3) и $2,5 \cdot 10^{-3}$ М для вещества (2). С уменьшением гидрофобности алкильной цепи [соединения (5) и (6)] и при ее замене на ароматическую или иную циклическую группы [соединения (7) и (8)] эффект активации пропадает.

Этерифицирование карбоксильной группы соединения (3) приводит к утрате свойства активировать липоксигеназу. Более того, метиловый эфир (4) ингибирует фермент с $IC_{50} = 10^{-4}$ М. Надо отметить, что в литературе также имеются сведения об ингибировании 5-липоксигеназы из клубней картофеля алифатическими спиртами [2], причем ингибирование усиливается с ростом гидрофобности алкильного заместителя.

Концентрации эффекторов, превышающие «оптимальные», приводят к уменьшению степени активации фермента. Было отмечено, что карбоновая кислота (3) вызывает более заметное снижение степени активации, чем *n*-додецилсульфокислота (1) (рисунок, б).

Приведенные выше факты свидетельствуют об аллостерическом характере активации 5-липоксигеназы, причем основным требованием к активатору является наличие в его структуре гидрофобного алкильного радикала и легко ионизирующей кислотной группы. Невыполнение любого из этих требований приводит к потере соединением активирующих свойств. Непосредственное участие эффекторов в каталитическом процессе маловероятно, поскольку слишком велики различия в структуре и кислотности исследованных соединений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутович И. А., Кухарь В. П. // Укр. биохим. журн. 1989. Т. 61, № 2. С. 106–108.
2. Sekiya J., Aoshima H., Kajiura T., Togo T., Hatanaka A. // Agric. Biol. Chem. 1977. V. 41, № 5. P. 827–832.

Поступило в редакцию
22.VI.1989

I. A. BUTOVICH, V. A. SOLOSHONOK, V. A. SOLODENKO, V. P. KUKHAR

ACTIVATION OF 5-LIPOXYGENASE BY LIPOPHYLIC *n*-ALKYL-CONTAINING ACIDS IS AN ALLOSTERIC PROCESS

*Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR,
Kiev*

Mechanism of the activation of 5-lipoxygenase (EC 1.13.11.12) has been investigated and shown to have the allosteric character. Limitations of the activator structure are formulated.