

С. Г. БАТРАКОВ, А. Г. ПАНОСЯН, И. В. КОНОВА,
член-корреспондент АН СССР Л. Д. БЕРГЕЛЬСОН

ФОСФАТИДИЛБУТАНДИОЛ-2,3 — НОВЫЙ ДИОЛЬНЫЙ ФОСФОЛИПИД ИЗ АКТИНОМИЦЕТА

Известно, что в нейтральных глицеролипидах, выделенных из некоторых природных источников, в качестве минорных компонентов присутствуют соответствующие диольные аналоги ⁽¹⁾. Диольные фосфолипиды не установленного строения найдены в кефалиновой фракции сердца и легких млекопитающих ⁽²⁾, а небольшие количества диольных фосфатидилхолинов обнаружены в печени крыс ⁽³⁾. Что касается микроорганизмов, то еще в 1961—1962 гг. было установлено, что нейтральные липиды микобактерий содержат этиленгликоль ^(4, 5), а впоследствии липидные производные C₂—C₄-диолов были идентифицированы у многих видов дрожжей ⁽⁶⁻¹⁰⁾. В настоящем сообщении описано выделение из клеток *Actinomyces olivaceus* нового диольного фосфолипида 1,2(R)-ди-О-ацилглицерилфосфорилбутандиола-2(S), 3(S) (I).

При изучении клеточных липидов *Actinomyces olivaceus* * мы обнаружили, что гидрофильная часть метанолизата (а также гидролизата суммарных липидов этого организма) содержит значительное количество бутандиола-2,3. Нами было предпринято изучение распределения указанного диола между отдельными липидными фракциями. С этой целью сумма липидов, полученная в результате экстракции лиофилизованного мицеллия ** смесями CHCl₃—MeOH (2:1 и 1:1), подвергалась хроматографированию на колонке с силикагелем КСК. Фракции, элюированные смесями CHCl₃—MeOH (9:1, 8:1 и 7:1), содержали в качестве основного компонента фосфолипид (I), который путем препаративной тонкослойной хроматографии (т.с.х.) на силикагеле был выделен в хроматографически индивидуальном состоянии в виде аморфной массы с $[\alpha]_D^{20} + 5,9$ (CHCl₃; с 0,38). Индивидуальность I была показана с помощью т.с.х. в нейтральных, кислотных и основных системах растворителей. Фосфолипид (I) составляет около 20% от суммы клеточных липидов и содержит ~60% обнаруженного в ней бутандиола-2,3.

Липид (I) дает положительную реакцию с реагентами на фосфолипиды ^(12, 13), но не обнаруживается нингидрином и не окисляется периодатом ⁽¹⁴⁾. В и.-к. спектре I имеются полосы поглощения спиртовой ОН-группы (3380, 1112 см⁻¹), сложноэфирного карбонила (1742 см⁻¹), Р=О- и Р—О—С-связей (соответственно 1234 и 1072 см⁻¹). При обработке уксусным ангидридом в пиридине (20°, 24 часа) I дает ацетат, в и.-к. спектре которого отсутствуют полосы поглощения спиртовых ОН-групп. В условиях жесткого кислотного метанолиза (7% раствор HCl в MeOH, 105°, 30 час.) I распадается на фракцию метиловых эфиров жирных кислот и фракцию полполов, которые разделяли хроматографией на силикагеле. Метиловые эфиры жирных кислот анализировали комбинированным методом газожидкостной хроматографии (г.ж.х.) и масс-спектрометрии: данные анализа приводятся в табл. 1.

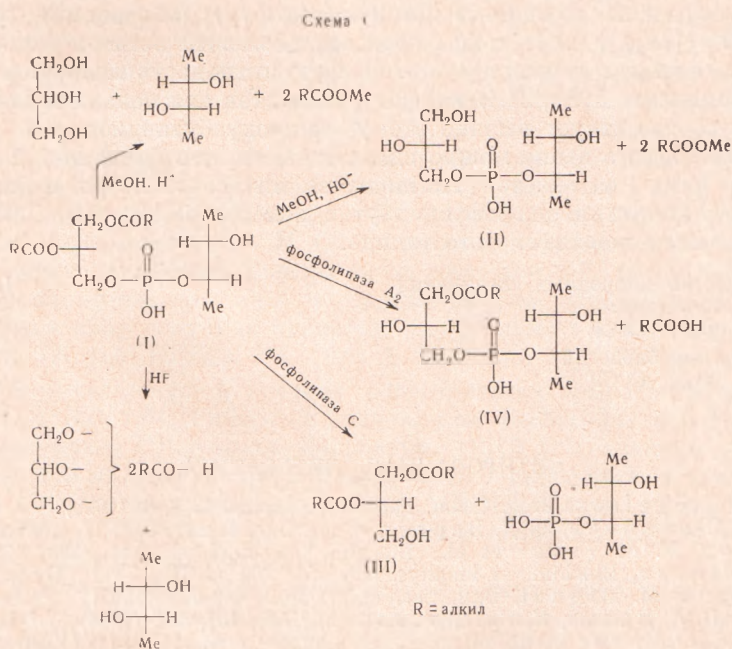
* Из коллекции Института микробиологии Академии наук СССР.

** Мицеллий выращивали в условиях погруженного культивирования в колбах и в ферментерах на синтетической среде ⁽¹¹⁾ и отделяли в конце экспоненциальной фазы развития.

Состав жирных кислот фосфолипида (I)

Кислоты	Общий состав кислот, %	Состав кислот, отщепляемых фосфолипазой A_2 , %	Кислоты	Общий состав кислот, %	Состав кислот, отщепляемых фосфолипазой A_2 , %
<i>изо</i> -C ₁₄ :0	8,3	3,6	<i>изо</i> -C ₁₇ :0	2,4	0,5
<i>анти</i> <i>изо</i> -C ₁₅ :0	26,3	45,8	<i>н</i> -C ₁₇ :0	4,8	0,3
<i>изо</i> -C ₁₅ :0	19,3	28,8	<i>н</i> -C ₁₈ :0	3,1	Следы
<i>изо</i> -C ₁₆ :0	10,3	10,1	<i>н</i> -C ₁₈ :1	12,3	6,8
<i>анти</i> <i>изо</i> -C ₁₇ :0	3,9	0,4	<i>н</i> -C ₁₈ :2	9,3	3,6

Г.ж.х. полиольной части метанолизата показала, что в ее состав входит бутандиол-2,3. На основании г.ж.х. и масс-спектрометрического анализа смеси ацетатов полиолов установлено, что она состоит из триацетата глицерина и диацетата бутандиола-2,3. По удерживаемому объему полученный диацетат бутандиола оказался идентичным ($\pm$)-2,3-диацетоксибутану и отличался от соответствующего мезо-изомера. Таким образом в состав молекулы I входят остатки жирных кислот, глицерина, (+)- или (-)-бутандиола-2,3 и ортофосфорной кислоты; по данным количественного анализа указанные компоненты содержатся в молярном соотношении 2:1:1:1. О характере связи между перечисленными фрагментами можно судить на основании следующих экспериментальных данных (см. схему 1):



Мягкий щелочной метанолиз липида (I) приводит к смеси метиловых эфиров жирных кислот и единственному гидрофильному продукту (II), содержащему фосфор и расщепляющемуся при кислотном гидролизе (2*N* соляная кислота, 100°, 3 часа) на глицерин и бутандиол-2,3 в молярном соотношении 1:1. Фосфат (II) окисляется периодатом с образованием формальдегида; в кислотном гидролизате продукта окисления глицерин

отсутствовал, однако бутандиол-2,3 после описанных операций полностью сохранился. Приведенные факты показывают, что в молекуле (II) остаток фосфорной кислоты связан с первичной ОН-группой глицерина и одним из гидроксильных бутандиола-2,3. Последнее подтверждается образованием иодоформа при окислении II гипохлоритом натрия.

Положение жирнокислотных остатков в молекуле I однозначно следует из того, что в результате гидролиза липида фосфолипазой C (из *Bacillus cereus* ⁽¹⁵⁾) в качестве единственного липофильного продукта образуются 1,2-диглицериды (III), которые были идентифицированы с помощью т.с.х., а в виде ацетильных производных — методом г.ж.х. — масс-спектрометрии. При кислотном метанолизе диглицеридов (кипячение с 3% раствором HCl в MeOH, 5 час.) получены только метиловые эфиры жирных кислот и глицерин. Мы осуществили также расщепление I действием HF ⁽¹⁶⁾; основным липофильным компонентом в продуктах деградации оказалась смесь 1,2- и 1,3-диглицеридов (в качестве минорных компонентов (< 3%) получены моноглицериды и жирные кислоты), в водорастворимой фракции гидролизата обнаружен только бутандиол-2,3.

Для выяснения конфигурации асимметрического центра глицеринового остатка мы подвергли фосфолипид (I) расщеплению фосфолипазой A₂ змеиного ядра (*Naja naja oxiana*). Поскольку I легко гидролизовался указанной липазой с образованием лизолипида (IV), глицериновому остатку его молекулы была приписана R-конфигурация ⁽¹⁷⁾. В табл. 1 приводится состав жирных кислот, полученных в результате описанного гидролиза, т. е. кислот, связанных со вторичной ОН-группой остатка глицерина. Что же касается конфигурации бутандиольного остатка, то о ней можно судить на основании следующих данных: для 1,2-диглицеридов (III), образовавшихся при расщеплении I фосфолипазой C, найден $[\alpha]_D -1,3^\circ$ ($[M]_D -3,5^\circ$, в расчете на «среднюю» жирную кислоту); фосфолипид (I) имеет $[\alpha]_D +5,9^\circ$ ($[M]_D +45^\circ$); таким образом, диольный остаток вносит положительный вклад в суммарную оптическую активность молекулы I и ему следует приписать 2(S), 3(S)-конфигурацию, так как положительный угол вращения соответствует именно этому антиподу бутандиола-2,3 ⁽¹⁸⁾.

Из изложенного выше можно сделать вывод, что фосфолипид (I), выделенный нами из клеток *Actinomyces olivaceus*, представляет собой 1,2-(R)-ди-О-ацилглицерилфосфорилбутандиол-2(S),3(S). В настоящее время изучается биосинтез этого липида.

Институт химии природных соединений
им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР
Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
31 I 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ L. D. Bergelson, *Prog. Chem. Fats other Lipids*, **10**, 241 (1969). ² В. А. Вавер, В. А. Щенников, Л. Д. Бергельсон, *Биохимия*, **32**, 1027 (1967). ³ L. D. Bergelson, V. A. Vaver et al., *Biochim. et biophys. acta*, **260**, 571 (1972). ⁴ J. Asselineau, *Biochim. et biophys. acta*, **54**, 359 (1961). ⁵ H. Demarteau-Ginsburg, A. M. Miquel, *Bull. Soc. chim. biol.*, **44**, 679 (1962). ⁶ Л. Д. Бергельсон, В. А. Вавер, Н. В. Проказова, *ДАН*, **157**, 122 (1964). ⁷ L. D. Bergelson, V. A. Vaver et al., *Biochim. et biophys. acta*, **116**, 511 (1966). ⁸ В. А. Вавер, Н. В. Проказова и др., *Биохимия*, **32**, 310 (1967). ⁹ В. А. Вавер, С. М. Попова и др., *Изв. АН СССР, сер. хим.*, **1972**, 393. ¹⁰ T. Suzuki, K. Hasegawa, *J. Agricult. Chem. Soc. Japan*, **46**, 215 (1972). ¹¹ В. Н. Шапошников, И. В. Кожова, Р. К. Рыбакова, *ДАН*, **171**, 14 (1966). ¹² V. E. Vaskovskii, E. I. Kostetskii, *J. Lipid Res.*, **9**, 396 (1968). ¹³ S. K. Goswami, C. F. Frey, *J. Lipid. Res.*, **12**, 509 (1971). ¹⁴ N. Shaw, *Biochim. et biophys. acta*, **164**, 435 (1968). ¹⁵ F. Haverkate, L. L. M. van Deenen, *Biochim. et biophys. acta*, **106**, 78 (1965). ¹⁶ L. Glaser, M. M. Burger, *J. Biol. Chem.*, **239**, 3187 (1964). ¹⁷ G. H. de Haas, L. L. M. van Deenen, *Biochim. et biophys. acta*, **106**, 345 (1965). ¹⁸ L. F. Fieser, M. Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, **1**, N. Y., 1968.