Fermentative Acylierung von Monogalaktosyldiglycerid bei der Isolierung von Chloroplasten

E. HEINZ

Botanisches Institut der Universität zu Köln

(Z. Naturforschg. **20 b**, 83 [1965]; eingegangen am 31. Oktober 1964)

Blätter höherer Pflanzen enthalten beträchtliche Mengen an Galaktolipiden. Das von BENSON¹ in seiner Struktur aufgeklärte und von CARTER² isolierte Monogalaktosyldiglycerid [2.3-Di-*O*-acyl-1-*O*-(β -galaktopyranosyl)-*D*-glycerin] steht dabei mengenmäßig an erster Stelle. Nach quantitativen Bestimmungen von WINTERMANS³ kommt diese Verbindung fast ausschließlich in den Chloroplasten vor.

Werden Blätter von *Spinacea oleracea* oder *Antirrhinum majus* zur Gewinnung von Chloroplasten mechanisch zerkleinert, so läßt sich mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie verfolgen, daß im Blatthomogenat im Verlauf einiger Std. die Menge des Monogalaktosyldiglycerids abnimmt und an seiner Stelle ein neues stärker hydrophobes Glykolipid entsteht. In Ätherextrakten gefriergetrockneter Blätter und in Chloroplasten, die in organischen Lösungsmitteln isoliert wurden, ist die fragliche Substanz nicht nachzuweisen; ebenso entsteht sie nicht, wenn die Blätter vor dem Zermahlen kurz in siedendes Wasser getaucht werden.

Dieses offenbar enzymatisch gebildete neue Glykolipid konnte isoliert werden. Dazu wurde der Blattbrei, der 6–8 Std. bei 4°C gestanden hatte, gefriergetrocknet und mit Methanol und Äther extrahiert. Zur Abtrennung der Phosphatide wurde mit Aceton gefällt, das Chlorophyll an einer Ultramidsäule* entfernt und die das Glykolipid enthaltende Fraktion zwischen Heptan und 95-proz. Methanol verteilt. Die Heptanphase wurde durch eine Gummimembran⁴ dialysiert und aus dem Dialysat durch zweimalige Chromatographie auf einer SiO₂-Säule das Lipid schließlich als dünnschichtchromatographisch einheitliches Produkt erhalten. Es enthielt prozentual mehr Fettsäuren als das Monogalaktosyldiglycerid, ergab aber nach Verseifung und Hydrolyse als wasserlösliche Produkte ebenfalls nur Glycerin und Galaktose. Im einzelnen wurden folgende Analysenwerte gefunden:

	Gef.	Ber. für Acylgalak- tosyl- diglycerid	Ber. für Galaktosyl- diglycerid
Galaktose	17,8%	17,6%	23,5%
Fettsäure- methylester	85,8%	85 %	75 %
Verseifungs- äquivalent	349	341	384
Galaktose: Glycerin	1:1,1	1:1	1:1

Berechnet unter Berücksichtigung der prozentualen Zusammensetzung des Fettsäurengemisches.

Es handelt sich somit anscheinend um ein Monoacylmonogalaktosyldiglycerid, das sich vom Monogalaktosyldiglycerid durch eine zusätzlich vorhandene Fettsäure ableitet, die in Esterbindung an die Galaktose geknüpft ist.

Zur Lokalisierung der Esterbindung an der Galaktose wurde das Acylgalaktosyldiglycerid nach der Methode von KUHN⁵ methyliert. Perjodatoxidation und spezifischer Drehwert des methylierten desacylierten Produkts sprechen für eine β -galaktosidische Verknüpfung zwischen C₁ der methylierten Galaktose und C₁ des Glycerins. Hydrolyse ergab als Hauptanteil Trimethylgalaktosen. Diese wurden durch präparative Papierchromatographie isoliert und durch Reduktion mit NaBH₄, anschließende Perjodatoxidation, erneute Reduktion und Demethylierung mit HBr in die entsprechenden Polyole übergeführt. Isoliert wurden ein Erythrit, Pentit und Hexit. Erythrit und Pentit wurden durch kristalline Derivate näher charakterisiert. Diese isolierten Polyole entstanden aus 2.3.6-Tri-*O*-methylgalaktose, 2.3.4-Tri-*O*-methylgalaktose und 2.4.6-Tri-*O*-methylgalaktose und standen in einem Molverhältnis von 5:10:1. Daher handelt es sich bei dem Glykolipid um ein Isomerengemisch aus etwa 60% 6-Acylgalaktosyldiglycerid, 30% 4-Acylgalaktosyldiglycerid und 6% 3-Acylgalaktosyldiglycerid.

Die Versuche werden später ausführlich veröffentlicht.

Die Untersuchungen wurden aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

¹ A. A. BENSON, R. WISER, R. A. FERRARI u. J. A. MILLER, J. Amer. chem. Soc. **80**, 4740 [1958].

² H. E. CARTER, R. A. HENDRY u. N. Z. STANACEV, J. Lipid Res. **2**, 223 [1961].

³ J. F. WINTERMANS, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **44**, 49 [1960].

⁴ D. EBERHAGEN u. H. BETZING, J. Lipid Res. **3**, 382 [1962].

* Von der BASF in großzügiger Weise überlassen.

⁵ R. KUHN, H. TRISCHMANN u. I. LÖW, Angew. Chem. **67**, 32 [1955].