



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 8 * № 7 * 1982

УДК 547.426.2.07

СИНТЕЗ ЛИПИДНЫХ ЛИГАНДОВ ДЛЯ БИОСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Евстратова Н. Г., Позмогова Г. Е., Серпухова Е. М.,
Василенко И. А., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. Н.

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

Описан синтез оптически активных фосфолипидов: 3-О-(2-оксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицеро-1-фосфохолина, 3-О-(2-оксигексадецил)-2-тридецил-*sn*-глицеро-1-фосфохолина и *rac*-2-каприноилглицеро-3-(β -хлорэтил)фосфата, которые могут быть использованы в качестве лигандов в биоспецифической хроматографии для выделения белков, обладающих сродством к этим соединениям.

Метод биоспецифической хроматографии, используемый для выделения различных белков, обладающих сродством к фосфолипидам, включает этап синтеза соответствующих лигандов и иммобилизацию их на сорбенте путем ковалентного присоединения [1–3]. Лицандами для выделения фосфолипазы A₂ могут служить различные типы фосфолипидов, не гидролизующиеся ферментом или подвергающиеся гидролизу со значительно меньшей скоростью по сравнению с ее истинными субстратами. При использовании органокремнеземных сорбентов, покрытых полиакриловой кислотой, целесообразно присоединять фосфолипидные лиганды по типу сложноэфирной связи. Поэтому мы синтезировали ряд фосфолипидов, содержащих свободную OH-группу при C1-атоме глицерина — фосфодиэфир (XX), см. схему 2 — или в гидрофобном остатке (фосфатидилхолины (IX, XV), см. схему 1), связанном сенным атомом, так как известно, что заместитель при C1-атоме глицерина не оказывает существенного влияния на создание фермент-субстратного комплекса.

Ранее нами для получения биоспецифического сорбента был применен *rac*-1-(2-оксигексадецил)-2-пальмитоилглицеро-3-фосфохолин [4]. Использование же в качестве лиганда энантиомерного фосфатидилхолина аналогичного строения, но не расщепляющегося фосфолипазой A₂, должно было бы привести к улучшению качества биоспецифического сорбента: это исключило бы возможность отщепления жирной кислоты из второго положения фосфолипида, что происходит в случае рацемического соединения. Такими липидами могут быть фосфатидилхолины *sn*-1-конфигурации. С этой целью нами был получен 3-О-(2-оксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицеро-1-фосфохолин (IX).

Нерасщепляющимся субстратом фосфолипазы A₂ является также диалкильный аналог фосфолипида, который уже был использован при выделении фосфолипазы A₂ из яда *Crotalus adamanteus* [5]. В случае применения данного фосфолипида (XV) конфигурация асимметрического центра не имеет значения, в связи с чем целесообразно проводить получение диалкилфосфатидилхолина *sn*-1-типа на базе промежуточных соединений, используемых в синтезе фосфолипида (IX) (схема 1).

Известно, что фосфолипаза A₂ расщепляет фосфолипиды, не содержащие алкиламмониевой или аминогруппы в полярной части молекулы. В частности, субстратами для нее могут служить фосфолипиды с β -хлорэтилфосфатной группировкой. В связи с этим в поисках лигандов более простой структуры представлялось целесообразным исследовать возможность использования в биоспецифической хроматографии *rac*-2-каприноилглицеро-3-(β -хлорэтил)фосфата (XX) (схема 2), синтез которого включает меньшее количество стадий. Причем на начальных этапах работы предпочтительнее было применить рацемическое соединение.

Схема 1

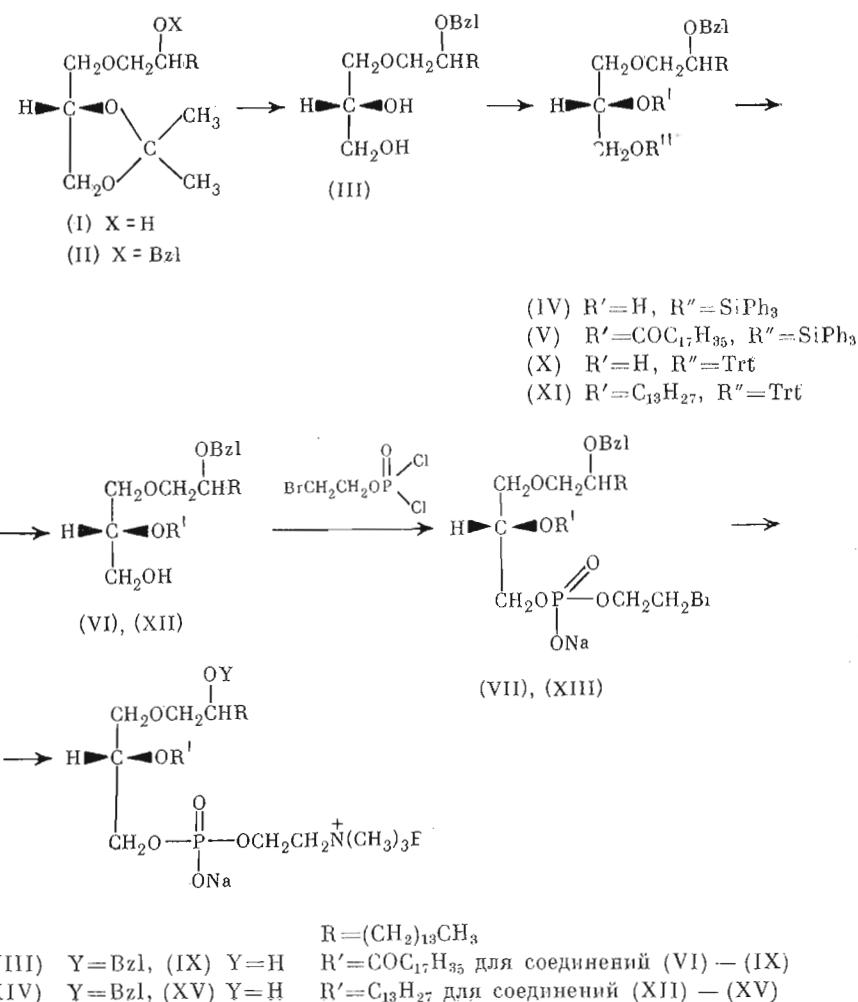
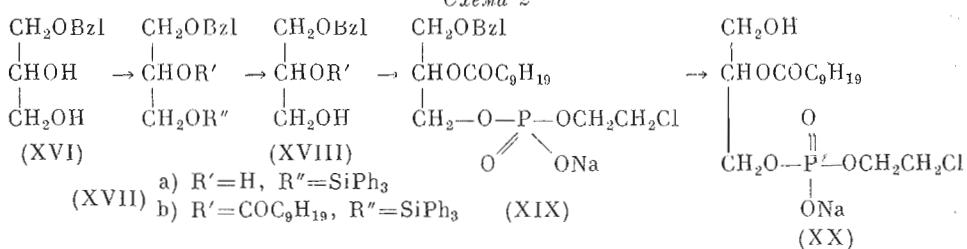


Схема 2



Исходным соединением для синтеза фосфолипидов (IX) и (XV) служил 1,2-изопропилиден-sn-глицерин, который вводили во взаимодействие с 1,2-эпоксигексадеканом по методу [6] с целью получения 3-O-(2-окси-гексадецил)-1,2-изопропилиден-sn-глицерина* (I). Соединение (I) далее превращали в соответствующий бензиловый эфир (II) и после удаления изопропилиденовой защиты кислотным гидролизом был получен 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-sn-глицерин (III). Для синтеза соответствующего алкилацил-sn-глицерина (VI) был применен метод избирательной защиты первичного гидроксила 3-O-(2-бензилоксиалкил)-sn-глицерина (III) с помощью трифенилсilyльной защитной группы [4] с последующим ацилиро-

* Конфигурация образующегося асимметрического центра в данном и последующих соединениях не определялась, поскольку она не имела существенного значения при посадке лиганда на сорбент.

ванием сильного производного хлорангидридом стеариновой кислоты. Трифенилсилильную защитную группу в соединении (V) удаляли действием кислого фтористого аммония в смеси вода — ацетон — пиридин, что привело к 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицерину (VI).

В ходе синтеза диалкильного фосфатидилхолина (XV) для защиты первичного гидроксила в диоле (III) была использована трифенилметильная группа, обладающая достаточной устойчивостью при дальнейшем алкилировании соединения (X) тридецилбромидом в присутствии щелочи. После удаления трифенилметильной защиты в соединении (XI) нагреванием в кислой среде был получен 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-тридецил-*sn*-глицерин (XII).

Соединения (VI), (XII) далее фосфорилировали β -бромуэтилдиchlорфосфатом и полученные 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицеро-1-(β -бромуэтил)фосфат (VII) и 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-тридецил-*sn*-глицеро-1-(β -бромуэтил)фосфат (XIII) были выделены в виде их натриевых солей.

Последующее взаимодействие этих фосфатов с триметиламином осуществляли при нагревании в сухом бензоле, что приводило к соединениям (XIII), (XIV). Бензильную защиту с них удаляли каталитическим гидрогенолизом в присутствии палладиевой черни, в результате чего образовались модифицированные фосфатидилхолины (IX) и (XV).

Получение *rac*-2-каприноилглицеро-3-(β -хлорэтил)фосфата (XX) достигалось методами, аналогичными использованным в приведенной выше схеме, исходя из 3-O-бензилглицерина [7]. Диглицерид (XVIII), синтезированный с использованием трифенилсилильной защитной группировки, фосфорилировали β -хлорэтилдиchlорфосфатом и с выделенного в виде натриевой соли *rac*-1-O-бензил-2-каприноилглицеро-3-(β -хлорэтил)фосфата (XIX) удаляли бензильную группу гидрогенолизом.

Строение всех промежуточных соединений и фосфолипидов (IX), (XV), (XX) устанавливалось с помощью ИК- и ПМР-спектроскопии, элементного анализа, дисперсии оптического вращения. Для соединений (III) — (IX), полученных по схеме 1, в экспериментальной части приводятся только значения ДОВ, так как данные ИК- и ПМР-спектров аналогичны характеристикам таких же рацемических соединений, полученных ранее [4].

Экспериментальная часть

ТСХ проводили на силуфоле UV₂₅₄ в системах: петролейный эфир — эфир, 1:1 (A), хлороформ — метанол — ацетон — 25% аммиак, 15:5:5:1 (B), хлороформ — метанол — вода, 65:25:4 (B). Фосфорные эфиры обнаруживали молибденовым синим. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле Л 100/160 мкм (Chemapol). ИК-спектры сняты на спектрофотометре «Perkin-Elmer 257» (Швеция) в тонком слое для соединений (I) — (III), (VI), (XII), (X), (XVI) — (XX) и в вазелиновом масле для соединений (VII) — (IX), (XIII) — (XV). Спектры ПМР сняты на спектрометре «Bruker WP 60» (ФРГ) в CDCl₃ и CCl₄. Данные элементного анализа удовлетворительно соответствовали вычисленным. Данные ДОВ получены на спектрополяриметре «Perkin-Elmer 241 МС» при 20°С в хлороформе для нейтральных липидов и в смеси хлороформ — метанол, 1:1, для фосфолипидов (*c*=1).

*3-O-(2-Оксигексадецил)-1,2-изопропилиден-*sn*-глицерин* (I). Смесь 1,2 г порошкообразного KOH и 9,2 г 1,2-изонпропилиден-*sn*-глицерина нагревали 30 мин при 120°С, добавляли 13,6 г 1,2-эпоксигексадекана и нагревали 4 ч при 130—140°С. Реакционную массу охлаждали, остаток растворяли в эфире, промывали водой до pH 7, сушили Na₂SO₄. Остаток после удаления растворителя хроматографировали на колонке с 200 г силикагеля. Малополярные примеси элюировали смесью петролейный эфир — эфир, 9:1, вещество (I) — эфиром. Выход 9,8 г (75,1%). R_f 0,47 (A). ДОВ, [α] (λ, нм): +1,9 (589), +2,0 (579), +4,5 (435, 8), +5,5 (407, 7), +9,5 (334), +12,5 (280).

*3-O-(2-Бензилоксигексадецил)-1,2-изопропилиден-*sn*-глицерин* (II).

К раствору 4,0 г эфира (I) в 300 мл толуола прибавляли 2,0 г порошкообразного KOH и 5 мл хлористого бензила, смесь кипятили, удаляя воду азеотропной отгонкой. Реакционную смесь фильтровали через слой кремневой кислоты, растворитель отгоняли в вакууме. Остаток разбавляли 50 мл хлороформа, промывали водой (3×20 мл), сушили Na_2SO_4 . После удаления растворителя вещество хроматографировали на колонке со 100 г силикагеля, элюируя его смесью петролейный эфир — эфир, 5 : 1. Выход 4,1 г (81,3%). R_f 0,7 (A). ДОВ, $[\alpha]$ (λ , нм): +4,6(589); +4,8(579), +9,5 (535,8), +10,9 (407,7), +35,4 (334).

3-O-(2-Бензилоксигексадецил)-sn-глицерин (III). Раствор 3,8 г соединения (II) в 50 мл конц. HCl и 50 мл эфира интенсивно перемешивали 2 ч при 18–20° С. Эфирный экстракт промывали водой (3×100 мл), сушили Na_2SO_4 . Остаток после удаления растворителя хроматографировали на 150 г силикагеля. Малополярные примеси элюировали смесью петролейный эфир — эфир, 1:2, вещество (III) — смесью эфир — метanol, 9:1. Выход 2,4 г (86,2%). R_f 0,4 (A). ДОВ $[\alpha]$ (λ , нм): -1,4 (589), -1,5 (579), -2,1 (546), -2,5 (435,8), -2,9 (407,7), -3,7 (334), -4,0 (296).

3-O-(2-Бензилоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицерин (VI). К раствору 2,0 г 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-sn-глицерина (III) в 20 мл сухого пиридина и 40 мл сухого CCl_4 прибавляли по каплям при перемешивании (15 мин) раствор 1,9 г трифенилхлорсилана в 10 мл сухого CCl_4 . Когда динол (III) с помощью ТСХ больше не обнаруживался, к реакционной массе приливали 3 мл сухого пиридина и добавляли по каплям (10 мин) при перемешивании раствор 4,0 г хлорангидрида стеариновой кислоты в 10 мл сухого CCl_4 . Реакционную массу выдерживали 3 ч при 60° С, фильтровали через слой окиси алюминия, сорбент промывали CCl_4 . Объединенный фильтрат упаривали, к остатку добавляли 20 мл ацетона, 2 мл воды и 2,0 г кислотного фтористого аммония. Смесь кипятили 15 мин, охлаждали, выливали в 20 мл воды и экстрагировали хлороформом. Хлороформный слой сушили Na_2SO_4 , растворитель отгоняли в вакууме. Остаток очищали с помощью хроматографии, элюируя вещество смесью петролейный эфир — эфир, 7:3. Выход 3,2 г (61,9%). R_f 0,5 (A). ДОВ $[\alpha]$ (λ , нм): +1,9 (589), +2,0 (579), +3,1 (435,8), +3,9 (407,7), +5,7 (366), +7,0 (334), +9,2 (312), +14,0 (280).

Натриевая соль 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицеро-1-(β-бромэтил)фосфата (VII). К раствору 1,0 г β-бромэтилдихлорфосфата в 5 мл сухого хлороформа при -20° С и перемешивании прибавляли по каплям (20 мин) раствор 0,5 г 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицерина (VI) в 10 мл сухого хлороформа и 2,5 мл сухого пиридина. Реакционную массу перемешивали 3 ч при -20° С, выдерживали 48 ч при 18–20° С, добавляли водный раствор Na_2CO_3 , перемешивали 2 ч. Остаток после удаления растворителя хроматографировали, вещество (VII) элюировали хлороформом с 15% метанола. Выход 0,31 г (51,3%). R_f 0,65 (B). ДОВ, $[\alpha]$ (λ , нм): +0,1 (589), +0,2 (579), +0,3 (546), +0,9 (435,8), +1,1 (407,7), +2,8 (366).

Натриевая соль 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицеро-1-фосфохолина (VIII). К раствору 0,38 г натриевой соли (VII) в 10 мл сухого бензола добавляли 10 мл trimethylамина при -5° С и реакционную массу выдерживали 10 ч при 50° С. Затем смесь упаривали в вакууме и остаток хроматографировали, вещество (VIII) элюировали смесью хлороформ — метanol, 3:7. Выход 0,388 г (89,5%). R_f 0,2 (B). ДОВ, $[\alpha]$ (λ , нм): -1,4 (589), -1,3 (579), -0,7 (546), +0,6 (407), +2,5 (366).

Натриевая соль 3-O-(2-оксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицеро-1-фосфохолина (IX). 0,287 г соединения (VIII) в 4 мл безводного этанола гидрировали 48 ч (760 мм рт. ст., 20° С) в присутствии палладиевой черни. Затем отфильтровывали катализатор, промывали его этанолом, фильтрат упаривали. Вещество кристаллизовали из ацетона. Выход 0,212 г (97,3%). R_f 0,2 (B). Т. пл. 179–182° С. ДОВ $[\alpha]$ (λ , нм): +0,5 (589), +0,6 (579), +0,9 (546), +1,1 (435,8), +2,9 (407,7), +3,8 (366).

3-O-(2-Бензилоксигексадецил)-2-тридецил-sn-глицерин (XII). К раствору 2,1 г 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-sn-глицерина (III) в 20 мл сухого хлороформа и 0,8 мл сухого пиридина добавляли по каплям (20 мин) раствор

зор 2,0 г трифенилхлорметана в 10 мл сухого хлороформа при 4° С и перемешивании. Реакционную массу выдерживали 18 ч при 18–20° С. Затем промывали водой, водный слой экстрагировали хлороформом, экстракт сушили Na_2SO_4 . После удаления хлороформа остаток растворяли в 100 мл толуола и добавляли к нему 2,2 г тридецилбромида и 1,4 г KOH. Смесь кипятили, удаляя воду азеотропной отгонкой. Реакционную массу деканттировали с осадка, фильтровали через слой кремневой кислоты, затем упаривали растворитель в вакууме. К полученному остатку в 15 мл метанола прибавляли 10 мл. конц. HCl и перемешивали 5 ч при 50° С. Вещество (XII) экстрагировали хлороформом, сушили Na_2SO_4 , растворитель отгоняли в вакууме. Остаток хроматографировали на 40 г силикагеля. Диглицерид (XII) элюировали смесью петролейный эфир – эфир, 1:1. Выход 1,75 г (43,4%). R_f 0,28 (A). ИК-спектр, cm^{-1} : 3100–3000 (C_6H_5); 2940, 2875 (CH_2); 1560 (C_6H_5); 1470, 1380 (CH); 1100 (COC); 850, 740, 710 (C_6H_5). ПМР-спектр (δ , м. д.): 0,93 (CH_3 , т, J 6 Гц); 1,1–1,5 (CH_2 цепи, м); 3,3 (CH_2O глицерина, м); 2,5 (CH_2OH , с); 4,5 ($\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, с).

Натриевая соль 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-тридесил-сп-глицеро-1-(β-бромэтил)fosфата (XIII) была получена из 1,0 г β-бромэтилдихлорфосфата и 0,5 г соединения (XII) в условиях синтеза фосфата (VII). Вещество очищали хроматографированием, элюируя его смесью хлороформ – метанол, 9:1. Выход 0,32 г (63,4%). R_f 0,8 (B); 0,66 (B). ИК-спектр (cm^{-1}): 3100–3000 (C_6H_5); 2940, 2875 (CH); 1600, 1500 (C_6H_5); 1470, 1380 (CH); 1280 (PO); 1100 (COC); 1060 (POC); 850, 740, 710 (C_6H_5). ПМР-спектр (δ , м. д.): 0,92 (CH_3 , т, J 6 Гц); 1,1–1,3 (CH_2 цепи, м); 3,3 (CH_2O глицерина, м); 4,0 (CH_2OP , плечо); 4,32 ($\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, с). ДОВ, $[\alpha]$ (λ , нм): -1,0 (589), -1,7 (579), -2,1 (546), -2,8 (435,8), -5,0 (407,7).

Натриевая соль 3-O-(2-бензилоксигексадецил)-2-тридесил-сп-глицеро-1-fосфохолина (XIV) была получена аналогично соединению (VIII) из 0,3 г фосфата (XIII) в 20 мл сухого бензола с 20 мл trimетиламина. Вещество хроматографировали, элюировали смесью хлороформ – метанол, 1 : 4. Выход 0,258 г (80,6%). R_f 0,28 (B). В ИК-спектре отмечается появление полосы поглощения при 950 cm^{-1} , характерной для C–N-связи. ПМР-спектр (δ , м. д.): 0,92 (CH_3 , т, J 6 Гц); 1,1–1,3 (CH_2 цепи, м); 3,3 (CH_2O глицерина, м); 3,6 ($\text{N}(\text{CH}_3)_3$, с); 4,25 (POCH₂, плечо); 4,5 ($\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, с). ДОВ, $[\alpha]$ (λ , нм): -1,5 (589); -1,9 (579), -1,9 (546), -3,3 (435,8), -4,2 (407,7).

Натриевая соль 3-O-(2-оксигексадецил)-2-тридесил-сп-глицеро-1-fосфохолина (XV) была получена аналогично соединению (IX) гидрогенолизом 0,257 г фосфатидихолина (XIV) в этаноле. Вещество кристаллизовали из ацетона. Выход 0,212 г (91,2%). R_f 0,2 (B). Т. пл. 190–195° С. ИК-спектр (cm^{-1}): 3500 (OH); 2940, 2875 (CH); 1470, 1380 (CH); 1280 (PO); 1100 (COC); 1060 (POC); 970 (CN). ПМР-спектр (δ , м. д.): 0,92 (CH_3 , т, J 6 Гц); 1,25–1,4 (CH_2 цепи, м); 3,3 (CH_2O глицерина, м); 3,55 ($\text{N}(\text{CH}_3)_3$, с); 4,25 (POCH₂, плечо). ДОВ $[\alpha]$ (λ , нм): -0,4 (589), -0,5 (579), -0,9 (546), -1,5 (435,8), -2,5 (366).

rac-1-O-Бензил-2-каприноилглицерин (XVIII) получали аналогично соединению (VI) из 2,0 г *rac*-3-O-бензилглицерина в 20 мл сухого CCl_4 и 4 мл сухого пиридина добавлением раствора 1,9 г трифенилхлорсилина в 10 мл сухого CCl_4 . Ацилирование осуществляли 1,0 г хлорангидрида каприновой кислоты. Вещество элюировали с силикагеля смесью петролейный эфир – эфир, 1:1. Выход 2,33 г (63,2%). R_f 0,43 (A). ИК-спектр (cm^{-1}): 3450 (OH); 3100–3000 (C_6H_5); 2970 (CH); 1760 (COO); 1600, 1500 (C_6H_5); 1220 (C_6H_5); 1100 (COC); 850, 740 (C_6H_5). ПМР-спектр (δ , м. д.): 0,92 (CH_3 , т, J 6 Гц); 1,1–1,5 (CH_2 цепи, м); 2,27 (OCOCH₂, т, J 6 Гц); 2,5 (CH_2OH , с); 3,3 (CH_2O глицерина, м); 4,5 ($\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, с).

Натриевая соль rac-1-O-бензил-2-каприноилглицеро-3-(β-хлорэтил)fosфата (XIX) была получена из 0,5 г β-хлорэтилдихлорфосфата в 5 мл сухого хлороформа и 2 мл сухого пиридина. Вещество хроматографировали, элюируя его смесью хлороформ – метанол, 10:1. Выход 0,51 г (68,1%). R_f 0,65 (B). ИК-спектр (cm^{-1}): 3100–3000 (C_6H_5); 2940, 2875 (CH); 1750 (COO);

1600, 1500 (C_6H_5); 1470, 1380 (CH); 1280 (PO); 1100 (COC); 1060 (POC); 850, 710 (C_6H_5). ПМР-спектр (δ , м.д.): 0,93 (CH_3 , т, J 6 Гц); 1,2 (CH_2 цепи, м); 2,27 ($OCOCH_2$, т, J 6 Гц); 3,8 (CH_2O глицерина, м); 4,0 (CH_2OP , плечо); 4,32 ($CH_2C_6H_5$, с).

Натриевая соль *rac*-2-каприноглициро-3-(β -хлорэтил)фосфата (XX) была получена гидрогенолизом 0,54 г фосфата (XIX) в условиях синтеза соединения (IX). Вещество кристаллизовали из ацетона. Выход 0,36 г (90,1%). R_f 0,55 (В). ИК-спектр (cm^{-1}): 3450 (ОН); 2940, 2875 (CH); 1750 (COO); 1470, 1380 (CH); 1240 (PO); 1100 (COC); 1060 (POC). ПМР-спектр (δ , м. д.): 0,93 (CH_3 , т, J 6 Гц); 1,4–1,5 (CH_2 цепи, м); 2,15 ($COOCH_2$, с); 3,3 (CH_2O глицерина, м); 4,02 (CH_2OP , плечо).

ЛИТЕРАТУРА

1. Barsukov L. J., Dam C. W., Bergelson L. D., Muzja G. I., Wirtz K. W. A. Biochim. et biophys. acta, 1978, v. 513, № 2, p. 198–204.
2. Jones S. C., Shankaran P., Callahan J. W. Biochem. J., 1981, v. 195, № 2, p. 373–382.
3. Рахимов М. М., Ахмеджанов Р., Бабаев М. У., Мадьяров Ш. Р., Муратова Ю. З., Ташмухамедов Б. А. Узб. биол. ж., 1980, № 5, с. 7–11.
4. Евстратова Н. Г., Василенко И. А., Попова Т. П., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. Биооргап. химия, 1979, т. 5, № 8, с. 1140–1145.
5. Rock C. O., Snyder F. J. Biol. Chem., 1976, v. 25, № 16, p. 6564–6566.
6. Серебренникова Г. А., Парфенов Э. А., Преображенский Н. А. Ж. орган. химии, 1966, т. 2, № 4, с. 629–632.
7. Федорова Г. Н., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. Ж. орган. химии, 1971, т. 7, № 5, с. 957–962.

Поступила в редакцию
11.I.1982

SYNTHESIS OF LIPID LIGANDS FOR BIOSPECIFIC CHROMATOGRAPHY

EVSTRATOVA N. G., POZMOGOVA G. E., SERPUKHOVA E. M.,
VASILENKO I. A., SEREBRENNIKOVA G. A., EVSTIGNEEVA R. P.

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

The synthesis of 3-O-(2-hydroxyhexadecyl)-2-stearoyl-*sn*-glycero-1-phosphocholine, 3-O-(2-hydroxyhexadecyl)-2-tridecyl-*sn*-glycero-1-phosphocholine and *rac*-2-caprinoylglycero-3-(β -chloroethyl)phosphate is described. These lipids can be used as ligands for biospecific chromatography of proteins having affinity for them.