

И. Г. ЖУКОВА, Г. П. СМЕРНОВА, И. С. ГЛУХОДЕД,

член-корреспондент АН СССР Н. К. КОЧЕТКОВ

СИАЛОГЛИКОЛИПИДЫ МОРСКОГО ЕЖА *STRONGYLOCENTROTUS* *INTERMEDIUS*. СТРУКТУРА СФИНГОЗИНОВОГО ОСНОВАНИЯ И ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ

Ранее мы сообщали⁽¹⁾, что при кислотном гидролизе сиалогликолипидов морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* получается сфингозиновое основание по своему хроматографическому поведению подобное фитосфингозину из дрожжей. В настоящей работе приводится структура сфингозинового основания, установленная по результатам периодатного окисления.

Так как среди продуктов гидролиза, окисленных периодатом сиалогликолипидов, нам не удалось обнаружить сфингозиновое основание, то, следовательно, оно разрушается периодатом, т. е. керамидная часть молекулы гликолипида содержит свободную гликольную группировку*, при окислении которой должны образоваться смесь гомологов высших алифатических альдегидов и альдегид, связанный с деградированной олигосахаридной цепью. После окисления водного раствора 10 мг сиалогликолипида периодатом (0,01 M NaJO₄, 20° C, 3,5 часа, в темноте) реакционную смесь экстрагировали гексаном. В экстракте была обнаружена смесь высших жирных альдегидов, имеющая такую же хроматографическую подвижность в тонком слое, как и пальмитиновый альдегид (система: *n*-гексан — диэтиловый эфир — уксусная кислота (90 : 10 : 1), обнаружение 2,4-динитрофенилгидразином). Значение R_f в тонком слое силикагеля смеси *n*-нитрофенилгидразонов этой смеси альдегидов, полученной по⁽²⁾, совпадает со значением R_f *n*-нитрофенилгидразона пальмитинового альдегида (система: бензол — *n*-гексан — метанол (40 : 6 : 1,6)). При восстановлении смеси альдегидов NaBH₄ в метаноле была получена смесь высших жирных спиртов, имеющая в тонком слое силикагеля значение R_f , равное значению R_f *n*-гексадецилового спирта (система: хлороформ — метанол (9 : 1), обнаружение H₂SO₄). Выделенную при помощи препаративной хроматографии в тонком слое силикагеля смесь спиртов анализировали при помощи газо-жидкостной хроматографии (г.ж.х.)** на колонках с полярной (полинеопентилгликольсукцинат) (ПНПГС) и неполярной (SE-30) фазой.

Как видно из данных табл. 1, при периодатной деградации сиалогликолипида получается смесь высших жирных спиртов. Вещества, соответствующие пикам 1 и 2 хроматограммы, идентичны *n*-тридеканолу-1 и *n*-пентадеканолу-1. Вещества, соответствующие пикам 3 и 4, являются неразветвленными ненасыщенными C_{17:1} и C_{19:1} первичными спиртами, так как после гидрирования (Pd/C) эти спирты совпадают по времени удерживания с *n*-гептадеканолом-1 и *n*-нонадеканолом-1.

Таким образом, при периодатном окислении сиалогликолипидов образуется смесь высших жирных альдегидов с неразветвленной цепью, насыщенных, содержащих 13 и 15 углеродных атомов, и ненасыщенных с одной двойной связью, содержащих 17 и 19 углеродных атомов. Положе-

* Свободной аминогруппы в исходном сиалогликолипиде нет, так как он не дает окраски с вингидрином.

** Газо-жидкостную хроматографию проводили на «Pye Argon Chromatograph», размер колонки 120 × 0,5 см.

ние двойной связи в ненасыщенных альдегидах будет установлено в дальнейшем.

Второй альдегид, получающийся после окисления периодатом, должен быть азотсодержащим фрагментом сфингозинового основания. Этот фрагмент был получен из водорастворимой части продуктов окисления сиалогликолипидов, после восстановления его NaBH_4 и последующего метанолиза был обнаружен 2-аминопропандиол-1,3 с помощью электрофореза на бумаге (пиридин — ацетатный буфер, pH 4,5) и хроматографии в тонком слое силикагеля (система: хлороформ — метанол — 2 N NH_4OH (40 :

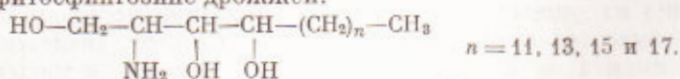
Таблица 1

Высшие жирные спирты, полученные при периодатной деградации сиалогликолипида *St. intermedius*

№№ пиков на хроматограмме	% от смеси спиртов (опред. по площ. пиков)	Время удерживания * на ПНПГС. 5% на хромосорбе W при 185° и скорости аргона 80 мл/мин		
		высшие жирные спирты из сиалогликолипида		стандарты первичных высших жирных спиртов
		до гидрирования	после гидрирования	
1	48,2	0,47	0,47	$\text{C}_{13}:0$ 0,47
2	37,5	1,00	1,00	$\text{C}_{15}:0$ 1,00
3	6,0	2,19	2,04	$\text{C}_{17}:0$ 2,04
4	8,3	4,23	4,12	$\text{C}_{19}:0$ 4,12

* По отношению к *n*-пентадеканолу-1.

: 14 : 2), обнаружение нингидрин). В качестве свидетеля использовали 2-аминопропандиол-1,3, синтезированный по (3). При обработке продуктов метанолиза, 2,4-динитрофторбензолом по (4) был получен 2-(2,4-динитрофениламино)-пропандиол-1,3, идентичный синтетическому 2-(2,4-динитрофениламино)-пропандиолу-1,3 по хроматографическому поведению в тонком слое силикагеля (системы: хлороформ — бензиловый спирт — уксусная кислота (70 : 30 : 1) и *n*-октан — изопропиловый спирт (63 : 15)) и по спектрам поглощения ($\lambda_{\text{max}} = 350 \text{ м}\mu$ (4)). Выделение 2-аминопропандиола-1,3 из продуктов периодатной деградации сиалогликолипида показывает, что гидроксильные группы находятся у 1,3 и 4 углеродных атомов, а аминогруппа — у 2 углеродного атома сфингозинового основания, т. е. занимают такое же положение, как и функциональные группы в фитосфингозине дрожжей:



Приведенные данные показывают, что сфингозиновое основание сиалогликолипида *St. intermedius* является смесью фитосфингозинов с длиной цепи 16 (48,2%) и 18 (37,5%) атомов углерода и дегидрофитосфингозинов с длиной цепи 20 (6,0%) и 22 (8,3%) атомов углерода. Из приведенных данных очевидно также, что олигосахаридная цепь гликолипида связана с первичной спиртовой группой фитосфингозина или дегидрофитосфингозина.

Как мы уже сообщали, в состав высших жирных кислот, ацилирующих аминогруппу фитосфингозина сиалогликолипидов *St. intermedius*, входят как незамещенные, так и монооксикислоты (3). Смесь метиловых эфиров жирных кислот, полученную при метанолизе 5 мг сиалогликолипида (1 N HCl в метаноле, 100°, 15 час.), делили на метиловые эфиры не-

замещенных и моноокси-замещенных кислот (система: дихлорэтан) при помощи препаративной хроматографии в тонком слое силикагеля и анализировали при помощи г.ж.х. * на колонках с полярной (ПНПГС) и неполярной (SE-30) фазой при температуре 185 и 203°.

Были идентифицированы незамещенные насыщенные неразветвленные $C_{14:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$ и $C_{20:0}$ кислоты (табл. 2), основным компонентом смеси (41% от общего количества незамещенных кислот) оказалась кислота, имеющая на SE-30 при 185° время удерживания 0,95 по отношению ко времени удерживания бегеновой ($C_{22:0}$) кислоты. После гидрирования

Таблица 2

Жирнокислотный состав сиалогликолипидов *St. intermedius*

№№ пиков на хроматограмме	% * от общей смеси незамещенных кислот	Время удерживания ** на колонке 10% SE-30 на хромосорбе W при 180°, скорость аргона 140 мл/мин		стандарты метиловых эфиров незамещенных кислот
		метиловые эфиры незамещенных высших жирных кислот сиалогликолипида		
		до гидрирования	после гидрирования	
1	8,4	0,55	0,55	$C_{14:0}$ 0,55
2	12,2	1,00	1,00	$C_{16:0}$ 1,00
3	12,4	2,00	2,00	$C_{18:0}$ 2,00
4	10,2	4,00	4,00	$C_{20:0}$ 4,00
5	41,7	7,50	8,40	$C_{22:0}$ 8,40
6	Следы	16,6	16,6	$C_{24:0}$ 16,6

Таблица 2а

№№ пиков на хроматограмме	% * от общей смеси α -оксикислот	Время удерживания *** на колонке 10% SE-30 на хромосорбе W при 203°, скорость аргона 140 мл/мин		стандарты метиловых эфиров α -оксизамещенных кислот
		метиловые эфиры α -оксизамещенных высших жирных кислот сиалогликолипида		
		до гидрирования	после гидрирования	
1	7,2	1,00	1,00	α -окси $C_{16:0}$ 1,00
2	7,1	2,70	2,70	α -окси $C_{18:0}$ 2,70
3	4,2	5,20	5,20	α -окси $C_{20:0}$ 5,20
4	71,7	9,8	10,3	α -окси $C_{22:0}$ 10,3

* Определено по площади пиков.
 ** По отношению к метил-пальмитату.
 *** По отношению к метил- α -оксипальмитату.

(Pd/C) эта кислота полностью совпала по времени удерживания с $C_{22:0}$ кислотой как на полярной, так и на неполярной фазе, следовательно, основным компонентом исходной смеси является неразветвленная мононенасыщенная $C_{22:1}$ кислота.

В смеси моно-оксизамещенных кислот (табл. 2а) были идентифицированы неразветвленные насыщенные α -оксизамещенные кислоты: α -окси-

* Метиловые эфиры моно-оксикислот были анализированы в виде О-триметилсилильных производных.

$C_{16:0}$, α -окси- $C_{18:0}$, α -окси- $C_{20:0}$ и неразветвленная ненасыщенная α -окси- $C_{22:1}$ кислота, которая является главным компонентом смеси оксикислот (70% от общего количества α -оксизамещенных кислот). Положение двойной связи в ненасыщенных $C_{22:1}$ кислотах будет установлено в дальнейшем.

Эти данные показывают, что состав жирных кислот сиалогликолипидов *St. intermedius* принципиально отличается от состава жирных кислот ганглиозидов млекопитающих. Известно, что в ганглиозидах α -оксикислоты отсутствуют, а основным компонентом смеси кислот (90%) является стеариновая кислота ($C_{18:0}$)⁽⁸⁻⁸⁾. В сиалогликолипидах *St. intermedius* имеется значительное количество α -оксикислот, кроме того, основным компонентом как α -оксикислот, так и незамещенных кислот являются мононенасыщенные $C_{22:1}$ кислоты, т. е. имеющие значительно более длинную цепь, чем кислоты ганглиозидов. Такое различие в жирнокислотном составе сиалогликолипидов *St. intermedius* и ганглиозидов млекопитающих дает возможность предположить, что сиалогликолипиды *St. intermedius* принимают участие в построении значительно большего числа специфических мембран, чем ганглиозиды, так как известно, например, что сфингогликолипиды с кислотами от C_{19} и выше являются необходимыми составляющими наиболее стабильных мембран⁽⁹⁾.

Институт органической химии
им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР
Москва

Поступило
18 VIII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. К. Кочетков, И. Г. Жукова и др., ДАН, 177, 1472 (1967). ² J. B. Wittenberg, S. R. Korey, F. H. Swenson, J. Biol. Chem., 219, 39 (1956). ³ H. P. Den Otter, Rec. trav. chim., Pays-Bas, 57, 13 (1938). ⁴ W. Grassmann, H. Hörmann, H. Endres, Chem. Ber., 86, 1477 (1953). ⁵ Н. К. Кочетков, И. Г. Жукова, Г. П. Смирнова, ДАН, 180, 996 (1968). ⁶ R. Ledeen, K. Salsman, Biochemistry, 4, 2225 (1965). ⁷ Y. Kishimoto, N. S. Radin, J. Lipid Res, 4, 139 (1963). ⁸ E. Klenk, W. Gielen, Zs. Physiol. Chem., 326, 144 (1961). ⁹ J. O'Brien, Science, 147, 1106 (1965).