ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ

XXXII, 7, 1979

УДК 581.192+634.8

О КОМПЛЕКСЕ ПОЛИМЕРОВ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ВИНОГРАДНОЙ ЯГОДЫ

Е. Н. ДАТУНАШВИЛИ, Е. Г. МАНРИКЯН, В. Н. ЕЖОВ, Е. Ю. УПЕРВИЦКИЙ

Исследовался состав комплексов полимеров клеточных стенок виноградной ягоды со множеством комплексов между полисахаридами, белками, лигнином и фенольными веществами. Предполагается, что связь белка с полисахаридами осуществляется как через звенья галактозилсерина, так и оксипролин-арабинозида; связь белков с фенольными веществами — через фенилаланин; полисахаридов с фенольными веществами — через ксилозу и эпикатехин. В составе данных комплексов обнаружены также в следовых количествах фенолкарбоновые кислоты.

В последние годы проблема изучения природы и механизма образования прочных комплексов между полимерами высших растений все более привлекает внимание исследователей. Это объясняется возрастающим несоответствием между аналитическим материалом, накопленным с позиций «традиционной» биохимии (базирующейся на условном рассмотрении тех или иных полимеров вне связи между ними), и фактическими наблюдениями, которые он призван интерпретировать. Между тем расширение имеющихся представлений о химической природе связи протеина, фенольных веществ, полисахаридов становится крайне необходимым звеном дальнейшего развития биохимии (в том числе селекционнной и эволюционной), физиологии и анатомии растений.

В решении поставленного вопроса имеются значительные достижения, особенно в отношении злаковых и плодов. Так, Фауш и др. [10] выделили из пшеничной муки гликопротеин с характерной аномальной адсорбцией при 320 нм, вызываемой присутствием феруловой кислоты. Высказано предположение, что фенольный компонент присоединен к ксилану, тогда как два полисахарида разного состава связаны полипептидным мостиком. Существует мнение, согласно которому феруловая и, возможно, другие фенолкислоты, связанные с пентозаном, участвуют в окислительном желировании водного экстракта муки [11]. Что касается биологической целесообразности связывания фенолкислот структурными элементами растений, то те же авторы объясняют ее как один из путей детоксикации растительных ядов.

Ни [15], основываясь на данных анализа продуктов частичного гидролиза клеточных стенок яблок, предполагает наличие связи между нейтральным полисахаридом и оксипролин-богатым пептидом или полиуронидом. Оксипролин—арабинозидный мостик, связывающий кле-

точные стенки яблок с протеином, идентифицирован также Котовой и сотр. [6]. Аналогичное связывание протеина и полисахаридов установлено для моркови [9]. Эль-Базюни и Тауэрс [8], используя двойную распределительную хроматографию в сочетании со спектрофотометрией, показали для проросших и непроросших зерен пшеницы наличие фенольных веществ, преимущественно в связанной форме.

Маквальдер и Ньюком [16] сообщают, что в пшеничной муке диферуловая кислота поперечно сшивает молекулы полисахаридов и уменьшает их растворимость.

По всей видимости, одним из маркеров клеточных стенок высших растений является оксипролин [13], однако его связь с арабинозой не является единственно возможной. Так, Монро и сотр. [17], исследуя клеточные стенки гипокотиля люпина, обнаружили связывание гликопротеина с нерастворимым полисахаридом через звенья типа галактозил-серин.

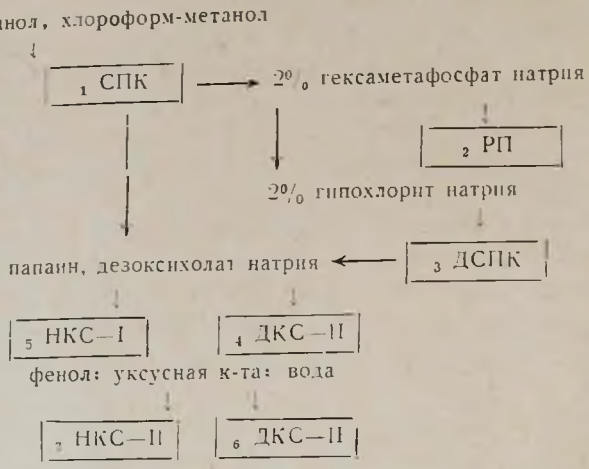
Следует отметить, что перечень полимеров, включающихся в комплексы между собой, вероятно, не исчерпывается белками, полисахаридами и конденсированными фенольными соединениями. В работе Коджая и сотр. [5] подробно рассматриваются липополисахариды винограда; Ломова и сотр. [7] указывают на присутствие в рисовой соломе лигнинуглеводных комплексов.

Представленный беглый обзор иллюстрирует сложность стоящих перед исследователями задач в целом и почти полное отсутствие систематических исследований, касающихся природы комплекса полимеров виноградной ягоды. Целью данной работы явилось получение максимальной информации в этом плане.

Материал и методика. Кожицу виноградной ягоды отделяли пинцетом, сразу же погружая в 85%-ный этанол. Фиксацию растительного материала проводили в кипящем этаноле той же концентрации, в присутствии 2 М метабисульфата натрия. Обезжиривали препарат в аппарате Сокслета (24 час.) смесью хлороформ—метанол (2:1), в результате был получен исходный спиртонерастворимый препарат кожицы (СПК). Последующие процедуры фракционирования СПК проводили как на делигнифицированном препарате, так и на неделигнифицированном (для этого препарат был поделен на две части). Часть СПК делигнифицировали по методике, описанной в работе Ежова, Датунашвили [3]. Предварительное удаление препарата растворимого пектина проводили 2%-ным гексаметафосфатом натрия (2—3 час.), экстракт диализовали против воды и осаждали этанолом 5:1 v/v (препарат растворимого пектина РП). Делигнифицированный и неделигнифицированный СПК фракционировали далее по общей методике: на первом этапе предусматривалась обработка папаином (0.03%, 37°, 72 час.) и дезоксихолатом натрия, для чего препараты СПК суспендировали в воде (модуль 1:10, 18 час.), а затем гомогенизировали в течение часа с 2-мя порциями 1%-ного дезоксихолата, модуль 1:5, 5° [15]. Суспензию центрифугировали, промывали водой, этанолом, диэтиловым эфиром и сушили в вакуум-эксикаторе над силикагелем. В результате были получены промежуточные препараты клеточных стенок с предварительной делигнификацией (ДКС-1) и без нее (НКС-1). Эти фракции очищали далее обработкой смесью фенол—уксусная кислота—вода (2:1:1), 5°, 30 мин. Затем повторяли операции по промывке, согласно вышеописанной, вследствие чего были получены очищенные препараты клеточных стенок—соответственно ДКС-2 и НКС-2 (схема).

Во всех полученных фракциях, начиная с исходной (СПК), проводили количественное аналитическое определение аминокислот белка, моносахаридного состава поли-

Схема фракционирования препаратов полимеров кожицы виноградной ягоды



сахаридов, фенольных веществ и полуколичественное определение металлов. Анализ аминокислотного состава белка проводили после стандартной подготовки пробы (кислотный гидролиз, очистка и концентрирование) на газовом хроматографе фирмы «Perkin—Elmer» (колонка Хромосорб W+0,6%-ный этиленгликольадипинат, газ-носитель гелий, 22,9 мл/мин, программирование в пределах 70—195°) по методике, описанной Зумвальтом и сотр. [18]. Фенольные компоненты в связанной форме определяли после предварительного кислотного (2 N соляная кислота, модуль 1:50, 100°, 1 час.) и щелочного гидролиза (2 N едкий натр, модуль 1:50, 20°, 5 час.), трехкратной экстракции этилацетатом с предварительной нейтрализацией гидролизатов. Экстракты упаривали в токе инертного газа под вакуумом досуха и силилировали добавлением лутидина, гексаметилендисилазана и трифторуксусного альдегида (100:200:1). Количественное определение проводили на газовом хроматографе «Цвет-5» по методике, разработанной во ВНИИВиВ (колонка Хе—60, 15% вес., на хроматроне—N 0,25 мм, газноситель—гелий, 35 мл/мин, программирование в пределах 100—260°).

Моносахаридный состав полисахаридов анализировали после предварительного кислотного гидролиза (3%-ная азотная кислота, модуль 1:50, 10—12 час. нейтрализации, Amberlit JRA-401 в OH^- форме) и концентрирования пробы тонкослойной хроматографией в системе бутанол этилацетат—пропанол—уксусная кислота—вода, 7:20:12:7:6, v/v, 4 разгонки.

Полуколичественный анализ металлов в образцах проводили на спектрографе ИСП-30 по методике, изложенной Боровик-Романовой и сотр. [2].

Результаты и обсуждение. Анализ состава исходного препарата кожицы—СПК показывает (табл. 1), что доминирующими компонентами в нем являются полисахариды на основе глюкозы, маннозы и ксилозы.

Препарат растворимого пектина (РП), изолированный с целью проведения дальнейшей процедуры делигнификации клеточных стенок, содержит обычный набор углеводов, присущих кислым полисахаридам. Обращает на себя внимание высокое содержание во фракции РП Д-галактозы (12, 23%), что дополнительно подтверждает предположение о включении в состав пектиновых веществ кожицы виноградной ягоды нейтрального фрагмента [3].

Таблица 1

Изменение состава полисахаридов кожицы виноградной ягоды по мере фракционирования

Мономеры в составе полисахаридов	Содержание во фракциях, % к абс. сухому весу*						
	СПК	РП	ДСПК	ДКС—1	НКС—1	ДКС—2	НКС—2
Д-галактуроновая кислота	1,61	8,16	0,81	0,61	0,94	0,53	0,68
Д-глюкуроновая кислота	следы	2,48	—	—	следы	—	следы
L-рамноза	1,67	6,05	1,74	9,25	1,15	3,38	0,25
L-арабиноза	0,78	5,72	0,89	0,53	0,57	1,11	0,64
Д-ксилоза	2,16	2,36	5,40	6,70	1,73	6,49	12,03
Д-галактоза	3,32	12,23	—	—	1,95	—	1,69
Д-маннoза	2,80	—	3,80	1,54	2,48	1,92	0,06
Д-глюкоза	11,34	—	27,57	19,18	16,99	32,61	14,35
Неидентифицирован	1,82	—	2,27	1,00	0,79	—	0,42
Сумма	25,50	37,30	42,48	38,81	26,61	46,07	30,12

* СПК—исходный спиртонерастворимый препарат кожицы; РП—растворимый пектин; ДСПК—делигнифицированная исходная фракция; ДКС, НКС-1, 2—препараты клеточных стенок, соответственно делигнифицированные и с неудаленным лигнином.

В делигнифицированном препарате кожицы (ДСПК) отмечено закономерное увеличение содержания составляющих целлюлозы—Д-глюкозы, Д-маннозы и Д-ксилозы. То обстоятельство, что процентное содержание ксилозы с удалением лигнина возросло более чем в 2 раза, делает маловероятным наличие в кожице ксилолигнинных связей по типу, выявленному ранее для риса [7]. Последующая очистка фракции ДСПК не приводит к какому-либо определенному уменьшению содержания моносахаридных составляющих, за исключением Д-глюкуроновой кислоты (в делигнифицированных препаратах отсутствует) и Д-галактуроновой кислоты; содержание последней в очищенном препарате ДКС-2 составляет около 30% от исходного в кожице. В делигнифицированных препаратах существенно возрастает содержание L-рамнозы; по-видимому, в ягодах винограда этот мономер более присущ протопектину, чем пектину водорастворимому.

Существенных различий в динамике состава полисахаридов по мере фракционирования препаратов клеточных стенок как с удаленным лигнином, так и при наличии его нами не обнаружено. В этой связи выделение наиболее вероятных комбинаций связей полисахаридов как с лигнином, так и с белком и фенольными веществами представляется очень трудным. Возможна следующая интерпретация данных, которая может быть критически рассмотрена после выполнения дополнительных исследований. Во-первых, связь полисахаридов с лигнином может осуществляться через пектиновые вещества, поскольку последовательное удаление пектина и лигнина на дальнейшей динамике углеводов уже не отражается. Во-вторых, не исключается вероятность связи полисахаридов с белком через арабинозу: процентное содержание этого мономера уменьшается в ходе «депротеинизации» (обработка папаином и дезоксихолатом), увеличиваясь затем в очищенных препаратах. Наконец,

связь полисахаридов и фенольных веществ может идти через ксилозу; в делигнифицированных препаратах ее содержание постоянно, в недеглигнифицированных—резко возрастает после удаления липопротеидов и частично сорбированных фенольных веществ (НКС-2).

Аминокислотый состав белков во фракциях полимеров кожицы по мере очистки представлен в табл. 2.

Таблица 2

Аминокислотный состав белков кожицы виноградной ягоды в ходе фракционирования

Аминокислоты в составе белков	Содержание во фракциях, % в сумме						
	СПК	РП	ДСПК	ДКС—1	НКС—1	ДКС—2	НКС—2
Валин	следы	следы	2,55	нет количественных данных	1,18	следы	следы
Глицин	15,39	7,87	13,26		6,80	6,00	18,18
Изолейцин	следы	следы	2,04		0,89	1,33	следы
Лейцин	9,62	5,51	15,81		3,25	4,67	14,55
Пролин	11,54	39,37	6,63		5,33	6,66	0,73
Треонин	8,97	следы	4,59		1,78	2,00	5,45
Серин	23,70	39,37	21,94		7,69	6,66	21,82
Метионин	следы	следы	3,06		следы	следы	следы
Фенилаланин	3,21	3,94	5,10		43,20	46,67	7,27
Аспарагиновая кислота	3,85	3,94	6,12		5,33	3,33	3,64
Глутаминовая кислота	12,82	—	8,67		следы	5,33	9,09
Тирозин	8,33	—	7,67		следы	14,67	7,27
Орнитин	следы	следы	2,55		5,62	—	следы
Лизин	следы	следы	следы		18,94	следы	следы
Оксипролин	2,56	следы	следы		следы	2,67	следы

Из идентифицированных 15-ти аминокислот в составе белков исходной фракции кожицы СПК наибольший интерес представляют оксипролин, серин, глицин, глутаминовая кислота и пролин. Само по себе присутствие оксипролина свидетельствует о наличии белок-полисахаридных комплексов.

Во фракции растворимого пектина (РП) почти 80% от суммы аминокислот белка приходится на пролин и серин, при равном содержании их. Показательно, что по мере очистки препаратов клеточных стенок содержание пролина значительно уменьшается (по сравнению с исходной, СПК) и в наиболее очищенной фракции, НКС-2, составляет всего 0,73%; это позволяет думать, что пролинсодержащий белок ассоциирован с пектином относительно слабыми связями. Иное дело серин: имеются четкие различия в его содержании в зависимости от того, проведена делигнификация (6,66%) или нет (21,82%). Поскольку делигнификации предшествует выведение растворимого пектина, можно с определенной уверенностью считать, что связь белка кожицы с пектином осуществляется через серин. Высокое содержание в препарате РП галактозы (около 12%) может свидетельствовать о присутствии соединений типа галактозил-серин [17].

Относительно большая доля глицина (15,39%) и глутаминовой кислоты (12,82%), отмеченная в исходной СПК, сохраняется с небольшими изменениями и в очищенной фракции НКС-2 (18,18 и 9,09% соот-

ветственно). Эти две аминокислоты, таким образом, являются, наряду с оксипролином и серином, наиболее вероятными составляющими полисахаридсвязанного протеина.

Значительный интерес представляют данные о количественном изменении в составе белков кожицы фенилаланина. При относительно низком содержании в исходной СПК (3,21%) и фракции РП (3,94%), фенилаланин найден во фракциях НКС-1 и ДКС-2 в количествах, составляющих 43,2 и 46,67% соответственно; в препарате НКС-2, в котором очистка от липопротеидов и частично свободных фенольных веществ велась в присутствии лигнина и пектина, потери фенилаланина оказались ощутимыми (7,27%). Превалирующее содержание фенилаланина в очищенной от свободного протеина, липопротеидов, лигнина и пектина фракции ДКС-2 позволяет предполагать, что эта аминокислота является связывающим звеном белка либо с полисахаридами клеточных стенок, либо, что вероятней, с фенольными веществами, жестко связанными с клеточными стенками. Возможная природа связи полисахаридов и фенольных веществ будет обсуждаться ниже, здесь же уместно сослаться на представления о фенилаланине как предшественнике оксикоричных кислот [4], говорящие в пользу предложенной гипотезы. В очищенной фракции ДКС-2 найден оксипролин (2,67%), что подтверждает наличие соответствующих белок-углеводных комплексов.

Данные о содержании фенольных веществ во фракциях полимеров кожицы сведены в табл. 3.

Таблица 3

Динамика фенольных веществ во фракциях полимеров

Фенольные вещества в составе препаратов	Содержание во фракциях, % к абс. сухому весу						
	СПК	РП	ДСПК	ДКС—1	НКС—1	ДКС—2	НКС—2
Эпикатехин	2,97	0,17	0,16	0,248	4,38	0,880	0,402
Фенолкислоты:							
сиреневая	0,073	—	0,029	—	сл.	сл.	сл.
п-кумаровая	сл.	сл.	—	—	0,010	0,021	0,019
гентизиновая	сл.	сл.	—	0,068	0,037	—	сл.
протокатеховая	сл.	—	—	—	0,026	0,007	—
синаповая	сл.	—	—	0,043	—	0,029	0,007
цис-коричная	сл.	—	—	—	—	—	сл.
шикимовая	сл.	—	—	0,015	—	сл.	—
хинная	сл.	сл.	—	—	—	—	—
м-оксибензойная	сл.	—	—	—	—	0,010	сл.
Неидентифицированные, с° удерживания:		139,150 153,157 190,195 197,211 226,246 256					

Основным компонентом фенольной природы, связанным с клеточными стенками кожицы виноградной ягоды, является эпикатехин (2,97% во фракции СПК); в незначительных количествах идентифицирован ряд фенолкислот: сиреневая, п-кумаровая, гентизиновая, прото-

катеховая, синаповая, цис-коричная, шикимовая, хинная и п-оксибензойная. Эпикатехин, по-видимому, жестко связан как с растворимым пектином (содержание 1,17%), так и с лигнином: операции по делигнификации приводят к значительному снижению содержания этого компонента (фракция ДСПК—0,16%). То обстоятельство, что по мере дальнейшей очистки делигнифицированной фракции наблюдается постепенное увеличение содержания эпикатехина, говорит в пользу связи его не только с растворимым полиуронидом, но и с протопектином. Наличие в очищенных фракциях (НКС-2 и ДКС-2) п-кумаровой, синаповой и п-оксибензойной кислот может свидетельствовать об участии этих фенольных компонентов, наряду с эпикатехином, в образовании связей с упомянутыми полимерами.

Полуколичественный анализ содержания металлов в препаратах полимеров кожицы позволил идентифицировать для исходной фракции (СПК) в превалирующих количествах Fe и Ca, в незначительных—Al, Mg, B, Mn, Cu; кроме того, в числе доминирующих компонентов найдены Si и P. В ходе фракционирования большая часть кальция была обнаружена в препарате растворимого пектина (РП); очищенные делигнифицированные и неделигнифицированные фракции клеточных стенок отличались по содержанию Mg (больше во фракциях НКС) и Si (больше во фракциях ДКС); содержание Fe, Al, B, Ca сохранялось во всех фракциях примерно на одинаковом уровне.

Ряд авторов, к примеру Фауш и сотр. [10], приписывают железу роль хелатона в образовании связей типа белок—полисахарид—фенольный компонент. Что касается кальция, то высокое содержание его во фракции РП может объясняться образованием кальцийпектатных комплексов; согласно Хенглейну [12], протопектин высших растений содержит, кроме кальцийпектата, остатки фосфорной кислоты и магния. Бардинская [1] указывает на большую вероятность отложения в клеточных стенках высших растений кремния в виде солей; Джоунс и Мили [14] описали различные типы «опаловых фитолитов» ($SiO_2 \cdot nH_2O$) и их распределение в виде отложений у некоторых видов злаков.

Представленный материал свидетельствует о чрезвычайно сложной природе образования комплексов в кожице виноградной ягоды. Анализ экспериментальных данных позволяет однозначно судить только о том, что в изучаемом объекте присутствуют множественные комплексы между полисахаридами, белками, лигнином и фенольными веществами. С определенной степенью вероятности можно предполагать, что связь белков с полисахаридами осуществляется как через звенья галактозилсерина, так и оксипролинарабинозида; связь белков с фенольными веществами—через фенилаланин; полисахаридов с фенольными веществами—через ксилозу и эпикатехин. Эти выводы, однако, могут быть использованы в основном как отправная точка для проведения специальных исследований с целью их полного подтверждения.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
виноделия и виноградарства «Магарач»

Поступило 23.IV 1973 г.

ԽԱՂՈՂԻ ՊՏՂԻ ԲՋՋԱՊԱՏԵՐԻ ՊՈԼԻՄԵՐՆԵՐԻ ԿՈՄՊԼԵՔՍՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ե. Ն. ԴԱՏՈՒՆԱՇՎԻԼԻ, Ե. Գ. ՄԱՆՐԻԿՅԱՆ, Վ. Ն. ԵԺՈՎ, Ե. Յու. ՈՒՊԵՐՎԻՑԿԻ

Հետազոտվել է խաղողի մաշկը, որը պտղամսից անջատելուց հետո ճարպազրկվել է և պատրաստվել առաջնային պրեպարատ։ Վերջինս ֆրակցիավորվել է յոթ ֆրակցիաների, որոնցից յուրաքանչյուրում հետազոտվել են մոնոսախարիդների, ամինաթթուների կազմը, ֆենոլային միացությունները։

Հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ խաղողի մաշկի մեջ կոմպլեքսների ձևավորումն ունի չափազանց բարդ ծագում։ Միայն կարելի է եզրակացնել, որ հետազոտվող օբյեկտում առկա են բազմաթիվ կոմպլեքսներ, որոնք առաջացել են պոլիսախարիդների, սպիտակուցների, լիգնինի և ֆենոլային միացությունների միջև։ Որոշակի հավանականությամբ առանձնապես պետք է ենթադրել, որ սպիտակուցների կապը պոլիսախարիդների հետ իրականացվում են ինչպես գալակտոզիլսերինի, այնպես էլ էքսիպրոլինառաբինոզիտի օղակների միջոցով։ Սպիտակուցների և ֆենոլային միացությունների կապը՝ ֆենիլալանինի, պոլիսախարիդներինը ֆենոլային նյութերի հետ՝ քսիլոզայի և էպիկատեխինի միջոցով։ Մետաղներն, ըստ երևույթին, կատարում են խելատոնի դեր՝ սպիտակուց-պոլիսախարիդ-ֆենոլային կոմպոնենտ տիպի կապ ստեղծելու գործում, կալցին մասնակցում է կալցիպեկտատային կոմպլեքսի գոյացմանը։ Արված եզրակացությունները, հավանաբար, կարելի է օգտագործել հիմնականում որպես ելակետ՝ հատուկ հետազոտություններ կատարելու և դրանք լրիվ հաստատելու համար։

ON POLYMER COMPLEXES OF CELL-WALLS OF GRAPE BERRIES

E. N. DATOUNASHVILY, E. G. MANRIKIAN, V. E. EJEV, E. U. OUPERVITZKY

The composition of polymer complexes of grape berries cell-wall is presented. In the investigated object many complexes between polysaccharides, albumen, lignins and phenol substances are present. In the composition of these complexes phenol carbonic acids in trace quantities have also been revealed.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бардинская М. С.* Растительные клеточные стенки и их образование. М., 160, 1964.
2. *Боровик-Романова Т. Т., Фарафонов М. М., Грибовская И. Ф.* Спектральное определение микроэлементов в растениях и почвах. М., 85, 1973.
3. *Ежов В. Н., Датунашвили Е. Н.* Прикл. биохимия и микробиология, *10*, 6, 908—913, 1974.
4. *Запрометов М. Н.* Биохимия катехинов. М., 295, 1964.
5. *Коджоя А. С., Медведев В. Н., Медведева О. Ф.* Биохимия, *3*, 1, 23—28, 1972.
6. *Котова Л. В., Арасимович В. В., Крохмалюк В. В.* Физиол. и биохимия культ растений, 7, 4, 348—353, 1975.

7. *Ломова Г. П., Лазаренко Л. И., Панасюк Л. В., Панасюк В. Г.* Химия древесины. *8*, 65—66, 1971.
8. *el-Basionis, Towers G.* Can. J. Biochem. *42*, 203—205, 1964.
9. *Cho-Yong-Pill., Chrispulls Marten S.* Phytochemistry, *15*, 1, 165—169, 1976.
10. *Fausch H., Kündig W., Neukow H.* Nature, *199*, 287, 1963.
11. *Gallus H. P. C., Jennings A. C.* Aust. J. Biol. Sci., *24*, 747—749, 1971.
12. *Henglein F. A.* Die Uron und Polywronsäuren, Handbuch der Planzenphysiologie, Bd 6, 5, 405—410, 1958.
13. *Hillestad A., Wold Sens K., Eugen T.* Phytochemistry, *6*, 12, 1947—1951, 1977.
14. *Jounes L., H. P., Milne A. A., Wadham S. M.* Plant Soil, 18, 358 (cit S Bonner, Plaut Biochemistry, 1965, Acad. Press., N—Y—London, 623.
15. *Knee M.* Phytochemistry, *12*, 3, 637—653, 1973.
16. *Markwalder H., Neukom H.*, Phytochemistry, *15*, 5, 836—837, 1976.
17. *Monro J. A., Baily R. W., Penny D.* Phytochemistry, *15*, 1, 175—181, 1976.
18. *Zumwalt R. W., Don Roach., Gehrkn C. W.* J. of Chromatography, *59*, 2, 173—175, 1970.