



УДК 547.915.5'917

ДИОЛЬНЫЕ ЛИПИДЫ.

XXX. АЦИЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 1-О-β-D-ГЛЮКОЗИЛЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ
В СОЗРЕВАЮЩИХ СЕМЕНАХ ПШЕНИЦЫ *

*Вавер В. А., Стоянова В. Г., Гейко Н. С.,
Нечаев А. П., Тодрия К. Г., Бергельсон Л. Д.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

*Московский технологический институт пищевой
промышленности*

В липидах созревающих семян пшеницы наряду с гликозилдиглицеридами содержатся также диольные гликолипиды — ацильные производные 1-О-β-D-глюкопиранозилэтиленгликоля. Соответствующий гликозид этиленгликоля обнаружен с помощью тонкослойной и газожидкостной хроматографии в продуктах щелочного дезацилирования суммарных нейтральных липидов и фракции моногликозилдиглицеридов семян пшеницы, собранных на стадии молочно-восковой спелости. Его структура доказана методом комбинированной газожидкостной хроматографии — масс-спектрометрии триметилсилиловых производных.

Недавно было показано, что в созревающих семенах кукурузы содержатся ацильные производные 1-О-β-D-галактопиранозилэтиленгликоля — представители неизвестного ранее типа липидов (диольные гликолипиды) [1, 2]. Данное сообщение посвящено исследованию диольных гликолипидов созревающих семян пшеницы.

При адсорбционной хроматографии на силикагеле ацильные производные гликозидов этиленгликоля, содержащие 2 и более остатков жирных кислот, не отделяются от свободных стеринов и диглицеридов. Об их содержании можно, однако, судить по присутствию диолгликозидов в продуктах щелочного дезацилирования суммарных нейтральных липидов, так как гликозиды этиленгликоля и других двухатомных спиртов могут быть выделены из продуктов реакции и идентифицированы методами ТСХ, ГЖХ и комбинированной ГЖХ-масс-спектрометрии [3].

Моноацильные производные гликозидов этиленгликоля близки по своему хроматографическому поведению к моногликозилдиглицеридам [2]. О присутствии такого рода соединений во фракциях моногликозилдиглицеридов можно судить по наличию диолгликозидов в продуктах щелочного дезацилирования этих фракций.

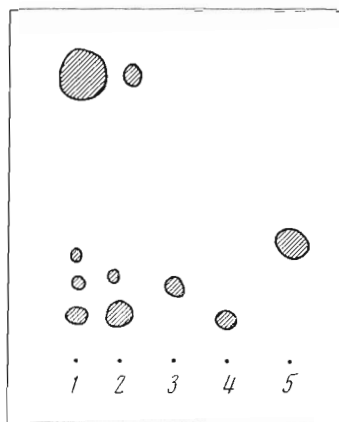
Нами производилось определение ацилированных диолгликозидов в суммарных нейтральных липидах и во фракции моногликозилдиглицеридов семян пшеницы «Мироновская-808», собранных на стадии молочно-восковой спелости. Выделение индивидуальных диольных гликолипидов не

* Сообщение XXIX см. предыдущую статью в этом номере журнала.

входило в задачу предварительного исследования, результаты которого изложены в настоящем сообщении. Схема разделения и анализа липидов была построена с таким расчетом, чтобы в результате минимума подготовительных стадий выяснить, содержатся ли ацилированные гликозиды этиленгликоля в созревающих семенах пшеницы.

Суммарные нейтральные липиды выделяли из общей смеси липидов, экстрагированных из семян пшеницы, колоночной хроматографией на силикагеле. Фракцию моногликозиддиглицеридов получали распределением суммарных липидов между гептаном и метанолом и последующей колоночной хроматографией на силикагеле метанолрастворимых липидов [4]. Судя по тонкослойной хроматограмме (рис. 1), в продуктах щелочного дезацилирования суммарных нейтральных липидов и моногликозиддиглицеридов созревающих семян пшеницы содержатся вещества,

Рис. 1. ТСХ водорастворимых продуктов щелочного дезацилирования суммарных нейтральных липидов (1) и суммарных моногликозиддиглицеридов (2) семян пшеницы; 3 — глюкозилэтиленгликоль, 4 — глюкозилглицерин, 5 — метилглюкозид. Система хлороформ — метанол — вода (65 : 25 : 4). Обнаружение антроновым реагентом [5]



совпадающие по значению R_f с гликозидами этиленгликоля и глицерина и дающие характерное окрашивание при обнаружении их антроновым реагентом [5]. Для идентификации этих веществ смесь водорастворимых продуктов дезацилирования превращали в триметилсилиловые (ТМС-) эфиры и анализировали методом ГЖХ. Показано, что в смесях силилированных продуктов, полученных из суммарных нейтральных липидов, а также из фракции моногликозиддиглицеридов, наряду с галактозидом и глюкозидом глицерина присутствовало вещество с относительно высоким удерживаемым объемом ($V_R^{отн}$) 1,38 (рис. 2, пик 2). Как показало сравнение с синтетическими стандартами [3], это вещество по значению $V_R^{отн}$ отличалось от ТМС-эфира галактозида этиленгликоля, но совпадало с ТМС-эфиром глюкозида этиленгликоля. Масс-спектр этого соединения (рис. 2, ϵ), полученный при исследовании смеси ТМС-производных с помощью комбинированной ГЖХ-масс-спектрометрии, содержал пики всех фрагментов (m/e 584, 569, 437, 248 и 235), характерных для этиленгликольгексапиранозидов (см. [3]).

На основании полученных данных можно сделать вывод, что в гидролизате суммарных нейтральных липидов и моногликозиддиглицеридов семян пшеницы содержится глюкопиранозилэтиленгликоль. Поскольку на газожидкостных хроматограммах пик ТМС-эфира диолгликозида, полученного из семян пшеницы, совпадает с пиком синтетического 1-О- β -D-глюкопиранозилэтиленгликоля, можно предполагать, что гликольглюкозид семян пшеницы также имеет β -конфигурацию. Так как свободный глюкозид этиленгликоля отсутствует в природных липидах и обнаруживается только в продуктах их щелочного гидролиза, представляется вероятным, что он присутствует в семенах пшеницы в ацилированной форме.

Сравнение хроматографического поведения синтетических моноацильных и диацильных производных гликозидов этиленгликоля [2], моногалак-

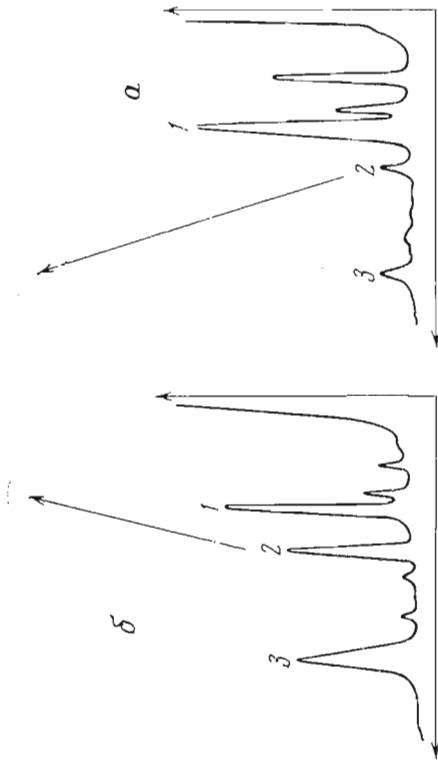
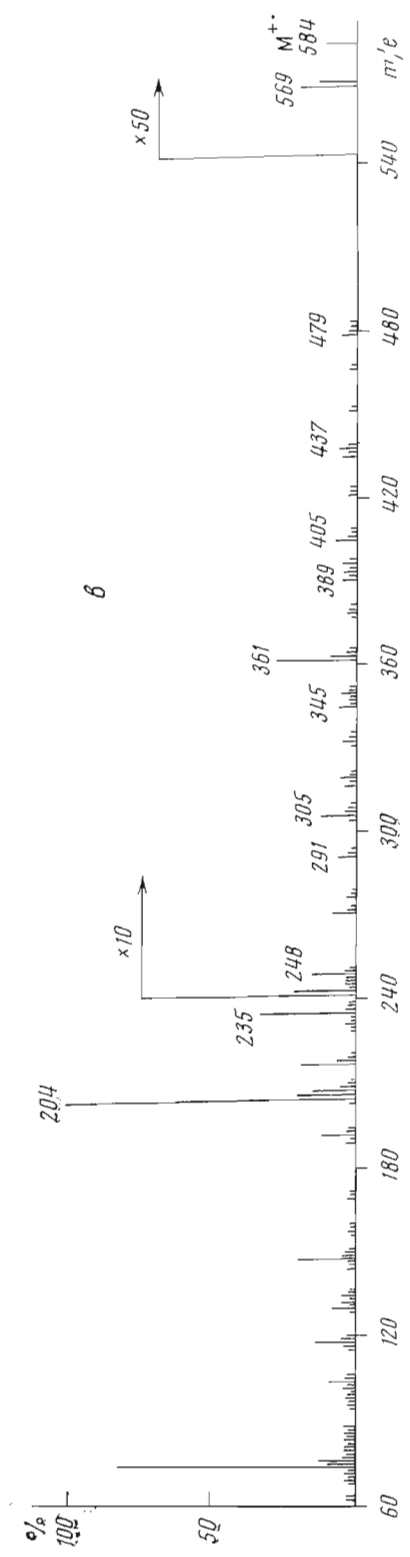


Рис. 2. Комбинированная ГЖХ-масс-спектрометрия ТМС-эфиров гликозидов полиолов, полученных щелочным дезацилированием суммарных нейтральных липидов (а) и суммарных моноглицеридглицеридов (б) семян пшеницы; ν — масс-спектр ТМС-эфира с ν_{R} 4,38 (пик 2). Пики 1, 3 — соответственно ТМС-эфиры моноозита (а — 100 мкг, б — 200 мкг) и глюкозилглицерина



тозилдиглицеридов и веществ, присутствующих в липидах созревающих семян пшеницы и дающих положительную реакцию с антроном (рис. 3), позволяет высказать предположение, что в последних содержатся моно-, ди- и триацильные производные глюкозида этиленгликоля. Их суммарное содержание в исследованном нами образце, судя по данным ГЖХ ТМС-производных гликозидов полиолов (рис. 2), не превышает 3—5% количества моногалактозилдиглицеридов.

Экспериментальная часть

Семена пшеницы «Мироновская-808», собранные в августе 1971 г. в стадии молочно-восковой спелости на опытном участке Института зернового хозяйства Нечерноземной зоны (станция Немчиновка, Московской области), подвергали сублимационной сушке. Сухие семена сохраняли в запаянных сосудах при -20° . Растворители абсолютировали по стандартным методикам и перегоняли непосредственно перед употреблением. Для колоночной хроматографии липидов применяли силикагель «Л» («Сhemapol», ЧССР), 80—100 меш. Пластины для ТСХ (13×18 и 6×9 см) готовили с помощью аппликатора. В качестве адсорбента использовали силикагель марки КСК (150 меш), содержащий 5% гипса, толщина слоя 0,5 мм.

Газохроматографический анализ проводили на колонках размером 1500×4 мм с 3% силикона SE-30 на хромосорбе W (80—100 меш) при 180° . Размер пробы 1—2 мкл, расход газа-носителя 60 мл/мин. Прибор — хроматограф фирмы «Pye Unicam», серия 104, модель 24. Комбинированную ГЖХ-масс-спектрометрию проводили на приборе ЛКВ-9000 в условиях, описанных в предыдущей статье (см. [2]).

1. *Экстракция липидов.* 100 г сухих семян пшеницы экстрагировали смесью хлороформ — метанол, 2 : 1 (3×500 мл). Объединенный экстракт разбавляли 300 мл воды. Хлороформный слой отделяли, упаривали в вакууме. Остаток (суммарные липиды, 2,6 г) растворяли в 26 мл абс. бензола и сохраняли на холоду в запаянной ампуле.

2. *Выделение суммарных нейтральных липидов.* В колонку размером 140×35 мм помещали 25 г силикагеля в виде суспензии в хлороформе. Адсорбент промывали последовательно 100 мл смеси хлороформ — метанол (1 : 1) и 100 мл хлороформа. На подготовленный таким образом силикагель наносили бензольный раствор 500 мг суммарных липидов. Суммарные нейтральные липиды элюировали 300—350 мл хлороформа. Хлороформный элюат упаривали, остаток (200 мг) растворяли в 2 мл абс. бензола.

3. *Выделение фракции моногликозилдиглицеридов.* К раствору 1,8 г суммарных липидов семян пшеницы в 150 мл гептана, насыщенного 95%-ным метанолом, добавляли равный объем 95%-ного метанола, насыщенного *n*-гептаном. Смесь интенсивно встряхивали 5 мин, слой разделяли и упаривали в вакууме. Вес липидов, содержащихся в гептановом слое, 1,18 г, в водно-метанольном — 510 мг. Липиды, содержащиеся в водно-метанольном слое, растворяли в 10 мл смеси хлороформ — метанол (1 : 1) и наносили на колонку размером 140×35 мм с 25 г силикагеля, подготовленного как описано выше. Фракцию суммарных моногликозилдиглице-

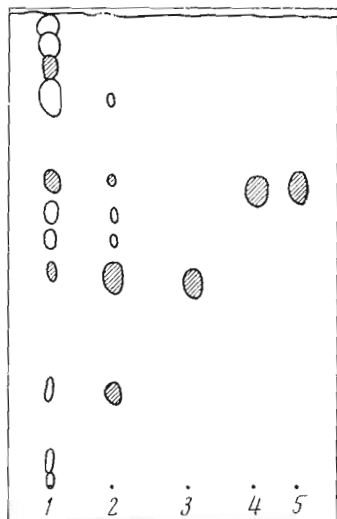


Рис. 3. ТСХ суммарных нейтральных липидов (1) и суммарных моногликозилдиглицеридов (2); 3 — 1-О-пальмитоил-2-галактозилэтиленгликоль, 4 — пальмитоилацетилгалактозилэтиленгликоль, 5 — фракция моногалактозилдиглицеридов пшеницы (получены по методике [4]). Система хлороформ — метанол (8 : 2). Обнаружение антроновым реагентом [5]

ридов элюировали смесью хлороформ — метанол (8 : 2). Элюат упаривали в вакууме. Остаток (300 мг) растворяли в 3 мл метанола и подвергали мягкому щелочному гидролизу.

4. *Дезацилирование суммарных нейтральных липидов и суммарных моноглицозидглицеридов. Разделение и анализ продуктов дезацилирования.* К раствору 150 мг суммарных нейтральных липидов в 1,5 мл бензола или такого же количества суммарных моноглицозидглицеридов в 1,5 мл метанола прибавляли 7,5 мл 0,1 н.КОН в 98%-ном метаноле [6]. Смесью нагревали 1—2 ч при 45°, охлаждали и нейтрализовали ионообменной смолой дауэкс-50 (Н-форма). Продукты реакции упаривали в вакууме и распределяли между хлороформом и водой. Водный слой отделяли, хлороформный слой экстрагировали водой (3 × 10 мл). Объединенный водный раствор упаривали досуха в вакууме. Остаток (суммарные водорастворимые продукты дезацилирования) растворяли в 1 мл абс. метанола и анализировали ТСХ на силикагеле в системе хлороформ — метанол — вода, 65 : 25 : 4 (рис. 1).

Суммарные водорастворимые продукты дезацилирования стандартизовали миоинозитом и досуха упаривали в вакууме. Остаток силилировали, как описано ранее [2], и ТМС-эфиры анализировали методами ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрии (рис. 2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Проказова Н. В., Тодрия К. Г., Розынов Б. В., Вавер В. А., Бергельсон Л. Д. (1974) Докл. АН СССР, 214, 1448—1451.
2. Вавер В. А., Тодрия К. Г., Проказова Н. В., Бергельсон Л. Д. (1976) Биоорганическая химия, 2, 383—394.
3. Проказова Н. В., Тодрия К. Г., Вавер В. А., Бергельсон Л. Д. (1974) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2569—2574.
4. Carter H. E., Ohno K., Nojima S., Tipton C. L., Stanacev N. L. (1961) J. Lipid Res., 2, 215—222.
5. Eickberg J. J., Whittaker V. P., Dawson R. M. C. (1964) Biochem. J., 92, 91—100.
6. Pries C., Aumont A., Botcher J. F. (1966) Biochim. et biophys. acta, 125, 277—287.

Поступила в редакцию
20.VIII.1975

LIPID LIPIDS. XXX. ACYL DERIVATIVES OF 1-O-β-D-GLUCOSYL ETHYLENEGLYCOL IN RIPENING WHEAT SEEDS

VAVER V. A., STOYANOVA V. G., GEYKO N. S.,
NECHAEV A. P., TODRIA K. G., BERGELSON L. D.

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

Ripening wheat seeds were shown to contain alongside with glycosyldiglycerides another type of neutral glycolipids — acyl derivatives of 1-O-β-D-glucopyranosyl ethylene glycol. The corresponding ethylene glycol glycosides were detected by thin layer chromatography and gas-liquid chromatography in the deacylation products of the total neutral lipids and the monoglycosyl diglyceride fraction of immature seeds. The structure has been established by combined gas-liquid chromatography — mass spectrometry of the trimethylsilyl ethers.