



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 3 * № 1 * 1977

УДК 547.915.5 : 542.95

НОВЫЕ МЕТОДЫ СИНТЕЗА БИС- α - И - β -ФОСФАТИДОВЫХ КИСЛОТ

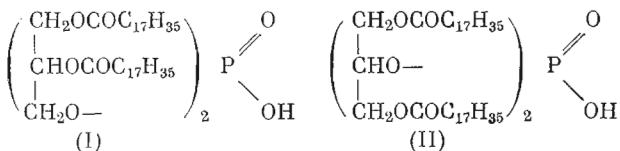
Предводителев Д. А., Чукбар Т. Г., Нифантьев Э. Е.

Московский государственный педагогический институт
им. В. И. Ленина

Предложен простой метод синтеза бис- α - и - β -фосфатидовых кислот на основе фосфитов и амидофосфитов глицерина. Изучены хроматографические свойства изомерных фосфоглицеридов. На основе полученных данных обсужден вопрос о фосфорных сдвигах в процессе синтеза фосфолипидов.

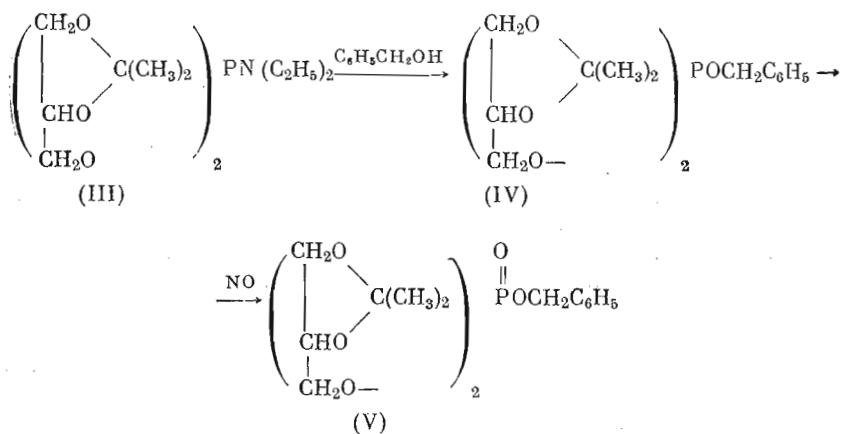
В начале 70-х годов из культуры почечной ткани хомяка была выделена бисфосфатидовая кислота [1] и таким образом экспериментально было доказано присутствие нового типа глициерофосфолипида в организмах. В то же время важные детали строения выделенного липида, например место расположения остатка фосфорной кислоты, установлены не были, поскольку химия бисфосфатидовых кислот еще не получила достаточного развития. В связи с этим актуальными задачами являются разработка удобных методов синтеза бисфосфатидовых кислот и изучение их хроматографических, спектральных и других свойств, которые можно использовать для идентификации природных липидов.

Ранее синтез бис- α - и - β -фосфатидовых кислот был осуществлен действием на 1,2- или 1,3-диацилглицерины хлоркисью фосфора [2—4] или фенилдихлорфосфатами [5, 6] с последующим гидролизом образующихся хлорфосфатов или удалением фенильных групп, а также ацилированием фосфатидилглицеринов хлорангидридами карбоновых кислот [7].



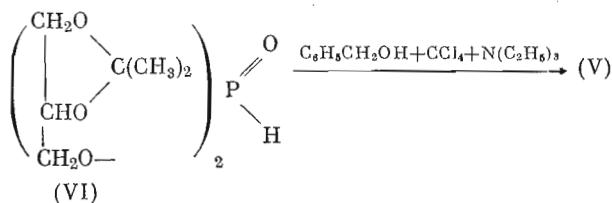
В настоящей работе предлагается новый метод синтеза этих веществ, основанный на использовании фосфитов глицерина *. При получении бис- α -фосфатидовой кислоты (I) в качестве исходного соединения мы использовали легко доступный диэтиламидофосфит бис(1,2-изопропилиденглицерина) (III) [10]. Это соединение после взаимодействия с бензиловым спиртом превращается в средний фосфит (IV), который гладко окисляется окисью азота до среднего фосфата (V).

* Ранее нами уже описаны некоторые примеры применения производных трехвалентного фосфора в синтезе фосфоглицеридов [8, 9].



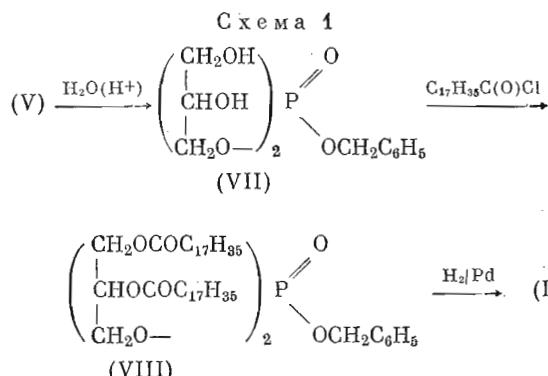
Индивидуальность фосфата (V) доказана спектрами ^{31}P -ЯМР (синглет в фосфатной области) и хроматографической однородностью. Его строение подтверждено методами ПМР и ИК-спектроскопии. Так, в спектрах ПМР имеются два синглетных сигнала *гем*-диметильных протонов в области δ 1,2 м.д., протоны глицериновой системы CH_2CHCH_2 проявляются мультиплетами при δ 3,9 м.д., сигналы метиленовых и ароматических протонов бензильной группы — в области δ 4,95 и 7,2 м.д. соответственно.

Фосфат (V) был синтезирован также по реакции Тодда — Аттертона на основе доступного кислого фосфита (VI) [10]



Свойства образцов, полученных двумя способами, совпали полностью.

Средний глициерофосфат (V) был использован для получения фосфолипида (I) путем удаления изопропилиденовой защиты гидролизом водным раствором уксусной кислоты, последующего ацилирования тетрааола (VII) и снятия бензильной защиты по схеме 1.



Контроль за снятием изопропилиденовой защиты осуществляли методами ПМР, ИК-спектроскопии и хроматографии. Существенно, что фосфат (VII) в отличие от некоторых средних фосфатов, обладающих свободными вицинальными гидроксильными группами в системе глицерина [11],

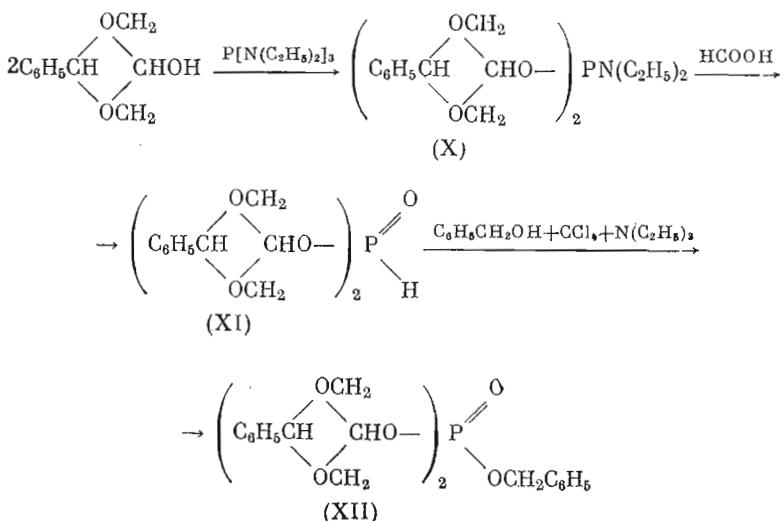
является устойчивым соединением и может храниться при 0—5° 2—3 месяца без разложения. Это подтверждалось измерением рН водных растворов соединений и стабильностью показателя преломления, а также хроматографическим способом.

Путем ацилирования хлорангидридом стеариновой кислоты тетраола (VII) в присутствии пиридина получен с выходом 69% фосфат (VIII), который гидрогенолизом над палладиевой чернью превращен в кислоту (I), а при обработке раствором иодистого натрия в ацетоне — в ее натриевую соль (IX). Успешное применение иодистого натрия в этом синтезе может позволить получать по предложенному методу также бисфосфатидовые кислоты с ненасыщенными радикалами.

Состав и строение кислоты (I) подтверждены данными элементного анализа, ПМР- и ИК-спектрами. Причем ИК-спектры идентичны спектрам бисфосфатидовых кислот, полученным ранее [2].

В связи с вопросом о положении фосфатного остатка в соединениях диглицерофосфатной структуры представлялось необходимым и получение бис- β -фосфатидовой кислоты (II). В качестве исходного соединения использован 1,3-бензилиденглицерин. Фосфорилированием его гексаэтилтриамидом фосфористой кислоты с последующим формолизом образующегося амида (X) получен кислый фосфит (XI), который по реакции Тодда — Аттертона переведен в фосфат (XII) (схема 2).

Схема 2



Состав и строение фосфата (XII) подтверждено теми же методами, что и фосфата (V) (см. «Экспериментальную часть»).

Получение бензил-бис(глицеро-2)фосфата (XIII), ацилирование его с образованием среднего фосфата (XIV) и последующее удаление бензильной группы для синтеза бис- β -фосфатидовой кислоты (II) проводилось аналогично синтезу кислого фосфата (I).

Оказалось, что для снятия бензилиденовой защиты с глицеринфосфата (XII) требуется относительно концентрированный раствор уксусной кислоты (40%). Полнота удаления бензилиденовой защиты подтверждалась хроматографическим методом.

Необходимо было подтвердить отсутствие при получении тетраолов (VII), (XIII) миграции фосфорного остатка, которую наблюдали в ряде случаев ранее для фосфатов глицерина [12, 13]. Оказалось, что полученные фосфаты (VII) и (XIII), различающиеся показателями преломления, имеют и различную хроматографическую подвижность на бумаге в не-

скольких системах. Заметим, что при проявлении реактивом на фосфорсодержащие вещества оба эти соединения дают четко оформленные индивидуальные пятна синего цвета, а при обработке хроматограмм метапериодатом проявляется коричневыми пятнами только фосфат с вицинальными гидроксильными группами (VII).

Миграция фосфорного остатка также могла иметь место и в процессе ацилирования тетраолов (VII), (XIII) при получении бис- α - (I) и - β -фосфатидовых кислот (II). Однако α - и β -кислоты (I) и (II), как показано специальными опытами, обладают в ряде систем различной хроматографической подвижностью, что позволяет доказать индивидуальность полученных соединений. Представляло интерес дополнительное подтверждение положения фосфорного остатка в кислотах (I) и (II). Для этого провели их мягкое щелочное дезацилирование раствором щелочи в метаноле [14] и полученные продукты подвергли хроматографическому анализу. Оказалось, что в продуктах гидролиза соединений (I) и (II) присутствуют соответственно тетраолы (VII) и (XIII), причем их хроматографическая подвижность и реакции идентичны описанным. Эти данные хроматографического исследования позволяют утверждать, что при получении кислых фосфатов (I) и (II) в выбранных условиях не имеет места миграция фосфорного остатка.

Существенно, что смесь веществ (I) и (II) обнаруживает депрессию температуры плавления, а температуры плавления α - (I) и β -кислот (II) соответствуют константам соединений, синтезированных с помощью методов классической фосфолипидной химии [2–6].

В заключение можно отметить, что получение фосфатов глицеринового ряда с помощью соединений трехвалентного фосфора на основе ацеталий глицерина значительно упрощает синтез фосфолипидов диглицерофосфатной структуры и позволяет избежать трудоемкой стадии получения диацилглицеринов (метод, при котором ацилирование предшествует фосфорилированию).

Экспериментальная часть

Все синтезы с соединениями трехвалентного фосфора проводили в атмосфере сухого аргона. Полученные вещества хроматографировали в тонком слое окиси алюминия (II степени активности по Брокману) (метод 1), на силуфоле UV-254 (метод 2), методом восходящей хроматографии на бумаге FN-5 (метод 3) и бумаге «Ленинградская быстрая» (метод 4) в системах: бензол — диоксан, 3 : 1 (A); хлороформ — метанол, 9 : 1 (B); этанол (B); метанол — 25% водный раствор аммиака, 4 : 1 (Г); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 15 : 3 : 7 (Д); пропанол — 25% водный раствор аммиака — вода, 6 : 3 : 1 (Ж); изопропанол — 25% водный раствор аммиака — вода, 6 : 3 : 1 (З); гексан — диоксан, 4 : 1 (И); хлороформ — метанол — вода, 65 : 25 : 4 (К); бензол — диоксан, 10 : 1 (Л). Обнаружение веществ на хроматографических пластинках проводили парами иода, для соединений с остатками карбоновых кислот использовали также метод [15] с последующим прокаливанием пластинок с окисью алюминия при 150–200°; проявление бумажных хроматограмм проводили водным раствором молибдата аммония с последующей обработкой УФ-светом [16], а также периодатным методом [17]. ИК-спектры сняты на спектрометре UR-20 (Zeiss, ГДР). Спектры ПМР соединения (I) снимали на приборе JNM-PS-100 (Япония), а соединений (II) — (XIII) — на JNM-MH-100 со стандартом гексаметилдисилазаном. Спектры ^{31}P -ЯМР получали на частоте 24,3 МГц на приборе C 60-HL (Япония) относительно внешнего стандарта 85% фосфорной кислоты. 1,3-Бензилиденглицерин и соединения (III), (VI) получали по методам [18, 10], и эти соединения имели указанные в литературе константы.

Бензил-бис[(1,2-*O*, *O*-изопропилиден)глицеро-3]fosfat (V). *A.* 10 г амидофосфита (III) и 2,96 г бензилового спирта нагревали 4 ч в вакууме (200

мм) при 150° . R_f среднего фосфита (IV) 0,29 (метод 1, система А). Затем в фосфит (IV) при 70° в течение 15 ч продували окись азота и выделяли фосфат (V) на колонке с силикагелем Л (100/200 μ), заполненной бензолом, элюируя смесью бензол — диоксан, 5 : 1. Выход 6,55 г (57,5%), n_D^{20} 1,4910; R_f 0,63 (метод 1, система А), 0,72 (метод 1, система Б). ИК-спектр (пленка, см^{-1}): 1025, 1045, 1090, 1160, 1180 (POC, COC), 1380 [$(\text{CH}_3)_2\text{C}\backslash$], 1500 (C_6H_5), 1220 (P=O). Спектр ПМР * (CCl_4 , δ , м.д.): 1,2 [два с, $(\text{CH}_3)_2\backslash$], 3,85 (м, CH_2CHCH_2), 4,95 (д, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 7,2 (с, C_6H_5). Спектр ^{31}P -ЯМР (CCl_4 , δ , м.д.): —0,5 (с). Найдено, %: С 54,90; Н 6,89; Р 7,36. $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{O}_8\text{P}$. Вычислено, %: С 54,87; Н 6,97; Р 7,47.

Б. К раствору 2 г кислого фосфита (VI) в 30 мл бензола последовательно добавляли 1,49 г CCl_4 и смесь 1,04 г бензилового спирта и 0,97 г триэтиламина в 10 мл бензола, реакционную смесь выдерживали 72 ч при 20° . Затем фильтровали, отгоняли растворитель и выделяли продукт (V), как в методе А. Выход 1,3 г (48,4%), n_D^{20} 1,4910. Хроматографическая подвижность и спектральные данные идентичны подобному соединению, полученному по методу А.

Бензил-бис-(глицеро-3)-фосфат (VII). Эмульсию 1,12 г фосфата (V) в 29 мл 10% CH_3COOH при интенсивном перемешивании нагревали 2 ч при 100° до гомогенизации. Водный раствор промывали гексаном (3×50 мл), хлороформом (3×50 мл), отгоняли в вакууме воду, добавляли толуол (2×15 мл) и отгоняли его в вакууме. Оставшееся масло выдерживали 3 ч в вакууме $1 \cdot 10^{-4}$ мм при 80° . Выход 0,69 г (76,2%), n_D^{38} 1,4998; R_f (метод, система): 0,0 (1, А), 0,12 (1, Б), 0,53 (2, В), 0,35 (2, Г), 0,17 (3, Д), 0,21 (3, Ж), 0,32 (3, З), 0,38 (4, Ж). ИК-спектр (пленка, см^{-1}): 1050, 1115, (POC), 1500, 1630 (C_6H_5), 1215 (P=O), 3350 (OH). Спектр ПМР (δ , м.д.): 4 (м, CH_2CHCH_2 , OH, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 72 (с, C_6H_5). Спектр ^{31}P -ЯМР (D_2O , δ , м.д.): —0,3 (с). Найдено, %: С 46,64; Н 6,15; Р 8,94. $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{O}_8\text{P}$. Вычислено, %: С 46,43; Н 6,25; Р 9,22.

Бензил-бис[(1,2-дистеароил)глицеро-3]-фосфат (VIII). К 1 г тетраала (VII) в 50 мл хлороформа добавляли последовательно 1,4 г пиридина и 5,4 г хлорангидрида стеариновой кислоты и нагревали 72 ч при 70° . Реакционную смесь выливали в 100 мл воды со льдом, затем проводили экстракцию продукта хлороформом (5×50 мл). Раствор хлороформа промывали охлажденной до 0° 2% H_2SO_4 (5×50 мл), насыщенным раствором карбоната калия (5×50 мл), водой (3×50 мл), сушили сульфатом натрия, упаривали и продукт трижды перекристаллизовывали из ацетона. Выход 2,86 г (68,7%), т. пл. 67—68°; R_f (метод, система): 0,87 (2, А), 0,9 (2, Г), 0,78 (2, И), 0,85 (2, К), 0,84 (4, Ж). ИК-спектр (CHCl_3 , см^{-1}): 1045, 1100, 1125, 1170 (POC, COC), 1515, 1600 (C_6H_5), 1735 (C=O), 1230 (P=O). Найдено, %: С 73,09; Н 11,25; Р 1,99. $\text{C}_{85}\text{H}_{157}\text{O}_{12}\text{P}$. Вычислено, %: С 72,86; Н 11,21; Р 2,21.

Бис[(1,2-дистеароил)глицеро-3]-фосфат (I). 0,4 г фосфата (VIII) в 20 мл диоксана гидрировали 4 ч под давлением 50 см водяного столба в присутствии 0,32 г палладиевой черни при 45° . Катализатор отфильтровывали, промывали диоксаном, от реакционной смеси отгоняли растворитель и продукт трижды перекристаллизовывали из ацетона. Выход 0,32 г (85,5%), т. пл. 69—70°; R_f (метод, система): 0,0 (2, А), 0,80 (2, Г), 0,0 (2, И), 0,57 (2, К). ИК-спектр (CHCl_3 , см^{-1}): 1050, 1100, 1120, 1175 (POC, COC), 1740 (C=O), 1250 (P=O), 2680 (P—OH). Спектр ПМР (CHCl_3 , δ , м.д.): 1,2 (т, CH_3), 1,55 (м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,55 (м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}\backslash$), 3,1 (с, P—OH), 3,9 (м, COOCH_2CH), 4,5 (м, CH_2OP), 5,25 (м, CH_2CH).

* Здесь и далее при описании спектров ПМР приняты условные обозначения: с — синглет, д — дублет, т — триплет, м — мультиплет.

Найдено, %: С 71,5; Н 11,4; Р 2,24. $C_{78}H_{161}O_{12}P$. Вычислено: %: С 71,39; Н 11,52; Р 2,36. Фосфат (I) хорошо растворим в бензоле, хлороформе, не растворим в гексане. Лит. данные: т. пл. 69—70° [3], 69,5—70,5° [4, 5].

Натриевая соль бис [(1,2-дистеароил)глицеро-3]фосфата (IX). 0,4 г фосфата (VIII) и 0,043 г иодистого натрия в 20 мл ацетона кипятили 3 ч в темноте. Реакционную смесь охлаждали до —10°, фильтровали, осадок промывали водой, ацетоном, холодным хлороформом и трижды перекристаллизовывали из ацетона. Выход 0,26 г (68,5%), т. пл. 70—71°; R_f (метод, система): 0,0 (2, А), 0,85 (2, Г), 0,0 (2, И), 0,59 (2, К). Найдено, %: С 70,38; Н 11,25; Р 2,15. $C_{78}H_{150}NaO_{12}P$. Вычислено, %: С 70,21; Н 11,22; Р 2,31. Фосфат (IX) слабо растворим в хлороформе.

*Диэтиламид бис[(1,3-*O*, *O*-бензилиден)глицеро-2]фосфата (X).* 3,6 г 1,3-*O*,*O*-бензилиденглицерина и 2,47 г гексаэтилтриамидофосфита в 20 мл *n*-ксилола нагревали 1 ч в вакууме (120 мм) при 100°. Реакционную массу растворяли при 60° в 15 мл бензола, добавляли 5 мл гексана, охлаждали до +5° и выпавшие кристаллы отфильтровывали. Затем отгоняли растворитель от супернатанта и еще раз высаживали целевой продукт из бензола гексаном. Выход 6,3 г (68,3%), т. пл. 114—115°; R_f (метод, система): 0,85 (1, А), 0,54 (1, И), 0,76 (1, Л). ИК-спектр ($CHCl_3$, см^{−1}): 1020, 1050, 1090, 1155, 1165 (РОС, СОС), 1510, 1620 (C_6H_5), 1320 (С—N). Спектр ^{31}P -ЯМР ($CHCl_3$, δ м. д.): —156 (с). Найдено, %: С 62,06; Н 6,84; Р 6,45. $C_{24}H_{32}NO_6P$. Вычислено, %: С 62,46; Н 6,95; Р 6,72.

*Бензил-бис[(1,3-*O*, *O*-бензилиден)глицеро-2]фосфат (XII).* К 2,3 г аминофосфита (X) в 20 мл бензола по каплям добавляли 0,41 г 85% HCOOH, реакционную смесь выдерживали 12 ч при 20° и затем 3 ч в вакууме (1 мм) при 100°. Выход кислого фосфита (XI) 2,02 г (100%): R_f (метод, система): 0,29 (1, А), 0,21 (1, Л). К 2,02 г кислого фосфита (XI) в 20 мл бензола последовательно добавляли 0,77 г CCl_4 и смесь 0,54 г бензилового спирта и 0,37 г триэтиламина в 10 мл бензола. Реакционную смесь выдерживали 24 ч при 20°, фильтровали, отгоняли растворитель и выделяли фосфат (XII) на колонке с окисью алюминия, заполненной бензолом, элюируя системой бензол — диоксан, 10 : 1. Фосфат пропускали два раза через колонку. Выход 1,01 г (39,8%), n_D^{20} 1,5181; R_f (метод, система): 0,57 (1, А), 0,33 (1, Л), 0,61 (2, А), 0,84 (2, Б). ИК-спектр (пленка, см^{−1}): 1000—1050, 1090, 1110, 1150, 1160, 1185 (РОС, СОС), 1500, 1620 (C_6H_5), 1270 (Р=О). Спектр ПМР ($CHCl_3$, δ, м. д.): 4,4 (м, CH_2CHCH_2), 4,9 (с, $CH_2C_6H_5$), 5,7 (с, CHC_6H_5), 7,2 (м, C_6H_5). Спектр ^{31}P -ЯМР (δ, м. д.): +0,3 (с). Найдено, %: С 63,56; Н 5,51; Р 5,85. $C_{27}H_{29}O_8P$. Вычислено, %: 63,38; Н 5,66; Р 6,05.

Бензил-бис(глицеро-2)фосфат (XIII). Аналогично соединению (VII) из 0,5 г фосфата (VI), 20 мл 40% CH_3COOH при 100° в течение 4 ч получали тетраол (XIII). Выход 0,193 г (58,75%), n_D^{35} 1,4835; R_f (метод, система): 0,0 (1, А), 0,12 (1, Б), 0,53 (2, В), 0,35 (2, Г), 0,2 (3, Д), 0,24 (3, Ж), 0,35 (3, З), 0,41 (4, Ж). Спектр ^{31}P -ЯМР (D_2O , δ, м. д.): +0,5 (с). Найдено, %: С 46,74; Н 6,28; Р 9,11. $C_{13}H_{21}O_8P$. Вычислено, %: С 46,43; Н 6,25; Р 9,22.

Бензил-бис [(1,3-дистеароил)-глицеро-2]фосфат (XIV). Аналогично соединению (VIII) из 0,5 г тетраола (XIII), 0,7 г пиридина, 2,7 г хлорангидрида стеариновой кислоты получали фосфат (XIV). Выход 1,39 г (66, 75%), т. пл. 69—70°, R_f (метод, система): 0,87 (2, А), 0,9 (2, Г), 0,78 (2, И), 0,85 (2, К), 0,85 (4, Ж). Найдено, %: С 72,64; Н 11,3; Р 2,12. $C_{75}H_{157}O_{12}P$. Вычислено, %: С 72,86; Н 11, 21; Р 2,21.

Бис[(1,3-дистеароил)глицеро-2]фосфат (II). Аналогично соединению (I) из 0,32 г фосфата (XIV) в присутствии 0,27 г палладиевой черни получали фосфат (II). Выход 0,25 г (83,6%), т. пл. 74—75°; R_f (метод система): 0,0 (2, А), 0,82 (2, Г), 0,0 (2, И), 0,59, (2, К). Найдено, %: С 71,39; Н 11,52; Р 2,09. $C_{78}H_{151}O_{12}P$. Вычислено, %: С 71,39; Н 11,52; Р 2,36. Лит. данные: т. пл. 74—75° [6]. Проба смешения фосфатов (I) и (II) имеет т. пл. 65—68,5°.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brotherus J., Renkonen O. (1974) *Chem. Phys. Lipids*, **13**, 11—20.
2. Швец В. И., Чичерина В. И., Малышева Л. В., Преображенский Н. А. (1967) *Ж. орган. химии*, **3**, 1179—1183.
3. Saunders R. M., Schwarz H. P. (1966) *J. Amer. Chem. Soc.*, **88**, 3844—3847.
4. Baer E., Buchnea D. (1958) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **78**, 294—305.
5. Baer E., (1952) *J. Biol. Chem.*, **198**, 853—859.
6. Van Gyzen J., Hoelzl M. A., Verkade P. E. (1964). *Rec. Trav. chim.*, **83**, 287—290.
7. Батраков С. Г., Паносян А. Г., Коган Г. А., Бергельсон Л. Д. (1975) *Биоорган. химия*, **11**, 1593—1599.
8. Предводителев Д. А., Урванцева Г. А., Нифантьев Э. Е. (1973) *Ж. общ. химии*, **43**, 948—949.
9. Предводителев Д. А., Квонтишвили В. Б., Нифантьев Э. Е. (1976) *Ж. орган. химии*, **12**, 38—45.
10. Предводителев Д. А., Чукбар Т. Г., Нифантьев Э. Е. (1976) *Ж. общ. химии*, **46**, 291—297.
11. Brawn D. M. (1969) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **165**, 687—694.
12. Baer E., Kates M. (1948) *J. Biol. Chem.*, **185**, 79—88.
13. Brawn D. M., Hall G. E., Higson H. M. (1958) *J. Chem. Soc.*, 1360—1366.
14. Кейтс М. (1975) Техника липидологии, с. 273—276, «Мир», М.
15. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. G. (1968) *J. Lipid Res.*, **9**, 396.
16. Hanes C. S., Isherwood F. A. (1949) *Nature*, **164**, 1107—1113.
17. Усов А. И., Рехтер М. А. (1969) *Ж. общ. химии*, **39**, 912—913.
18. Verkade P. E., Van Roon J. D. (1942) *Rec. Trav. chim.*, **61**, 831—837.

Поступила в редакцию
6.VI.1976

NEW SYNTHETIC METHODS FOR BIS- α - AND - β -PHOSPHATIDIC ACIDS

PREDVODITELEV D. A., CHUKBAR T. G., NIFANTYEV E. E.

V. I. Lenin State Pedagogical Institute, Moscow

A simple synthetic route to bis- α - and - β -phosphatidic acids on the basis of glycerol phosphites and amidophosphites was suggested. The chromatographic properties of isomeric phosphoglycerides were studied. In light of the data obtained the problem of phosphoric migration during phospholipid synthesis was discussed.