



УДК 547.952':672.2'689.07:577.352.2

## СИНТЕЗ ФЛУОРЕСЦЕНТНОМЕЧЕННЫХ ЦЕРЕБРОЗИДОВ

*Молотковский Ю. Г., Имбе А. В., Бергельсон Л. Д.*

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

Описан синтез флуоресцентномеченных цереброзидов: N-[12-(9-антрил)-11-транс-додеценил]-1β-О-галактозилсфингозина и N-[9-(3-периленоил)нонанил]-1β-О-галактозилсфингозина. Оба зонда хорошо встраиваются в фосфатидилхолиновые везикулы.

Как известно, гликолипиды, в частности гликоэффинголипиды, — важные компоненты биологических мембран, несущих рецепторные и антигенные функции. Хотя в большинстве мембран гликоэффинголипидов содержится меньше, чем фосфолипидов, тем не менее их уровень в ряде случаев может быть высоким. Так, в миелине мозга крысы содержание цереброзидов может составлять 18% от суммы фосфолипидов [1]. Функциональная роль гликоэффинголипидов до последнего времени почти не изучалась. В последние годы интерес к ним возрос (см., например, обзор [2]).

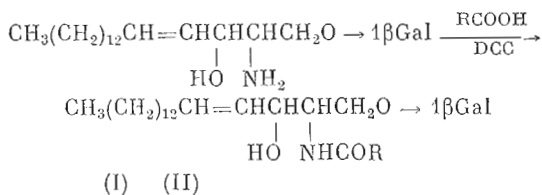
При изучении мембран весьма эффективными инструментами зарекомендовали себя липиды, содержащие спиновые и флуоресцентные метки. Синтезированные в нашей лаборатории флуоресцентные фосфолипидные зонды [3, 4] были с успехом применены при дифференцированном изучении поведения фосфатидилхолина и сфингомиелина в липопротеинах высокой плотности плазмы человека [5, 6].

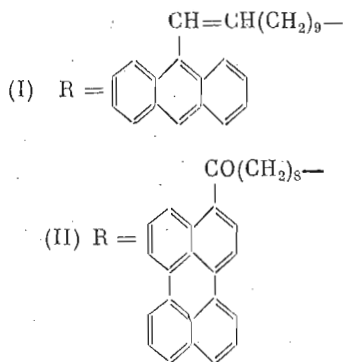
С целью дальнейшего изучения молекулярной организации и функций гликоэффинголипидов в биологических мембранах мы предприняли синтез двух флуоресцентномеченных цереброзидов, описание которого составляет предмет данного сообщения.

К настоящему времени описан синтез только одного флуоресцентного цереброзида, N-дансил-1-О-галактозилсфингозина [7]. Однако этот зонд вместо жирной кислоты содержит дансильный остаток и, следовательно, значительно отличается от природных цереброзидов по своей молекулярной конфигурации, объему и полярности.

Полученные нами флуоресцентномеченные цереброзиды (I, II) несут остатки малополярных 12-(9-антрил)-11-транс-додеценивой и 9-(3-периленоил)нонановой кислот; флуорофоры в этих кислотах располагаются в конце ацильной цепи, где они менее всего нарушают упаковку бислоя (при введении зонда в мембрану). Первая из этих кислот имеет флуоресцентные характеристики, позволяющие изучать взаимодействие зондов, несущих ее остаток, с помощью регистрации индуктивно-резонансного переноса энергии, с белковыми триптофанами, т. е. изучать гликолипид-белковые взаимодействия [5]. Флуорофор 9-(3-периленоил)нонановой кислоты в свою очередь является хорошим акцептором энергии возбуждения антрильного флуорофора [8], что дает возможность использовать его для исследования взаимодействия цереброзидов между собой и с другими липидами.

Исходным веществом для синтеза обоих зондов служил 1-О-галактозилсфингозин (психозин) (III), полученный щелочным дезацелированием цереброзидов мозга.





Психозин ацилировали ранее синтезированными нами флуоресцентно-мечеными кислотами [3, 8] в присутствии дициклогексилкарбодиимида и 4-диметиламинопиридина и получали антрилмеченый (I) и периленоилмеченый (II) цереброзиды с выходами 26 и 15% соответственно. Полученные зонды имели характерные для 9-антрильных [3] и 3-периленоильных [8] УФ- и флуоресцентные спектры.

Предварительные опыты показали, что оба зонда при добавлении их спиртовых растворов к озвученным везикулам, приготовленным из яичного фосфатидилхолина, хорошо встраиваются в мембраны этих везикул подобно описанным нами ранее фосфолипидным флуоресцентным зондам [4].

### Экспериментальная часть

Общие методы — см. [4].

1-О-Галактозилсфингозин (III) получали по методу [9] и дополнительно очищали от примесей колоночной хроматографией на силикагеле в градиентной системе хлороформ — метанол. После кислотного гидролиза этого вещества среди сахаров с помощью ГЖХ триметилсилиловых эфиров [10] была обнаружена только галактоза; среди сфингозиновых оснований найдена (ГЖХ N-ацетил-О-триметилсилиловых производных [11]) смесь C<sub>18</sub>-сфингенина и -сфинганина, 94 : 6. 12-(9-Антрил)-11-транс-додеценовую [3] и 9-(3-периленоил)нонановую [8] кислоты получали по описанным методикам. Данные элементного анализа синтезированных соединений удовлетворительно совпадали с вычисленными.

*N*-[12-(9-Антрил)-11-транс-додеценоил]-1β-О-галактозилсфингозин (I). 1β-О-Галактозилсфингозин (III) (45 мг) и 50 мг 12-(9-антрил)-11-транс-додеценовой кислоты растворяли при 40° С в 1 мл смеси хлороформ — изопропанол — триэтиламин — вода, 40 : 23 : 1 : 2, к раствору при 20° С прибавляли 120 мкл 20% раствора дициклогексилкарбодиимида в CCl<sub>4</sub> и 1,5 мг 4-диметиламинопиридина, перемешивали 12 ч и оставляли на 2 сут. Остаток хроматографировали на колонке с 5 г силикагеля в системе хлороформ — метанол — CH<sub>3</sub>COOH, 100 : 10 : 0,2, получали 20,5 мг антрилмеченого цереброзида (I) в виде бледно-желтого аморфного вещества, имеющего одинаковую с природным цереброзидом [9] подвижность при ТСХ на силикагеле, R<sub>f</sub> 0,60 в системе хлороформ — метанол — CH<sub>3</sub>COOH, 100 : 20 : 2 (обнаружение — по флуоресценции в УФ-свете, фосфорномолибденовой кислотой и антроновым реагентом на сахара). Спектр флуоресценции (в этаноле): λ<sub>возб</sub> 257, 369, 388 нм; λ<sub>исп</sub> 413, 432 нм.

*N*-[9-(3-Периленоил)нонаноил]-1β-О-галактозилсфингозин (II). По приведенной выше методике из 27 мг 1-О-галактозилсфингозина и 25 мг 9-(3-периленоил)нонановой кислоты, растворенных в 0,25 мл смеси хлороформ — метанол, 1 : 1, с добавлением 17 мкл триэтиламина, 60 мкл 20% раствора дициклогексилкарбодиимида в CCl<sub>4</sub> и 3 мг 4-диметиламинопиридина получали 7,5 мг периленоилмеченого цереброзида (II) в виде оранжево-красного аморфного вещества с R<sub>f</sub> 0,55 при ТСХ в указанной выше системе. Спектр флуоресценции (в этаноле): λ<sub>возб</sub> 260, 448 нм; λ<sub>исп</sub> 528 нм.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Cuzner M. L., Davison A. N.* Biochem. J., 1968, v. 106, № 1, p. 29–34.
2. *Maggio B., Cumar F. A., Caputto R.* Biochim. et biophys. acta, 1981, v. 650, № 2/3, p. 69–87.
3. *Мологковский Ю. Г., Дмитриев П. И., Пихулина Л. Ф., Бергельсон Л. Д.* Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 4, с. 588–594.
4. *Мологковский Ю. Г., Дмитриев П. И., Мологковская И. М., Бергельсон Л. Д., Маневич Е. М.* Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 4, с. 586–600.
5. *Мологковский Ю. Г., Бергельсон Л. Д., Маневич Е. М., Герасимова Е. Н., Полесский В. А.* Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 9, с. 1395–1403.
6. *Molotkovsky Jul. G., Manevich Y. M., Gerasimova E. N., Molotkovskaya I. M., Polesky V. A., Bergelson L. D.* Eur. J. Biochem. 1982, v. 122, № 3, p. 573–579.
7. *Huang R. T. C. Z.* Naturforsch., 1976, B. 31c, № 11/12, S. 737–740.
8. *Мологковский Ю. Г., Бергельсон Л. Д.* Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 9, с. 1256–1262.
9. *Radin N. S. J.* Lipid Res., 1976, v. 17, № 3, p. 290–293.
10. *Уистлер Р. Л., Бемиллер Дж. Н.* Методы исследования углеводов. М.: Мир, 1975, с. 15–17.
11. *Дятловицкая Э. В., Леменовская А. Ф., Грешных К. П., Ушаков А. Н., Бергельсон Л. Д.* Биохимия, 1973, т. 38, № 5, с. 943–948.

Поступила в редакцию  
23.VII.1982

## SYNTHESIS OF FLUORESCENTLY LABELED CEREBROSIDES

MOLOTKOVSKY Jul. G., IMBS A. B., BERGELSON L. D.

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

Synthesis of fluorescently labeled cerebroside — N-[12-(9-anthryl)-11-*trans*-dodece-  
noyl]-1- $\beta$ -O-galactosylsphingosine and its 9-(3-peryleneoyl)nonanoyl analog is described.  
Both probes are easily inserted in phosphatidylcholine vesicles.