Доклады Академии наук СССР
1955. Том 102, № 4

*БИОХИМИЯ*

С. М. МАНСКАЯ и Т. В. ДРОЗДОВА

# ФЕНОЛЬНЫЙ ГЛИКОЗИД ИЗ СФАГНОВОГО МХА

*(Представлено академиком А. П. Виноградовым 24 II 1955)*

Изучение химического состава лигнина в различных растительных группах филогенетического ряда имеет большое значение не только для понимания структуры лигнина, но и для определения сохранности лигнина в течение ряда геологических периодов. Особое внимание привлекают те группы растений, которые являются торфообразователями и углеобразователями, например сфагновые мхи.

Недавно нами было показано ([1]), что в сфагновом мхе нет настоящего полимеризованного лигнина, но имеются ароматические предшественники лигнина. Мы выделили из щелочно-растворимой фракции сфагнового мха методом щелочно-нитробензольного окисления смесь ванилина, сиреневаго альдегида и *п*-оксибензальдегида, разделили и идентифицировали их при помощи хроматографии на бумаге.

Целью настоящей работы являлось дальнейшее изучение ароматических соединений клеточной оболочки сфагнового мха (Sphagnum medium). 1 кг воздушно-сухого мха смалывался на мельнице, просеивался через сито и обрабатывался согласно приведенной схеме последовательно спирто-бензолом (1 : 1), водой и щелочью при нагревании.

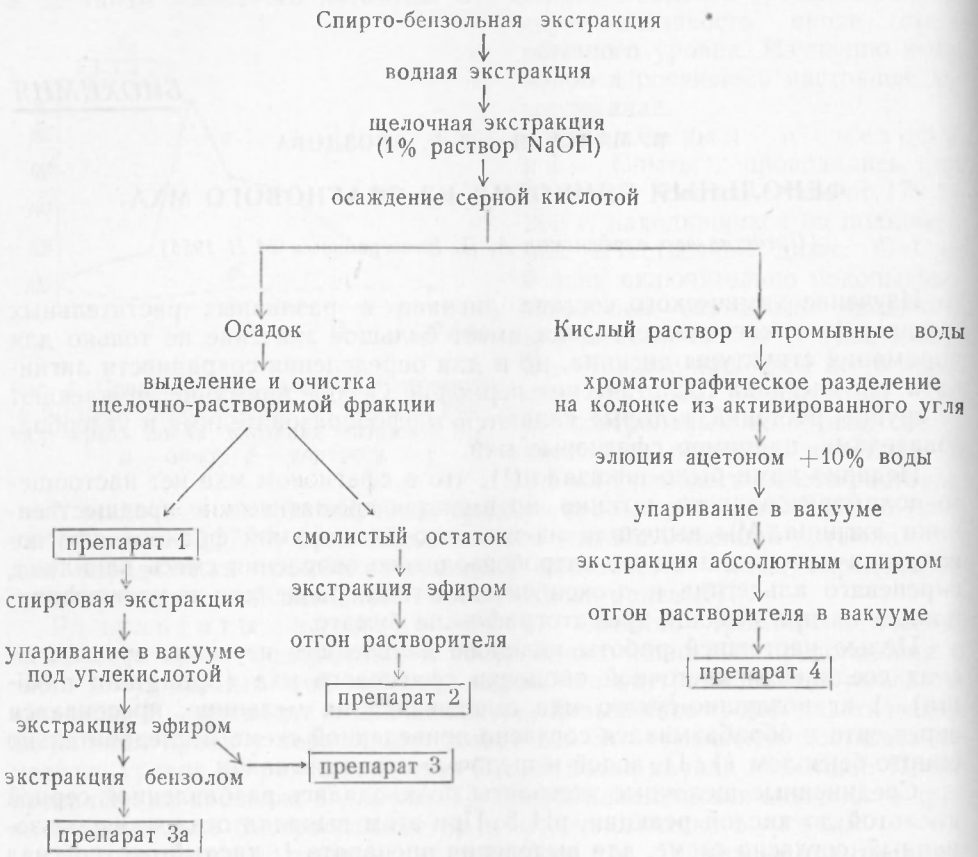
Соединенные щелочные экстракты подкислялись разбавленной серной кислотой до кислой реакции, pH 3. При этом выпадал осадок, использованный, согласно схеме, для выделения препарата 1; кислый раствор над осадком служил для выделения препарата 4. Осадок — щелочно-растворимая фракция клеточной оболочки сфагнового мха подвергался тщательной очистке по методу Бонди и Мейер ([2]). Полученный препарат 1 экстрагировался 96% спиртом, спирт отгонялся в вакууме под углекислотой, оставшийся густой сироп экстрагировался последовательно эфиром и бензолом. Эфирный и бензольный экстракты сушились сернокислым натрием, после этого растворители отгонялись. Оба остатка (препараты 3 и 3а) исследовались при помощи хроматографии на бумаге. Растворителем служила смесь *н*-бутиловый спирт — уксусная кислота — вода (4 : 1 : 5).

Проявитель — метиловый красный. Обнаружено одно пятно с интенсивной фиолетовой флуоресценцией. $R_f = 0{,}92$. Выделенное соединение идентифицировано как ванилиновая кислота ([3]). Полученные результаты подтверждают, что ароматические альдегиды присутствуют в клеточной оболочке сфагнового мха в подвижной форме и могут быть извлечены в форме кислот из щелочно-растворимой фракции при экстрагировании спиртом.

В процессе очистки щелочно-растворимой фракции (препарат 1) были отделены темноокрашенные смолистые сгустки. Это вещество хорошо растворялось в эфире с изумрудно-зеленой окраской и красной флуоресценцией. После отгона эфира был получен затвердевающий при хранении маслянистый остаток коричневого цвета с характерным запахом жира (препарат 2). Качественные реакции (реакция Сальковского,

образование дигитонидов и др.) показали, что это вещество принадлежит к сито-стеринам.

Наличие липоидов ранее было обнаружено в оболочках сфагновых мхов при микроскопических наблюдениях ([4], [5]).




Как видно из прилагаемой схемы, кислый раствор после осаждения щелочно-растворимой фракции объединялся с промывными водами и подвергался хроматографическому разделению на колонке из активированного угля. Элюция производилась ацетоном + 10% воды. Ацетоновый раствор темнокрасного цвета упаривался в вакууме почти досуха, остаток экстрагировался абсолютным спиртом, спирт отгонялся в вакууме. Остаток обрабатывался сухим эфиром и сушился в вакуум-эксикаторе. Выход 5,5 г (0,5% от сухого веса исходной навески мха). Полученный препарат 4 после растирания — тонкий золотистый порошок, очень гигроскопичен, осмоляется на воздухе. Качественной реакцией с α-нафтолом и концентрированной серной кислотой было установлено, что препарат 4 является гликозидом. Водный раствор препарата не восстанавливает раствора Фелинга; с аммиачным раствором нитрата серебра образует серебряное зеркало. После гидролиза препарата нагреванием с разбавленной серной кислотой в растворе появляется свободный сахар, восстанавливающий раствор Фелинга. Проба с резорцином отрицательная. Содержание глюкозы 32%. Гликозид плохо растворим в воде. Нерастворим в эфире, бензоле, петролейном эфире и хлороформе. Частично растворим в этиловом спирте и этилацетате. Хорошо растворим в метиловом спирте. Хорошо растворим в разбавленных растворах щелочи. Качественные реакции с хлорным железом и реактивом Миллона указывают на фенольную природу агликона.

Выделение агликона. 2 г тонко измельченного гликозида

заливались 20 мл дестиллированной воды, добавлялось 0,05 г эмульсина из миндаля. Опытная смесь выдерживалась в термостате при 32° в течение 7 дней с ежедневным добавлением 0,02 г эмульсина. По истечении этого срока опытная смесь эстрагировалась повторно эфиром. Эфирный экстракт, окрашенный в желтый цвет, сушился безводным сернокислым натрием, затем эфир отгонялся. Остаток — масло интенсивно желтого цвета, застывающее при хранении,— агликон.

Характеристика агликона. Выделенный агликон дает характерные реакции на фенольные соединения пирокатехинового типа ([6], [7]): 1) с реактивом Миллона — яркое малиново-красное окрашивание; 2) с хлоридом железа в спиртовом растворе буровато-зеленая окраска, при добавлении раствора соды интенсивная пурпурно-красная; 3) с нитритом Na и серной кислотой — в месте соприкосновения слоев окрашенные кольца; верхнее синее, нижнее зеленое; 4) с ванадатом аммония и серной кислотой — интенсивно зеленая окраска; 5) с фосфорно-молибденовой кислотой и аммиаком зеленая, после добавления аммиака синяя окраска; 6) с концентрированной серной кислотой яркожелтая окраска.

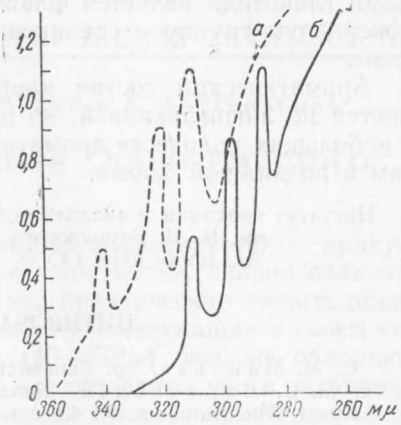



Рис. 1. Кривые поглощения агликона в ультрафиолетовых лучах. *а* — фенольное соединение; *б* — сублимат

Полученное фенольное соединение почти нерастворимо в воде. Хорошо растворимо в разбавленном (5%) растворе NaOH с яркожелтой окраской. Хорошо растворимо в слабом растворе соды, в эфире, этиловом и метиловом спирте, хлороформе. Нерастворимо в бензоле, петролейном эфире. Не восстанавливает раствора Фелинга, с аммиачным раствором нитрата серебра образует зеркало. В ультрафиолетовых лучах флуоресцирует ярким желто-зеленым светом.

Таблица 1

Элементарный состав (в %)

| Проба | C | H | O | $CH_3O$ | Зола |
|---|---|---|---|---|---|
| Гликозид . | 46,41 | 6,31 | 47,28 | 5,2 | 0,0 |
| Агликон . . | 58,41 | 6,89 | 34,70 | — | 0,0 |

Растворы фенольного соединения в метиловом спирте дают желтые осадки с солями меди и кадмия, флуоресцирующие в ультрафиолетовых лучах ярким желто-зеленым светом. Эти осадки характерны для флавоновых соединений ([8]). Фенольное соединение кристаллизуется из разбавленного спирта, под микроскопом очень тонкие иглы. Кристаллы исключительно гигроскопичны. Азота не содержит. Сублимируется в вакууме при 180—210° с частичным разложением. Сублимат светложелтого цвета, хорошо растворяется в эфире. После отгонки эфира кристаллизуется. Кристаллы в форме пластинок, крайне гигроскопичны.

Для фенольного соединения и его сублимата получен характерный спектр поглощения (см. рис. 1) в ультрафиолетовых лучах с максимумами 310, 320 и 338 мμ для фенольного соединения и 287, 298 и 310 мμ для сублимата.

Для фенольного соединения получена хроматограмма на бумаге. Растворитель: *н*-бутиловый спирт, уксусная кислота, вода (4 : 1 : 5). На хроматограмме одно пятно, открытое по яркой светлоголубой флуоресценции в ультрафиолетовых лучах. $R_f = 0{,}94$.

Интенсивно желтый цвет выделенного соединения, способность сублимироваться при высокой температуре, образование желтых осадков с солями металлов, яркая желто-зеленая флуоресценция — свойства, характеризующие флавоновую природу соединения.

Предполагаемая эмпирическая формула гликозида $C_{22}H_{36}O_{17}$.

Приведенные данные позволяют заключить, что агликон выделенного нами гликозида является флавоновым дериватом, содержащим одну метоксильную группу и соединенным в гликозиде с одной молекулой глюкозы.

Ароматический состав клеточной оболочки сфагнового мха определяется не лигнификацией, но присутствием в ней фенольного гликозида и небольших количеств ароматических альдегидов и кислот, находящихся там в подвижной форме.

Институт геохимии и аналитической химии
им. В. И. Вернадского
Академии наук СССР

Поступило
24 II 1955

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] С. М. Манская, Тр. Биогеохим. лаб. АН СССР, **10**, 98 (1954); С. М. Манская, М. С. Бардинская, Биохимия, **19**, в. 3, 332 (1954). [2] A. Bondi, H. Meyer, The Biochem. J., **43**, No. 2, 248 (1948). [3] Ф. Блок, Р. Лестранж, Г. Цвейг, Хроматография на бумаге, ИЛ, 1954, стр. 136—138. [4] И. М. Курбатов, Торфяное дело, № 2, 70 (1929). [5] F. Chodat, R. Cortesi, C. R. de la Soc. phys. et d'hist. nat. de Genève, **61**, No. 2, 58 (1939). [6] К. Бауер, Анализ органических соединений, ИЛ, 1953, стр. 432. [7] И. Губен, Методы органической химии, **3**, 1, 51 (1934). [8] R. Neu, P. Hagedorn, Zs. f. anal. Chem., **139**, No. 2, 96 (1953).