



УДК 547.915.5.057

СИНТЕЗ ДИФОСФАТИДИЛГЛИЦЕРИНА (КАРДИОЛИПИНА)
С НЕНАСЫЩЕННЫМИ ЖИРНОКИСЛОТНЫМИ ОСТАТКАМИМишина И. М., Василенко И. А., Степанов А. Е.,
Швец В. И.

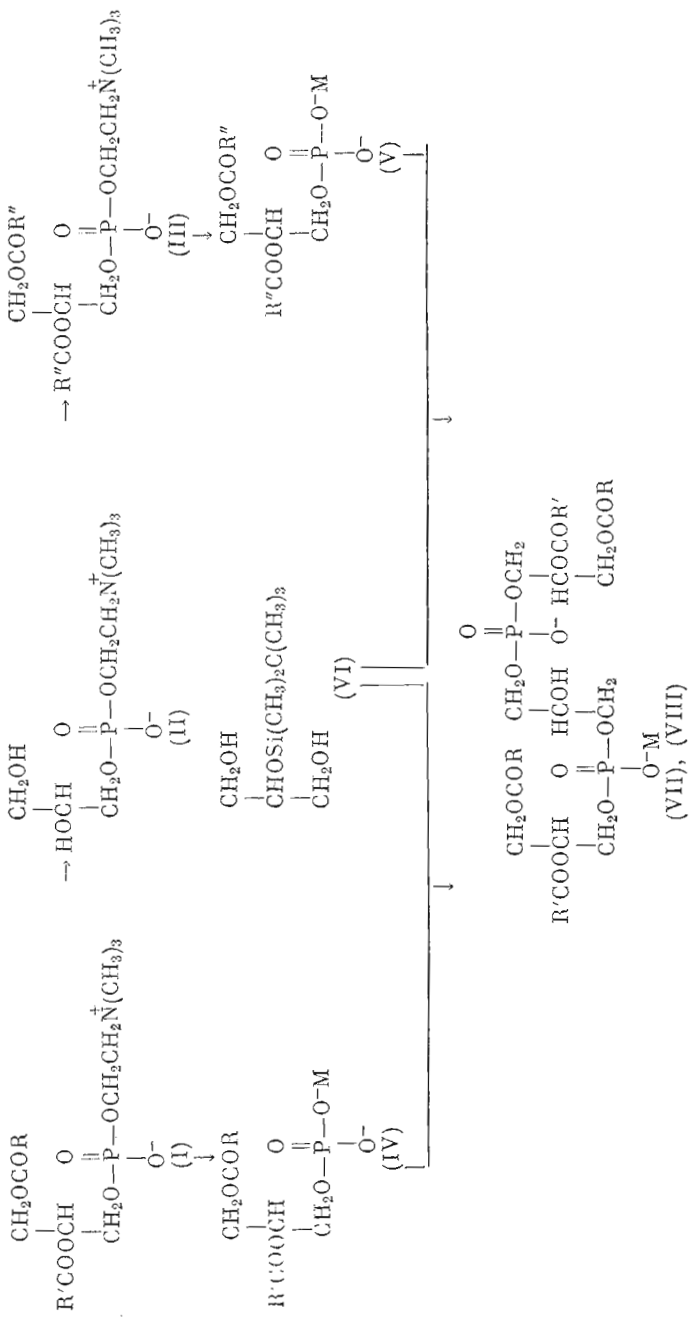
Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

В продолжение работы [1] по созданию эффективных способов получения полиглицерофосфатидов мы исследовали химико-ферментативный подход к синтезу дифосфатидилглицерина с различными остатками жирных кислот.

Построение фосфодиэфирной структуры дифосфатидилглицерина (VII) проводили конденсацией 2-О-трет-бутилдиметилсилилглицерина (VI) [2] с фосфатидной кислотой (V) в присутствии 2,4,6-триизопропилбензолсульфонилхлорида. 1,2-Диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфат (V) получали полусинтетическим путем из яичного фосфатидилхолина (I) [3], который деацилировали [4], полученный *sn*-глицеро-3-фосфохолин (II) ацилировали имидазolidом олеиновой кислоты [5] в 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (III) с общим выходом 61–63%. Последний обрабатывали препаратом неочищенной фосфолипазы D (КФ 3.1.4.4) по известному методу [3], что приводило к фосфатидной кислоте (V), которую выделяли хроматографией на силикагеле; выход 93%, R_f 0,74 (на силуфоле UV₂₅₄, ЧССР, система А: хлороформ – метанол – вода, 65 : 25 : 4), R_f 0,05 (система В: хлороформ – метанол – 25% аммиак, 65 : 25 : 5). Аналогичной обработкой яичного фосфатидилхолина (I) фосфолипазой D была получена фосфатидная кислота (IV) с набором жирнокислотных остатков, характерных для природного фосфатидилхолина (I). Выход кислоты (IV) 95%, R_f 0,74 (система А), R_f 0,05 (система В). Исходные фосфатидные кислоты (IV), (V) выделяли в виде кальциевых солей и вводили в конденсацию без перевода в форму свободной кислоты.

Конденсацию фосфатидной кислоты (V) с 2-О-трет-бутилдиметилсилилглицерином (VI) проводили в пиридине в присутствии 2,4,6-триизопропилбензолсульфонилхлорида (мольное соотношение компонентов 2 : 1 : 3) в течение 60 ч при 20°C, затем в реакционную смесь добавляли воду, смесь упаривали, остаток растворяли в хлороформе и хроматографировали на колонке с силикагелем L 40/100. В условиях обработки реакционной массы и хроматографической очистки продукта реакции происходило отщепление трет-бутилдиметилсилильной защитной группы. В результате был выделен хроматографически гомогенный 1,3-ди-(1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфо)глицерин (VIIa) с выходом 65%, R_f 0,71 (здесь и далее на пластине silica gel 60 F-254, Merck, система А), R_f 0,56 (система В: хлороформ – метанол – 25% аммиак – вода, 68 : 28 : 2 : 2), $[\alpha]_D^{20} +5,36^\circ$ (с 1,4; хлороформ).

В тех случаях, когда жирнокислотный состав дифосфатидилглицерина не имеет определяющего значения для последующего его применения, целесообразно использовать в синтезе фосфатидную кислоту (IV). Синтезированный таким образом хроматографически гомогенный 1,3-(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфо)глицерин (VIIa) был выделен с выходом 71,3%, R_f 0,71 (система А), R_f 0,52 (система В), $[\alpha]_D^{20} +3,93^\circ$ (с 2; хлороформ). Фосфолипиды (VIIa), (VIIIa) при этом были получены в виде кальциевых солей, о чем свидетельствуют удовлетворительные данные элементного анализа на кальций.



(II), (V), (VII) R" = R = R' = C₁₇H₃₃
 (I), (IV), (VIII) R = остатки насыщенных жирных кислот
 R' = остатки ненасыщенных жирных кислот
 (IV), (V) M = Ca²⁺
 (VII), (VIII) а) M = Ca²⁺
 б) M = 2NH₄⁺

Хроматографией кальциевых солей дифосфатидилглицеринов (VIIa), (VIIIa) на кремневой кислоте (предварительно обработанной 1 н. HCl, промытой дистиллированной водой и высушенной при 110–120°С в течение 12–15 ч) в аммиачной системе (Б) были получены их аммониевые соли (VIIб), (VIIIб).

Строение исходных и конечных соединений было подтверждено данными элементного анализа, ПМР- и ИК-спектров. Близкие значения хроматографических подвижностей при ТСХ и углов оптического вращения полученных соединений (VIIa), (VIIIa) и природного образца кардиолипина из бычьего сердца также подтверждают строение синтезированных дифосфатидилглицеринов.

Для исследования полиморфных превращений синтетических кардиолипидов методом ³¹P-ЯМР приготовлены незвученные водные дисперсии аммониевых солей (VIIб), (VIIIб) путем механического диспергирования 20–30 мг фосфолипида в 1 мл D₂O. Показано, что при отсутствии в среде ионов Ca²⁺ образуются агрегаты с бислошной упаковкой, о чем свидетельствовал наблюдаемый сигнал с анизотропией химического сдвига Δ≈40 м. д. и плечом, направленным в сторону слабого поля в спектрах ³¹P-ЯМР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Степанов А. Е., Макарова И. М., Швец В. И. Журн. орг. химии, 1984, т. 20, № 5, с. 985–988.
2. Dodd G. H., Golding B. T., Ioannou P. V. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1976, № 21, p. 2273–2277.
3. Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В., Молотковский Ю. Г., Батраков С. Г., Барсуков Л. И., Проказова И. В. Препаративная биохимия липидов. М.: Наука, 1981, с. 170–171.
4. Robles E. C., Roels G. F. M. Chem. Phys. Lipids, 1971, v. 6, № 1, p. 31–38.
5. Hermetter A., Paltauf F. Chem. Phys. Lipids, 1981, v. 28, № 1, p. 111–115.

Поступило в редакцию
5.III.1985

SYNTHESIS OF DIPHOSPHATIDYLGLYCEROL (CARDIOLIPIN) WITH UNSATURATED FATTY ACIDS

MISHINA I. M., VASILENKO I. A., STEPANOV A. E., SHVETS V. I.

M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow

A convenient chemical – enzymatic approach to the synthesis of diphosphatidylglycerol (cardiolipin) with different fatty acids is described by condensation of 1,2-diacyl-*sn*-glycero-3-phosphoric acid (obtained, e. g., by cleavage of 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine and egg phosphatidylcholine with phospholipase D from cabbage) with 2-*O*-*tert*-butyldimethylsilylglycerol in the presence of 2,4,6-triisopropylbenzenesulfonylchloride. The synthetic cardiolipins as unsonicated aqueous calcium-free dispersions were shown, by ³¹P-NMR spectroscopy, to form aggregates of bilayer structure.