

**ОСОБЕННОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ
И СОДЕРЖАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ГЛИКОЗИДА
PISUM SATIVUM L.****А. Н. Ершова, Н. В. Винокурова**

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный педагогический университет»

Поступила в редакцию 23.03.2021 г.

Аннотация. В растениях гороха обнаружен специфический 5-окси-2-пирролидон-О-β-D-глюкопиранозид, который называют так же изосукцинимид-β-гликозидом (ИС-гликозид) и он не обнаружен у других представителей бобовых. С использованием квантово-химические методов, включая метод молекулярных орбиталей Хюккеля (МО ЛКАО), и пакета прикладных компьютерных программ MOL MOD и НМО4.BAS была построена пространственная структура молекулы ИС-гликозида. Получены координаты и длины связей между атомами в молекуле гликозида, что позволило оценить его метаболическую активность. В первую очередь превращение ИС-гликозида в растительных клетках связано с разрывом О-гликозидной связи между агликоном и D-глюкопиранозидом. Показано, что молекула агликона не является плоским гетероциклом, а находится в конформации складывающегося конверта. Далее в агликоне может происходить раскрытие пятичленного цикла по связи N₁₄-C₁₅, что характерно для соединений с пирролидоновой структурой. Двойная связь C₁₆-C₁₇ в агликоне стремится к гидрированию, что может приводить к накоплению дикарбоновой аминокислоты и продуктов ее дезаминирования.

Методом тонкослойной хроматографии определили содержание ИС-гликозида и его агликона в клетках 17 сортов растений гороха. Наибольшее содержание гликозида было обнаружено в проростках *Pisum arvense* L. сорта "Пилюшка", где его содержание составляло 6.07±0.70 мг.г⁻¹ сыр. массы. В растениях сортов гороха посевного (*Pisum sativum* L.) содержание ИС-гликозида колебалось от 5.21±0.02 до 0.95±0.11 мг.г⁻¹ сыр. массы. Содержание гликозида в растениях было выше, чем агликона. Однако обнаружены сорта, где содержание агликона было равным или даже выше, чем гликозида. Полученные данные свидетельствуют о различной скорости образования и вовлечения ИС-гликозида в метаболические процессы клеток растений разных сортов гороха.

Результаты варьирования содержания ИС-гликозида могут быть использованы для диагностики сортов на изменяющиеся факторы среды и для определения наиболее эффективных продуцентов гликозида. Используемые квантово-химические методы построения и анализа пространственной структуры ИС-гликозида позволяют прогнозировать пути его превращения в клетках, что расширяет наши знания о роли гликозидов в растениях.

Ключевые слова: изосукцинимид-β-гликозид, пространственная структура, метаболическая активность, содержание, растения гороха.

Одной из наиболее важных групп веществ вторичного происхождения в растениях являются гликозиды. Гликозиды представляют обширный класс соединений, в молекуле моносахарида которых произошло замещение водорода полуацетального гидроксила [1]. В зависимости от α- или β- конфигурации углеводов, связанных с агликоном, различают α- и β-гликозиды. Большинство природных гликозидов имеет β-конфигурацию

[2]. Природа агликона может значительно различаться. В форме гликозидов встречаются фитогормоны - цитокинины, брассиностероиды, АБК, а также флавоноиды, предшественники лигнина, ксенобиотики [3]. Установлена важная роль гликозидов при акклиматизации растений к условиям водного и солевого стресса, низким температурам [3,4]. Показано значение фурастоловых гликозидов в регуляции редокс-метаболизма клеток растений [5]. Гликозиды участвовали в защите

растений от патогенов [6] и от поедания животными [7]. У насекомоядных же растений гликозиды отвечали и за привлечение насекомых [8]. Для отдельных видов растений были характерны специфические гликозиды. Так гипоксозид, относящийся к гликозидам фенольной природы, присутствовал в луковицах *Hypoxis obtusa*, хедерин обнаружен в клетках плюща обыкновенного (*Hedera helix*) [9], строфантин был выделен из растений рода *Strophanthus* [2], плюмериа-β-глюкозид, относящийся к иридоидным β-глюкозидам, присутствовал в растениях *Plumeria obtusa* [10] и разрушался только специфической β-глюкозидазой.

В растениях гороха [11] был обнаружен специфический гликозид, который после выделения и очистки был идентифицирован как 5-окси-2-пирролидон-О-β-D-глюкопиранозид и совпадал по данным УФ- и ИК-спектрофотометрии, температуре плавления, продуктам гидролиза с изосукцинимид-β-гликозидом (ИС-гликозид), обнаруженным в этом растении [12]. С использованием C¹⁴-соединений было установлено, что агликоном 5-окси-2-пирролидон-О-β-D-глюкопиранозид (ИС-гликозида) является циклическое производное гамма-аминомасляной кислоты [9]. Этот гликозид не встречался в других бобовых растениях, при этом скорость его образования зависела от этапов онтогенеза и факторов внешней среды [9, 12]. Однако многие стороны образования специфического гликозида в клетках растений гороха и его метаболическая роль, как и многих гликозидов, до конца не выяснены.

При изучении метаболической активности соединений используют различные методы. Одним из них является возможность вполне корректно оценить структуру и реакционную способность молекул, основываясь на результатах квантово-химических расчетов [14]. Квантово-химические методы позволяют рассчитать физико-химические параметры молекулы, оценить реакционную способность и определить устойчивые конформации биологически активных молекул [14,15]. При этом используют такие квантово-химические методы, как метод молекулярных орбиталей (ММО) и метод Хюккеля [16]. Подобные методы уже использовались для ряда соединений, включая пептиды и сфинголипиды [17]. Однако при исследовании пространственной структуры гликозидов они не применялись. Кроме этого практически не изучено содержание специфического ИС-гликозида у растений отдельных сортов рода *Pisum*. В связи с этим провели исследование особенностей организации

пространственной структуры специфического ИС-гликозида для установления его метаболической активности, а также его содержания в разных видах и сортах растений гороха.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Для изучения особенностей пространственной структуры молекулы ИС-гликозида использовался метод молекулярных орбиталей Хюккеля (МО ЛКАО) [16]. Предварительно была подготовлена база данных об имени молекулы и числе тяжелых атомов в ней, матрицы связей, декартовых координат согласно нумерации, которые выбирались из соответствующих справочников [18]. Результаты расчетов давали координаты и длины связей между атомами, на основе которых строилась модель пространственной молекулярной структуры ИС-гликозида с использованием программы MOL MOD и HMO4.BAS, которые любезно были предоставлены нам проф. Исаевым П.П. [16].

При изучении содержания ИС-гликозида использовали 10-15-дневные проростки гороха, выращенные в лабораторных условиях методом гидропоники при 12-часовом фотопериоде. Семена разных сортов гороха были получены из коллекции кафедры растениеводства и селекции ВГАУ им. Императора Петра 1 (Воронеж). Для определения содержания ИС-гликозида навеску растений (0.8–1.0 г) фиксировали десятикратным объемом 96%-ного этанола, нагретого до +60°C, экстрагировали спиртом и фильтровали. Спиртовой экстракт упаривали (+60° С), растворяли в 2мл 10%-ного изопропанола и проводили разделение методом тонкослойной хроматографии на пластинках "Silufol" ("Chemapol", Чехия). Локализацию углеводов проводили по величине R_f после проявления свидетелей универсальным проявителем (4% раствор дифениламина в этаноле). Содержание ИС-гликозида и его агликона определяли по поглощению при 212 нм и 208 нм соответственно на приборе СФ-56 ("ЛОМО", Россия) [11,19], рассчитывали по калибровочным кривым и выражали в мг на 1г сырой массы.

Все опыты по исследованию содержания гликозида проводились в двух биологических и двух химических повторностях. В таблице представлены результаты в виде средних арифметических значений и их отклонений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Метод молекулярных орбиталей (ММО) основан на предположении, что электроны при-

надлежат не отдельным атомам, а всей молекуле в целом. Он предполагает, что в общем случае в химической связи принимает участие несколько молекулярных орбиталей, каждая из которых занята двумя электронами. Вместе с тем данная молекулярная орбиталь в общем случае делокализована, а, следовательно, принимает участие одновременно в нескольких химических связях. Простой метод Хюккеля учитывает только пи-электроны и применяется, главным образом, для расчета плоских молекул с сопряженными или ароматическими связями, однако в некоторых случаях дает неплохие результаты при расчете неплоских систем [16]. В случае, когда существенную роль играют электронные взаимодействия типа эффекта сопряжения, проводится решение уравнения Шредингера в орбитальном пи-электронном приближении. Минимизируя эту функцию можно получить трехмерную модель молекулы и по ней вычислить все необходимые геометрические параметры [15,16].

В результате проведения решения по программе MOL MOD были получены декартовы координаты атомов ИС-гликозида (табл. 1). Это дало возможность построить пространственную конфигурацию исследуемой молекулы, которая представлена на рис.1. При расчетах нумерацию атомов проводили, начинали с углеводной части данного гликозида.

Таблица 1

Координаты атомов молекулы
изосуцинимид-β-гликозида
(5-окси-2-пирролидон-О-β-D-глюкопиранозид),
полученные в результате расчетов
в программе MOL MOD и HMO4.BAS

	Мм			А		
	X	Y	Z	X	Y	Z
C ₁	0	0	0	0	0	0
C ₂	27.0	3.2	15.0	1.35	0.16	0.75
C ₃	41.0	33.0	7.2	2.05	1.65	0.36
O ₄	22.2	55.2	15.4	1,11	2.76	0.77
C ₅	-5.0	52.2	0.4	-0.25	2.61	0.02
C ₆	-18.8	22.4	8.2	-0.94	1.12	0.41
O ₇	-1.22	-26.2	7.0	-0.61	-1.31	0.35
O ₈	45.4	-18.6	6,8	2.27	-0.93	0.34
O ₉	68.2	36.2	22.4	3.41	1.81	1.12
C ₁₀	-24.6	75.6	9.0	-1.23	3.78	0,45
O ₁₁	-44.4	19.6	-5.8	-2.22	0.98	-0.29
O ₁₂	-29.2	74.4	38.2	-1.46	3.72	1.91
C ₁₃	91.2	38,4	1,8	4.56	1.92	0.09
N ₁₄	112.2	13.8	6.4	5.61	0.69	0.32
C ₁₅	140.4	35.4	3,6	7.02	1.77	0.18
C ₁₆	130.6	60.8	7.8	6.53	3.04	0.39
C ₁₇	107.0	63.2	7.2	5.35	3.16	0.36
O ₁₈	161.8	28.8	13,6	8.09	1.44	0.68

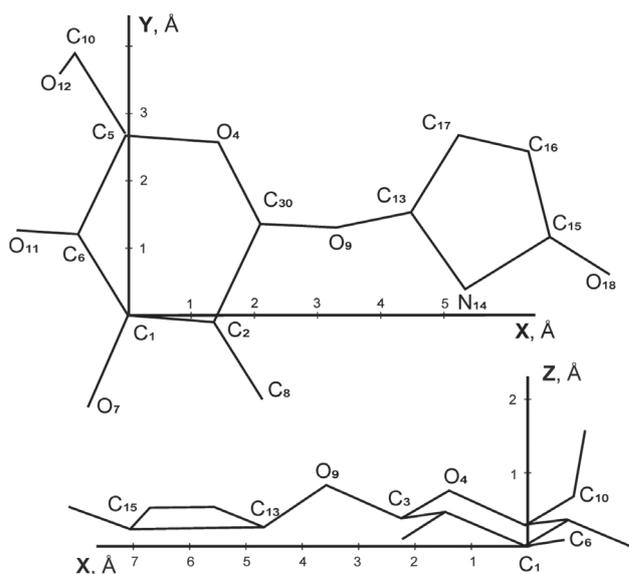


Рис.1 Пространственная структура ИС-гликозида (5-окси-2-пирролидон-О-β-D-глюкопиранозид), построенная на основе рассчитанных координат атомов по программе MOL MOD и HMO4.BAS.

Полученные значения длин связей приведены в таблице 2. Их анализ позволил оценить лабильность исследуемой молекулы и показал, что молекула агликона специфического ИС-гликозида не является плоским гетероциклом, а находится в конформации складывающегося конверта (рис. 1). При этом гидроксильная и карбонильная группы не лежат в плоскости кольца. Очевидно, что ни гидроксильная, ни карбонильная группы не могут участвовать в сопряжении по цепи молекулы в полной мере. Такое поведение и конформационные особенности исследуемой молекулярной структуры должны влиять на характер метаболической активности исследуемого соединения. Существенными должны стать взаимодействия, обусловленные свойствами гидроксильной и карбоксильной групп, которые являются донорами и акцепторами электронов и протонов [17].

На основе анализа результатов величины длин связей было показано, что молекула агликона ИС-гликозида является метаболически активной. При этом первыми в биохимических превращениях будут участвовать атомы, которые имеют наименьшую величину порядка связей, это связь N₁₄ - C₁₅. В то же время, наиболее прочной является связь C₁₃ - C₁₇. Соединение должно активно участвовать в реакциях нуклеофильного замещения (особенно атомы 17, 9 и 16, 15), а также электрофильного (атомы 13,14,18) и радикального (все атомы).

Таблица 2
Значения длин связей молекулы ИС-гликозида (5-окси-2-пирролидон-О-β-D-глюкопиранозид), полученные в результате квантово-химических расчетов

Связь	длина, Å
C ₁ - C ₂	1.554
C ₁ - C ₆	1.519
C ₁ - O ₇	1.491
C ₂ - C ₃	1.692
C ₂ - O ₈	1.475
C ₃ - O ₄	1.512
C ₃ - O ₉	1.568
O ₄ - C ₅	1.553
C ₅ - C ₆	1.687
C ₅ - C ₁₀	1.588
C ₆ - O ₁₁	1.468
O ₉ - C ₁₃	1.550
C ₁₀ - O ₁₂	1.477
C ₁₃ - N ₁₄	1.626
C ₁₃ - C ₁₇	1.492
N ₁₄ - C ₁₅	1.775
C ₁₅ - C ₁₆	1.379
C ₁₅ - O ₁₈	1.221
C ₁₆ - C ₁₇	1.185

При анализе длин связей между атомами в молекуле самого ИС-гликозида (табл. 2) была обнаружено, что наиболее лабильной является связь C₃ - O₉, т.е. гликозидная связь, образованная полуацетальным гидроксилом гликозидного атома углерода и гликозидной группы агликона. Как известно [17], среднее значение длины связи C - O, при котором молекула наиболее стабильна, составляет 1,43 Å. Длина гликозидной связи, полученной нами в результате проведенных расчетов, составляла 1,57Å. Вероятно, такое превышение длины связи оказывает влияние на устойчивость всей молекулы ИС-гликозида к действию внешних факторов и доказывает, что в большинстве случаев эти воздействия приведут к разрыву именно гликозидной связи.

В результате расчетов нами было выявлено, что следующим этапом метаболических превращений ИС-гликозида может явиться разрыв пятичленного цикла агликона по связи N₁₄ - C₁₅ и разрыв пи-связи между C₁₆ - C₁₇. Среднее значение связи C - N составляет 1,47 Å, а связи C₁₆ - C₁₇ - составляет 1,34 Å. В молекуле ИС-гликозида соответственно, длина связи C - N составляла 1,77 Å (больше среднего значения), связи C₁₆ - C₁₇ была равна 1,19 Å (меньше среднего), что также свидетельствует о напряженности этих связей.

На основании полученных данных можно заключить, что анализируемое соединение ИС-гликозид является метаболически активным. В первую очередь его превращения в растительной клетке связаны с разрывом О- гликозидной связи между агликоном и D-глюкопиранозидом. Следующим этапом может быть разрыв циклической структурой агликона по связи N₁₄ - C₁₅, что может привести к накоплению соответствующих аминокислотных соединений.

В следующих опытах нами были проведены исследования содержания специфического ИС-гликозида в проростках гороха разных сортов. Установлено [20], что растения могут значительно отличаться по внутривидовым признакам вследствие как фенотипических, так и генотипических изменений, связанных с их реакцией на действие факторов внешней среды. При этом вариация отдельных внутривидовых признаков, особенно у сельскохозяйственных культур, может служить как доказательством экологических последствий, так и селекции растений и может касаться как морфологических, так и метаболических особенностей отдельных сортов растений. В табл.3 приведены результаты анализа растений гороха 17 различных сортов по содержанию И-гликозида и его агликона. Как видно из данных таблицы, наибольшее содержание гликозида было обнаружено в проростках гороха полевого (*Pisum arvense* L.) сорта "Пилушка", где его содержание составляло 6.07+0.70 мг.г⁻¹ сыр. массы. Нужно отметить, что сорта гороха посевного (*Pisum sativum* L.) содержали данный гликозид в меньшем количестве. При этом содержание ИС-гликозида колебалось в пределах от 5.21+0.02 мг.г⁻¹ сыр.массы в надземной части проростков гороха сорта "Рамонский 90" до 0.95+0.11 мг.г⁻¹ сыр. массы в растениях гороха сорта "Майский". При этом содержание агликона также было разным. Наибольшее содержание агликона было обнаружено в проростках гороха сорта "Рамонский 77" и составляло 2.83+0.08, а наименьшее 0.80+0.01 мг.г⁻¹ сыр. массы и было характерно для растений сорта "Уладовский". В проростках гороха у большинства анализируемых сортов содержание гликозида было выше, чем его агликона. Однако у растений гороха сортов "Масличный" и "Албанский" содержание гликозида и агликона было практически равным. Были обнаружены и сорта, где содержание агликона было выше, чем самого гликозида. Это наблюдалось в проростках сортов гороха "Ранний майский", "Майский 220", "Розовый" и "Бисмарк".

Содержание ИС-гликозида (5-окси-2-пирролидон-О-β-D-глюкопиранозид) в проростков гороха отдельных сортов рода *Pisum L.* (мг. г⁻¹ сыр. массы)

Вид	Сорт	ИС-гликозид	Агликон
Pisum arvense L (горох полевой)	1. "Пилошка"	6.06 ± 0.07	0.47 ± 0.03
	2. "Рамонский 77"	4.79 ± 0.33	2.83 ± 0.08
Pisum sativum L. (горох посевной)	3. "Рамонский 83"	4.64 ± 0.08	1.00 ± 0.03
	4. "Рамонский 90"	5.21 ± 0.02	1.53 ± 0.03
	5. "Превосходный"	3.15 ± 0.21	1.53 ± 0.11
	6. "Орловчанин"	3.12 ± 0.09	1.72 ± 0.40
	7. "Виктория Мандровская"	2.75 ± 0.01	1.19 ± 0.02
	8. "Уладовский"	2.81 ± 0.02	0.80 ± 0.01
	9. "Уладовский 208"	2.50 ± 0.09	0.89 ± 0.05
	10. "Льговский зеленозернистый"	1.94 ± 0.09	1.06 ± 0.11
	11. "Капитал"	2.06 ± 0.24	1.16 ± 0.09
	12. "Масличный"	1.40 ± 0.09	1.64 ± 0.03
	13. "Ранний майский"	1.11 ± 0.27	2.02 ± 0.11
	14. "Майский 220"	0.95 ± 0.07	1.48 ± 0.09
	15. "Розовый"	1.36 ± 0.12	1.77 ± 0.07
	16. "Бисмарк"	1.43 ± 0.08	1.87 ± 0.04
	17. Албанский	1.26 ± 0.13	1.16 ± 0.01

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С использованием метода молекулярных орбиталей Хюккеля (МО ЛКАО) и пакета прикладных компьютерных программ MOL MOD и НМО4.BAS была построена пространственная структура исследуемого ИС-гликозида (5-окси-2-пирролидон-О-β-D-глюкопиранозид). На основе расчета электронной и молекулярной конформации атомов, была оценена метаболическая активность данного соединения. Отмечена высокая лабильность связи между гетероциклическим радикалом агликона и пиранозным кольцом глюкозы. Длина гликозидной связи в молекуле ИС-гликозида, полученная в результате расчетов, составила 1,57Å°, что превышало ее размеры, необходимые для стабильности молекулы и, следовательно, влияло на ее устойчивость. Полученные данные хорошо согласовывались с результатами исследований, показывавших легкость распада гликозидных связей в молекулах разных гликозидов [19]. На основании расчетов расстояний между атомами в молекуле было показано, что после отщепления в агликоне происходит раскрытие цикла по связи N₁₄-C₁₅, значение которой было 1,77Å°. Способность к такому разрыву связи N₁₄-C₁₅ агликона показана и для других соединений с пирролидоновой структурой [9]. Двойная связь в молекуле агликона стремится к гидрированию, что вызывает образование дикарбоновой аминокислоты и продуктов ее дезаминирования. Подобные продукты метаболизации ИС-гликозида в растениях гороха были обнаружены в опытах, где

отмечалось накопление в клетках янтарной и яблочной кислот, и, в меньшей степени, гамма-аминобутирата [13,19].

Наши исследования показали значительное варьирование в клетках различных сортов гороха содержания ИС-гликозида и его агликона. В проростках большинства анализируемых сортов содержание гликозида было выше, чем его агликона. В то же время обнаружены и сорта гороха, где содержание агликона было равным или даже выше, чем самого гликозида. Метаболические сортовые особенности ранее были отмечены для растений пшеницы, кукурузы, сои и касались активности ферментов [21], накопления белков, углеводов [22], фенольных соединений [23]. Для гликозидов растений гороха такие исследования были проведены впервые. Полученные данные свидетельствуют о различной скорости образования и вовлечения ИС-гликозида в метаболические процессы клеток растений гороха разных сортов. Это может отражать как реакцию разных сортов растений гороха на изменяющиеся факторы внешней среды, так и быть результатом селекции растений.

Полученные результаты варьирования содержания ИС-гликозида могут быть использованы для диагностики сортов на изменяющиеся факторы среды и для определения наиболее эффективных продуцентов гликозида. Используемые квантово-химические методы построения и анализа пространственной структуры ИС-гликозида позволяют прогнозировать и пути его превращения в клетках, что расширяет наши знания о роли гликозидов в растениях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бочков А.Ф., Афанасьев В.А., Заиков Г.Е. Углеводы. Москва, Наука, 1980, 176 с.
2. Бахтенко Е.Ю., Курапов П.Б. Многообразие вторичных метаболитов высших растений. Вологда, Микропринт, 2008, 266 с.
3. Li P., Li Y., Wang B., Yu H., Li Q., Hou B. // *Physiol Plantarum*. 2017. Vol. 159, No. 4, pp. 379-507
4. Erba M., Kliebenstein D. // *Plant Physiology*. 2020. Vol. 184, pp. 39–52.
5. Волкова Л.А., Урманцева В.В., Ключин А.Г., Бургутин А.Б., Носов А.М. // *Физиология растений*. 2020. Т. 6. № 2. С. 188-195
6. Vasa E., Behrens C., Theccanata T., Choeb J., Deana J. // *Physiol. Plantarum*. 2017. Vol. 161, No. 3, pp. 322-338.
7. Bockler G., Gershenzon J., Unsicker S. // *Phytochemistry*. 2011. Vol. 72, No. 13. pp. 1497-1509.
8. Hatcher C., Ryves D., Millett J. // *Annals of Botany*. 2020. Vol. 125, pp. 399–411.
9. Ершова А.Н. Метаболическая адаптация растений к гипоксии и повышенному содержанию диоксида углерода. Воронеж. ВГУ, 2007, 264 с.
10. Boonlarm D., Sornwatana T., Arthan D., Kongsaree P., Swasti J. // *Acta Biochim. Biophys. Sinica*. 2006. Vol. 38, No.8, pp. 563–570.
11. Zemlianukhin A.A., Ershova A.N. // *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*. 1984. Vol. 179, No. 8, pp. 679–684.
12. Liu T.I., Castelfranco P.A. // *Arch. Biochem Biophys*. 1968. Vol. 123, No. 3, pp. 645-646.
13. Ershova A.N., Vinokurova N.V. // *International Journal of Secondary Metabolite*. 2018. Vol. 5, No. 2, pp. 156–162.
14. Мартынова Н.Б., Филимонов Д.А., Поройков В.В. // *Биоорганическая химия*. 2000. Т. 26. № 5. С. 330-339
15. Коновалихин С.В., Бойков П.Я., Бурлакова Е.Б. // *Известия АН. Серия биологическая*. 2000. № 2. С.153-157
16. Исаева Г.А., Исаев П.П. // *Журнал Физической химии*. 1992. № 4. С.32-36
17. Дятловицкая Э.В. // *Биоорганическая химия*. 2000. Т. 26. № 1. С. 12-18
18. Перекалин В.В., Зонис С.А. *Органическая химия*. Москва, Просвещение, 1982, 193 с.
19. Ershova A.N. // *Plant physiology and biochemistry*. 1996. Special issue. pp. 196-197.
20. Hayes F.J., Buchanan S.W., Coleman B., Gordon A.M., Reich P.B., Thevathasan N.V., Wright I.J., Martin A.R. // *Annals of Botany*. 2019. Vol. 123, No. 1, pp. 107–120.
21. Труфанов В.А., Пермякова М.Д., Пшеничникова Т.А., Ермакова М.Ф., Давыдов В.А., Пермяков А.В., Березовская М.Ф. // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2007. Т. 43. № 1. С. 102- 108
22. Шафигуллин Д.Р. // *Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса*. 2019. Т. 41. № 3. С. 30-32
23. Шафигуллин Д.Р., Пронина Е.П., Гинс М.С., Солдатенко А.В. // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2020. № 4, С. 22-24

Воронежский государственный педагогический университет

**Ершова А. Н., доктор биологических наук, профессор кафедры биологии растений и животных
Email: aershova@vspsu.ac.ru*

Винокурова Н. В., ассистент кафедры биологии растений и животных

*Voronezh State Pedagogical University
Ershova A. N., PhD., DSci., Full Professor,
Department of Plant and Animal Biology
Email: aershova@vspsu.ac.ru*

Vinokurova N. V., Assistant Professor, Plant and Animal Biology Department

HIGHLIGHTS OF SPATIAL STRUCTURE AND SPECIFIC GLYCOSIDE CONTENT OF *PISUM SATIVUM* L.

A. N. Ershova, N. V. Vinokurova

Voronezh State Pedagogical University

Abstract. Specific 5-oxy-2-pyrrolydon-O-β-D-glucopyranoside which is also called isosuccinimide-β-glycoside (IS-glycoside) was discovered in pea plants and it was not found in other representatives of legume family. Applying quantum-chemical methods including Huckel method of molecular orbitals (MO LKAO) and software package of MOL MOD and HMO4.BAS the spatial structure of IS-glycoside was created. The coordinates and bond lengths between atoms in glycoside molecule were obtained which resulted in determination of its meta-

bolic activity. First, transformation of IS-glycoside in plant cells is related to O-glycoside bond collapse between aglycone and D-glucopyranoside. It was shown that aglycone molecule is not a planar heterocycle but exists in conformation of hatching envelope. After that five-membered ring opening in aglycone can go via N₁₄-C₁₅ bond which is typical of compounds with pyrrolidone structure. Double linkage of C₁₆-C₁₇ in aglycone is aimed to hydrogenation which can lead to accumulation of dicarbon amino acid and the products of its deamination.

By thin-layer chromatography method the content of IS-glycoside and its aglycone in cells of 17 pea plants varieties was determined. The most glycoside content was discovered in *Pisum arvense* L. seedlings of 'Pilyushka' variety where its content was 6.07±0.70 mg g⁻¹ of fresh mass. In plants of field pea (*Pisum sativum* L.) the content of IS-glycoside was falling in the range 5.21±0.02 to 0.95±0.11 mg g⁻¹ of fresh mass. Glycoside content in plants was higher than aglycone. However, the varieties with aglycone content equal to or even higher than glycoside were found. The obtained data demonstrates different speed of formation and involvement of IS-glycoside in cell metabolic processes of diverse pea plants varieties.

Results of IS-glycoside content variation can be used to diagnose varieties for changing environmental factors and to determine the most effective producers of this glycoside. The applied quantum-chemical methods of IS-glycoside spatial structure construction and analysis allow to prognose the ways of its transformation in cells which broadens our understanding of glycosides role in plants.

Keywords: isosuccinimide-β-glycoside, spatial structure, metabolic activity, content, pea plants

REFERENCES

- Bochkov A.F., Afanasiev V.S., Zaikov G.E. *Uglevody*. Moscow, Nauka Publ., 1980, 176 p.
- Bakhtenko E.Yu., Kurapov P.B. *Mnogoobrazie vtorichnyh metabolitov vysshih rastenij*. Vologda. Microprint Publ., 2008, 266 p.
- Li P., Li Y., Wang B., Yu H., Li Q., Hou B. *Physiol Plantarum*, 2017, Vol. 159, No. 4, pp. 379-507. DOI: 10.1111/ppl.12520
- Erba M., Kliebenstein D. *Plant Physiology*, 2020, Vol. 184, pp. 39–52. DOI:10.1104/pp.20.00433
- Volkova L.A., Urmantseva V.V., Klyushin A.G., Burgutin A.B., Nosov A.M. *Fiziologia rastenij*, 2020, Vol. 6, No. 2. pp. 188-195. DOI:10.31857/S0015330320010224
- Vacaa E., Behrensa C., Theccanata T., Choeb J., Deana J. *Physiol. Plantarum*, 2017, Vol. 161, No. 3, pp. 322-338. DOI: 10.1111/ppl.12602
- Boeckler G., Gershenzon J., Unsicker S. *Phytochemistry*, 2011, Vol. 72, No. 13, pp. 1497-1509. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.01.038
- Hatcher C., Ryves D., Millett J. *Annals of Botany*, 2020, Vol. 125, pp. 399–411. DOI: 10.1093/aob/mcz191
- Ershova A.N. *Metabolicheskaya adaptatsiya rastenij k gipoksii i povyshennomu sodержaniyu dioksida ugleroda*. Voronezh, VSU Publ., 2007, 264 p.
- Boonclarm D., Sornwatana T., Arthan D., Kongsaree P., Swasti J. *Acta Biochim. Biophys. Sinica*, 2006, Vol. 38, No.8, pp. 563–570.
- Zemlianukhin A.A., Ershova A.N. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 1984, Vol. 179, No. 8, pp. 679–684. DOI:10.1016/S0015-3796(84)80024
- Liu T.I., Castelfranco P.A. *Arch. Biochem Biophys.*, 1968, Vol. 123, No. 3, pp. 645-646. DOI: 10.1016/0003-9861(68)90188-4
- Ershova A.N., Vinokurova N.V. *International Journal of Secondary Metabolite*, 2018, Vol. 5, No. 2, pp. 156–162. DOI: 10.21448/ijsm.422077
- Martynova N.B., Filimonov D.A., Porojkov V.V. *Bioorganicheskaya khimiya*, 2000, Vol. 26, No. 5, pp. 330-339.
- Konovalikhin S.V., Boykov P.Ya., Burlakova E.B. *Izvestia AN. Seria biologicheskaya*, 2000, No. 2, pp.153-157.
- Isaeva G.A., Isaev P.P. *Zhurnal Fizicheskoy khimii*, 1992, No. 4. pp. 32-36.
- Dyatlovitskaya E.V. *Bioorganicheskaya khimia*, 2000, Vol. 26, No. 1, pp. 12-18.
- Perekalin V.V., Zonis S.A. *Organicheskaya khimia*. Moscow, Prosveschenie Publ., 1982, 193 p.
- Ershova A.N. *Plant physiology and biochemistry*, 1996, Special issue, pp. 196-197.
- Hayes F.J., Buchanan S.W., Coleman B., Gordon A.M., Reich P.B., Thevathasan N.V., Wright I.J., Martin A.R. *Annals of Botany*, 2019, Vol. 123, No. 1, pp. 107–120. DOI:10.1093/aob/mcy147
- Trufanov V.A., Permyakova M.D., Pshenichnikova T.A., Ermakova M.F., Davydov V.A., Permyakov A.V., Berezovskaya M.F. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologia*, 2007, Vol. 43, No. 1, pp. 102- 108.
- Shafigullin D.R. *Teoreticheskie i prikladnye problem agropromyshlennogo kompleksa*, 2019, Vol. 41, No. 3, pp. 30-32. DOI:10.32935/2221-7312-2019-41-3-30-33
- Shafigullin D.R., Pronina E.P., Ghins M.S., Soldatenko A.V. *Rossijskaja selskokhozyajstvennaya nauka*, 2020, No. 4, pp. 22-24. DOI: 10.31857/S2500262720040055