

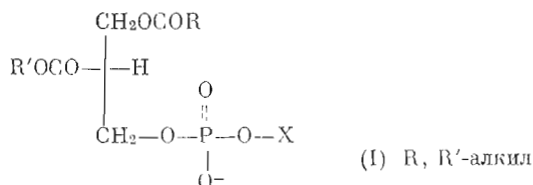


УДК 547.915.5:543.422.6

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АБСОЛЮТНОЙ КОНФИГУРАЦИИ
ГЛИЦЕРОФОСФОЛИПИДОВ МЕТОДОМ КРУГОВОГО ДИХРОИЗМАО СТЕРЕОСПЕЦИФИЧНОСТИ ТРАНСЭТЕРИФИКАЦИИ,
КАТАЛИЗИРУЕМОЙ ФОСФОЛИПАЗОЙ DБатраков С. Г., Ианоян А. Г., Коган Г. А.,
Вергельсон Л. Д.Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва

Измерены спектры КД ряда природных глицерофосфолипидов и синтетической 1-*sn*-фосфатидовой кислоты. Производные 3-*sn*-фосфатидовой кислоты обнаруживали положительный эффект Коттона, тогда как для 1-*sn*-фосфатидовой кислоты наблюдался отрицательный эффект Коттона. Полученные результаты интерпретируются с точки зрения правила секторов. Методом КД установлено, что трансэтерификация яичного лецитина под действием фосфолипазы D в присутствии глицерина протекает стереоспецифично и приводит к 3-*sn*-фосфатидил-1'-*sn*-глицерину.

Одной из существенных проблем, возникающих при структурном анализе природных глицерофосфолипидов типа (I), является определение абсолютной конфигурации асимметрического углеродного атома (C₍₂₎) глицеринового остатка.



Как правило, природные глицерофосфолипиды представляют собой производные 3-*sn*-глицерофосфата, но известны и исключения. Так, в клетках галофильной бактерии *Halobacterium cutirubrum* обнаружен 2,3-ди-*O*-фитанил-*sn*-глицеро-1-фосфорилглицерофосфат [1]. Необычная группировка 1-*sn*-глицерофосфата содержится в глицерофосфорилдиглюкозилдиглицеридах стрептококков [2] и в молекуле лизобисфосфатидовой кислоты из культуры почечной ткани хомяка [3]. Ацилированные 3-*sn*-фосфатидилглицерины, которые были выделены из различных источников [4—8], также могут рассматриваться как производные 1-*sn*-фосфатидовой (или 1-*sn*-лизофосфатидовой) кислоты.

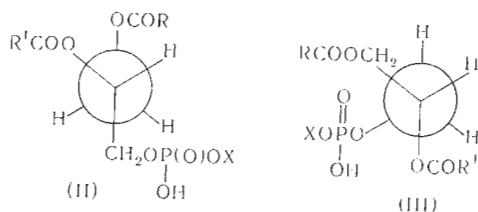
Для определения конфигурации остатка фосфатидовой кислоты, входящего в состав исследуемого фосфолипида, в настоящее время используются 2 метода. Первый состоит в гидролизе глицерофосфолипида с помощью фосфолипазы A₂. Установлено [9], что этот фермент обладает высокой

стерической специфичностью и гидролизует только производные 3-*sn*-фосфатидовой кислоты, но не ее антипода. Другой метод [10] основан на ферментативном окислении глицерофосфата, образующегося при ферментативном и последующем щелочном гидролизе глицерофосфолипидов. Окисление 3-*sn*-глицерофосфата с участием NAD и *L*- α -глицерофосфатдегидрогеназы приводит к диоксиацетону; 1-*sn*-глицерофосфат в этих условиях остается неизмененным.

Оба метода имеют существенные недостатки. Их применение связано с деградацией липида, который после этого уже не может быть использован для дальнейшего изучения. Проведение энзиматических реакций требует много времени, а второй из упомянутых методов предполагает еще и предварительное расщепление фосфолипидов до глицерофосфата. Кроме того, не все глицерофосфолипиды достаточно легко гидролизуются фосфолипазой A_2 [11], а некоторые структурные разновидности вообще не расщепляются этим ферментом.

В настоящем сообщении описан новый метод стерического анализа глицерофосфолипидов, основанный на измерении их КД.

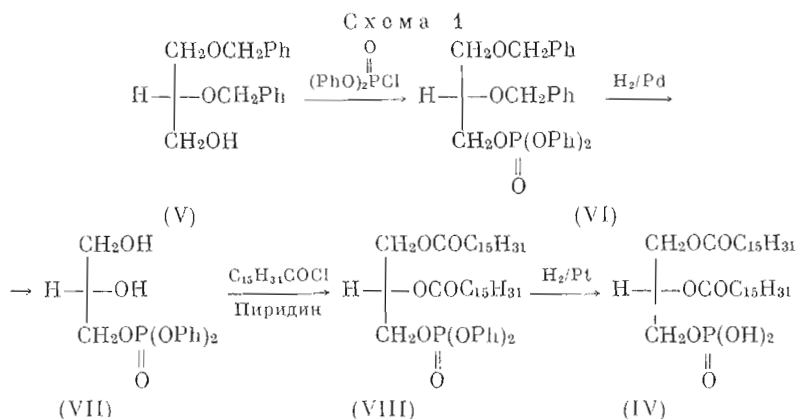
Изучение УФ-спектров ряда природных фосфолипидов — производных фосфатидовой кислоты — показало, что все они проявляют селективное поглощение ~ 212 нм, связанное, очевидно, с $n \rightarrow \pi^*$ -переходом сложноэфирных карбониллов. Поскольку один из этих хромофоров находится в непосредственной близости от асимметрического центра глицеринового остатка (см. формулу (I)), липиды указанного типа должны обнаруживать эффект Коттона в той же области длин волн. Ранее на основании изучения спектров ЯМР было показано [12, 13], что фосфатидилхолин как в полярных (метанол), так и в малополярных растворителях (хлороформ) находится в конформации, при которой жирноацильные заместители глицеринового остатка имеют *gosh*-ориентацию (см. структуру (II)).



Преимущественно такую же взаимную ориентацию имеют фосфатная группировка и ацильный заместитель при $C_{(2)}$ остатка глицерина (см. структуру (III)). Близкое структурное родство фосфатидилхолина и других классов глицерофосфолипидов позволяет приписать последним аналогичную конфигурацию. В этом случае, применяя правило секторов [14], можно предположить, что глицерофосфолипиды, являющиеся производными 3-*sn*-фосфатидовой кислоты, должны проявлять положительный эффект Коттона.

Действительно, измерение КД перечисленных в таблице природных липидов показало, что все они дают положительный эффект Коттона при 214—226 нм. 3-*sn*-Конфигурация этих липидов была доказана с помощью ферментативного гидролиза фосфолипазой A_2 змеиного яда (*Naja naja oxiana*) [11]. Наблюдаемые различия величины эффекта Коттона объясняются, вероятно, различиями жирноокислотного состава и характера полярных группировок липидов. Как было найдено в опытах с фосфатидилхолином яичного желтка и фосфатидилэтанололамином спинного мозга быка, величина эффекта Коттона практически не зависит от концентрации фосфолипидов в растворе в пределах от 0,001 до 0,1 ммоль/мл.

Для сравнения оптических свойств производных 3-*sn*-фосфатидовой кислоты и энантиомерных глицерофосфолипидов мы осуществили синтез 1-*sn*-фосфатидовой кислоты (IV) (схема 1).



Исходным продуктом для получения последней служил 2,3-ди-О-бензил-*sn*-глицерин (V) [22]. Конденсация дибензильного производного (V) с дифенилхлорфосфатом привела к 1-О-дифенилфосфорил-2,3-ди-О-бензил-*sn*-глицерину (VI), который в результате каталитического гидрогенолиза и последующего пальмитоилирования дал дифениловый эфир 1-*sn*-фосфатидовой кислоты (VII). После гидрогенолитического удаления фенольных групп дифенильного производного (VII) был получен 2,3-ди-О-пальмитоил-1-фосфорил-*sn*-глицерин (IV). Строение всех синтезированных соединений подтверждено данными ИК-спектров, спектров ПМР и масс-спектров. Кроме того, структура кислоты (IV) доказана результатами жесткого кислотного гидролиза, после которого образовались пальмитиновая кислота, глицерин и неорганический фосфат в молярном соотношении 2:1:1. Как и следовало ожидать, в отличие от изученных нами природных глицерофосфолипидов синтетический фосфатид (IV) давал отрицательный эффект Коттона (см. таблицу).

КД глицерофосфолипидов

Липид	Источник получения	Растворитель	Концентрация, мкмоль/мл	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$[\theta]_{\text{макс}}$
Фосфатидилхолин	Печень быка [15]	Гептан	2,6	226	+330
»	Яичный желток [16]	»	6,6	226	+429
Фосфатидилэто- поламин	<i>Actinomyces olivaceus</i> [17]	»	2,8	216	+363
То же	<i>Streptomyces griseus</i> *	»	23,0	215	+660
»	Спинальный мозг быка [18]	Гептан — этанол, 1:1	5,6	222	+390
Фосфатидилинозит	Пекарские дрожжи [19]	Метанол	1,2	217	+330
Фосфатидилбутандиол-2,3	<i>Actinomyces olivaceus</i> [17]	Гептан	2,7	216	+460
Фосфатидилглицерин	**	»	2,8	217	+210
Кардиолипин	<i>Streptomyces griseus</i> *	»	1,4	216	+360
3- <i>sn</i> -Фосфатидовая кислота	***	Диоксан	5,1	214	+1560
1- <i>sn</i> -Фосфатидовая кислота	Химический синтез	Этанол	1,7	214	-990

* Выделение липидов будет описано в отдельном сообщении.

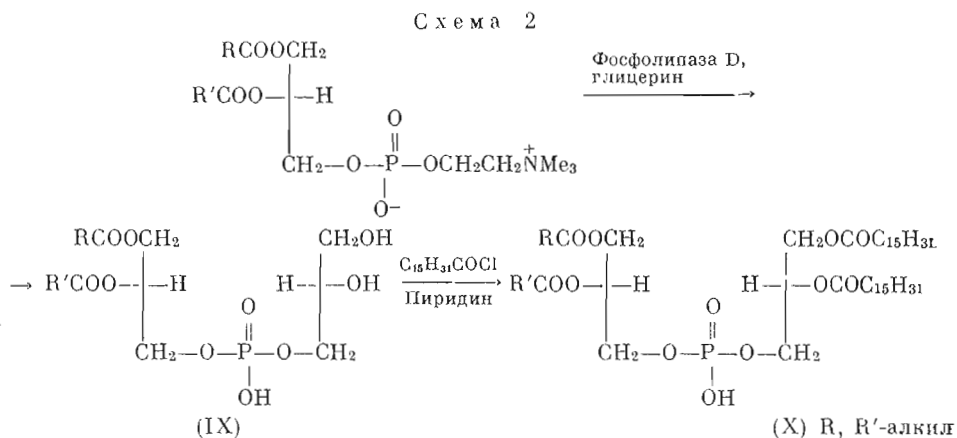
** Получен путем трансэтерификации фосфатидилхолина яичного желтка под действием фосфолипазы D [20].

*** Получена в результате гидролиза фосфатидилхолина яичного желтка фосфолипазой D [21].

Изложенные результаты позволяют предложить новый метод определения абсолютной конфигурации глицерофосфолипидов типа (I), основанный на измерении КД; если исследуемый липид обнаруживает положительный эффект Коттона, то он является производным 3-*sn*-фосфатидовой кислоты, в противном случае его следует рассматривать как производное 1-*sn*-фосфатидовой кислоты. Преимущества этого метода состоят в быстроте анализа и в отсутствии потери вещества. Для анализа требуется не более 2—3 мг липида.

Описанная методика была использована нами для решения вопроса о стерической направленности реакции трансэтерификации глицерофосфолипидов под действием фосфолипазы D. Известно [20], что при ферментативном гидролизе фосфолипидов указанным ферментом в присутствии большого избытка глицерина образуется в основном фосфатидилглицерин. До сих пор не исследовалась стереохимия этой реакции, т. е. оставалась неизвестной конфигурация вновь возникающего асимметрического центра — C₍₂₎-атома глицеринового остатка — и не было данных о том, обладает ли обсуждаемая реакция вообще стерической специфичностью.

Для выяснения этих вопросов фосфатидилглицерин (IX), полученный нами ферментативной трансэтерификацией фосфатидилхолина яичного желтка по методике [20], был подвергнут пальмитоилрованию действием пальмитоилхлорида в присутствии пиридина (схема 2).



При измерении КД продукта ацилирования (X) нам не удалось обнаружить сколько-нибудь заметный эффект Коттона, в то время как для исходного фосфатидилглицерина (IX) наблюдался эффект, близкий по величине к эффектам Коттона, характерным для других глицерофосфолипидов (см. таблицу). Этот факт говорит о том, что трансэтерификация фосфатидилхолина под действием фосфолипазы D протекает стереонаправленно, и вновь включенный в молекулу фосфолипида глицериновый остаток имеет абсолютную конфигурацию, обратную той, которой обладает остаток глицерина, этерифицированный жирными кислотами. В противном случае, т. е. если бы трансэтерификация протекала стерически неоднозначно или приводила к производному бис-(3-*sn*-глицеро)фосфата, полученная нами бисфосфатидовая кислота (X) должна была бы обнаруживать положительный эффект Коттона.

Экспериментальная часть

Спектры КД измеряли на спектрополяриметре «Cary-60» (США), снабженном приставкой CD-6002, при 25°. Толщина кювет 0,01—1,0 см. При расчете $[\theta]_{\text{макс}}$ (град·см²/дмоль) учитывали усредненный молекулярный вес липидной фракции.

ИК-спектры регистрировали на спектрографе UR-10 («Zeiss», ГДР), спектры ПМР — на приборе XL-100 («Varian», США) при рабочей частоте 100 МГц с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта.

Для хроматографии на колонках и для ТСХ применяли силикагель марки КСК (100—150 и 250—300 меш соответственно). Пластинки для ТСХ готовили по ранее описанной методике [23]. Для обнаружения веществ на хроматограммах использовали обугливание с 50%-ной H_2SO_4 , а также 0,2%-ный раствор морина в MeOH (пятна веществ видны в УФ-свете).

Данные элементного анализа (С, Н, Р) для синтезированных соединений удовлетворительно совпадали с рассчитанными.

1-О-Дифенилфосфорил-2,3-ди-О-бензил-сп-глицерин (VI). К смеси 272 мг (1 ммоль) 2,3-ди-О-бензил-сп-глицерина (V) [22], 5 мл бензола и 0,4 мл пиридина добавляли за 15 мин при 20° раствор 1,07 г (4 ммоль) дифенилхлорфосфата в 5 мл бензола. Смесь оставляли на 3 ч при 20°, затем разбавляли 15 мл $CHCl_3$ и промывали (по 5 мл) водой, насыщенным раствором $NaHCO_3$, водой, упаривали, остаток в 2 мл $CHCl_3$ наносили на колонку с 20 г Al_2O_3 (нейтр., III ст. акт.). Колонку промывали 150 мл $CHCl_3$, после чего 100 мл смеси $CHCl_3$ —этилацетат (4 : 1) элюировали 500 мг вещества. Последнее наносили в 3 мл $CHCl_3$ на колонку с 40 г силикагеля. Колонку промывали 20 мл $CHCl_3$, затем 80 мл смеси $CHCl_3$ —этилацетат (5 : 1) вымывали 469 мг (93%) фосфата (VI) в виде вязкой жидкости; $[\alpha]_D^{21} +1,0^\circ$ ($CHCl_3$; c 3,7); R_f 0,80 в системе бензол — этилацетат (4 : 1); 0,55 — бензол эфир (6 : 1); 0,33 — гексан — этилацетат (4 : 1).

Спектр ПМР (CCl_4 , δ): 3,47 (дублет, J 5 Гц, 2H, CH_2OCH_2Ph), 3,72 (квинтет, J 5 Гц, 1H, $CHOCH_2Ph$), 4,41 (синглет, 2H, CH_2OCH_2Ph), 4,54 (синглет, 2H, $CHOCH_2Ph$), 5,14 (дублет, J 5 Гц, 2H, CH_2OP), 7,18—7,27 (мультиплет, 20H, протоны ароматических ядер).

Масс-спектр; M^+ — m/e 504; вычислено; M 504.

1-О-Дифенилфосфорил-сп-глицерин (VII). 252 мг (0,5 ммоль) дибензильного производного (VI) гидрировали в 4 мл диоксана над 100 мг Pd-черни при 20° и атмосферном давлении до прекращения поглощения H_2 (~5 ч). Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток наносили в 2 мл бензола на колонку с 15 г силикагеля. Смесью бензол — этилацетат (1 : 1) элюировали 130 мг (80%) фосфата (VII) в виде вязкой жидкости; $[\alpha]_D^{20} -0,8^\circ$ ($CHCl_3$ —MeOH, 1 : 1; c 7); R_f 0,33 в системе бензол — этилацетат (1 : 1).

На хроматограмме вещество давало положительную реакцию с периодатом — реактивом Шиффа [24].

ИК-спектр* (пленка вещества) ν_{\max} : 3609, 3360 (вал. к. Н—О связей), 3100, 3078, 3047 (вал. к. С—Н аром. ядер), 1599, 1495 (пл. к. С=C), 1259, 1195, 1067 (вал. к. С—О и Р=О и деф. к. Н—О связей), 1218, 1028 (вал. к. Р—О—С), 690 (внепл. деф. к. С—Н аром. ядер) cm^{-1} .

1-О-Дифенилфосфорил-2,3-ди-О-пальмитоил-сп-глицерин (VIII). Смесь 81 мг (0,25 ммоль) фосфотриэфира (VII), 2 мл бензола, 0,1 мл пиридина и 165 мг (0,6 ммоль) пальмитоилхлорида нагревали 6 ч при 80°. По охлаждении смесь разбавляли 10 мл бензола, промывали (по 4 мл) водой, 2%-ной соляной кислотой, водой и упаривали. Остаток наносили в 2 мл $CHCl_3$ на колонку с 20 г Al_2O_3 (нейтр., IV ст. акт.). Смесью $CHCl_3$ —этилацетат (4 : 1, 60 мл) элюировали 165 мг вещества. Последнее хроматографировали на колонке с 10 г силикагеля; 30 мл $CHCl_3$ вымывали 142 мг (71%) дипальмитоильного производного (VIII), т. пл. 51—52° (MeOH), $[\alpha]_D^{20} -0,6^\circ$ ($CHCl_3$; c 2,2); R_f 0,75 в системе бензол — этилацетат (9 : 1).

ИК-спектр (в KBr) ν_{\max} : 3080, 3048 (вал. к. С—Н аром. ядер), 1743 (вал. к. сложноэфирного С=О), 1599, 1498 (пл. к. С=C), 1270, 1195, 1067

* Здесь и далее при описании ИК-спектров приняты следующие сокращения: аром.— ароматический, вал.— валентные, деф.— деформационные, пл.— плоскостные, внепл.— внеплоскостные, к.— колебания.

(вал. к. С—О и P=O), 1225, 1047 (вал. к. P—O—C), 758, 692 (внепл. деф. к. аром. ядер) см⁻¹.

1-О-Фосфорил-2,3-ди-О-пальмитоил-sn-глицерин (IV). Смесь 90 мг (0,11 ммоль) фосфата (VIII), 5 мл диоксиана и 30 мг Pt-черни, предварительно промытой 5%-ной соляной кислотой [25], перемешивали 4 ч при 20° в атмосфере Н₂, после чего катализатор отфильтровывали и промывали 15 мл смеси СНСl₃—МеОН (2 : 1). Объединенный фильтрат упаривали, остаток наносили в 2 мл СНСl₃ на колонку с 10 г силикагеля, колонку промывали 50 мл СНСl₃, 50 мл смеси СНСl₃—МеОН (15 : 1), затем 50 мл смеси СНСl₃—МеОН (9 : 1) элюировали 63 мг (87%) 1-sn-фосфатидовой кислоты (IV), т. пл. 67° (из ацетона + 1% СНСl₃), [α]_D²¹ -6,2° (СНСl₃; с 0,5); R_f 0,72 в системе СНСl₃—МеОН — вода (65 : 25 : 4). По данным работы [26], для (+)-антипода — т. пл. 67,5°, [α]_D + 5,0° (СНСl₃).

ИК-спектр (в КВr) ν_{макс}: 1741 (вал. к. сложноэфирной С=О), 1254, 1196, 1171, 1116 (вал. к. P=O и С—О), 1030 (вал. к. P—O—C) см⁻¹.

На хроматограммах вещество давало положительную реакцию на фосфолипиды [27].

Кислотный гидролиз 1-sn-фосфатидовой кислоты (IV). Смесь 10 мг (0,48 мг фосфора) 1-sn-фосфатидовой кислоты (IV) и 1 мл 2н. НСl нагревали 24 ч при 105° в запаянной ампуле. По охлаждении смесь разбавляли 3 мл воды и экстрагировали СНСl₃ (2 × 2 мл); хлороформный слой промывали 1 мл воды. В объединенной водной фазе анализировали глицерин по методу [28]. Органическая фаза содержала пальмитиновую кислоту, которую определяли в виде метилового эфира с помощью ГЖХ на хроматографе «Цвет-6», снабженном пламенно-ионизационным детектором и колонкой (2500 × 5 мм) с 10% полиэтиленгликольсукцинатом на хромосорбе W (80—100 меш); температура колонки 170°, газ-носитель — аргон (50 мл/мин). В качестве внутреннего стандарта использовали метилмаргарат.

Найденное соотношение остатков пальмитиновой кислоты, глицерина и фосфата в кислоте (IV) — 2 : 1 : 1.

Бисфосфатидовая кислота (X). Смесь 76 мг 3-sn-фосфатидилглицерина (IX), полученного в результате трансэтерификации яичного фосфатидилхолина по методу [20], 110 мг (0,4 ммоль) пальмитоилхлорида, 2 мл бензола и 0,3 мл пиридина нагревали 6 ч при 80°. По охлаждении смесь упаривали в вакууме при температуре < 30°, остаток наносили в СНСl₃ на 4 пластинки с силикагелем (20 × 20 см; толщина слоя адсорбента 0,3—0,4 мм), которые проявляли в системе СНСl₃—МеОН — вода (80 : 20 : 2). Зоны веществ на пластинках обнаруживали раствором морина в МеОН. Зону с R_f 0,60—0,65 отделяли, вещество вымывали с адсорбента смесью СНСl₃—МеОН (2 : 1). Получили 81 мг (60%) бисфосфатидовой кислоты (X). [α]_D²² -2,1° (СНСl₃; с 0,67); R_f 0,83 в системе СНСl₃—МеОН — вода (65 : 25 : 4); 0,67 — СНСl₃ — МеОН — конц. водный аммиак (65 : 25 : 4).

ИК-спектр (в вазелиновом масле) ν_{макс}: 1742 (вал. к. сложноэфирной С=О), 1250, 1178, 1116 (вал. к. P=O и С—О), 1068 (вал. к. P—O—C) см⁻¹.

Кислотный гидролиз бисфосфатидовой кислоты (X), обработку гидролизата и анализ продуктов гидролиза проводили так же, как и в случае 1-sn-фосфатидовой кислоты (IV). Найденное соотношение в кислоте (X) остатков жирных кислот, глицерина и фосфата — 4 : 2 : 1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Joo C. N., Kates M. (1969) Biochim. et biophys. acta, 176, 278—297.
2. Fischer W., Ishizuka I., Landgraf H. R., Herrmann J. (1973) Biochim. et biophys. acta, 296, 527—545.
3. Brotherus J., Renkonen O., Herrmann J., Fischer W. (1974) Chem. Phys. Lipids, 13, 178—182.
4. Body D. R., Gray G. M. (1967) Chem. Phys. Lipids, 1, 424—428.

5. Olsen R. W., Ballou C. E. (1971) *J. Biol. Chem.*, **246**, 3305—3313.
6. Bennis G., Proulx P. (1971) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **44**, 382—389.
7. Brotherus J., Renkonen O. (1974) *Chem. Phys. Lipids*, **13**, 11—20.
8. Molotkovsky Jul. G., Bergelson L. D. (1968) *Chem. Phys. Lipids*, **2**, 1—10.
9. de Haas G. H., van Deenen L. L. M. (1965) *Biochim. et biophys. acta*, **106**, 315—325.
10. Hohorst H.-J., Bergmeyer H. U. (1963) *Methods of Enzymatic Analysis*, pp. 215—219, Academic Press, New York.
11. Salach J. I., Seng R., Tisdale H., Singer T. P. (1971) *J. Biol. Chem.*, **246**, 340—347.
12. Birdsall N. J. M., Feehey J., Jee A. G., Levine Y. K., Metcalfe J. C. (1972) *J. Chem. Soc. Perkin II*, 1444—1445.
13. Dufourcq J., Lussan C. (1972) *FEBS Lett.*, **26**, 35—38.
14. Jennings J. P., Klyne W., Mose W. P., Scopes P. M. (1966) *Chem. Commun.*, 553—555.
15. Дятловицкая Э. В., Волкова В. И., Бергельсон Л. Д. (1967) *Биохимия*, **32**, 1227—1233.
16. Dawson R. M. C. (1963) *Biochem. J.*, **88**, 414—423.
17. Batrakov S. G., Panosyan A. G., Konova I. V., Bergelson L. D. (1974) *Biochim. et biophys. acta*, **337**, 29—40.
18. Brante G. (1949) *Acta physiol. scand.*, **18** Suppl., 63.
19. Colacicco G., Rapport M. M. (1967) *J. Lipid Res.*, **8**, 513—515.
20. Dawson R. M. C. (1967) *Biochem. J.*, **102**, 205—210.
21. Dawson R. M. C., Hemington N. (1967) *Biochem. J.*, **102**, 76—86.
22. Wickberg B. (1958) *Acta chem. scand.*, **12**, 1187—1201.
23. Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В., Воронкова В. В. (1961) *Докл. АН СССР*, **141**, 34—36.
24. Shaw N. (1968) *Biochim. et biophys. acta*, **164**, 435—436.
25. Brown D. A., Malkin T., Maliphant G. K. (1955) *J. Chem. Soc.*, C, 1584—1588.
26. Stanacev N. Z., Kates M. (1960) *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **38**, 297—300.
27. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y. (1968) *J. Lipid Res.*, **9**, 396.
28. Renkonen O. (1962) *Biochim. et biophys. acta*, **56**, 367—369.

Поступила в редакцию
21.IV.1975

**DETERMINATION OF ABSOLUTE CONFIGURATION
OF GLYCEROPHOSPHOLIPIDS BY CIRCULAR DICHROISM.
ON STEREOSPECIFICITY OF PHOSPHOLIPASE D CATALYZED
TRANSESTERIFICATION**

BATRAKOV S. G., PANOSYAN A. G., KOGAN G. A., BERGELSON L. D.

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

The circular dichroism spectra of natural glycerophospholipids and synthetic 1-*sn*-phosphatidic acid were recorded. 3-*sn*-Phosphatidic acid derivatives were found to show a positive Cotton effect, while 1-*sn*-phosphatidic acid revealed a negative Cotton effect. The results are interpreted in terms of the carboxyl sector rule. By this method phospholipase D was shown to produce stereospecifically 3-*sn*-phosphatidyl-1'-*sn*-glycerol when incubated with egg yolk lecithin and excess of glycerol.