



УДК 593.9.088.5:577.115.3

## ЛИПИДЫ МОРСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

III\*. ДЕМОСПОНГИЕВЫЕ КИСЛОТЫ И ФОСФОГЛИЦЕРОЛИПИДЫ С ПРОСТОЙ ЭФИРНОЙ СВЯЗЬЮ МОРСКОЙ ЗВЕЗДЫ *HENRICIA* sp.

Делбвицкий В. М.

Институт экологии Волжского бассейна Академии наук СССР, Тольятти

Исследован жирнокислотный состав фосфатидилэтанололаминов, фосфатидилхоллинов и фосфатидилсеринов, выделенных из пищеварительных органов, гонад и общего липидного экстракта морской звезды *Henricia* sp. Установлено количественное соотношение алкильных, плазмалогеновых и ацильных форм в фосфатидилэтанолламине и фосфатидилхолине из различных органов. Показано, что фосфатидилэтанолламин из пищеварительных органов представлен на 28% алкильной и 72% плазмалогеновой формами. Идентифицированы лизофосфатидилэтанолламин и лизофосфатидилхоллин, содержащие простые эфирные связи. Исследован состав жирных альдегидов и алкиловых эфиров выделенных фосфолипидов.

При исследовании жирнокислотного состава липидов иглокожих нами было установлено, что липиды морской звезды *Henricia* sp. содержат демоспонгиевые кислоты, которые, как показано нами ранее, широко представлены у губок, относящихся к классу *Demospongiae* [1–3].

Известно, что некоторые морские звезды, использующие в качестве основной пищи губок, также содержат в составе липидов демоспонгиевые кислоты. Так, Фергюсон [4], изучив состав жирных кислот, выделенных из липидов пищеварительной железы морской звезды *Echinaster* sp., установил, что ~20% их представлено демоспонгиевыми кислотами. При детальном анализе выявлено, что 15% составляет гексаказамоненовая кислота (26:1).

Морская звезда *Henricia* sp. питается исключительно губками [5], поэтому представлялось интересным выяснить ее жирнокислотный состав и изучить состав липидов. Как показано нами ранее [6], ФЭ из липидов морских звезд на 85–92% представлены плазмалогеновыми формами. Что касается губок, которыми питаются звезды, то ФЭ губок содержат незначительное количество плазмалогенов [1, 3], а некоторые представители губок содержат до 83% алкиловых эфиров в ФЭ [2].

Для детального изучения липидов были взяты пищеварительные органы и гонады, а часть звезд была использована целиком для получения липидных экстрактов. Из полученных липидных экстрактов гонад и пищеварительных органов были выделены фракции ФЭ, ФХ и ФС, а также ЛФЭ и ЛФХ. Выделенные индивидуальные (хроматографически чистые) фосфолипиды были использованы для дальнейшего анализа.

ИК-спектры лизопродуктов, полученных из ФЭ и ФХ после мягкого щелочного гидролиза, имели полосы поглощения 1110–1090 и 3030, 1665  $\text{см}^{-1}$ , характерные для алкиловых (C–O–C) и алкениловых (O–CH=CH) эфиров соответственно. Отсутствие полосы при 930  $\text{см}^{-1}$  указывало на то, что двойная связь (O–CH=CH) в плазмалогенах имеет *cis*-конфигурацию. В спектрах ЛФЭ и ЛФХ, выделенных из пищеварительных органов, были идентифицированы полосы поглощения при 1115 и 1097  $\text{см}^{-1}$  соответственно; отсутствие поглощения при 3030, 1665 и 1720  $\text{см}^{-1}$  свидетельствовало об отсутствии винильной и сложноэфирной

\* Сообщение II см. [1]. Сокращения: ФЭ – фосфатидилэтанолламин, ФХ – фосфатидилхоллин, ФС – фосфатидилсерин, ЛФЭ – лизо-ФЭ, ЛФХ – лизо-ФХ, ФГ – фосфатидилглицерин, ЖК – жирные кислоты, ЖА – жирные альдегиды, АЭ – алкиловые эфиры глицерина.

Состав жирных кислот (ЖК), жирных альдегидов (ЖА) и алкиловых эфиров (АЭ) липидных фракций органов морской звезды *Henricia sp.*  
% от суммы жирных кислот, альдегидов, алкиловых эфиров

Число углеродных атомов и двойных связей в цепи	Пищеварительные органы						Гонады						Общий липидный экстракт			
	Фосфатидилганоламин			Фосфатидилхоллин			Фосфатидилганоламин			Фосфатидилхоллин			ЖК	ЖА	АЭ	
	ЖК	ЖА	АЭ	ЖК	ЖА	АЭ	ЖК	ЖА	АЭ	ЖК	ЖА	АЭ				
14:0	0,9	—	—	3,6	3,4	4,7	—	—	—	4,4	4,5	2,3	—	4,0	1,1	—
15:0	4,1	—	—	4,1	4,2	0,5	—	—	—	2,1	3,1	0,9	—	2,1	1,0	—
16:0	0,7	6,7	5,2	8,5	28,2	11,4	—	—	—	6,9	34,6	21,4	—	12,3	7,1	—
17:0	0,5	2,3	4,1	0,9	3,3	3,5	—	—	—	4,7	3,7	2,1	—	3,4	4,7	—
18:0	1,8	10,1	21,2	6,2	13,9	46,6	—	—	—	3,2	14,2	37,9	—	9,9	34,5	—
18:1	1,9	13,2	30,3	7,3	19,6	15,1	—	—	—	4,6	26,2	26,8	—	23,8	21,2	—
18:2	0,7	7,3	4,8	0,5	3,3	2,1	—	—	—	1,8	5,1	—	—	6,9	3,2	—
18:3	1,2	—	—	5,6	—	—	—	—	—	12,3	—	—	—	8,0	—	—
19:0	4,8	3,6	2,1	2,3	6,4	3,9	—	—	—	0,7	4,1	0,7	—	5,4	3,1	—
20:1	6,1	15,8	12,1	0,7	4,8	3,2	—	—	—	1,1	8,8	3,8	—	10,3	8,4	—
20:2	3,3	7,4	3,7	0,6	4,1	2,2	—	—	—	1,6	3,7	0,5	—	4,9	2,1	—
20:3	4,3	—	—	1,0	—	—	—	—	—	2,4	—	—	—	0,6	—	—
20:4ω6	9,3	—	—	17,8	—	—	—	—	—	21,2	—	—	—	19,9	—	—
20:5ω3	10,9	—	—	26,6	—	—	—	—	—	29,3	—	—	—	30,2	—	—
21:0	1,4	4,2	10,3	3,0	2,3	5,7	—	—	—	2,7	2,8	1,1	—	0,5	—	—
21:1	4,3	21,5	3,5	2,1	9,7	1,9	—	—	—	3,9	14,9	0,7	—	2,1	1,3	—
22:5ω3	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	3,4	—	—	—	1,2	—	—
24:1	3,1	7,9	5,7	1,3	2,2	2,4	—	—	—	0,7	6,3	1,8	—	4,4	3,0	—
25:1	2,2	—	—	0,7	—	—	—	—	—	1,1	—	—	—	1,0	—	—
26:1	1,1	—	—	1,4	—	—	—	—	—	2,1	—	—	—	3,2	—	—
28:0	5,4	—	—	2,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,7	—	—
28:1	21,3	—	—	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16,3	—	—
28:2	8,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,2	—	—
Насыщенные	13,6	27,9	41,9	31,4	56,3	73,1	—	—	—	9,4	35,2	66,4	—	36,2	60,8	—
Моноеновые	46,0	58,4	51,6	15,5	34,1	22,6	—	—	—	18,6	49,7	33,1	—	53,0	33,9	—
Полиеновые	40,4	14,7	6,5	53,1	9,6	4,3	—	—	—	72,0	15,1	0,4	—	10,8	5,3	—
Сумма демоспонгиевых кислот (C <sub>24</sub> - C <sub>28</sub> )	47,8	—	—	8,2	—	—	—	—	—	9,0	—	—	—	29,8	—	—

связей. Данные ПМР подтвердили наличие в этих фосфолипидах только простой эфирной связи (триплет при  $\delta$  6,36–6,51 м.д.;  $\text{CH}_2\text{—O—C}$ ). Анализ ЖК общего липидного экстракта показал, что основными были кислоты 20 : 5 $\omega$ 3, 20 : 4 $\omega$ 6 и 28 : 1. Для ФЭ, выделенного из пищеварительных органов, основной была кислота 28 : 1 (октакозамоноеновая), ЖК-состав ФЭ и ФХ приведен в табл. 1. Для иглокожих, в частности звезд, характерно высокое содержание эйкозапентаеновой и эйкозатетраеновой кислот, их количество может достигать 50–60% в общем липидном экстракте, и практически отсутствует докозагексаеновая кислота, которая является основной полиеновой кислотой многих морских организмов [7]. В ФС, выделенном из липидного экстракта пищеварительных органов, много октакозамоноеновой кислоты, намного меньше ее в ФС, выделенном из гонад (табл. 2). Общее количество демоспонгиевых кислот ( $\text{C}_{24}\text{—C}_{28}$ ) в ФС выше, чем в ФЭ и ФХ (см. табл. 1 и 2).

Применяя мягкий кислотный, а затем мягкий щелочной гидролиз выделенных липидов [8], а также описанную ранее методику [9] определения алкильных форм в фосфолипидах, установили, что ФЭ из пищеварительных органов содержит 28% алкильной и 72% алкенильной форм. Такое количество алкильной формы в ФЭ обнаружено у морских звезд впервые. Также было определено количественное соотношение трех форм — алкильной, плазмалогеновой и ацильной — в ФЭ и ФХ, выделенных из гонад и общего липидного экстракта (табл. 3). Для ФХ, выделенного из пищеварительных органов, отмечено высокое содержание плазмалогеновой формы — 43,5%. Ее меньше в ФХ, выделенном из гонад, и в ФХ из общего липидного экстракта. ЛФЭ и ЛФХ из пищеварительных органов, где их количество составило 5,7 и 3,8%, как показал анализ этих липидов, являются 1-О-алкильными формами. Ранее Костецкий [10] выделил из звезды *Aphelasterias japonica* 1-О-алкил-ЛФХ и показал, что этот липид содержат и другие морские беспозвоночные: губки, кишечнорастворимые, оболочники, некоторые моллюски и иглокожие. ГЖХ-анализ алкиловых эфиров, выделенных из алкильных форм ЛФЭ и ЛФХ, показал, что ЛФЭ содержит два основных спирта — селлахилловый (18 : 1) и длинноцепочечный (24 : 1). Содержание ненасыщенных спиртов составило 92%. Для ЛФХ характерно наличие трех основных спиртов: цимилового (16 : 0), батилового (18 : 0) и ненасыщенных (13,5%) (табл. 4).

Таблица 2

Жирнокислотный состав фосфатидилсеринов (% от суммы жирных кислот) морской звезды *Henricia* sp.

Кислота	Пищеварительные органы	Гонады	Общий липидный экстракт
16 : 0	0,5	2,8	4,9
18 : 0	0,9	3,7	8,6
18 : 1	2,7	28,7	33,7
18 : 2	2,5	6,4	3,8
18 : 3	1,1	3,8	4,7
20 : 1	0,9	1,2	—
20 : 2	1,4	2,4	0,5
20 : 3	1,1	3,1	0,7
20 : 4 $\omega$ 6	8,2	12,5	14,1
20 : 5 $\omega$ 3	16,4	15,5	19,7
21 : 1	5,0	6,2	2,5
24 : 1	4,3	0,9	3,2
25 : 1	3,6	1,2	0,6
26 : 1	9,4	2,3	1,6
28 : 2	36,9	9,3	19,9
28 : 1	5,1	—	1,4
Насыщенные	1,4	6,5	13,5
Моноеновые	62,8	49,8	61,5
Полиеновые	35,8	43,7	25,0
Сумма демоспонгиевых кислот ( $\text{C}_{24}\text{—C}_{28}$ )	59,3	13,7	26,7

**Фосфолипидный состав пищеварительных органов, гонад и общего  
липидного экстракта морской звезды *Henricia sp.*  
% от липидного фосфора**

Классы фосфолипидов	Пищеварительные органы	Гонады	Общий липидный экстракт
1-О-Алкил-2-ацил-ФЭ	8,4(27,8) *	5,3(14,9)	6,3(16,0)
1-О-Алк-1'-енил-2-ацил-ФЭ	22,5(72,2)	23,7(66,9)	30,6(77,9)
1,2-Диацил-ФЭ	—	6,4(18,2)	2,4(6,1)
Лизо-ФЭ	5,7	2,3	1,2
Фосфатидилсерин	13,9	6,4	8,5
1-О-Алкил-2-ацил-ФХ	6,2(21,2)	3,3(7,1)	8,1(18,2)
1-О-Алк-1'-енил-2-ацил-ФХ	12,7(43,5)	11,6(24,9)	9,4(21,1)
1,2-Диацил-ФХ	10,3(35,3)	31,7(68,0)	27,1(60,7)
Лизо-ФХ	3,8	0,9	1,6
Фосфатидилинозит	4,3	3,0	2,0
Фосфатидная кислота	4,2	1,2	0,8
Фосфатидилглицерин	3,8	1,8	0,3
Дифосфатидилглицерин	1,9	0,9	0,6
Сфингомиелин	2,3	1,5	1,1
Сумма аминоксфофолипидов	50,5	44,1	49,0
Сумма плазмалогенов	35,2	35,3	40,0
Сумма алкиловых эфиров	14,6	8,6	14,4

\* В скобках указано процентное содержание алкильной, плазмалогеновой или ацильной формы от суммы форм в фосфолипиде.

Таблица 4

**Состав алкиловых эфиров лизофосфатидилэтаноламина  
и лизофосфатидилхолина из пищеварительных органов  
морской звезды *Henricia sp.*  
% от суммы алкиловых эфиров**

Алкильный остаток	Лизо-ФЭ	Лизо-ФХ
14:0	—	2,3
15:0	—	1,8
16:0	2,4	11,6
17:0	1,3	3,2
18:0	1,2	65,7
18:1	59,6	8,1
21:0	3,2	1,9
24:1	32,3	5,4
Насыщенные	8,1	86,5
Моноеновые	91,9	13,5

Следует отметить повышенное содержание ФС в липидах пищеварительных органов изученной морской звезды — 14% (обычно 8—9% [10, 11]). Это, по-видимому, можно объяснить тем, что у губок, являющихся основной пищей некоторых звезд, содержание ФС в липидном экстракте может достигать 25% [1, 3]. ФГ у морских звезд ранее не был обнаружен [11], в то же время у губок его концентрация может составлять 15%, а у некоторых и выше [12]; у звезды *Henricia sp.* мы нашли его в небольшом количестве (см. табл. 3).

Липиды морских беспозвоночных содержат как плазмалогеновые, так и алкиловые эфиры глицерофосфолипидов [13], а также, как показали Вавер и сотр. [14, 15], диольные О-алкиловые и О-алк-1-ениловые липиды, которые были выделены из морских звезд. Липиды с простой эфирной связью обладают значительной физиологической активностью и используются в медицине, особенно при лечении онкологических заболеваний [16], поэтому их выделение из природных источников и представляет значительный интерес.

Результаты исследования показывают, что морские звезды, использующие в качестве пищи морских губок, содержат значительное количество демоспонгиевых кислот, которые локализованы преимущественно в амниофосфолипидах. Видимо, липидный состав губок оказывает существенное влияние на концентрацию демоспонгиевых кислот и липидов с простой эфирной связью в различных органах и тканях морских звезд.

### Экспериментальная часть

Морские звезды были собраны в июле 1983 г. в районе Соловецких островов (Белое море). Свежевыловленные животные сразу же были препарированы. Часть звезд использовали целиком, из остальных были выделены пищеварительные органы и гонады (все органы и ткани тщательно промыты фильтрованной морской водой и охлажденным физиологическим раствором). Ткани и органы гомогенизировали, липиды экстрагировали по методу Блая и Даера [17]. Из полученных липидных экстрактов выделяли фосфолипиды ФЭ, ФХ, ФС, ЛФЭ, ЛФХ при помощи колоночной хроматографии на силикагеле; дополнительную очистку проводили препаративной ТСХ, как описано нами ранее [1, 2, 9]. Содержание фосфолипидов определяли по методу Васильковского и сотр. [18]. Плазмалогены определяли реакционной микро-ТСХ [19]. Для разделения фосфолипидных классов использовали обычные хроматографические системы [1], а для идентификации ФГ-системы, описанные в работе [20]. Кислотный гидролиз и щелочное деацилирование для определения алкильных форм в фосфолипидах осуществляли согласно методу [8]. Выделение алкиловых эфиров глицерина из индивидуальных классов фосфолипидов и получение из них изопропилиденовых производных проводили по методу [21]. Получение метиловых эфиров жирных кислот и диметилацеталей ЖА описано нами ранее [9].

Анализ метиловых эфиров ЖК, диметилацеталей ЖА и изопропилиденовых производных АЭ проводили на хроматографе «Хром-41» (ЧССР) с пламенно-ионизационным детектором и интегратором И-2. Использовали стеклянные колонки (125×0,3 см) с 5% SE-30 на Хроматоне N-AW-DMCS, 100–160 меш (Сhemapol, ЧССР) и колонки (245×0,3 см) с 12% ПЭГА на Хромосорбе W-AW (80–100 меш, Johns-Manville, США). Температура при ЖК от 185 до 210° С. Газ-носитель — азот (70 мл/мин). ЖК, ЖА и АЭ идентифицировали по временам удерживания и значениям углеродных чисел, а также использовали стандарты ЖК 16:0÷22:0, 18:1, 18:2 и 18:3 и кислоты 28:0 и 28:1, выделенные нами ранее из морских губок [1]; ЖА — 16:0÷20:0, а также батиловый, димпильный и селлахпильный спирты (Berchtold, Швейцария).

ИК-спектры снимали на приборе UR-20 (ГДР) в  $CCl_4$  в диапазоне 400–700  $cm^{-1}$ .

Спектры ПМР снимали на приборе Bruker HX-90E (ФРГ) в  $CDCl_3$  (внутренний стандарт — тетраметилсилан).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Дембицкий В. М., Небылицын В. Д. Биоорг. химия, 1980, т. 6, № 10, с. 1542–1548.
2. Дембицкий В. М., Светашев В. И., Васильковский В. Е. Биоорг. химия, 1977, т. 3, № 7, с. 930–933.
3. Дембицкий В. М., Челомин В. П. Изв. АН СССР. Сер. биол., 1985, № 1, с. 53–60.
4. Ferguson J. C. Comp. Biochem. and Physiol., 1976, v. 54B, № 2, p. 249–252.
5. Гурьянова Е. Ф. Белое море и его фауна. Петрозаводск, 1948, с. 132.
6. Дембицкий В. М. Биология моря, 1979, № 5, с. 86–90.
7. Sargent J. R. In: Biochemical and biophysical perspectives in marine biology/Eds Malins D. C., Sargent J. R. N. Y.: Acad. Press, 1976, v. 3, p. 176–212.
8. Shellaway A. In: Research methods in neurochemistry/Eds Marks N., Rodnight P. N. Y.: Plenum Press, 1972, v. 3, chap. 9, p. 293–307.
9. Дембицкий В. М. Биоорг. химия, 1980, т. 6, № 3, с. 426–430.
10. Костецкий Э. Я. Фосфолипиды морских бесзвоночных. Эволюционные и хемотаксономические аспекты. Автореф. дис. на соискание уч. ст. д-ра биол. наук. Л.: Ин-т эволюц. физiol. и биохимии, 1985, с. 43.
11. Костецкий Э. Я., Герасименко Н. В. Биология моря, 1984, № 1, с. 39–46.
12. Walker R. D., Jamieson G. C., Ratcliff M. R., Djerassi C. Lipids, 1981, v. 16, № 9, p. 631–646.
13. Дембицкий В. М. Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1985, т. 21, № 1, с. 70–76.
14. Вавер В. А., Писарева Н. А., Бергельсон Л. Д. Химия природ. соединений, 1970, № 6, с. 657–664.
15. Vaver V. A., Pisareva N. A., Rozynov B. V., Ushakov A. N., Bergelson L. D. Chem. and Phys. Lipids, 1971, v. 7, № 1/2, p. 75–92.
16. Ether lipids: biomedical applications/Eds Mangold H. H., Palttauf F. N. Y.: Acad. Press, 1983, p. 439.
17. Bligh E. G., Dyer W. J. Can. J. Biochem. and Physiol., 1959, v. 37, № 8, p. 911–917.
18. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M. J. Chromatogr., 1975, v. 114, № 1, p. 129–141.
19. Vaskovsky V. E., Dembitsky V. M. J. Chromatogr., 1975, v. 115, № 2, p. 645–647.

20. Vaskovsky V. E., Terechova T. A. J. High Resol. Chromatogr. and Chromatogr. Commun., 1979, v. 2, № 11, p. 671-672.  
21. Thompson G. A., Jr., Kapoulas V. M., Meth. Enzymol., 1969, v. 14, p. 668-678.

Поступила в редакцию  
3.I.1986.  
После доработки  
13.VI.1986

LIPIDS OF MARINE ORIGIN. III. DEMOSPONGIC FATTY ACIDS AND ETHER  
PHOSPHOLIPIDS FROM MARINE STARFISH *HENRICIA* sp.

DEMBITSKY V. M.

*Institute of Ecology of the Volga River Basin, Togliatti*

Fatty acid compositions of phosphatidylethanolamines (PE), phosphatidylcholines (PC) and phosphatidylserines (PS) were studied in digestive glands, gonads and total lipid extract of *Henricia* sp. The PS of digestive glands were the rich est in demospionic fatty acids (C<sub>24</sub> - C<sub>28</sub>), viz. 59%, whereas PE contained 48%, and PC 8%. PE from digestive glands was identified as a mixture of 28% 1-alkyl- and 72% 1-alk-1'-enyl forms. 1-Alkyl-2-lyso-PE and 1-alkyl-2-lyso-PC from digestive glands containing ether bonds were identified. Fatty aldehydes and glycerol ethers in the PE and PC were analyzed, and major fatty acids 28:1, 26:1, 20:4 $\omega$ 6 and 20:5 $\omega$ 3 identified.