

УДК 577.1

БИОХИМИЯ

Академик АН Армянской ССР М. А. Тер-Карапетян,
 Н. Хоанг Ким, А. Х. Агаджанян

Непротейногенные аминокислоты у представителей некоторых родов семейства Papilionaceae

(Представлено 13/IV 1971)

У растительных организмов выявлены многочисленные аминокислоты, присутствующие в их различных органах в виде легкорастворимых мономеров и не обнаруженные до настоящего времени в структуре белков.

Природные непротейногенные аминокислоты, число которых намного превышает протейногенные, являются промежуточными метаболитами в путях азотного обмена растений и биологически активными веществами, регулирующими разные функции отдельных организмов и др.

В последние годы уделялось особое внимание изучению непротейногенных аминокислот как показателей, присущих таксонам разного уровня филогенеза и позволяющих разработать хемотаксономическую систему.

В исследованиях, посвященных обнаружению и характеристике непротейногенных аминокислот у представителей различных таксономических групп растений, значительные результаты достигнуты по отношению к семейству Papilionaceae. У представителей разных родов данного семейства изучалось наличие и распределение большого числа непротейногенных аминокислот, обладающих разной структурой в разных органах растений (семена, листья, стебли, плоды, цветки и т. д.). Из них наиболее распространенным является канаванин, обнаруженный у 68 видов из 32 родов и от 510 изученных видов, относящихся к 150 родам данного семейства (1-5). Пипеколиновая кислота обнаружена в индийских бобах (6, 7).

У разных видов рода *Lathyrus* обнаружены латирин, γ -оксигомоаргинин, гомоаргинин, гомосерин, О-оксалилгомосерин, 2, γ -диглиномасляная кислота, α -амино- γ -оксалиламинномасляная кислота, 2-амино- β -оксалиламинпропионовая кислота, γ -глутамил- β -аминопропионитрил (8-12).

У представителей родов *Vicia* обнаружены канаванин, γ -оксиорнитин, γ -оксицитрулин, β -цианоаланин (^{10, 12, 14}), *Astragalus* (¹³)-канаванин, β -N-ацетилорнитин, гомосерин, γ -оксинорвалин, γ -глутамил-фенилаланин, γ -глутамилтирозин, s-метилцистеин, γ -глутамил-s-метилцистеин, *Onobrychis*-N-ацетилорнитин (¹⁶), а у *Trifolium*—содержатся также некоторые биогенные амины (^{17, 18}).

Кроме того, у 26 видов рода *Vicia*, 12 видов *Lathyrus* и 14 видов *Onobrychis* изучено содержание азота и сырого протеина, количество которых считается характерным для каждого рода (¹⁹).

Настоящая работа посвящена выявлению непротенногенных аминокислот у представителей некоторых родов сем. Papilionaceae из флоры Армянской ССР.

Объектами исследования служили растения разных видов семейств Papilionaceae, собранные в июне 1969 и 1970 гг. на территории Лорийской экспериментальной базы Арм. НИИЖ. Изучались 9 видов, принадлежащих к 4 родам, а именно: *Trifolium*-*T. trichocephalum* М. В., *T. ambiguum* М. В. (дикий и культурный), *T. repens* L., *T. pratense* L. (дикий и культурный) и *T. hybridum* L.; *Lathyrus*-*L. pratensis* L.; *Orobis*-*O. cyaneus* Stev.; *Vicia*-*V. grossheimii* Ekvim; *Onobrychis*-*O. transcaucasica* Gross.

Материалы непосредственно фиксировались в кипящем 82%-ном этаноле в течение одного часа. Спиртовые экстракты отделялись от остатка декантацией, пробы подвергались анализу по следующим показателям: общий азот—микрометодом Кьельдаля, аминный азот (²⁰), аминокислоты растворимой фракции—методом бумажной хроматографии, с использованием в качестве растворителя Н-бутанол-уксусная кислота-вода. Предварительно через бумагу, на которой были нанесены экстракты, с целью удаления пигментов пропускался ацетон, который не передвигает аминокислоты.

1. *Общий и аминный азот спирторастворимой фракции вегетативной части растений (табл. 1)*. Данные показывают широкие колебания в содержании растворимого общего и аминного азота у растений как разных родов, так и разных видов, принадлежащих к одному и тому же роду. У *T. pratense* и *T. ambiguum* отмечается значительное повышение обеих форм азота при выращивании диких растений из опытных участков.

Исследуемые объекты значительно отличаются отношением суммы растворимого аминного азота (после гидролиза экстрактов) к растворимому общему азоту, что является признаком больших расхождений между видами в содержании неаминных форм азота. Отношение

$$\frac{N - NH_2}{N - \text{общий}}$$
 особенно низко у *O. cyaneus*, *L. pratensis* и *T. repens*, что указывает на необходимость характеристики неаминных азотистых соединений у этих растений.

Исследуемые объекты сильно отличаются также отношением аминного азота до и после гидролиза экстрактов; низкие величины этого от-

Таблица 1

Общий и аминный азот спирторастворимой фракции у представителей сем. Papilionaceae в мг %, от абсолютно сухого вещества

Название растений	1 9 6 9					1 9 7 0				
	N-общий	N-NH ₂			$\frac{N-NH_2 \text{ после}}{N-общий} \times 100$	N-общий	N-NH ₂			$\frac{N-NH_2 \text{ после}}{N-общий} \times 100$
		до гидро-лиза	после гидролиза	$\frac{N-NH_2 \text{ до}}{N-NH_2 \text{ после}}$			до гидро-лиза	после гидролиза	$\frac{N-NH_2 \text{ до}}{N-NH_2 \text{ после}}$	
<i>O. Cyaneus</i>	287,8	59,6	87,8	67,8	30,5	483,5	141,0	184,1	76,6	38,0
<i>L. pratensis</i>	281,3	45,8	63,6	72,0	22,5	261,5	61,0	93,4	65,4	35,7
<i>V. grossheimii</i>	304,6	57,9	123,4	46,9	40,4	370,1	77,0	183,7	42,0	49,6
<i>O. transcaucasica</i>	143,0	82,3	85,2	56,6	59,5	246,7	123,0	168,9	93,0	68,4
<i>T. trichocephalum</i>	155,2	35,0	61,3	57,2	39,5	148,8	49,6	70,8	70,0	47,5
<i>T. repens</i>	223,4	71,8	106,2	67,6	47,4	153,2	58,0	111,8	51,9	73,0
<i>T. pratense</i> (дикий)	153,2	49,8	94,6	52,6	61,7	194,3	46,0	99,1	46,5	51,0
<i>T. pratense</i> (культ.)	348,2	157,6	211,5	74,5	60,7	312,2	112,0	150,3	74,5	48,1
<i>T. ambiguum</i> (дикий)	150,6	51,3	96,8	53,0	64,2	161,3	60,0	96,1	63,0	59,5
<i>T. ambiguum</i> (культ.)	193,7	69,2	111,3	62,1	58,7	221,2	111,0	125,6	88,4	56,7
<i>T. hybridum</i>						260,8	116,0	178,4	65,0	68,4

ношения являются признаком высокого содержания продуктов конденсации (пептиды и т. д.) в растворимой фракции вегетативных частей или наличия связанных соединений через аминные группы к структуре. Наибольшее количество продуктов конденсации в растворимой фракции найдено у *V. grossheimii*. Указанное отношение несколько колеблется у одних и тех же представителей отдельных видов в разные годы, что считаем, в основном, результатом влияния климатических условий, в частности, влажности почвы. Примечателен факт повышения отношения $\frac{N-NH_2 \text{ до гидролиза}}{N-NH_2 \text{ после гидролиза}}$ при выращивании *T. pratense* и *T. ambiguum*, что свидетельствует об обогащении в этих условиях биомассы растений мономерными („свободными“) формами аминокислот.

2. *Содержание непротеиногенных аминокислот и некоторых производных протеиногенных аминокислот в растениях.* В табл. 2 приведены результаты качественных (по визуальной оценке) и количественных исследований, проведенных на пробах 1969 и 1970 гг.

Данные по распространению непротеиногенных аминокислот у исследуемых представителей разных родов сем. Papilionaceae в общем подтверждают встречающиеся в литературе немногочисленные данные, касающиеся вегетативных частей и семян бобовых; из них наиболее характерными можно считать—ацетилорнитин, найденный нами у *O. transcaucasica*, а Броуном и Фоуденом у *O. viciifolia*.

Полученные результаты позволяют заключить, что некоторые из обнаруженных аминокислот, присутствующие исключительно у представителей одного и того же вида, могут быть приняты как компоненты, характерные для данного вида. К таковым относятся латирин, адипиновая кислота, δ -N-ацетилорнитин, 5-оксипипеколиновая кислота, гомоаргинин у *L. pratensis* и *O. cyaneus*, у последнего, кроме перечисленных аминокислот, присутствует также γ -оксигомоаргинин. Таким образом, по содержанию указанных непротеиногенных аминокислот виды *L. pratensis* и *O. cyaneus* сходны, а по наличию у *L. pratensis* пипеколиновой кислоты и у *O. cyaneus* γ -оксигомоаргинина они отличаются. Для всех видов *Trifolium* характерно наличие 4-оксипипеколиновой кислоты, канаванина, α -NH₂-пимениловой кислоты, для *O. transcaucasica* — δ -N-ацетилорнитина, γ -оксиорнитина и орнитина. Диоксифенилаланин присутствует лишь у *V. grossheimii*.

Картина редких непротеиногенных аминокислот в экстрактах вегетативных органов после гидролиза значительно меняется. Проявляются новые соединения как орнитин, диоксифенилаланин, 4-оксипипеколиновая кислота, пипеколиновая кислота, γ -оксиорнитин и гистамин.

При гидролизе экстрактов некоторые вещества как аспарагин, δ -N-ацетилорнитин и глутамин, исчезают, а соединения, входящие в их состав характеризуются в гидролизатах.

Непротеиногенные аминокислоты и некоторые производные протеиногенных аминокислот у представителей сем. Papilionaceae
в мг % от абсолютно сухого вещества

Наименование растений		KaH	OpH	Лат.		N. AguK		ГАМК		N. Пим. К		Г-ОН ГОАРГ	ГОАРГ	ДОФА	4-ОН. пип.	5-ОН пип.	пип.	Г-ОН OpH	Asn NH ₂ *	Глу-SH	6-N-ац. OpH*
				1	2	1	2	1	2	1	2										
O. cyaneus	1969	—	—	13,0	29	44	27	23	4	—	—	+	+	—	—	сл	—	—	сл 27,2	7,4 сл	23,0 27,0
	1970			54,0	49	153	67	25	31												
L. pratensis	1969	—	—	сл	сл	сл	сл	2	сл	—	—	—	+	—	—	сл	+	—	сл	сл	сл
	1970							5													
V. grossheimii	1	—	—	—	—	—	—	47	14	—	—	—	—	+	—	—	—	—	21,2 9,0	13 сл	—
								12	сл												
O. transcaucasica	1	—	102 254	—	—	—	—	34	сл	—	—	—	—	—	—	—	+	21,1	сл 10	—	+
								12	сл												
T. trichocephalum	1	+	—	—	—	—	—	сл 14	сл	7 сл	13 сл	—	—	—	+	+	+	—	5	—	—
T. repens	1	+	—	—	—	—	—	сл 6	сл	41 сл	19 сл	—	—	—	+	—	+	—	11 9	—	—
T. ambiguum (дикий)		+	—	—	—	—	—	сл 7	сл	3 сл	22 сл	—	—	—	+	—	+	—	11 8	—	—
T. ambiguum (культ.)		+	—	—	—	—	—	сл 7	сл	13 сл	15 сл	—	—	—	+	—	+	—	10 4	—	—
T. pratense (дикий)		+	—	—	—	—	—	сл 8	сл	7 сл	21 сл	—	—	—	+	—	+	—	сл 5	—	—
T. pratense (культ.)		+	—	—	—	—	—	сл 7	сл	7 сл	20 сл	—	—	—	+	—	+	—	11 2	—	—
T. hybridum		+	—	—	—	—	—	7	сл	сл	сл	—	—	—	+	—	+	—	5	—	—

* определения проведены на экстрактах до гидролиза или путем сравнения результатов до и после гидролиза.

1—до гидролиза;
2—после гидролиза.

Знаками + и — отмечены соответственно наличие и отсутствие указанных соединений по визуальной оценке,

Гаммааминомасляная кислота (ГАМК) и α -NH₂-адипиновая кислота в процессе гидролиза частично разлагаются, а количество других аминокислот увеличивается, что дает основание полагать о наличии последних в связанном виде (пептиды и др.).

Количественная оценка непротеиногенных аминокислот у представителей отдельных родов выявила следующие особенности: наибольшее накопление ГАМК найдено у *O. cyaneus*, *V. grossheimii*, *O. transcaucasica*, низкие количества у всех видов *Trifolium*, и еще меньше у *L. pratensis*. По α -NH₂-пимелиновой кислоте замечаются значительные расхождения между видами рода *Trifolium*. При этом наивысшие количества найдены у *T. repens* и *T. ambiguum*, низкие количества — у всех других видов.

Как показали двухгодичные опыты аспарагин обнаружен у всех исследуемых видов, кроме *L. pratensis*; однако, его количество варьирует довольно широко, δ -N-ацетилорнитин найден в высоких количествах у *O. cyaneus*, *O. transcaucasica*, в виде следов у *L. pratensis*, а у всех других видов отсутствует. Глутатион найден в значительных количествах у *V. grossheimii*, в меньших количествах — у *O. cyaneus* и не обнаружен у остальных изученных видов.

В некоторых случаях найдено значительное повышение аминокислот при возделывании диких форм в культурных условиях: у *T. pratense* аспарагин присутствует в виде следов у дикорастущей, и в значительных количествах у культурной формы. ГАМК значительно увеличивается при культивировании дикой формы *T. ambiguum*, но мало меняется у *T. pratense*.

Вышеприведенные данные являются новыми примерами значимости непротеиногенных аминокислот и их производных для характеристики химического состава и азотного метаболизма растений; они служат материалом для более широкого использования азотистых соединений в хемотаксономических целях.

Ереванский государственный университет

Հայկական ՍՍՀ ԳԱ ակադեմիկոս Մ. Ա. ՏԵՐ-ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ,
Ե. ԽՈՒՆԳ ԿԻՄ, Ա. Խ. ԱՂԱՋԱՆՅԱՆ

Рарilionaceae ընտանիքի մի Դանի ցեղերի ներկայացուցիչների ոչ-պրոտեինոգեն ամինաթթուները

Ներկա աշխատանքում ուսումնասիրվել է Հայկական ՍՍՀ Կալինինոյի շրջանի Լոռու փորձակայանի տերիտորիայից վերցրած թիթեռնածաղկավորների ընտանիքի մի քանի ցեղերին պատկանող տեսակների վեցետասիվ օրգանների ընդհանուր, ամինային ազոտի ձևերը և հազվագյուտ ոչ-պրոտեինոգեն ամինաթթուները:

Ուսումնասիրված տեսակները նշանակալիորեն տարրերվում են լուծելի ամինային ազոտի և ընդհանուր ազոտի հարաբերությամբ, Հիդրոլիզից առաջ և հիդրոլիզից հետո ամինային ազոտների հարաբերության ցածր արժեքը վր-

կայում է պեպտիդների և սպիտակուցային բնույթի այլ նյութերի առկայության մասին, ցանովի *T. pratense* և *T. ambiguum* տեսակների մոտ այդ հարաբերությունը աճում է ի հաշիվ ազատ ամինաթթուների:

Ստացված տվյալները թույլ են տալիս ենթադրելու, որ ուսումնասիրված ամինաթթուներից մի քանիսը կարող են համարվել տվյալ տեսակին բնորոշ: Դրանցից են լատիրինը, α -NH₂-ադիպինաթթուն, δ -N-ացետիլօրնիտինը, 5-օրսիպիպեկոլինաթթուն, հոմոարգինինը, *L. pratense* և *O. cyanus* տեսակների մոտ Վերջինի մոտ նշված ամինաթթուներից քաջի հայտնաբերվել է նաև γ -օրսիհոմոարգինին, իսկ *L. pratense* մոտ նաև՝ պիպեկոլինաթթու, որով և տարրերվում են այս տեսակները:

Trifolium ցեղի բոլոր տեսակները բնորոշվում են 4-օրսի պիպեկոլինաթթվի, կանադանինի և α -NH₂-պիմնլինաթթվի առկայությամբ, իսկ *T. pratense* տեսակը՝ N-ացետիլօրնիտինի, γ -օրսիօրնիտինի և սրնիտինի առկայությամբ:

Հազվագյուտ ոչ պրոտեինոգեն ամինաթթուների որակական պատկերը նշանակալի փոխվում է մզվածքի հիդրոլիզից հետո: Շնորհիվ դրան, հայտնաբերվում են օրնիտին, դիօրսիֆենիլալանին, 4-օրսի պիպեկոլինաթթու, պիպեկոլինաթթու, γ -օրսիօրնիտին և հիստամին:

Ստացված տվյալները մատնանշում են ոչ-պրոտեինոգեն ամինաթթուների և նրանց ածանցյալների նշանակությունը բույսերի ազոտային նյութափոխանակության պրոցեսներում և կարող են օգտագործվել քեմոտաքսոնոմիական նպատակներով:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Ք Յ Ո Ւ Ն

- ¹ B. A. Birdsong, Canad. J. Bot., 38, No. 4 (1960). ² B. L. Turner and J. B. Harborne, Phytochemistry, vol. 6 (1967). ³ B. Tschlersch and B. A. Birdsong, Flora, 150, No. 1 (1961). ⁴ E. A. Bell, Biochem. J., 70, No. 4 (1958). ⁵ E. A. Bell, Biochem. J., 75, No. 3 (1960). ⁶ A. N. Inamdur, J. Scient and Industr. Res., Bc19 (1960). ⁷ A. D. Deshmukh, J. Scient and Industr. Res., c 20, No. 11 (1961). ⁸ E. A. Bell, Biochem. et biophys. acta, 47, No. 3 (1961). ⁹ E. A. Bell, Biochem. J., 83, No. 12 (1962). ¹⁰ E. A. Bell, Biochem. J., 91 (1964). ¹¹ S. L. N. Rao, Biochemistry, No. 2 (1963). ¹² J. Przybylska and J. Rymowicz, Genetika polonica, 6, No. 1—2 (1965). ¹³ C. Ressler, J. Biol. chem., 237 (1962). ¹⁴ E. A. Bell, A. S. L. Tirlmanna, Biochem. J., 97, No. 1 (1965). ¹⁵ P. M. Dunill and L. Fowden, Phytochemistry, vol. 6 (1967). ¹⁶ D. H. Brown and L. Fowden, Phytochemistry, 5, No. 5 (1966). ¹⁷ H. D. Fowler, Nature (Engl.), 193, No. 4, 815 (1962). ¹⁸ H. Neumark, Nature (Engl.), 1955, No. 4, 841 (1962). ¹⁹ А. В. Благовещенский, Е. В. Колобкова, Эволюционная биохимия растений АН СССР, Изд. „Наука“, М., 1964. ²⁰ W. S. Harding, R. M. Mac Lean, J. Biol. chem., vol. 24 (1916).