

7,10,13-Hexadecatrienoic acid and Hexadecanoids

Occurrence & Biosynthesis in Plants

The history of 7,10,13-hexadecatrienoic acid as a natural product dates back to 1945 in which year Shorland (1) obtained a new C16 unsaturated acid from glycerides of rape (*Brassica napus* L.) leaves. Hydrogenation of the methyl ester of the new compound afforded methyl palmitate, and bromination yielded a hexabromo derivative, thus suggesting a triunsaturated C16 fatty acid. Subsequent structural studies employing potassium permanganate oxidation and alkali isomerization located the three double bonds at the D7, D10 and D13 positions (2). The new polyunsaturated fatty acid, *i.e.* 7,10,13-hexadecatrienoic acid or 16:3w3, was thus formally the dinor homologue of linolenic acid (9,12,15-octadecatrienoic acid). Jamieson and Reid (3) recorded the occurrence of 7,10,13-hexadecatrienoic acid in leaves from a selection of angiosperms (110 species) and found levels ranging from 2-20% in 37 species, trace-1% levels in 36 species, and zero levels in 37 species. They also noted that when present, 16:3 was enriched in the galactolipid and diacylglycerol classes of lipids in leaves. Especially the monogalactosyl diacylglycerols had a high content of 16:3. Although 16:3 like linolenic acid (18:3) appears to be generated strictly by plants, it may also occur in animal tissues as a consequence of dietary intake. Studies on rats have demonstrated that administered 16:3 can be chain-elongated to 18:3 and higher w3 fatty acids (4).

Studies of glycerolipid synthesis in leaves from higher plants have revealed the existence of two discrete pathways, only one of which results in the formation of galactolipids containing 16:3. Thus, the so-called prokaryotic pathway in chloroplasts produces diacylglycerols containing 16:0 at the *sn*-2 position and 18:1 at the *sn*-1 position. These acyl chains are further converted by stepwise desaturations to provide galactolipids containing 18:3 and 16:3 (5-8). It is believed that this pathway is dependent on the presence of a plastidial phosphatidate phosphatase activity catalyzing the formation of plastidial diacylglycerols from phosphatidic acid. In contrast, the so-called eukaryotic pathway in microsomes results in diacylglycerols having C18 acyl chains in the *sn*-2 position and either C18 or C16 chains at the *sn*-1 position. Desaturation of the C18 acyl chain produces galactolipids containing 18:3, however, since the C16 acyl chain is not desaturated, 16:3 is absent from such galactolipids. *Arabidopsis*, potato, tobacco, rape and other plants use both of the two pathways for galactolipid synthesis, and monogalactosyl diacylglycerols from such plants ("16:3"plants) therefore contain appreciable amounts of 16:3 acyl chains at the *sn*-2 position. On the other hand, plants which synthesize galactolipids entirely by the eukaryotic pathway will lack 16:3 and are referred to as "18:3" plants. Extended studies of the distribution of 16:3 in plants by Mongrand *et al.* (9) indicated that *ca.* 12% of Angiosperm species

are 16:3 plants, and further suggested that the prokaryotic pathway was gradually lost to a large extent during evolution as a consequence of disappearance of the phosphatidate phosphatase enzyme activity.

Oxygenation of leaf polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases (10) and α -dioxygenases (11) produces hydroperoxide derivatives which are further converted by secondary enzymes (10). Studies in this area of plant lipid metabolism has focussed on linoleic (18:2) and linolenic (18:3) acid-derived compounds, the so-called "octadecanoid" subfamily of oxylipins. Weber *et al.* (12) in 1997 reported the presence of the hexadecanoid oxylipin 2,3-dinor-12-oxo-10,15(Z)-phytodienoic acid (dinor-12-oxo-PDA) in leaves from *Arabidopsis* and potato.

Dinor-12-oxo-PDA was absent in leaves from the *Arabidopsis* mutant *fad5*, in which synthesis of 16:3 does not take place, thus indicating that the compound is produced from 16:3 and is not formed from 12-oxo-PDA by β -oxidation (12). Furthermore, *in vitro* studies demonstrated that 16:3 is efficiently oxygenated into dinor-12-oxo-PDA in the presence of a flax extract containing lipoxygenase and allene oxide synthase (12). Subsequent studies showed that the allene oxide generated from 11(S)-hydroperoxy-7,9,13-hexadecatrienoic acid is a substrate for the enzyme allene oxide cyclase (13), thus demonstrating that dinor-12-oxo-PDA can be synthesized in optically active form (7(S),11(S) configuration; Scheme 1) in plant leaves. Formation of 12-oxo-PDA and dinor-12-oxo-PDA in leaves from *Arabidopsis* undoubtedly takes place starting with non-esterified 18:3 and 16:3, respectively, released from galactolipids. In agreement with this notion, 18:3 bound to monogalactosyl diacylglycerol was not converted to polar products in the presence of lipoxygenase and allene oxide synthase (14). However, a galactolipid containing 16:3-derived dinor-12-oxo-PDA and 18:3-derived 12-oxo-PDA (Arabidopside A) has been isolated from leaves of *Arabidopsis* (15) indicating that dinor-12-oxo-PDA and 12-oxo-PDA biosynthesized as the free carboxylic acids can be re-incorporated into galactolipids. Other monogalactosyl diacylglycerols containing either two 12-oxo-PDA residues (Arabidopside B) (15) or one 12-oxo-PDA and one 16:3 residue (14), as well as a monogalactosyl monoacylglycerol containing one 12-oxo-PDA residue (16) have also been isolated.

Also the divinyl ether synthase pathway of oxylipin metabolism has been reported to produce a hexadecanoid. In this case, 11(S)-hydroperoxy-7,9,13-hexadecatrienoic acid generated from 16:3 was converted into 2,3-dinor-w5(Z)-etherolenic acid (10-[1'(Z),3'(Z)-hexadienyloxy]-7(Z),9(E)-decadienoic acid) by a particle-bound divinyl ether synthase from leaves of *Ranunculus acris* (meadow buttercup) (17). Notably, this plant, like *Arabidopsis thaliana*, belongs to the 16:3 family and has a high content of 16:3 in leaf galactolipids (3). The α -dioxygenase pathway can also generate a hexadecanoid as recently shown for tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaves, which

among other oxylipins produce 2-hydroxy-7,10,13-hexadecatrienoic acid when infected with *Pseudomonas syringae* (18). Interestingly, 16:3 is a very poor substrate for 9-lipoxygenases (Larodan, unpublished results) and so far no product of the putative 7- (w10-) hydroperoxide derivative of 16:3 has been described (Scheme 2).

The possible biological role(s) of 16:3, 16:3-containing galactolipids, or hexadecanoids are presently unknown. In this respect it may be mentioned that Weber *et al.* (12) found that dinor-12-oxo-PDA in micromolar concentrations increased the ability of extracts of *Arabidopsis* leaves to generate 13-hydroxy-12-oxo-9(Z)-octadecenoic acid from linoleic acid by lipoxygenase and allene oxide synthase activities. They also made the potentially important observation that leaves from the *fad5* mutant of *Arabidopsis* deficient in 16:3 had *ca.* 15-fold lowered basal levels of 12-oxo-PDA compared to leaves from wild type plants, whereas the wound-induced levels in mutant and wild type were similar (12). Furthermore, a study of the *ssi2* mutant of *Arabidopsis*, a dwarf phenotype which is deficient in a plastidic stearyl-ACP desaturase activity, has also suggested a role of 16:3 or hexadecanoids in the manifestation of the *ssi2*-conferred phenotype (19).

References

1. Shorland, F.B. (1945) Occurrence of hexatrienoic acid in the glycerides of rape (*Brassica napus* L.) leaf. *Nature* **156**, 269-270.
2. Heyes, J.K. and Shorland, F.B. (1951) The constitution of hexadecatrienoic acid from the glycerides of rape (*Brassica napus* L.) leaf. *Biochem. J.* **49**, 503-506.
3. Jamieson, G.R. and Reid, E.H. (1971) The occurrence of hexadeca-7,10,13-trienoic acid in the leaf lipids of angiosperms. *Phytochemistry* **10**, 1837-1843.
4. Klenk, E. (1965) The metabolism of polyenoic fatty acids. *Adv. Lipid Res.* **3**, 1-23.
5. Siebertz, H.P. and Heinz, E. (1977) Labeling experiments on origin of hexadecatrienoic and octadecatrienoic acids in galactolipids from leaves. *Zeitschrift f. Naturforschung C* **32**, 193-205.
6. Joyard, J. and Douce, R. (1977) Site of synthesis of phosphatidic acid and diacylglycerol in spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **486**, 273-285.
7. Roughan, P.G., Holland, R., and Slack, C.R. (1980) The role of chloroplasts and microsomal fractions in polar lipid synthesis from [1-¹⁴C]acetate by cell-free preparations from spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. *Biochem. J.* **188**, 17-24.
8. Browse, J. and Somerville, C.R. (1991) Glycerolipids synthesis: biochemistry and regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* **42**, 467-506.

9. Mongrand, S., Bessoule, J.-J., Cabantous, F., and Cassagnet, C. (1998) The C_{16:3}/C_{18:3} fatty acid balance in photosynthetic tissues from 468 plant species. *Phytochemistry* **49**, 1049-1064.
10. Feussner, I. and Wasternack, C. (2002) The lipoxygenase pathway. *Annu. Rev. Plant Biol.* **53**, 275-297.
11. Hamberg, M., Ponce de León, I., Sanz, A., and Castresana, C. (2002) Fatty acid α -dioxygenases. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **68-69**, 363-374.
12. Weber, H., Vick, B.A., and Farmer, E.E. (1997) Dinor-oxo-phytodienoic acid: A new hexadecanoid signal in the jasmonate family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 10473- 10478.
13. Ziegler, J., Wasternack, C., and Hamberg, M. (1999) On the specificity of allene oxide cyclase. *Lipids* **34**, 1005-1015.
14. Stelmach, B.A., Müller, A., Hennig, P., Gebhardt, S., Schubert-Zsilavecz, M., and Weiler, E.W. (2001) A novel class of oxylipins, *sn1-O*-(12-oxophytodienyl)-*sn2-O*- hexadecatrienoyl)-monogalactosyl diglyceride, from *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* **276**, 12832-12838.
15. Hisamatsu, Y., Goto, N., Hasegawa, K., and Shigemori, H. (2003) Arabidopsides A and B, two new oxylipins from *Arabidopsis thaliana*. *Tet. Lett.* **44**, 5553-5556.
16. Ohashi, T., Ito, Y., Okada, M., and Sakagami, Y. (2005) Isolation and stomatal opening activity of two oxylipins from *Ipomoea tricolor*. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **15**, 263-265.
17. Hamberg, M. (1998) A pathway for biosynthesis of divinyl ether fatty acids in green leaves. *Lipids* **33**, 1061-1071.
18. Hamberg, M., Sanz, A., Rodriguez, M.J., Calvo, A.P., and Castresana, C. (2003) Activation of the fatty acid α -dioxygenase pathway during bacterial infection of tobacco leaves. *J. Biol. Chem.* **278**, 51796-51805.
19. Nandi, A., Krothapalli, K., Buseman, C.M., Li, M., Welti, R., Enyedi, A., and Shah, J. (2003) *Arabidopsis sfd* mutants affect plastidic lipid composition and suppress dwarfing, cell death, and the enhanced disease resistance phenotypes resulting from the deficiency of a fatty acid desaturase. *The Plant Cell* **15**, 2383-2398.

Service ist nicht nur unser Name!

CPS Chemie+Service GmbH - Ihr kompetenter Partner

www.chemie-plus-service.de

info@chemie-plus-service.de

Tel.: 0241/435 482 05 Fax: 0241 / 435 482 02

Erzbergerallee 37 52066 Aachen
Gf. Dr. Wolfgang Adam HRB 14604 AG Aachen
AGB siehe www.chemieplusservice.de

Unser Datenschutz entsprechend DSGVO.

Wir nehmen die Sicherheit der Daten unserer Kunden und Lieferanten ernst.
Die uns von den Kunden oder den Lieferanten übermittelten Daten (Firma, Namen, Adressen, Produkte) werden nur aufbewahrt, wenn sie unserem tatsächlichen Interesse dienen (Lieferung oder Kauf von Waren).

Das Programm für die Auftragsabwicklung wird auf einem Rechner ausgeführt, der nicht an das Internet angeschlossen werden kann (Auftragsbestätigung, Lieferschein, Rechnung; Produkt- und Kundenstatistik,). Diese Dokumente werden per Post übermittelt. Sollte eines dieser Formulare über das Internet als ...pdf-Datei an den Kunden übermittelt werden, so werden diese abgeleiteten Daten aus dem Internetrechner nach einem Jahr gelöscht.

Mit dem Schreibprogramm (Open Office) erstellte Telefaxvorlagen werden auf dem Rechner 1 Jahr gespeichert und dann gelöscht, während die Papierunterlage in den Akten verbleibt.

Von Kunden erhaltene Internet anfragen, -aufträge und -antworten bleiben auf unserem Rechner, wenn daraus eine Geschäftsbeziehung folgt. Die o.a. Papierunterlagen mit den Aufträgen u.s.w. werden nach 10 Jahren gemäß den rechtlichen Möglichkeiten der Vernichtung von Buchhaltungsunterlagen gelöscht.
Andere Anfragen werden nach 3 Jahren gelöscht.
Dasselbe gilt für den Geschäftsverkehr mit Lieferanten.

Uns zur Verfügung gestellte Namen und Adressen von Kunden geben wir nur dann an unsere Lieferanten weiter, wenn damit eine direkte Lieferung durch den Lieferanten verbunden ist. Dem Kunden wird dieser Sachverhalt vorher mitgeteilt.

Unsere Webseite benutzt cookies, um die Internetnutzung zu vereinfachen.
Sie als Kunde oder Lieferant können eine Dokumentation der bei uns über Sie gespeicherten Daten haben. Wir senden Ihnen einen Ausdruck oder eine Diskette im DOS-Format. Die Diskette bitten wir zurückzusenden.

Verantwortlich: Dr. Wolfgang Adam (adam@chemie-plus-service.de)

Unser Datenschutz entsprechend DSGVO.

Wir nehmen die Sicherheit der Daten unserer Kunden und Lieferanten ernst. Die uns von den Kunden oder den Lieferanten übermittelten Daten (Firma, Namen, Adressen, Produkte) werden nur aufbewahrt, wenn sie unserem Tatsächlichen Interesse dienen (Lieferung oder Kauf von Waren).

Das Programm für die Auftragsabwicklung wird auf einem Rechner ausgeführt, der nicht an das Internet angeschlossen werden kann (Auftragsbestätigung, Lieferschein, Rechnung; Produkt- und Kundenstatistik,). Diese Dokumente werden per Post übermittelt. Sollte eines dieser Formulare über das Internet als ...pdf-Datei an den Kunden übermittelt werden, so werden diese abgeleiteten Daten Aus dem Internetrechner nach einem Jahr gelöscht.

Mit dem Schreibprogramm (Open Office) erstellte Telefaxvorlagen werden auf dem Rechner 1 Jahr gespeichert und dann gelöscht, während die Papierunterlage in den Akten verbleibt.

Von Kunden erhaltene Internet anfragen, -aufträge und -antworten bleiben auf unserem Rechner, wenn daraus eine Geschäftsbeziehung folgt. Die o.a. Papierunterlagen mit den Aufträgen u.s.w. werden nach 10 Jahren gemäß den rechtlichen Möglichkeiten der Vernichtung von Buchhaltungsunterlagen gelöscht.

Andere Anfragen werden nach 3 Jahren gelöscht.
Dasselbe gilt für den Geschäftsverkehr mit Lieferanten.

Uns zur Verfügung gestellte Namen und Adressen von Kunden geben wir nur dann an unsere Lieferanten weiter, wenn damit eine direkte Lieferung durch den Lieferanten verbunden ist. Dem Kunden wird dieser Sachverhalt Vorher mitgeteilt.

Unsere Webseite benutzt cookies, um die Internetnutzung zu vereinfachen.

Sie als Kunde oder Lieferant können eine Dokumentation der bei uns über Sie gespeicherten Daten haben. Wir senden Ihnen einen Ausdruck oder Eine Diskette im DOS-Format. Die Diskette bitten wir zurückzusenden.

Verantwortlich: Dr. Wolfgang Adam (adam@chemie-plus-service.de)