



## ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.953.057+577.352.2:547.963.4

### СИНТЕЗ ПОЛИМЕРИЗУЕМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ И СОЗДАНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ МОНОСЛОЕВ И ЛИПОСОМ НА ИХ ОСНОВЕ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМ БАКТЕРИОРОДОПСИНОМ

*Зайцев С. Ю., Звонкова Е. Н.\*, Зубов В. П.*

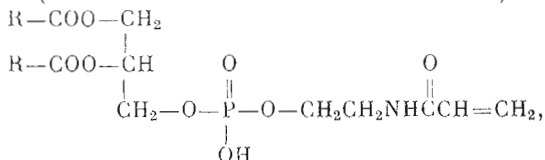
*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина Академии наук СССР, Москва;*

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

Полимерные монослойные и бислойные мембраны при сохранении всех важных свойств традиционных модельных систем отличаются от них значительно большей стабильностью во времени и устойчивостью к внешним воздействиям, что делает их во многих случаях весьма удобными модельными мембранными системами [1].

Нашей задачей являлось создание и исследование таких полимерных мембран с последующей иммобилизацией в них мембранных белков. В связи с этим необходимо было синтезировать поверхностно-активные мономеры, близкие по строению и свойствам к природным липидам. Наиболее простым и удобным из всех изученных нами методов синтеза явилось ацилирование выделенных из природных источников липидов или их синтетических аналогов хлорангидами акриловой или метакриловой кислот по аминогруппам с получением легко полимеризуемых производных. Подобные реакции, хорошо известные в органической химии [2], в настоящее время начали широко использоваться при модификации белков [3].

Таким образом, путем модификации фосфатидилэтаноламина яичного желтка (PE), выделенного по известной методике [4], и синтетического *rac*-дипальмитоилфосфатидилэтаноламина (DPPE) фирмы Sigma (США) акрилоилхлоридом в триэтиламинe нами были получены их N-акрилоильные производные (AC-PE и AC-DPPE соответственно) общей формулы



где R соответствует C<sub>15</sub>H<sub>31</sub> для AC-DPPE и набору насыщенных и ненасыщенных углеводородных радикалов различной длины [4] для AC-PE. Реакционную смесь через 24 ч растворяли в хлороформе, промывали водой и разделяли колоночной хроматографией на силикагеле при элюировании смесью хлороформ — метанол в соотношениях от 9 : 1 до 1 : 1. Полученные производные фосфатидилэтаноламинов отличались от исходных липидов по хроматографической подвижности и окрашиванию специфическими обнаружителями. Их структура была подтверждена данными ИК- и ПМР-спектроскопии.

Для получения монослоев использовали установку Film Balance (Lauda, ФРГ), работающую по принципу весов Лэнгмюра. Моноламельлярные

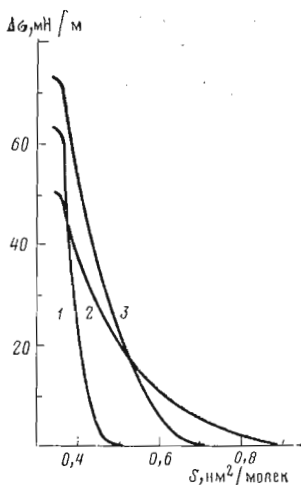


Рис. 1

Рис. 1. Кривые зависимости поверхностного давления ( $\Delta\sigma$ ) от площади ( $S$ ) на молекулу для монослоев: 1 — DPPE, 2 — AC-DPPE, 3 — poly(AC-DDPE)

Рис. 2. Кривые зависимости изменения pH среды от времени при облучении ( $\lambda$  570 нм) бактериородопсина, иммобилизованного в мономерные (1) и полимерные (2) липосомы на основе AC-PE (A — начало облучения, B — конец облучения)

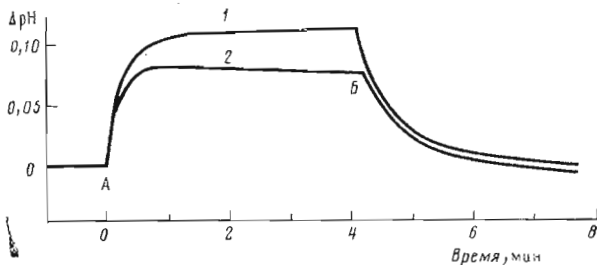


Рис. 2

липосомы (везикулы) получали озвучиванием водной дисперсии липида (1 мг/мл) на установке УЗДН-2Т в атмосфере азота в течение 30 мин при комнатной температуре.

Полученные производные AC-DPPE и AC-PE образуют стабильные монослои на границе раздела вода — воздух. Как видно из рис. 1, введение в гидрофильную часть молекулы липида заместителя приводит к увеличению почти на 20% площади ( $S_0$ ), приходящейся на молекулу вещества в свободном монослое, т. е. в отсутствие поверхностного давления (кривая 2) по сравнению с исходным DPPE (кривая 1), и одновременному уменьшению на 25% поверхностного давления ( $\Delta\sigma_h$ ), при котором наступает коллапс монослоя. УФ-облучение монослоев мономера AC-DPPE при 254 нм в атмосфере азота приводит к образованию полимера с плотной упаковкой мономерных звеньев на поверхности раздела фаз. Это видно из уменьшения площади  $S_0$  (кривая 3). Полимерный монослой является более жестким, чем мономерный, что следует из увеличения в 1,5 раза величины  $\Delta\sigma_h$  и угла наклона прямолинейного участка графика  $\Delta\sigma-S$  для полимера (рис. 1).

Полимеризацию липосом на основе мономера AC-PE проводили путем иницирования циклогексилпероксикарбонатом при 40°С в течение 10 ч или УФ-облучением в течение 1 ч. Доказательством образования полимера служат хроматографические данные (полимер остается на старте при ТСХ) и исчезновение сигналов при  $\delta$  5,50; 6,15 и 6,30 м. д. в ПМР-спектре, соответствующих химическим сдвигам протонов при сопряженной концевой связи С-С. Полимерные липосомы более устойчивы к действию детергентов и спиртов, чем мономерные или липосомы на основе исходных липидов.

Иммобилизация бактериородопсина в мономерные и полимерные липосомы на основе AC-PE не приводит к потере его функциональной активности, что было показано на примере обратимого изменения pH среды при облучении водной дисперсии таких липосом светом с  $\lambda=570$  нм (рис. 2), и дает возможность исследовать влияние полимерного окружения на фотохромный цикл бактериородопсина.

Таким образом, впервые синтезированы полимеризующиеся N-акрилоильные производные фосфолипидов, получены и исследованы мономерные и полимерные монослои и липосомы на их основе, в том числе с иммобилизованным мембранным белком — бактериородопсином.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bader H., Ringsdorf H., Schmidt B. *Angew. Makromol. Chem.*, 1984, В. 123/124, S. 457—485.
2. Вейганд К., Хильгегат Г. *Методы эксперимента в органической химии*. М.: Химия, 1968, с. 431—438.

3. Платэ Н. А., Валугев Л. И. Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1985, т. 30, № 4, с. 402-410.

4. Бергельсон Л. Д. Препаративная биохимия липидов. М.: Наука, 1981, с. 141-147.

Поступило в редакцию  
4.IV.1986

**SYNTHESIS OF POLYMERIZABLE PHOSPHOLIPID DERIVATIVES AND THEIR  
USE IN MAKING POLYMERIC MONOLAYERS AND LIPOSOMES WITH  
IMMOBILIZED BACTERIORHODOPSIN**

ZAITSSEV S. Yu., ZVONKOVA E. N.\*, ZUBOV V. P.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of  
Sciences of the USSR;*

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

Polymerizable phospholipid derivatives with N-acryloyl groups have been synthesized; monomeric and polymeric monolayers and liposomes based on these compounds have been prepared and investigated. Bacteriorhodopsin immobilized in the monomeric and polymeric liposomes was shown to retain its native activity.