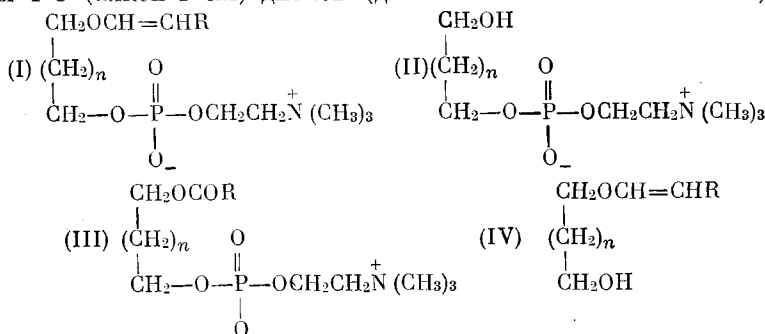


В. А. ВАВЕР, Н. В. ПРОКАЗОВА, Б. В. РОЗЫНОВ, А. Н. УШАКОВ,
К. СТЕФАНОВ, Л. И. ИЛЮХИНА, Т. Н. СИМОНОВА,
член-корреспондент АН СССР Л. Д. БЕРГЕЛЬСОН

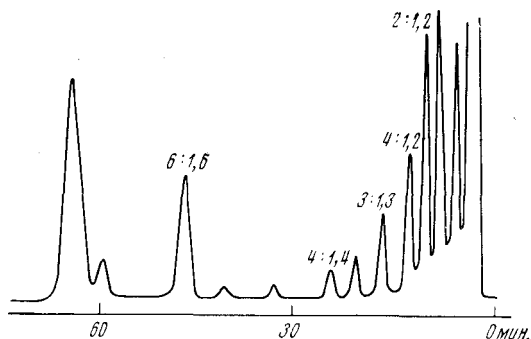
ДИОЛЬНЫЕ ХОЛИНПЛАЗМАЛОГЕНЫ — НОВЫЙ ТИП ФОСФОЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ КРЫС

В ходе наших исследований в области диольных липидов (см. ⁽¹⁾) мы обнаружили в печени крыс ранее неизвестный тип фосфолипидов — холинфосфаты 1-О-(алкен-1'-ил)-диолов (диольные холинплазмалогены) (I).



Для извлечения этих веществ печень взрослых беспородных крыс, содержавшихся на стандартной лабораторной диете, гомогенизировали со смесью хлороформ — метанол (2:1), непромытый экстракт упаривали и остаток хроматографировали на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой при 0° ⁽²⁾. При элюировании липидов с ДЭАЭ-целлюлозы смесью хлороформ — метанол (9:1) была получена фракция, состоящая из нейтральных липидов и холинфосфатидов. Последние отделяли от нейтральных липидов хроматографией на силикагеле ⁽³⁾.

Рис. 1. Газо-жидкостная хроматограмма ацетатов полиолов, полученных ферментативным гидролизом фосфолипазой С суммарных холинфосфатидов печени крыс с последующим щелочным деацилированием образовавшихся «диглицеридов» и кислотным метанолизом «альдегидогенной» фракции. Первая цифра обозначает число С-атомов, цифры после двоеточия — положение гидроксильных групп в молекуле полиола. Условия газо-жидкостной хроматографии см. ⁽⁷⁾



Полученные таким образом суммарные холинфосфатиды печени крыс подвергали мягкому щелочному деацилированию или мягкому кислому гидролизу ^(3, 4) (см. схему 1) и образовавшиеся водорастворимые фосфаты исследовали с помощью хроматографии на бумаге. При щелочном деацилировании был получен только глицерилфосфорилхолин с примесью небольшого количества α-глицерофосфата. Однако продукты мягкого кислотного гидролиза той же фракции содержали ряд водорастворимых веществ, да-

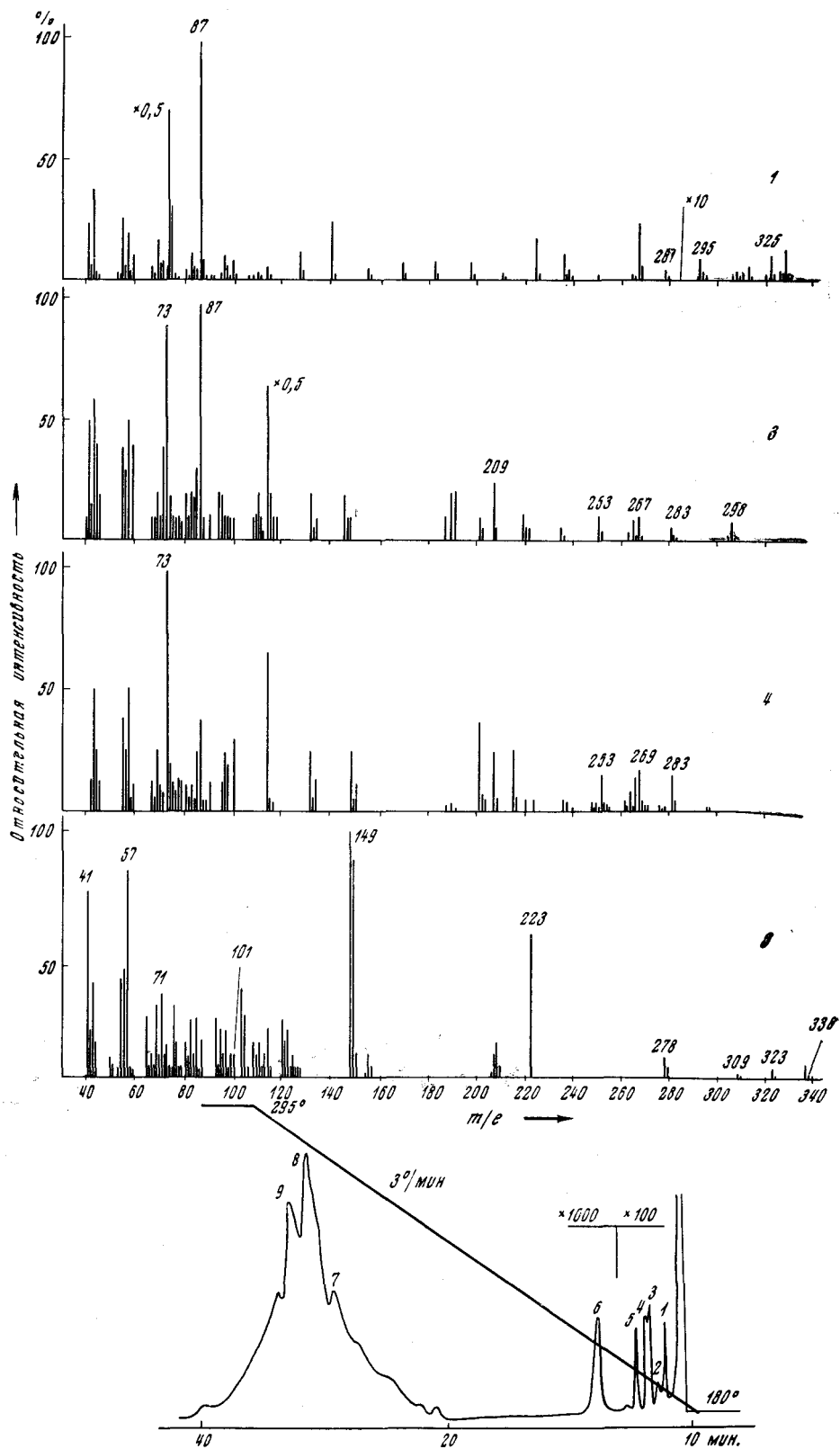


Рис. 2

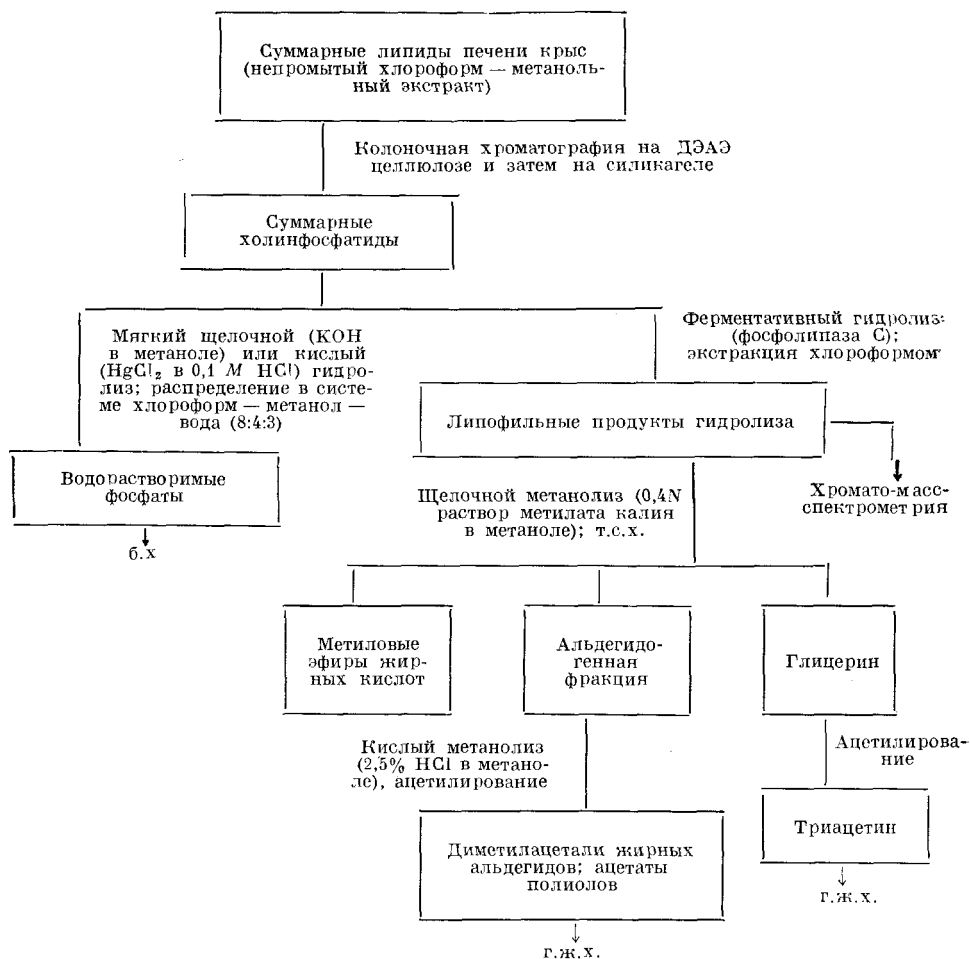


Схема 1. Исследование суммарных холинфосфатидов печени крыс. б.х.— хроматография на бумаге; т.с.х.— тонкослойная хроматография на силикагеле; г.ж.х.— газо-жидкостная хроматография

вавших положительную реакцию Драгендорфа. Два из них по значениям R_f совпадали с синтетическими этиленгликоль- и пропандиол-1,3-фосфорилхолинами (II, $n = 0,1$). Эти данные показывали, что в суммарных холинфосфатидах печени крыс отсутствуют ацилированные диолфосфатиды типа (III), но указывали на возможность присутствия диольных холинплазмалогенов (I, $n = 0,1$).

Для проверки этого предположения суммарные холинфосфатиды печени подвергали ферментативному гидролизу с помощью фосфолипазы С из *Bacillus cereus*. Липофильные продукты гидролиза экстрагировали хлороформом и исследовали их далее как указано на схеме 1. В результате щелочного метанолиза и последующей тонкослойной хроматографии липофильных продуктов ферментативного гидролиза были получены три фракции: малополярная (метиловые эфиры жирных кислот), сильнополярная (глицерин) и промежуточная по полярности, обладавшая альде-

Рис. 2. Хромато-масс-спектрометрия алкен-1-иловых эфиров диолов, полученных ферментативным гидролизом фосфолипазой С суммарных холинфосфатидов печени крыс. Прибор — хромато-масс-спектрометр LKB-9000 с насадочной колонкой размером 3000×3 мм с 3% силикона SE-30 на хромосорбе W, 80—100 меш. Температура дозатора, молекулярного сепаратора и источника ионов 300° , энергия ионизирующих электронов 70 эв

гидогенными свойствами (положительная реакция с фуксинсернистой кислотой). Альдегидогенную фракцию подвергали кислому метанолизу, образовавшиеся при этом полиолы ацетилировали⁽⁵⁾ и анализировали с помощью газо-жидкостной хроматографии по методу⁽⁶⁾. Как видно из хроматограммы, приведенной на рис. 1, полученная таким образом смесь ацетатов многоатомных спиртов содержала наряду с триацетином диацетаты этиленгликоля, пропандиола-1,3 и двух изомерных бутандиолов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при ферментативном гидролизе суммарных холинфосфатидов печени крыс наряду с диглицеридами образуется также и некоторое количество алкен-1-иловых эфиров этиленгликоля (IV, $n = 0$), пропандиола-1,3 (IV, $n = 1$) и возможно также изомерных бутандиолов.

Этот вывод был подтвержден данными, полученными при исследовании смеси липофильных продуктов ферментативного гидролиза с помощью хромато-масс-спектрометрии. Масс-спектры двух веществ, которым соответствуют пики 1 и 4 на рис. 2, полностью совпали с масс-спектрами синтетических гексадецен-1-илового эфира этиленгликоля (IV, $R = C_{14}H_{29}$, $n = 0$) и октадецен-1-илового эфира пропандиола-1,3 (IV, $R = C_{16}H_{31}$, $n = 1$) (фрагментацию см. схему 2 и⁽⁸⁾). Масс-спектр, записанный во время регистрации

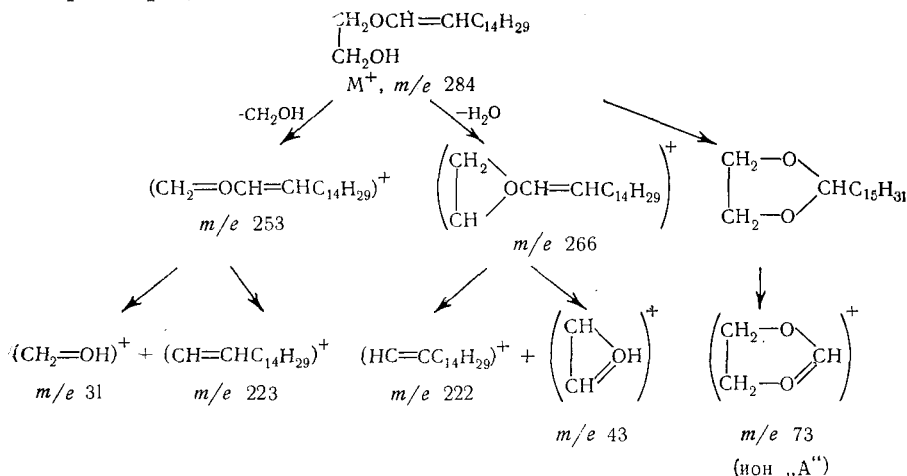


Схема 2. Фрагментация гексадецен-1-илового эфира этиленгликоля под электронным ударом

пика 3 (рис. 2), полностью соответствовал фрагментации, ожидаемой для смеси гексадецен-1-иловых эфиров этиленгликоля и пропандиола-1,3. Масс-спектры веществ, соответствующих остальным пикам на хроматограмме рис. 2, идентифицировать не удалось.

Полученные данные позволяют заключить, что в печени крыс содержатся фосфолипиды неизвестного ранее типа, представляющие собой холинфосфаты 1-О-(алкен-1'-ил)-этиленгликоля или 1-О-(алкен-1'-ил)-пропандиола-1,3. Абсолютное количество этих соединений в печени крайне невелико, однако они составляют значительную часть фракции холинплазмалогенов.

Институт химии природных соединений
Академии наук СССР
Москва

Поступило
8 XII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ L. D. Bergelson, Progr. Chem. Fats and other Lipids, **10**, 239 (1968).
- ² G. Roussier, A. J. Baumann et al., J. Am. Oil Chem. Soc., **38**, 544 (1961).
- ³ C. Pries, J. Anmount, J. F. Böttcher, Biochim. et biophys. acta, **125**, 277 (1966).
- ⁴ R. V. Кееран, Anal. Biochem., **23**, 55 (1968).
- ⁵ В. В. Вавер, В. В. Дорогов, Л. Д. Бергельсон, Изв. АН СССР, сер. хим., **1967**, 2681.
- ⁶ В. А. Вавер, А. Н. Ушаков, Л. Д. Бергельсон, Изв. АН СССР, сер. хим., **1967**, 1187.
- ⁷ J. C. Craig, D. P. C. Hamon, J. Org. Chem., **30**, 4168 (1965).