БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
том 10 * №10 * 1984

УДК 547.292.94:577.334

# СПИН-МЕЧЕНЫЕ ФОСФОЛИПИДЫ С ИМИДАЗОЛИНОВЫМ НИТРОКСИЛЬНЫМ ФРАГМЕНТОМ

***Борин М. Л., Давиденко Н. Н., Швец В. И.*, Кедик С. А., Володарский Л. Б.*****

*Научно-исследовательский институт по биологическим испытаниям химических соединений, Купавна Московской обл.;*

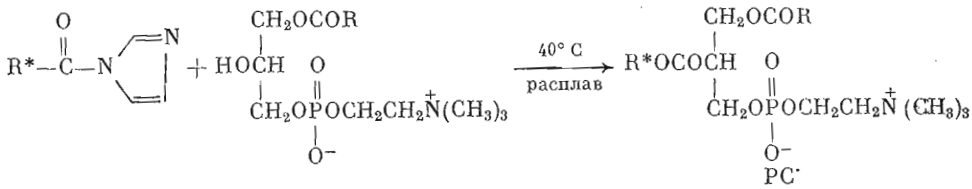
** Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова;*
*** Новосибирский институт органической химии Сибирского отделения Академии наук СССР*

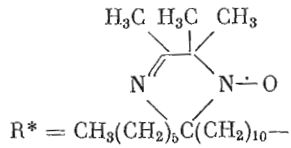
Спин-меченые фосфолипиды позволяют получить ценную информацию при изучении структурных и динамических особенностей биологических и модельных мембран [1—3]. Наиболее доступными являются спин-меченные по гидрофобной части фосфатидилхолины, которые синтезируют ацилированием соответствующего лизофосфатидилхолина ангидридами или имидазолидами спин-меченых жирных кислот [1]. Получение других спин-меченых фосфолипидов наталкивается на ряд трудностей, связанных с наличием в полярной части липида функциональных групп, которые необходимо защищать, а затем удалять, не затронув при этом свободнорадикальный фрагмент. Поэтому эти фосфолипиды получают многостадийным синтезом с небольшим выходом [1].

Известна лишь одна работа [2], в которой описано получение фосфатидилэтаноламина и фосфатидилглицерина перефосфатидилированием спин-меченного по гидрофобной части фосфатидилхолина с оксазолидиновым нитроксильным фрагментом фосфолипазой D в присутствии соответствующего спирта. Однако в работе нет каких-либо экспериментальных деталей получения соединений, их строения, выхода и т. п. Полусинтетическим методом получен также спин-меченый фосфатидилсерин, но более сложным путем — взаимодействием цитидинфосфатглицерина с *L*-серином в присутствии фосфатидилсеринсинтетазы [3].

Ранее нами были описаны новые липидные спиновые зонды с имидазолиновым нитроксильным фрагментом [4]. Преимуществом имидазолин-1-оксилов является их устойчивость в кислой среде [5] в отличие от других кислотолабильных нитроксильных радикалов. Это позволило нам без опасений осуществить перефосфатидилирование спин-меченого фосфатидилхолина фосфолипазой D при pH 5,5 и получить серию спин-меченых фосфолипидов.

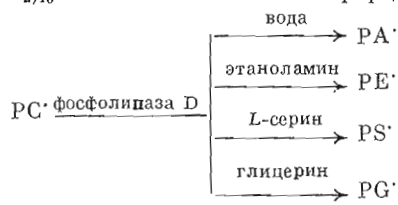
Спин-меченый фосфатидилхолин (PC$^{\cdot}$) синтезировали ацилированием лизофосфатидилхолина (получен гидролизом яичного фосфатидилхолина фосфолипазой $A_2$) имидазолидом спин-меченной по 12-му положению стеариновой кислоты с выходом 40,3% по методу [6]. Одним из недостатков имидазолидного метода ацилирования является сложность отделения от примесей образующегося имидазола. В данном случае благодаря кислотоустойчивости имидазолинового фрагмента примесь имидазола была легко удалена многократным промыванием хлороформного раствора PC$^{\cdot}$ раствором HCl.





R* = $CH_3(CH_2)_5C(CH_2)_{10}$—

R — остаток природных жирных кислот




Спин-меченые фосфатидилэтаноламин (PE·), фосфатидилсерин (PS·) и фосфатидилглицерин (PG·) получали по методикам [7] инкубированием спин-меченого фосфатидилхолина с раствором фосфолипазы D, выделенной из капусты, и соответствующего спиртового компонента в ацетатном буфере (pH 5,6). Инкубацию проводили до полного расщепления исходного PC·: от 6 (в случае PS·) до 12 ч (в случае PE· и PG·). Контроль за ходом реакции осуществляли ТСХ на силуфоле в системе хлороформ — метанол — вода, 65 : 25 : 4. После обработки реакционной смеси целевые продукты выделяли препаративной ТСХ на силикагеле в системе хлороформ — метанол — 25% аммиак, 65 : 25 : 4 (в случае PE· и PG·) или колоночной хроматографией на силикагеле в градиентной системе хлороформ — метанол (в случае PS·). Выходы целевых фосфолипидов составляли 15—20%. Во всех случаях наряду с целевыми фосфолипидами образовывалось значительное количество (до 60%) фосфатидной кислоты, которая также является ценным спиновым зондом [2, 3]. Все полученные спин-меченые фосфолипиды представляли собой светло-желтые воскообразные вещества. По своей хроматографической подвижности они были близки к соответствующим природным фосфолипидам; при обработке хроматограмм реактивом на фосфорсодержащие соединения [8] давали характерное синее окрашивание пятен, PE· и PC· обнаруживались нингидрином. Спектры ЭПР полученных соединений (10 мМ растворы в этаноле) представляли характерные триплеты с $a_N$ 14,5 мТ.

Таким образом, полусинтетический метод дает возможность легко получать большой набор спин-меченых фосфолипидов исходя из спин-меченых жирных кислот с помощью доступных ферментов.

## ЛИТЕРАТУРА


1. *Жданов Р. И.* Парамагнитные модели биологически активных соединений. М.: Наука, 1981.
2. *Tanaka K., Ohnishi S.* Biochim. et biophys. acta, 1976, v. 426, № 2, p. 218—231.
3. *Ito T., Ohnishi S., Ishinaga H., Kito M.* Biochemistry, 1975, v. 14, № 14, p. 3064—3069.
4. *Борин М. Л., Кедик С. А., Володарский Л. Б., Швец В. И.* Биоорган. химия, 1984, т. 10, № 2, с. 251—255.
5. *Володарский Л. Б., Вайнер Л. М.* Хим.-фармац. журн., 1983, № 5, с. 524—533.
6. *Суханов В. А., Жданов Р. И., Швец В. И., Евстигнеева Р. П.* Биоорган. химия, 1977, т. 4, № 6, с. 785—790.
7. *Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В., Молотковский Ю. Г. и др.* Препаративная биохимия липидов. М.: Наука, 1981, с. 156, 167.
8. *Новицкая Г. В.* Методическое руководство по ТСХ липидов. М.: Наука, 1972, с. 44—45.



Поступило в редакцию
19.IV.1984

# SPIN-LABELED PHOSPHOLIPIDS COMPRISING IMIDAZOLINE NITROXYL FRAGMENT

BORIN M. L., DAVIDENKO N. N., SHVETS V. I.*, KEDIK S. A., VOLODARSKY L. B.**

*Research Institute for Biological Testing of Chemical Compounds, Kupavna; *M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow;*

***Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

The synthesis of a series of spin-labeled phospholipids (phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, phosphatidylglycerol, phosphatidic acid) has been achieved by transphosphatidylation of labeled phosphatidylcholine in the presence of phospholipase D.

Технический редактор *Кузьмишкина Е. С.*

Сдано в набор 20.07.84 Подписано к печати 06.09.84 Т-05200 Формат бумаги 70×108¹/₁₆
Высокая печать Усл. печ. л. 12,6 Усл. кр.-отт. 11,1 тыс. Уч.-изд. л. 13,9 Бум. л. 4,5
Тираж 867 экз. Зак. 381

Издательство «Наука». 103717 ГСП, Москва, К-62, Подсосенский пер., 21
2-я типография издательства «Наука», 121099, Москва, Шубинский пер., 10