



УДК 547.915.5.057

**ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ. СИНТЕЗ
ДИФОСФАТИДИЛГЛИЦЕРИНА (КАРДИОЛИПИНА)
С НЕНАСЫЩЕННЫМИ ЖИРНОКИСЛОТНЫМИ ОСТАТКАМИ*****Мишина И. М., Василенко И. А., Степанов А. Е.,
Швец В. И.***Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова*

Осуществлен синтез дифосфатидилглицерина (кардиолипина) природной структуры с различными жирнокислотными остатками, основанный на конденсации 1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфата (полученного ферментативным гидролизом 1,2-диолеоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина или яичного фосфатидилхолина (фосфолипазой D) с 2-*O*-трет-бутилдиметиламинилглицерином в присутствии 2,4,6-триизопронилбензолсульфонилхлорида. Целевые соединения получены в форме диаммониевых и диаммониевых солей. Неозвученные водные дисперсии диаммониевых солей синтетических дифосфатидилглицеринов, по данным ^{31}P -ЯМР-спектроскопии, способны к полиморфным переходам при добавлении ионов Ca^{2+} .

Дифосфатидилглицерин (кардиолипин) впервые был выделен М. Пэнборн из сердечной мышцы быка [2]; последующими исследователями установлено, что он, хотя и в незначительных количествах, повсеместно распространен в живых организмах и отличается специфическим жирнокислотным составом в зависимости от источника выделения. Так, в тканях млекопитающих дифосфатидилглицерин содержит преимущественно ненасыщенные жирные кислоты (до 98%) [3], в то время как в бактериях для него характерно наличие насыщенных жирных кислот (до 98%) [3]; в дифосфатидилглицерине из растительных источников присутствуют в различных соотношениях оба типа высших жирных кислот [4]. Известно, что пути биосинтеза дифосфатидилглицерина в организмах животных и в бактериях различны [4]. Дифосфатидилглицерины, обладающие разным жирнокислотным составом, имеют различные физико-химические свойства [3]; исследований по изучению влияния жирнокислотного состава на свойства дифосфатидилглицерина проведено пока немного [3]. Это связано главным образом с малой доступностью дифосфатидилглицеринов, имеющих заданный жирнокислотный состав.

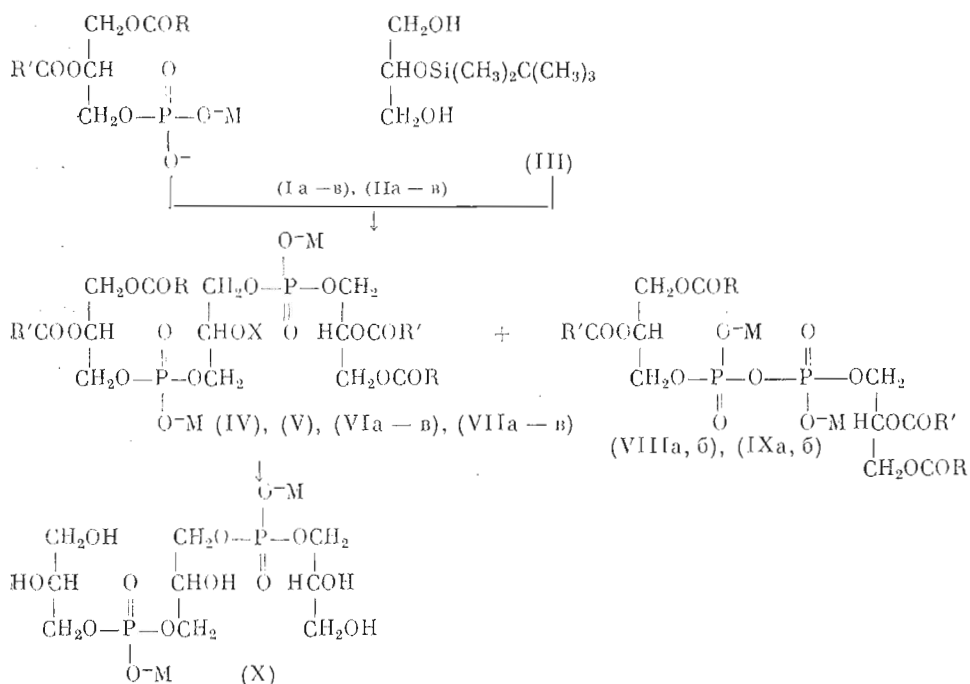
Дифосфатидилглицерин проявляет ярко выраженную активность в серологических реакциях, что используется в медицине для диагностических целей [5]. Дальнейшее широкое изучение свойств дифосфатидилглицерина с различным жирнокислотным составом биохимическими и биофизическими методами и перспективы его применения для биомедицинских и биотехнологических целей обуславливают потребность в получении образцов индивидуальных молекулярных форм природной структуры этого фосфолипида, а также его аналогов с модифицированной структурой молекулы.

Анализ работ, посвященных химии дифосфатидилглицерина, показывает, что немногочисленные известные методы образования полиглицерофосфатидных структур характеризуются существенными недостатками (многостадийность, низкий выход целевых соединений, плохая воспроизводимость отдельных стадий, недостаточная доступность и лабильность промежуточных веществ синтеза), что ограничивает их применение [4]. Поэтому поиск эффективных методов синтеза полиглицерофосфатидов остается актуальной задачей в химии фосфолипидов.

Ранее нами был предложен новый подход для образования структур полиглицерофосфатидов [6], заключающийся в конденсации 2-*O*-

* Краткое сообщение см. [1].

бензилглицерина и синтетической фосфатидной кислоты с насыщенными жирнокислотными остатками в присутствии арилсульфонилхлоридов [7]. В настоящем сообщении, являющемся развитием работ [1, 6], описан малостадийный полусинтетический подход к препаративному получению дифосфатидилглицеринов природного строения с заданным набором жирнокислотных остатков. Подбор оптимальных условий и уменьшение числа стадий синтеза по сравнению с методом [6] достигались, во-первых, использованием яичного фосфатидилхолина для быстрого и удобного получения фосфатидной кислоты (I); во-вторых, примененном в качестве глицеринового компонента 2-О-трет-бутилдиметилсилилглицерина (III), что позволяет синтезировать дифосфатидилглицерины с остатками жирных кислот любого строения (насыщенных, ненасыщенных, специфически меченных) (схема).



(I), (V), (VII), (IX): R — остатки природных насыщенных жирных кислот,
R' — остатки природных ненасыщенных жирных кислот

(II), (IV), (VI), (VIII): R = R' = C₁₇H₃₃
(IV), (V): X = Si(CH₃)₂C(CH₃)₃; (VI), (VII): X = H

(I), (II): а) M = Ca²⁺, б) M = H⁺, в) M = 2NH₄⁺

(IV), (V): M = H⁺

(VI), (VII): а) M = H⁺, б) M = NH₄⁺,

в) M = Na⁺

(VIII), (IX): а) M = 1/2Ca²⁺, б) M = H⁺

(X): M = H⁺

Фосфатидная кислота (I) была получена ферментативным гидролизом яичного фосфатидилхолина препаратом неочищенной фосфолипазы D (КФ 3.1.4.4) из капусты [8]. Однако таким путем возможно получение фосфатидных кислот лишь с набором жирнокислотных остатков, характерных для яичного фосфатидилхолина. Для аналогичного синтеза одно-кислотных фосфатидных кислот мы применили известный метод: дезацилирование — реацилирование яичного фосфатидилхолина с последующим гидролизом фосфолипазой D. Яичный фосфатидилхолин дезацилировали метилатом натрия [9] и полученный *sn*-глицеро-3-фосфолин ацилировали имидазолидом олеиновой кислоты [10] с образованием 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина, ферментализмом которого фосфолипазой D получали 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфат (II).

Ферментативный гидролиз проводили в присутствии ионов кальция, активирующих действие фермента [11], при этом образовывались фосфатидные кислоты в форме кальциевых солей (Ia) и (IIa). Их после

выделения и очистки переводили в соответствующие формы свободных кислот (Iб) и (IIб) [12] и немедленно вводили в конденсацию в присутствии 2,4,6-триизопропилбензолсульфонилхлорида (TPS) с 2-О-*трет*-бутилдиметилсилилглицерином (III), синтезированным по методу [13] из 1,3-бензилиденглицерина. Мы нашли, что оптимальным является мольное соотношение фосфат — спирт — конденсирующий агент 1:2:3. При этом соотношение образующихся соединений (IV) и (VIII), определенное денситометрически при ТСХ (условия см. в «экспер. части») реакционной массы, составило ~9:1, а для соединений (V) и (IX) ~14:1. Обработка реакционных масс и последующая хроматографическая очистка соединений (IV) и (V) на силикагеле приводила к частичному отщеплению от них *трет*-бутилдиметилсилильной защитной группы и к незначительному снижению выходов. Снижение выхода целевых соединений (IV) и (V) в ходе выделения и очистки может быть, кроме того, обусловлено высокой лабильностью кислых фосфолипидов в форме свободной кислоты.

Алкилсилильную защитную группу в соединениях (IV) и (V) удаляли 1 н. соляной кислотой [14].

Состав и количественное соотношение продуктов реакции конденсации зависят от формы исходного фосфатного компонента (свободная кислота либо кальциевая соль). Эксперименты показали, что предпочтительно применение фосфатидных кислот в форме свободной кислоты (Iб) и (IIб), поскольку в этом случае побочные продукты — Р,Р'-бис(1,2-дицил-*си*-глицеро-3-)пирофосфаты (VIII) и (IX) — образуются в наименьших количествах. Соединения (VIII) и (IX) идентифицировали сравнением с заведомыми образцами пирофосфатов [12], синтезированными нами из кальциевых солей фосфатидных кислот (Iа) и (IIа) под действием TPS в пиридине.

Нас также заинтересовали вопросы хранения и очистки фосфатидных кислот. Оказалось, что растворы кальциевых солей фосфатидных кислот (Iа) и (IIа) в бензоле, находившиеся при 0–3° С, через 2–4 недели содержали до 10–15% пирофосфатидных кислот (VIIIа) и (IXа), что было зарегистрировано методами спектроскопии ³¹P-ЯМР, ТСХ и денситометрии. Очистка фосфатидных кислот (Iа) и (IIа) от сопутствующих пирофосфатов с помощью колоночной хроматографии на силикагеле в градиентной системе хлороформ — метанол оказалась малоэффективной, к тому же в ходе элюирования происходило дальнейшее увеличение содержания пирофосфатидных кислот (VIIIа) и (IXа) до 20%. Полная очистка фосфатидных кислот была достигнута при элюировании смесью хлороформ — метанол — водный аммиак. При этом фосфатидные кислоты были выделены в виде аммониевых солей (Iв) и (IIв), которые перед использованием в реакциях конденсации с производным глицерина (III) переводили в свободные кислоты (Iб) и (IIб).

При хранении фосфатидных кислот в виде солей одновалентных щелочных металлов (монокальциевые и моносодриевые соли), полученных по методу [12], в течение месяца и дольше образования пирофосфатидных кислот (VIII) и (IX) не наблюдалось. Вероятно, присутствие иона двухвалентного металла в составе соединений (Iа) и (IIа) способствует образованию димерных соединений (VIIIа) и (IXа) из двух молекул фосфатидной кислоты.

Строение всех полученных в работе соединений было подтверждено данными элементного анализа, ИК- и ¹H-ЯМР спектров, ТСХ. Синтезированные дифосфатидилглицерины сравнивали в условиях ТСХ с образцами кардиолипина природного строения, выделенного из сердечной мышцы быка. В спектрах ³¹P-ЯМР для фосфатидных кислот (I) и (II) наблюдаются сигналы с химическими сдвигами δ 1,5±0,5 м. д., соответствующие монофосфоэфирной структуре; фосфодиэфирной структуре синтезированных дифосфатидилглицеринов (VI) и (VII) соответствовали сигналы с химическим сдвигом δ 2,5±0,3 м. д.; пирофосфатидные кислоты (VIII) и (IX) имели δ 13,0±0,5 м. д. Близкие по значениям и одинаковые по знаку углы оптического вращения образцов синтетиче-

ских и природного дифосфатидилглицеринов также подтверждали их строение.

Для изучения способности синтезированных дифосфатидилглицеринов к полиморфным превращениям были приготовлены неозвученные водные дисперсии диаммониевых солей (VIб) и (VIIб) путем механического диспергирования 20–30 мг фосфолипида в 1 мл D₂O. Для этих дисперсий с помощью спектроскопии ³¹P-ЯМР показано, что при отсутствии в водной среде ионов Ca²⁺ фосфолипиды образуют агрегаты с бислойной упаковкой молекул, о чем свидетельствует сигнал с анизотропией химического сдвига Δ=40 м. д. и плечом, направленным в сторону слабого поля. При добавлении ионов кальция (в соотношении кальций – дифосфатидилглицерин 2 : 1) наблюдалось появление сигнала с анизотропией химического сдвига Δ=25 м. д. и плечом, направленным в сторону сильного поля, что говорило [3] об образовании в водной среде фосфолипидными агрегатами гексагональной фазы.

Экспериментальная часть

ИК-спектры снимали на спектрометре Shimadzu JR-435 (Япония) в пленке, углы оптического вращения измерены на автоматическом спектрополяриметре Perkin – Elmer 241 MC (Англия). Спектры ¹H-ЯМР (внутренний стандарт – тетраметилэтилен) и ³¹P-ЯМР записывали на импульсном фурье-спектрометре Bruker WM-250 (ФРГ) в дейтерохлороформе. Спектры ³¹P-ЯМР записаны с широкополосным гетероядерным подавлением спин-спинового взаимодействия ³¹P-Н; сдвиги приведены относительно сигнала 85% ортофосфорной кислоты (внешний стандарт).

Процентное соотношение продуктов реакций конденсации анализировали на денситометре SAMAG (Швейцария); вещества наносили на анализаторе Linomat III (Швейцария), полоса нанесения 5 мм, ширина полосы 1 мм.

В работе использованы хроматографически чистые *трет*-бутилдиметилхлорсилан, 1,1'-карбонилдимидазол (Fluka, Швейцария) и TPS (Merck, ФРГ). Фосфатидилхолин выделяли из яичных желтков по методу [8], олеиновую кислоту (чистота 95%) – из оливкового масла и очищали низкотемпературной кристаллизацией [15]. *sn*-глицеро-3-фосфохолин получали дезацелированием яичного фосфатидилхолина [9]. Препарат неочищенной фосфолипазы D готовили гомогенизацией свежей капусты с 0,1 М натрий-ацетатным буфером (рН 5,6) при 20° С [8] (весовое соотношение ткань – буфер 1 : 3). Полученный экстракт центрифугировали 20 мин при 5000 об/мин. Надосадочную жидкость немедленно использовали в качестве препарата фосфолипазы D.

Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 (Chemapol, СССР), ТСХ – на силуфоле UV-254 (Chemapol, СССР) (1) и на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (2) (Merck, ФРГ) в системах хлороформ – метанол – 25% аммиак – вода, 68 : 28 : 2 : 2 (А), хлороформ – метанол – вода, 65 : 25 : 4 (Б), эфир (В). Растворители удаляли в вакууме при температуре не более 35° С. Обнаружение при ТСХ осуществляли: а) нагреванием при 180–200° С или б) молибденовым синим [16].

Определение жирнокислотного состава фосфолипидов проводили с помощью щелочного метанолиза [17]; ГЛХ-анализ полученных метиловых эфиров выполняли на приборе Chrom-4 (ЧССР), колонка (3×2500 мм) с 10% ПЭГА на газхроме Р (Serva, ФРГ) при 190° С; температура испарителя 260° С. Определен следующий жирнокислотный состав соединений (в % от суммы кислот): для яичного фосфатидилхолина и соединения (VII) – C_{16:0} 32%, C_{18:0} 10%, C_{18:1} 48%, C_{18:2} 9%, C_{20:4} 1%; для 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина и соединения (VI) – C_{18:1} 95,5%. Водорастворимые продукты дезацелирования соединений (VI), (VII) определяли с помощью БХ на бумаге «Ленинградская быстра» в системе метанол – 98% HCOOH – вода, 80 : 13 : 7 (Г). Идентифицирован и выделен [17, 18] 1,3-бис(*sn*-глицерофосфо)-*sn*-глицерин (X), R₁ 0,5–0,6, [α]₅₈₉ –1,2° (с 1,0; вода), C₆H₂₂O₁₃P₂ (анализ Р).

1,3-Ди-(1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфо)-2-*O*-*трет*-бутилдиметилсилилглицерин (IV). Раствор 65 мг 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфата (IIб) (R₁ 0,75 (1, Б), 0,05 (1, А), 0,40 (2, Б), [α]₅₈₉ +3,8° (с 3,5; хлороформ)) и 40 мг 2-*O*-*трет*-бутилдиметилсилилглицерина (III) (R₁ 0,55 (1, В), т. пл. 64,0–64,5° С) в 2 мл безводного пиридина обрабатывали 88 мг TPS в 3 мл безводного пиридина, нагревали 1 мин при 60° С и выдерживали смесь 24 ч при 20° С. Ход реакции контролировали ТСХ (2, А). В реакционную массу добавляли 2 мл воды, перемешивали 1 ч, растворитель упаривали с бензолом, остаток (197 мг) растворяли в 2 мл хлороформа и хроматографировали на колонке с 2,8 г силикагеля хлороформом с 5% метана, элюировали 75 мг хроматографически гомогенного соединения (IV) в виде желтоватого вязкого масла. Выход 51,4% на фосфатидную кислоту (IIб), R₁ 0,62 (2 А, обнаружение а. б), [α]₅₈₉²⁰ +2,15° (с 1,1; хлороформ – метанол, 9 : 1). ИК-спектр (ν, см⁻¹): 3060 (=C–H), 2950–3000 (–C–H), 1740 (C=O в COOR), 1250 (P=O), 1100 (P–O–C), 1090 (C–O–Si, Si–O), 1080 (P–O–), 860 (–Si–C), 800 (–Si(CH₃)₂). Спектр ¹H-ЯМР (δ, м. д.): 0,10 (с. Si(CH₃)₂), 0,92 (т, CH₃), 1,28 (м, (CH₂)_n), 2,21 (т, CH₂–C=O), 4,12 (м, CH₂(O)–CH(O)), 5,31 (т, H–C=C). C₈₇H₁₁₆₃SiO₁₇P₂. Анализ С, Н, Р.

Затем эмульговали *P,P'*-бис(1,2-диолеоил-*sn*-глицеро-3-)-пирофосфат (VIIIб). Фракции, содержащие последний, концентрировали в вакууме до объема 5–6 мл, добавляли 2 мл 10% водного CaCl₂, интенсивно перемешивали 5–10 мин, центрифугированием отделяли хлороформный слой, который промывали (3×10 мл) смесью хлороформ – метанол – вода, 1 : 16 : 16, каждый раз удаляя водную фазу, упаривали. Получали 3,2 мг кальциевой соли (VIIIа) в виде желтоватого воскообразного вещества. Выход 7,0% на фосфатидную кислоту (IIб), *R_f* 0,57 (2, А, обнаружение *a, б* – сине-лиловые пятна), $[\alpha]_{589}^{20} + 4,1^{\circ}$, $[\alpha]_{436}^{20} + 8,2^{\circ}$ (*c* 2,0; хлороформ). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3045–3050 (=C–H), 2950–3000 (–C–H), 1741 (C=O в COOR), 1250 (P=O), 1130 (P–O–C), 1060 (P–O–), 970 (P–O–P). C₈H₁₄CaO₁₃P₂ (анализ Ca, P).

1,3-Ди-(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-)-фосфо-2-О-трет-бутилдиметилсилилглицерин (V). По методике, описанной для соединений (IV) и (VIIIб), из 72 мг 1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфата (Iб) (*R_f* 0,74 (1, Б), *R_f* 0,05 (1, 2, А), *R_f* 0,40 (2, Б), $[\alpha]_{59}^{20} + 3,3^{\circ}$ (*c* 1,5; хлороформ – метанол, 9 : 1)) и 44 мг 2-О-трет-бутилдиметилсилилглицерина (III) в присутствии 97 мг TPS синтезировали: а) 85,9 мг защищенного дифосфатидилглицерина (V), выход 53,1% на фосфатидную кислоту (Iб), бесцветное вязкое масло, *R_f* 0,61 (2, А, обнаружение *a, б*), $[\alpha]_{589}^{20} + 1,75^{\circ}$ (*c* 0,57; хлороформ – метанол, 9 : 1). ИК- и ¹H-ЯМР-спектры аналогичны спектрам соединения (IV); б) кальциевую соль *P,P'*-бис(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-)-пирофосфата (IXа), выход 2,45 г (5,0% на фосфатидную кислоту (Iб)), бесцветное воскообразное вещество. *R_f* 0,56 (2, А, обнаружение *a, б*; сине-лиловые пятна), $[\alpha]_{589}^{20} + 4,9^{\circ}$, $[\alpha]_{436}^{20} + 8,5^{\circ}$ (*c* 1,8; хлороформ). ИК-спектр идентичен спектру соединения (VIIIа). Лит. данные для дикальциевой соли кислоты (IX) [14]: $[\alpha]_{589}^{25} + 4,85^{\circ}$, $[\alpha]_{436}^{25} + 8,3^{\circ}$.

Диаммониевая соль 1,3-ди-(1,2-диолеоил-*sn*-глицеро-3-)-фосфо)глицерина (VIб). К раствору 65 мг фосфатида (IV) в 36,6 мл смеси хлороформ – метанол – вода, 1 : 2 : 0,7, добавляли 91 мкл 1 н. соляной кислоты и перемешивали 6 ч при 20°С, реакционную смесь, содержащую кислоту (VIа), нейтрализовали добавлением 0,33 мл 12% NH₄OH (перемешивание 0,5 ч). Хлороформный слой отделяли, упаривали в вакууме и получали 53,1 мг хроматографически гомогенного соединения (VIб), выход 86,0% в виде желтоватого вязкого масла, *R_f* 0,53 (2, А, обнаружение *a, б*) $[\alpha]^{20} + 5,9^{\circ}$ (*c* 2,7; хлороформ). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3500 (ОН), 1735 (C=O в COOR), 1280 (P=O), 1070–1045 (P–O–C). Спектр ¹H-ЯМР (δ , м. д.): 0,89 (т, CH₃), 1,28 (м, (CH₂)_n), 2,20 (т, CH₂–C=O), 4,10 (м, CH₂(O)CH(O)), 5,30 (т, H–C=C). C₈H₁₅₆N₂O₁₇P₂ (анализ C, H, N, P). Лит. данные для диаммониевой соли 1,3-ди-(1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-)-фосфо)глицерина [14]: $[\alpha] + 6,35^{\circ}$ (*c* 2,75; хлороформ).

Динариевая соль 1,3-ди-(1,2-диолеоил-*sn*-глицеро-3-)-фосфо)глицерина (VIв). Раствор кислоты (VIа), полученный из 65 мг производного (IV), как в предыдущей методике, титровали 0,5 мл 0,01 н. NaOH в метаноле до pH 6,1, упаривали в вакууме и получали 55,0 мг динариевой соли (VIв) в виде желтоватого вязкого масла. Выход 88,5% на исходное соединение (IV), *R_f* 0,53 (2, А, обнаружение *a, б*), $[\alpha]_{589}^{20} + 6,3^{\circ}$ (*c* 2,1; хлороформ). C₈H₁₄₈Na₂O₁₇P₂ (анализ C, H, Na, P). ИК- и ¹H-ЯМР-спектры идентичны спектрам соединения (VIб) и (VIIIб, в) (см. ниже).

Диаммониевую соль 1,3-ди-(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-)-фосфо)глицерина (VIIб) получали аналогично соединению (VI) из 60,0 мг силилового производного (V); бесцветное вязкое масло, выход 50,2 мг (89,6%), *R_f* 0,52 (2, А, обнаружение *a, б*), $[\alpha]_{5}^{20} + 6,0^{\circ}$ (*c* 2,3; хлороформ). Лит. данные для диаммониевой соли 1,3-ди-(1,2-дистеароил-*sn*-глицеро-3-)-фосфо)глицерина [14]: $[\alpha]_{589}^{245} + 5,8^{\circ}$ (*c* 2,7; хлороформ).

Динариевую соль 1,3-ди-(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-)-фосфо)глицерина (VIIв) синтезировали из 60,0 мг производного (V), как описано для соединения (VIв). Выход 50,2 мг (88,4%), бесцветное вязкое масло, *R_f* 0,53 (2, А, обнаружение *a, б*), $[\alpha]_{53}^{20} + 6,1^{\circ}$ (*c* 1,85; хлороформ). Лит. данные для динариевой соли 1,3-ди-(1,2-дистеароил-*sn*-глицеро-3-)-фосфо)глицерина [14]: $[\alpha]_{589}^{20} + 7,0^{\circ}$ (*c* 2,0; хлороформ – метанол – вода, 4 : 4 : 1).

ЛИТЕРАТУРА

1. Мишина И. М., Василенко И. А., Степанов А. Е., Швец В. И. // Биоорганич. химия. 1985. Т. 11. № 7. С. 992–994.
2. Pangborn M. C. // Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1941. V. 48. № 2. P. 484–486.
3. Vasilenko I., De Kruijff B., Verkleij A. J. // Biochim. et biophys. acta. 1982. V. 684. № 2. P. 282–286.
4. Ioannou P. V., Golding B. T. // Prog. Lipid Res., 1979. V. 17. № 3. P. 279–319.
5. Gray G. M., Macfarlane M. G. // Biochem. J. 1958. V. 70. № 3. P. 409–425.
6. Степанов А. Е., Макарова И. М., Швец В. И. // Журн. орган. химии. 1984. Т. 20. Вып. 5. С. 985–988.
7. Aneja R., Chadha J. S., Davies A. P. // Biochim. et biophys. acta. 1970. V. 218. № 1. P. 102–111.

8. Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В., Молотковский Ю. Г., Баграков С. Г., Барсуков Л. И., Проказова Н. В. Препаративная биохимия липидов. М.: Наука. 1981. С. 107, 108, 170, 171.
9. Robles E. C., Roels G. F. M. // Chem. Phys. Lipids. 1971. V. 6. № 1. P. 31-38.
10. Hermetter A., Pallauf F. // Chem. Phys. Lipids. 1981. V. 28. № 1. P. 111-115.
11. Брокерхоф Х., Джеисен Р. Липолитические ферменты. М.: Мир, 1978. С. 347-348.
12. Itoh T., Kaneko H. // J. Biochem. 1974. V. 75. № 6. P. 1291-1300.
13. Dodd G. H., Golding B. T., Ioannou P. V. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1976. № 21. P. 2273-2277.
14. Ramirez F., Ioannou P. V., Marecek J. F., Dodd G. H., Golding B. T. // Tetrahedron. 1977. V. 33. № 6. P. 599-608.
15. Schlenk H., Holman R. // J. Amer. Chem. Soc. 1950. V. 72. № 11. P. 5001-5004.
16. Dittmer J. C., Lester R. L. // J. Lipid Res. 1964. V. 5. № 1. P. 126-127.
17. Кейрс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. С. 273-279.
18. Dawson R. M. C. // Biochem. J. 1960. V. 75. № 1. P. 45-53.

Поступила в редакцию

21.VII.1986

После доработки

10.XII.1986

STUDIES ON COMPLEX LIPIDS. 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

Diphosphatidylglycerol (cardiolipin) with different fatty acid residues has been synthesised by condensation of 1,2-diacyl-*sn*-glycero-3-phosphoric acid (obtained, e. g., by the cabbage phospholipase *D* cleavage of 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine or egg phosphatidylcholine) with 2-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-glycerol in the presence of 2,4,6-triisopropylbenzenesulphonylchloride. The synthetic cardiolipins as unsonicated aqueous calcium-free dispersions were shown, by means of ³¹P NMR spectroscopy, to form aggregates of the bilayer structure.