



УДК 547.915.5'917

ДИОЛЬНЫЕ ЛИПИДЫ.

XXIX. АЦИЛИРОВАННЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ
В СЕМЕНАХ КУКУРУЗЫ*Вавер В. А., Тодрия К. Г., Проказова Н. В.,
Бергельсон Л. Д.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

В созревающих семенах кукурузы содержатся заметные количества диольных гликолипидов — 1-моноацильных производных 2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоля. Основные представители этого типа соединений были выделены из семян кукурузы «Московская-5», собранных через 15 сут после опыления, идентифицированы как 1-пальмитойл-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоль, 1-стеаройл-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоль и 1-олеойл-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоль. Содержание ацилированных гликозидов этиленгликоля в созревающих семенах составляло ~ 1% суммарных липидов, или 50—60% общего количества гликозилдиглицеридов. Описан синтез 1-пальмитойл-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоля, пентапальмитойл- и пентастеаройлгалактопиранозилэтиленгликоля. Приведены данные по масс-спектрометрии ацетильных производных 1-моноацил-2-О-β-D-галактозилэтиленгликоля.

За последние годы в природных объектах найдены различные типы диольных аналогов глицеролипидов (обзор см. [1]). Во фракциях нейтральных липидов животных, растений и микроорганизмов идентифицированы жирнокислотные диэфиры и ацилалкен-1-иловые эфиры этиленгликоля, а также изомерных пропандиолов и бутандиолов [2—5]. В липидах морских животных найдены алкиловые эфиры этиленгликоля [6] и пентандиола-1,5 [7]. Алкен-1-иловые эфиры этиленгликольфосфорилхолина и пропандиол-1,3-фосфорилхолина обнаружены в печени крыс [8]. Количественное определение связанных C₂ — C₄-диолюв в нейтральных липидах и фосфолипидах печени крыс недавно описано в работе [9].

Исследование липидов созревающих семян кукурузы, проведенное ранее в нашей лаборатории, показало, что содержание связанных диолов в липидах семян зависит от степени их созревания. Отношение диолы — глицерин в гидролизатах суммарных липидов семян составляет 1 : 1 в первые дни после опыления и быстро снижается по мере созревания семян [10]. В продуктах мягкого щелочного гидролиза липидов незрелых семян кукурузы наряду с глицерином обнаружен 1-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоль, идентифицированный методами ТСХ, ГЖХ и хроматомасс-спектрометрии [11, 12]. Поскольку галактозид этиленгликоля освобождался в результате щелочного гидролиза относительно малополярных нейтральных липидов, было высказано предположение, что в созревающих семенах кукурузы содержатся жирнокислотные эфиры галактозилэтиленгликоля — представители нового типа гликолипидов (диольных гликолипидов) [11].

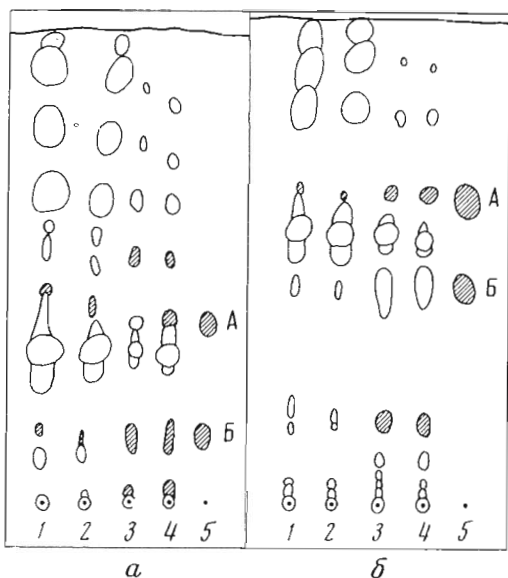


Рис. 1

Рис. 1. ТСХ липидов семян кукурузы «Московская-5» после распределения между *n*-гептаном и 95%-ным метанолом: 1 — гептанрастворимые липиды изопропанольного экстракта, 2 — гептанрастворимые липиды хлороформ-метанольного экстракта, 3 — метанолрастворимые липиды изопропанольного экстракта, 4 — метанолрастворимые липиды хлороформ-метанольного экстракта, 5 — смесь синтетического 1-пальмитоил-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоля (А) и хроматографически однородных моногалактозилдиглицеридов пшеницы (Б). Системы: а — хлороформ — метанол (9 : 1); б — хлороформ — метанол (8 : 2). Обнаружение антроновым реагентом. Заштрихованы пятна, дающие при обнаружении антроновым реагентом характерное сине-зеленое окрашивание

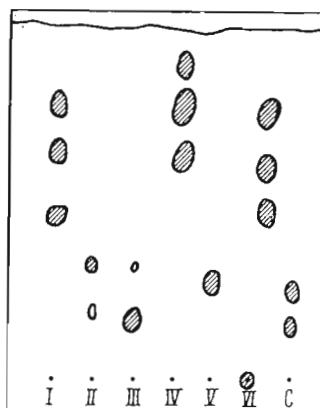
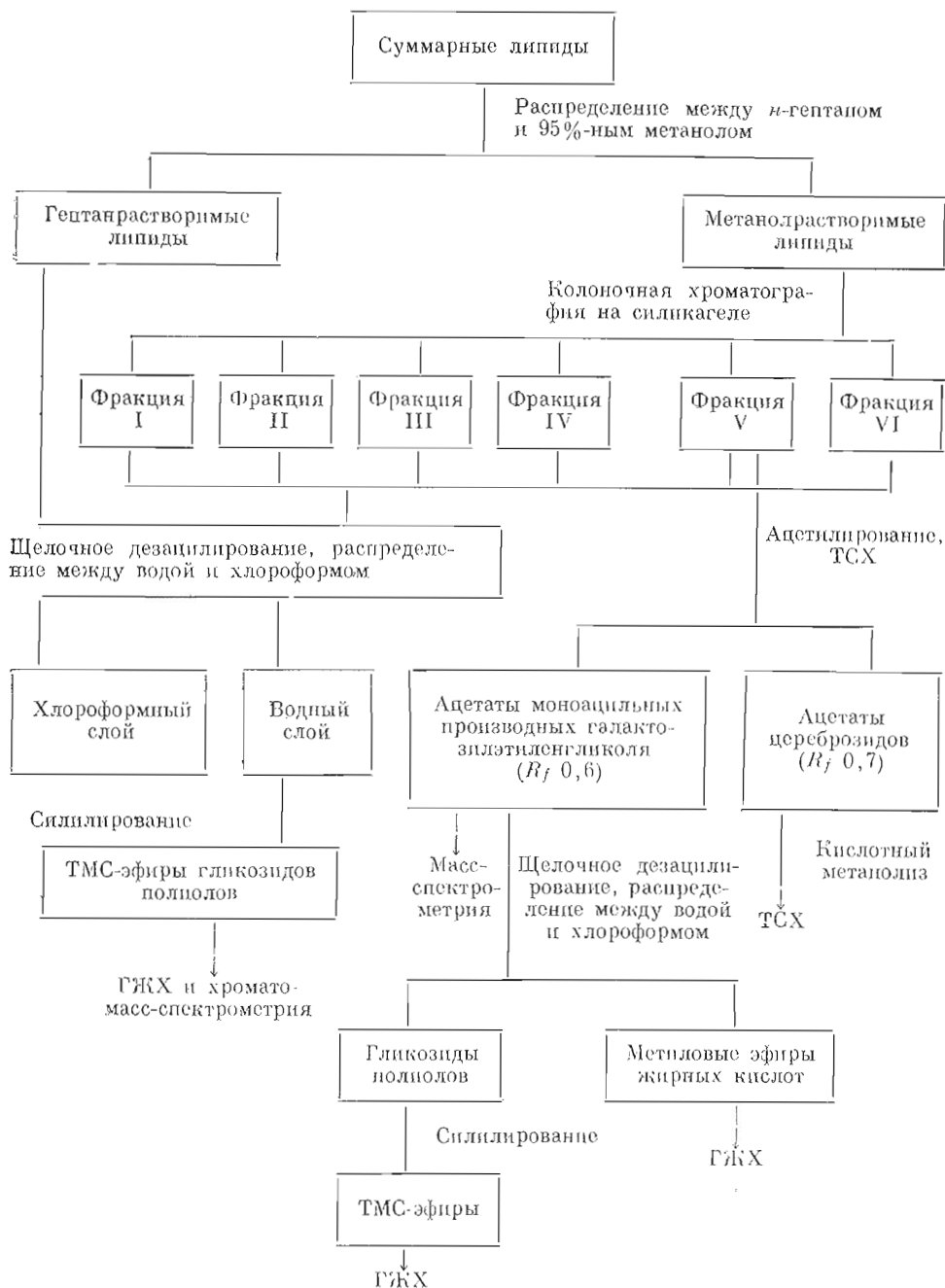


Рис. 2

Рис. 2. ТСХ водорастворимых продуктов щелочного дезацилирования фракций I—VI метанолрастворимых липидов семян кукурузы, выделенных колоночной хроматографией на силикагеле. С — смесь галактозилэтиленгликоля и глюкозилглицерина. Система хлороформ — метанол — вода (65 : 25 : 4). Обнаружение антроновым реагентом

Известно, что при распределении суммарных липидов, экстрагированных из пшеничной муки, семян или листьев растений, между *n*-гептаном и 95%-ным водным метанолом моно- и диглицозилдиглицериды попадают наряду с другими полярными липидами в метанольную фазу [13]. Модельные опыты, проведенные нами с синтетическими диольными гликолипидами, показали, что при таком распределении монопальмитоилгалактопиранозилэтиленгликоль также экстрагируется метанолом из гептанового раствора, монопальмитоилацетилгалактопиранозилэтиленгликоль распределяется между *n*-гептаном и метанолом, а пентапальмитоилгалактопиранозилэтиленгликоль и пентастеароилгалактопиранозилэтиленгликоль целиком остаются в гептановой фазе. Таким образом, распределение суммарных липидов между *n*-гептаном и водным метанолом могло оказаться полезным приемом для отделения моноацильных производных гликозидов этиленгликоля от три-, тетра- и пентаацильных производных, на присутствие которых в семенах кукурузы указывали наши предварительные данные [11].

В соответствии со сказанным выше исследование диольных гликолипидов созревающих семян кукурузы производилось следующим образом. Суммарные липиды, экстрагированные из семян кукурузы смесью хлороформа и метанола, распределяли между *n*-гептаном и 95%-ным метанолом (схема). Слои разделяли, гептанрастворимые и метанолрастворимые липиды исследовали методом ТСХ. Полученные хроматограммы (рис. 1) показывают, что вещества, дающие положительную реакцию с антроном и



совпадающие по значениям R_f с монопальмитонилгалактозилэтиленгликолем и моногалактозилдиглицидами, содержатся преимущественно в метанолрастворимой фракции и только небольшие количества этих гликолипидов попадают во фракцию гептанрастворимых липидов.

Метанолрастворимые липиды хлороформ-метанольного экстракта хроматографировали на колонке с силикагелем КСК (см. «Экспериментальную часть» и таблицу). Все шесть фракций, полученных в результате колоночной хроматографии, подвергали щелочному деацилированию [14]. Продукты деацилирования распределяли между водой и хлороформом; водорастворимые продукты анализировали методом ТСХ (рис. 2). Пока-

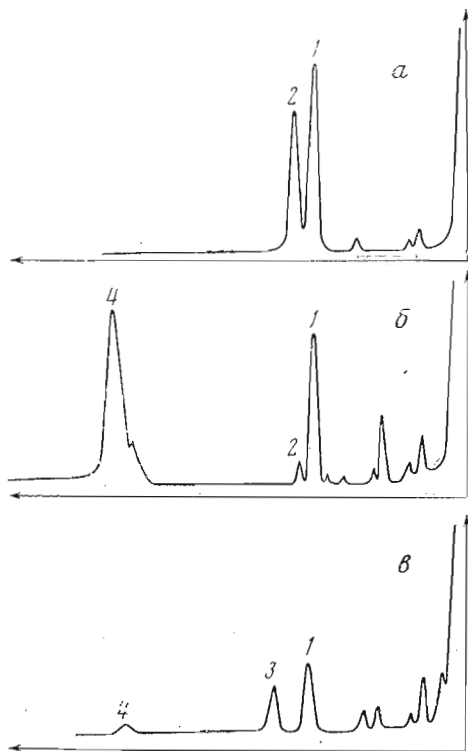


Рис. 3

Рис. 3. ГЖХ ТМС-эфиров гликозидов полиолов, полученных щелочным дезацилированием фракций V (а), III (б) и II (в) метаноластворимых липидов хлороформ-метанольного экстракта: 1 — миоинозит (стандарт), 2 — галактозилэтиленгликоль, 3 — глюкозилэтиленгликоль, 4 — галактозилглицерин

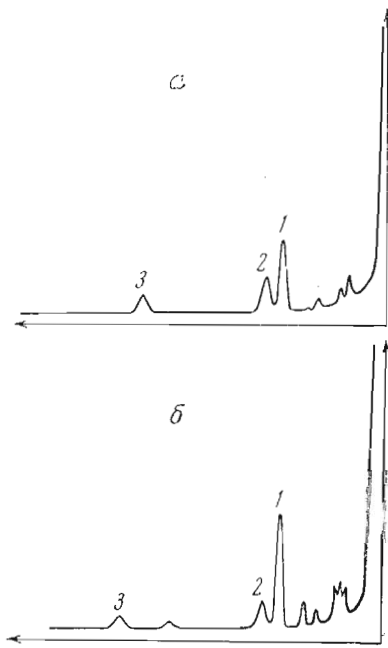


Рис. 4

Рис. 4. ГЖХ ТМС-эфиров гликозидов полиолов, полученных щелочным дезацилированием гептанрастворимых липидов семян кукурузы изопропанольного экстракта (а) и хлороформ-метанольного экстракта (б): 1 — миоинозит (стандарт), 2 — галактозилэтиленгликоль, 3 — галактозилглицерин

зано, что в продуктах дезацилирования фракций II и V содержались вещества, совпадающие по значению R_f с гликозидами этиленгликоля, а в продуктах дезацилирования фракции III — с гликозидами глицерина; фракции I и VI, судя по данным ТСХ продуктов щелочного дезацилирования, были свободны от гликозидов полиолов.

Для дальнейшего исследования гликозидов полиолов водорастворимые продукты дезацилирования фракций II, III и V превращали в триметилсилиловые (ТМС) эфиры и анализировали методом ГЖХ. Судя по хроматограммам (рис. 3), основной водорастворимый компонент дезацилированной фракции III — галактозилглицерин, в то время как основными компонентами водорастворимых продуктов дезацилирования фракций II и V являются два различных вещества, относительные удерживаемые объемы ТМС-производных которых совпадают с удерживаемыми объемами ТМС-эфиров глюкозилэтиленгликоля ($V_R^{отн}$ 1,38; фракция II) и галактозилэтиленгликоля ($V_R^{отн}$ 1,11; фракция V) [12]. Структура этих соединений как гексозидов этиленгликоля была подтверждена данными хромато-масс-спектрометрии. Оказалось, что масс-спектры веществ с $V_R^{отн}$ 1,11 и 1,38 содержали пики всех ионов (m/e 584, 569, 437, 248 и 235), характерных для распада ТМС-гексапирозидов этиленгликоля под электронным ударом [12]. Поскольку на газожидкостных хроматограммах (рис. 3) пики ТМС-производных глюкозида и галактозида этиленгликоля совпадали

**Характеристика фракций, полученных при колоночной
хроматографии метанолрастворимых липидов семян
кукурузы на силикагеле**

Фракция	R_f *	Вес липидов, мг	Выход, % от суммарного количества липидов, растворимых в 95%-ном метаноле
I	0,9	425	14,9
II	0,9; 0,8; 0,7	340	11,7
III	0,7; 0,6; 0,5; 0,4	390	13,4
IV	0,6; 0,5; 0,4	120	4,1
V	0,4; 0,3; 0,2	390	13,4
VI	0,1; 0,00	980	33,8

* Значения R_f получены при ТСХ на силикагеле в системе хлороформ — метанол (8 : 2).

с пиками ТМС-эфиров синтетических 1-О-β-D-глюкопиранозил- и 1-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоля [12] и отличались от пиков соответствующих α-аномеров, можно сделать вывод, что природные гликозиды этиленгликоля также являются 1-О-β-D-гликопиранозидами.

Так как, по данным ТСХ, суммарные гептанрастворимые липиды хлороформ-метанольного экстракта семян кукурузы содержали лишь сравнительно небольшие количества гликолипидов (рис. 1), их без дальнейшего разделения дезацилировали и анализировали образовавшиеся гликозиды полиолов согласно схеме. Результаты ГЖХ и комбинированной ГЖХ-масс-спектрометрии ТМС-эфиров гликозидов полиолов показали, что во фракции гептанрастворимых липидов также содержатся производные галактозидов глицерина и этиленгликоля (рис. 4). Так как гликозиды этиленгликоля и глицерина освобождаются в результате щелочного дезацилирования, они, по-видимому, содержатся в исходном экстракте в ацилированной форме. Как известно, О-ацилгалактозилдиглицериды [15, 16] могут образовываться путем ферментативного ацилирования гликозилдиглицеридов в процессе экстракции липидов. Чтобы проверить возможность образования ацильных производных гликозидов этиленгликоля в процессе выделения, мы провели паряду с хлороформ-метанольной экстракцией сухих семян кукурузы экстракцию свежих семян горячим изопропанолом (в условиях, вызывающих быструю денатурацию ацилтрансфераз и других ферментов биосинтеза и метаболизма липидов [17]). Сравнение состава хлороформ-метанольного и изопропанольного экстрактов с помощью ТСХ (рис. 1) показало, что в обоих экстрактах содержатся одни и те же гликолипиды. Соотношение отдельных типов гликолипидов в хлороформ-метанольном и изопропанольном экстрактах также существенно не различается: в обоих случаях на тонкослойных хроматограммах видны одинаковые по интенсивности пятна веществ, соответствующих моногликозилдиглицеридам (R_f 0,4) и моноацильным производным гликозидов этиленгликоля (R_f 0,2) (рис. 1, а). Полученные результаты показывают, что ацильные производные галактозил- и глюкозилэтиленгликоля, по-видимому, не образуются в процессе экстракции липидов, а содержатся в созревающих семенах кукурузы.

Фракция V, выделенная колоночной хроматографией из метанолрастворимых липидов семян кукурузы, содержала заметное количество (~ 10 мкг/мг) вещества, которое при ТСХ имело такую же подвижность, что и моноацильное производное галактозида этиленгликоля. Судя по данным ТСХ продуктов ацетилирования, в ней присутствовали по крайней мере два типа гликолипидов. Перацетильное производное одного из них совпадало по R_f с синтетическим 1-пальмитойл-2-О-(β-D-тетраацетилгалактопиранозил)этиленгликолем (R_f 0,6); второй ацетат был близок по

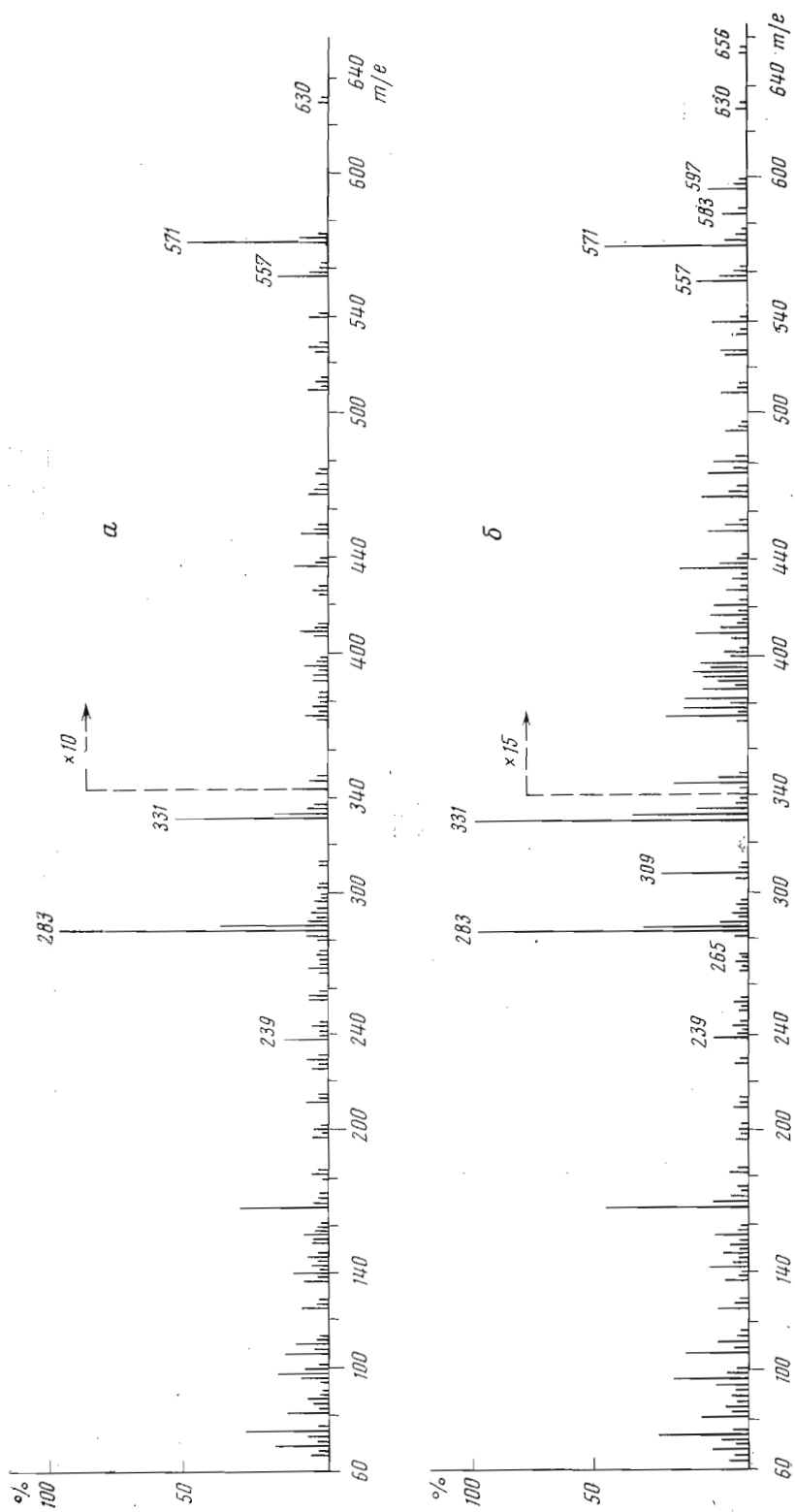


Рис. 5. Масс-спектры ацетатов моноацильных производных галактозилэтиленгликоля: а — ацетат синтетического 1-пальмитоил-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоля, б — ацетат фракции моноацильных производных галактозилэтиленгликоля

R_f к ацетилированным цереброзидам мозга (R_f 0,7) и давал в результате кислотного метанолиза смесь сфингозиновых оснований, метилгликозидов и метиловых эфиров α -оксикислот, идентифицированных методом ТСХ.

Ацетат с R_f 0,6 выделяли препаративной ТСХ на силикагеле и исследовали методом масс-спектрометрии. Предварительно мы показали, что фрагментация синтетического 1-пальмитоил-2-О-(β -D-тетраацетил-галактопиранозил)этиленгликоля под электронным ударом протекает аналогично фрагментации тетраацетильных производных галактозилдиглицеридов, описанной ранее [18]. В масс-спектре синтетического диольного галактолипида (рис. 5, а) имеется малоинтенсивный пик молекулярного иона (M^+ , m/e 630). Основным направлением распада M^+ является разрыв связи при гликозидном кислороде, в результате чего образуется ион с m/e 283, включающий ацилдиольную часть молекулы, и углеводный фрагмент с m/e 331. Дальнейший распад иона с m/e 283 приводит к ацилиевому иону с m/e 239, характеризующему жирнокислотный

состав гликолипида (в данном случае $[C_{15}H_{31}CO]^+$). Углеводный ион (m/e 331) распадается, как и в случае ацетатов галактозилдиглицеридов, с отщеплением нескольких молекул CH_3COOH и $CH_2=C\equiv O^-$ и образованием ряда ионов, специфичных для всех изученных гексозидов [18]. Наконец, потеря M^+ элементов $[CH_3COO]^-$ и $[CH_3COO=CH_2]^+$ приводит соответственно к образованию ионов с m/e 557 и 571, которые наряду с M^+ могут быть использованы для характеристики отдельных компонентов смесей ацильных производных гликозидов этиленгликоля.

Рассмотрение масс-спектра ацетата с R_f 0,6 (рис. 5, б) показывает, что в нем имеется M^+ (m/e 630) и все перечисленные выше фрагменты, характерные для распада 1-пальмитоил-2-О-(β -D-тетраацетилгалактопиранозил)этиленгликоля (m/e 571, 557, 283, 239). Наряду с ними в масс-спектре имеется ряд пиков ионов, отличающихся от названных характеристических фрагментов 1-пальмитоил-2-О-(β -D-галактопиранозилтетраацетил)этиленгликоля на 26 массовых единиц (m/e 656, 597, 583, 309, 265). Разница в 26 массовых единиц, соответствующая группировке $CH=CH$, указывает на то, что в состав фракции с R_f 0,6 наряду с 1-пальмитоил-2-О-(β -D-галактопиранозил)этиленгликолем входит и соответствующий олеиновый аналог.

Для окончательного установления строения моноацильных производных 1-О-(β -D-галактопиранозил)этиленгликоля семян кукурузы тетраацетильные производные последних были подвергнуты щелочному дезацилированию. Продукты дезацилирования разделили распределением между хлороформом и водой. Анализ водорастворимой фракции (см. опыт 6) показал, что она состоит практически только из галактозида, этиленгликоля (рис. 6, а), в то время как хлороформный экстракт содержит, по данным ГЖХ (рис. 6, б), смесь пальмитиновой (70%), стеариновой (5%) и олеиновой (25%) кислот.

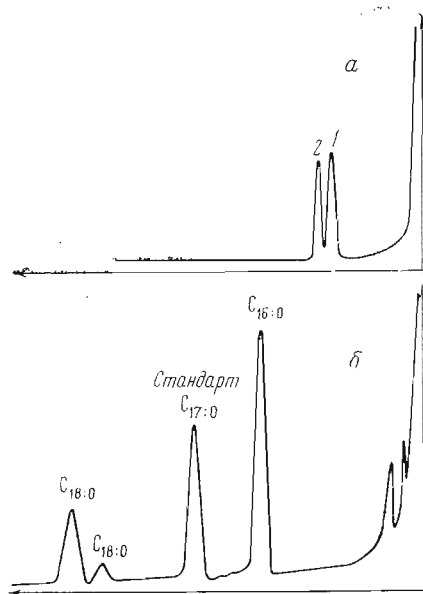


Рис. 6. ГЖХ продуктов щелочного дезацилирования моноацильного производного галактозилэтиленгликоля, выделенного из фракции V: а — ТМС-эфиры гликозидов полиолов (1 — миоинозит (стандарт), 2 — галактозилэтиленгликоль); б — метиловые эфиры (жирных кислот)

Таким образом, показано, что в созревающих семенах кукурузы содержатся диольные гликолипиды — ацильные производные 1-О-β-D-глюкопиранозил- и 1-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоля. Основными представителями диольных гликолипидов, выделенными из суммарных липидов семян кукурузы, являются 1-пальмитоил-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоль, 1-стеароил-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоль и 1-олеоил-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоль. Присутствие в семенах кукурузы производных гликозидов этиленгликоля с большим числом ацильных остатков также представляется вероятным. Содержание ацилированных гликозидов этиленгликоля в суммарных липидах кукурузы составляло 1,1% (считая на вес суммарного липидного экстракта), или 50—60% общего количества гликозилдиглицеридов.

Экспериментальная часть

Использовали семена кукурузы (сорт «Московская-5», выращен в 1974 г. на агробиостанции МГУ «Чашниково»), собранные через 15 сут после опыления.

Растворители очищали по стандартным методикам и перегоняли непосредственно перед употреблением. Для колоночной хроматографии липидов использовали силикагель КСК (100—150 меш), промытый горячей разбавленной (1 : 5) азотной кислотой, водой и метанолом и активированный при 110°, а также силикагель «Л» («Chemapol», ЧССР). Аналитическую ТСХ проводили на пластинках размером 6 × 9 и 13 × 18 см с силикагелем КСК (150—200 меш), закрепленным 5% гипса (толщина слоя 0,5 мм). Для препаративной ТСХ применяли пластинки размером 20 × 20 см с незакрепленным слоем силикагеля КСК толщиной 1 мм. Пятна липидов обнаруживали 25%-ным раствором серной кислоты в метаноле, аммиачным раствором азотнокислого серебра и антроновым реагентом [19].

Газохроматографический анализ ТМС-эфиров гликозидов полиолов проводили на хроматографе фирмы «Руче» с β-ионизационным детектором (колонокка размером 1200 × 4 мм с 3% силикона SE-30 на хромосорбе W, 80—100 меш, температура 200°, расход аргона 60 мл/мин), а также на хроматографе фирмы «Руче Unicam» (серия 104, модель 64 с дифференциальным пламенно-ионизационным детектором, колонка размером 1500 × 4 мм с 3% силикона SE-30 на хромосорбе W, 80—100 меш, температура 180°).

Метилловые эфиры жирных кислот определяли на приборе «Цвет-6-69А» с пламенно-ионизационным детектором. Колонка 2000 × 5 мм с 10% полиэтиленгликолядипата на хромосорбе W, 80—100 меш, температура 180°, расход газа-носителя 50—60 мл/мин.

Комбинированную ГЖХ-масс-спектрометрию ТМС-эфиров гликозидов полиолов проводили на приборе LKB-9000, снабженном колонкой размером 1500 × 3 мм с 3% SE-30 на хромосорбе W (80—100 меш). Температуру термостата повышали в ходе анализа с 200 до 280° со скоростью 3 град/мин. Температура дозатора 220°, молекулярного сепаратора и ионного источника 240°. Энергия ионизирующих электронов 70 эВ.

1. *Экстракция липидов.* а) Смесью хлороформа и метанола из сухих семян. Свежесобранные початки освобождали от оберточных листьев и подвергали сублимационной сушке. 16,2 г сухих семян измельчали и экстрагировали смесью хлороформ — метанол, 2 : 1 (4 × 400 мл). Экстракт разбавляли 20% воды, хлороформный слой отделяли и упаривали в вакууме, остаток реэкстрагировали хлороформом, хлороформный раствор упаривали в вакууме. Суммарные липиды (5,25 г) растворяли в абс. бензоле и сохраняли при 0° в запаянных ампулах.

б) Изопропанолом и смесью изопропанол — хлороформ из свежих семян. 226 г свежесобранных семян кукурузы растирали в ступке с 600 мл горячего изопропанола. Полученную смесь быстро фильтровали, не-

сколько раз промывая осадок на фильтре свежими порциями кипящего изопропанола (всего 300 мл). Измельченные семена переносили в ступку и еще раз растирали их с 400 мл горячей смеси хлороформ — изопропанол (1 : 1). Экстракт отделяли фильтрованием, осадок промывали на фильтре свежими порциями смеси хлороформ — изопропанол (1 : 1) (всего 200 мл) и чистым хлороформом (200 мл). Все полученные экстракты объединяли и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в смеси хлороформ — метанол (2 : 1) и разбавляли 20% воды. Хлороформный слой отделяли и упаривали в вакууме. Остаток (суммарные липиды, 2,45 г) хранили как описано выше.

2. *Распределение суммарных липидов между гептаном и 95%-ным метанолом.* К раствору 5,25 г суммарных липидов, выделенных из высушенных семян кукурузы, в 350 мл *n*-гептана, насыщенного 95%-ным метанолом, прибавляли 350 мл 95%-ного водного метанола, насыщенного *n*-гептаном. Смесь встряхивали, слои разделяли и упаривали. Вес липидов, растворившихся в *n*-гептане, — 2,3 г, в водном метаноле — 2,9 г. Обе фракции липидов растворяли в абс. бензоле и анализировали ТСХ (рис. 1).

Суммарные липиды, полученные из свежих семян экстракцией изопропанолом (2,45 г), подвергали той же процедуре. В результате получили 1,15 г гексанрастворимых и 1,3 г метанолрастворимых липидов.

3. *Колоночная хроматография метанолрастворимых липидов семян кукурузы.* 2,9 г метанолрастворимых липидов, выделенных из сухих семян кукурузы, наносили на колонку размером 450 × 45 мм со 150 г силикагеля КСК (80—150 меш). Липиды элюировали последовательно 500 мл хлороформа, 2, 4, 6, 8, 20%-ными растворами метанола в хлороформе (порциями по 600 мл) и 600 мл метанола, отбирая фракции по 50 мл. Последние анализировали ТСХ на силикагеле; фракции, содержащие вещества с одними и теми же значениями R_f , объединяли и упаривали; получили шесть объединенных фракций, характеристика которых приведена в таблице.

4. *Щелочное дезацилирование липидов семян кукурузы. Разделение и анализ продуктов дезацилирования.* а) Суммарные гептанрастворимые липиды. К раствору 250 мг суммарных гептанрастворимых липидов в 10 мл хлороформа прибавляли 10 мл 0,1 М КОН в 98%-ном метаноле. Реакционную смесь нагревали 30 мин при 40°, охлаждали и разбавляли 30 мл воды и 50 мл хлороформа. Воднометанольный слой отделяли, хлороформный — 2 раза экстрагировали водой (порциями по 10 мл). Объединенные водно-метанольные экстракты нейтрализовали ионообменной смолой дауэкс-50 (H-форма) и упаривали в вакууме. Остаток (суммарные водорастворимые продукты дезацилирования) растворяли в 1 мл метанола и делили препаративной ТСХ на одной пластинке в системе хлороформ — метанол — вода (65 : 25 : 4). Зоны, соответствующие по значениям R_f гликозидам глицерина и этиленгликоля, вырезали; вещества элюировали с силикагеля метанолом. Объединенный метанольный элюат стандартизировали 250 мкг миоинозита и досуха упаривали в вакууме. Остаток растворяли в 2 мл пиридина и силилировали 0,4 мл гексаметилдисилазана и 0,2 мл триметилхлорсилана (1 ч, 20°). Полученные ГМС-эфиры анализировали методом ГЖХ (рис. 4).

б) Фракции метанолрастворимых липидов. Фракции I—VI (по 20 мг) (таблица) дезацилировали нагреванием с 1,0 мл 0,1 М КОН в 98%-ном метаноле. Продукты реакции обрабатывали так, как описано выше, и анализировали ТСХ (рис. 2). Водорастворимые продукты дезацилирования тех фракций, в которых, по данным аналитической ТСХ, содержались гликозиды этиленгликоля, силилировали и анализировали методом ГЖХ (рис. 3, а—в) и хроматомакс-спектрометрии.

5. *Выделение и анализ фракции, содержащей моноацильные производные галактозида этиленгликоля.* 390 мг липидов фракции V (таблица) хроматографировали на 8 препаративных пластинках с силикагелем КСК

в системе хлороформ — метанол (8 : 2). Зону с R_f 0,4 вырезали, липиды с силикагеля элюировали смесью хлороформ — метанол (1 : 1). Упариванием элюата получали 300 мг хроматографически однородной фракции с R_f 0,4. Затем 40 мг этой фракции ацетилировали 8 мл реагента, приготовленного из 9,6 мл пиридина, 0,16 мл 72%-ной хлорной кислоты и 1,36 мл уксусного ангидрида [20] (12 ч, 25°). К реакционной смеси прибавляли 10 мл метанола, оставляли на 15 мин и упаривали досуха. Остаток растворяли в 30 мл хлороформа и промывали водой (5 × 5 мл). ТСХ продуктов ацетилирования этой фракции в системе эфир — бензол (4 : 1) показала присутствие двух веществ (R_f 0,6 и 0,7), которые разделяли на пластинке с силикагелем. Хроматограмму проявляли в той же системе, зоны с R_f 0,7 и 0,6 вырезали и элюировали хлороформом. Ацетат с R_f 0,6 анализировали методом масс-спектрометрии с вводом образца непосредственно в источник ионов. Далее 10 мг этого же вещества дезацетилировали в описанных выше условиях (опыт 4). Продукты реакции стандартизовали 2 мг инозита и 2 мг метилмаргарата, распределяли между водой и хлороформом. Хлороформный слой 2 раза экстрагировали водой. Водные экстракты объединяли и упаривали. Остаток силилировали и анализировали ГЖХ (рис. 6, а). Хлороформный слой упаривали. Метилловые эфиры жирных кислот растворяли в эфире и анализировали методом ГЖХ (рис. 6, б).

Ацетат с R_f 0,7 подвергали кислотному метанолизу; продукты реакции анализировали методом ТСХ в системе хлороформ — метанол — вода (65 : 25 : 4).

6. Синтез стандартов. а) 1-Пальмитоил-2-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоль. К раствору 2 г (0,005 моль) 1-О-β-D-тетраацетилгалактопиранозилэтиленгликоля [12] в 7 мл хлороформа добавили 1,8 мл пиридина и 2,75 г (0,01 моль) пальмитоилхлорида в 3 мл хлороформа. Смесью перемешивали 12 ч при комнатной температуре, упаривали досуха, к остатку прибавляли 100 мл сухого эфира и 100 мл 0,5 н. серной кислоты. Эфирный слой промывали 10%-ным раствором карбоната натрия и 5%-ным раствором бикарбоната натрия, высушивали сульфатом магния и упаривали. Полученный желтоватый остаток растворяли в смеси эфир — метанол (1 : 1), добавляли активированный уголь, кипятили с обратным холодильником, фильтровали и упаривали. Перекристаллизацией остатка из метанола получили 3 г 1-пальмитоил-2-О-(β-D-тетраацетилгалактозил)-этиленгликоля с т. пл. 63—64°. $[\alpha]_D^{20}$ —9,8° (с 6,6, хлороформ).

3 г (0,005 моль) 1-пальмитоил-2-О-(β-D-тетра-О-ацетилгалактозил)-этиленгликоля растворяли в 50 мл горячего 85%-ного этанола, прибавляли 20 мл 85%-ного этанола, содержащего 1,94 мл (0,04 моль) гидразингидрата. Смесью оставляли на 5 ч при комнатной температуре, после чего кипятили 25 мин с обратным холодильником. Далее реакционную смесь переносили в колбу, содержащую 200 мл холодной воды, и 4 раза экстрагировали хлороформом. Экстракты объединяли, промывали водой, сушили сульфатом магния и упаривали. Получали 1,8 г смеси 1-пальмитоил-2-О-β-D-галактозилэтиленгликоля и его моноацетата. 200 мг этой смеси растворяли в 1 мл хлороформа и делили на трех препаративных пластинках в системе хлороформ — метанол (9 : 1). Зоны с R_f 0,3 и 0,6 вырезали, вещества элюировали смесью хлороформ — метанол (1 : 1). Упариванием элюата зоны с R_f 0,3 получали 50 мг 1-пальмитоил-2-О-β-D-галактозилэтиленгликоля с т. пл. 85,5—86,5°. $[\alpha]_D^{20}$ —14,4° (с 0,77, хлороформ). Найдено, %: С 62,09; Н 9,98. $C_{24}H_{46}O_8$. Вычислено, %: С 62,34, Н 9,96.

Упариванием элюата зоны с R_f 0,6 получали 30 мг моноацетильного производного 1-пальмитоил-2-О-(β-D-галактопиранозил)этиленгликоля с т. пл. 86—87,5°. $[\alpha]_D^{20}$ —4,5° (с 3,3, хлороформ). Найдено, %: С 61,63, Н 9,09. $C_{26}H_{48}O_9$. Вычислено, %: С 61,90, Н 9,52.

б) Перацетилированные производные галактопиранозилэтиленгликоля. К раствору 448 мг (2 ммоль) синтетического галактозида этиленгликоля [12] в смеси 4 мл абс. хлороформа и 4 мл абс. пиридина при перемешива-

нии прибавляли раствор 12 ммоль стеароилхлорида или пальмитоилхлорида в 5 мл абс. хлороформа. Реакционную смесь перемешивали 4 ч, упаривали досуха. К остатку прибавляли 100 мл воды, 3 мл 5%-ной соляной кислоты и 100 мл эфира. Эфирный слой отделяли, 2 раза промывали 5%-ным раствором бикарбоната натрия, высушивали сульфатом магния и упаривали. Остаток перекристаллизовывали из хлороформа. Выход смеси ацильных производных составлял 1,8—2,0 г. 120 мг этой смеси растворяли в 0,5 мл хлороформа и наносили на две пластинки размером 13 × 18 см с окисью алюминия (активность II, толщина слоя 1 мм). Хроматограммы проявляли в системе бензол — эфир (3 : 1) и обнаруживали парами йода. Основную зону (R_f 0,9) вырезали, вещества элюировали хлороформом. Упариванием элюатов получали пентаацильные производные галактозилэтиленгликоля.

Выход пентастеароилгалактозилэтиленгликоля 35 мг, т. пл. 66—66,5°. $[\alpha]_D^{20} + 1,3^\circ$ (с 3,4, хлороформ). Найдено, %: С 75,84, Н 11,89. $C_{98}H_{186}O_{12}$. Вычислено, %: С 75,68, Н 11,97.

Выход пентапальмитоилгалактозилэтиленгликоля 50 мг, т. пл. 55—56,5°. $[\alpha]_D^{20} + 4^\circ$ (с 3,3, хлороформ). Найдено, %: С 74,98, Н 11,73. $C_{88}H_{166}O_{12}$. Вычислено, %: С 74,68, Н 11,74.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бергельсон Л. Д. (1969) *Progr. Chem. Fats and other Lipids*, 10, 241—263.
2. Tanimura A. (1961) *Chem. Pharm. Bull.*, Tokyo, 9, 47—53.
3. Carter H. E., Johnson P., Teets D. W., Ju R. K. (1963) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 13, 156—158.
4. Вавер В. А., Попова С. М., Головкина Л. С., Розынов Б. В., Бергельсон Л. Д. (1972) *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 393—400.
5. Бергельсон Л. Д., Вавер В. А., Проказова Н. В., Ушаков А. Н., Попкова Г. А. (1966) *Biochim. et biophys. acta*, 116, 511—520.
6. Вавер В. А., Писарева Н. А., Бергельсон Л. Д. (1971) *Chem. and Phys. Lipids*, 7, 75—92.
7. Varanasi U., Malins D. C. (1969) *Science*, 166, 1158—1159.
8. Бергельсон Л. Д., Вавер В. А., Проказова Н. В., Ушаков А. Н., Розынов Б. В., Стефанов К., Илюхина Л. И., Симопова Т. Н. (1972) *Biochim. et biophys. acta*, 260, 571—582.
9. Baumann W. J., Schupp E., Lin J. T. (1975) *Biochemistry*, 14, 841—847.
10. Вавер В. А., Проказова Н. В., Страхова Г. Д., Бергельсон Л. Д. (1969) *Докл. АН СССР*, 188, 227—229.
11. Проказова Н. В., Тодрия К. Г., Розынов Б. В., Вавер В. А., Бергельсон Л. Д. (1974) *Докл. АН СССР*, 214, 1448—1451.
12. Проказова Н. В., Тодрия К. Г., Вавер В. А., Бергельсон Л. Д. (1974) *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 2569—2574.
13. Carter H. E., Ohno K., Nojima S., Tipton C. L., Stanasev W. L. (1961) *J. Lipid Res.*, 2, 215—222.
14. Pries C., Aumont A., Bottcher J. F. (1966) *Biochim. et biophys. acta*, 125, 277—287.
15. Heinz E. (1967) *Biochim. et biophys. acta*, 144, 321—332.
16. Heinz E. (1967) *Biochim. et biophys. acta*, 144, 333—343.
17. Кейтс М. (1975) *Техника липидологии*, с. 75, «Мир», М.
18. Батраков С. Г., Ильина Е. Ф., Розынов Б. В., Бергельсон Л. Д. (1974) *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 2229—2236.
19. Eichberg J. J., Whittaker V. D., Dawson R. M. C. (1964) *Biochem. J.*, 92, 91—100.
20. Критчфилд Ф. (1965) *Анализ основных функциональных групп в органических соединениях*, с. 107, «Мир», М.

Поступила в редакцию
20.VIII.1975

DIOL LIPIDS. XXIX. ACYLATED ETHYLENEGLYCOL
GLYCOSIDES IN CORN SEEDS

VAVER V. A., TODRIA K. G., PROKAZOVA N. V.,
BERGELSON L. D.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

Ripening corn seeds were shown to contain appreciable amounts of diol glycolipids, namely 1-monoacyl derivatives of 2-O- β -D-galactopyranosylethyleneglycol. The main components of this lipid class isolated from «Moskovskaya-5» corn seeds (15 days after pollination) were 1-palmitoyl-2-O- β -D-galactopyranosylethyleneglycol, 1-stearoyl-2-O- β -D-galactopyranosylethyleneglycol and 1-oleoyl-2-O- β -D-galactopyranosylethyleneglycol. The acylated ethylene glycol glycosides in corn seeds amounted about 1% of the total lipids, or 50–60% of the glycosyl diglycerides. The syntheses of 1-palmitoyl-2-O- β -D-galactopyranosylethyleneglycol, pentapalmitoyl- and pentastearoyl galactopyranosyl ethylene glycol were performed and the mass spectra of acetyl derivatives of 1-monoacyl-2-O- β -D-galactosylethyleneglycol recorded.
