



УДК 547.953.04:546.11.3

## ПОЛУЧЕНИЕ ЛИПИДОВ, МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ, ГЕТЕРОГЕННЫМ КАТАЛИТИЧЕСКИМ ИЗОТОПНЫМ ОБМЕНОМ С ГАЗООБРАЗНЫМ ТРИТИЕМ В РАСТВОРЕ

## 3. ПОЛУЧЕНИЕ МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ ФОСФОЛИПИДОВ \*

*Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф.,**Институт молекулярной генетики Академии наук СССР, Москва**Волгин Ю. В., Бергельсон Л. Д.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

Метод введения трития, основанный на каталитическом изотопном обмене с газообразным тритием в растворе, позволил получить с удовлетворительным выходом меченых фосфолипидов с высокой удельной активностью. Изучен изотопный обмен различных фосфолипидов с газообразным тритием в растворе в присутствии растворимого  $(\text{Ph}_3\text{P})_3\text{RhCl}$  и гетерогенных  $(\text{Pd}/\text{BaSO}_4)$  катализаторов. Показана возможность введения трития в молекулы фосфатидилхолина, лизофосфатидилхолина, сфингомиелина, фосфатидилинозита и дифосфоинозитида с уд. акт. 14,6; 3,9; 5,88; 13,56- и 10,53 Ки/ммоль соответственно. Осуществлена препаративная очистка полученных меченых фосфолипидов. Показано, что основное количество тритиевой метки содержится в жирнокислотной части этих соединений.

В предыдущей работе [1] сообщалось о введении трития в метиловые эфиры жирных кислот. Целью настоящей работы является введение тритиевой метки в фосфолипиды, а именно в фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин, сфингомиелин, фосфатидилинозит и дифосфоинозитид. В биологических мембранах каждый класс фосфолипидов представлен в виде сложной смеси насыщенных и ненасыщенных компонентов. Подобные смеси могут быть успешно применены для исследования многих биологических проблем. В связи с этим нет необходимости получать индивидуальные (насыщенные или ненасыщенные) фосфолипиды. Поэтому наряду с катализатором Линдлара [2] нами исследована применимость катализаторов, гидрирующих двойные связи: 5%  $\text{Pd}/\text{BaSO}_4$  и  $(\text{Ph}_3\text{P})_3\text{RhCl}$ . Гомогенные катализаторы типа  $(\text{Ph}_3\text{P})_3\text{RhCl}$  широко не используются в реакциях изотопного обмена с участием газообразного трития. Однако применение таких катализаторов для введения тритиевой метки в фосфолипиды перспективно, так как они обладают рядом особенностей. Во-первых, катализатор  $(\text{Ph}_3\text{P})_3\text{RhCl}$  растворим во многих растворителях, в которых растворимы и фосфолипиды [3-5]. Во-вторых, гидрирование двойных связей в присутствии этого катализатора зависит от числа и природы заместителей

\* Сообщение 2 см. [1]. Использованные сокращения: ФХ - фосфатидилхолин; ФИ - фосфатидилинозит; SteOH - стеариновая кислота.

Таблица 1

Гидрирование и изотопный обмен на палладиевых и рутениевых катализаторах  
в различных растворителях

Катализатор	Растворитель	Процесс гидрирования		Реакция изотопного обмена	
		соединение	степень гидрирования, %	соединение	удельная активность, мкКи/ммоль
5% Pd/BaSO <sub>4</sub>	Диоксан	Яичный ФХ	57	SteOMe	1260
	Метанол		100	Дипальмитоил-ФХ	1172
	Хлороформ – этил – ацетат, 1 : 1	»	28	»	434
	Хлороформ – метанол, 2 : 1	Дрожжевой ФИ	77	–	–
		Яичный ФХ	100	Дипальмитоил-ФХ	1612
	Хлороформ	Дрожжевой ФИ	100	–	–
		Яичный ФХ	87	Дипальмитоил-ФХ	1477
Дрожжевой ФИ	91	–	–		
5% Pd/BaSO <sub>4</sub> (катализатор Линдлара)	Диоксан	Яичный ФХ	7	SteOMe	1050
	Метанол		15	Дипальмитоил-ФХ	70
	Хлороформ – этил – ацетат, 1 : 1	»	7	»	40
	Хлороформ – метанол, 2 : 1	Дрожжевой ФИ	0	–	–
		Яичный ФХ	11	Дипальмитоил-ФХ	27
	Хлороформ	Дрожжевой ФИ	0	–	–
		Яичный ФХ	1	Дипальмитоил-ФХ	55
Дрожжевой ФИ	0	–	–		
(Ph <sub>3</sub> P) <sub>3</sub> RhCl	Диоксан	Яичный ФХ	83	SteOMe	480
	Метанол		83	Дипальмитоил-ФХ	156
	Хлороформ – этил – ацетат, 1 : 1	»	68	»	218
	Хлороформ – метанол, 2 : 1	Дрожжевой ФИ	47	–	–
		Яичный ФХ	75	Дипальмитоил-ФХ	104
	Хлороформ	Дрожжевой ФИ	70	–	–
		Яичный ФХ	15	Дипальмитоил-ФХ	199
Дрожжевой ФИ	47	–	–		

Таблица 2

Зависимость изотопного обмена от времени реакции между 0,1%  
газообразным тритием и дипальмитоилфосфатидилхолояном  
Приведена удельная активность продукта, мкКи/ммоль

Катализатор	Растворитель	Время обмена, мин						
		15	30	45	60	99	150	180
5% Pd/BaSO <sub>4</sub>	Хлороформ	385	820	943	1075	1313	1617	1761
5% Pd/BaSO <sub>4</sub>	Хлороформ – метанол, 2 : 1	657	996	1122	1462	1566	1953	2010
5% Pd/BaSO <sub>4</sub>	Метанол	220	561	600	688	708	1351	1423
5% Pd/BaSO <sub>4</sub> (катализатор Линдлара)	Хлороформ	17	31	38	40	50	60	70
То же	Метанол	25	31	38	40	65	75	80
(Ph <sub>3</sub> P) <sub>3</sub> RhCl	Хлороформ	58	84	114	119	156	214	220

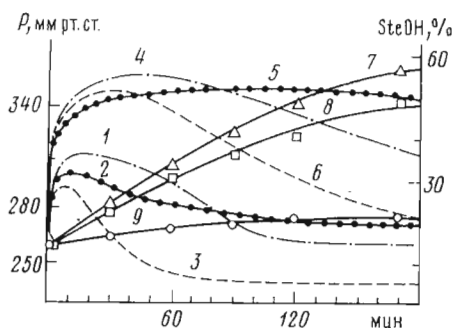


Рис. 1. Кинетика восстановления двойных связей в природном фосфатидилхолине водородом и тритием. Диаграммы изменения давления в реакционной ампуле при восстановлении водородом (1-3) и тритием (4-6), а также изменение содержания стеариновой кислоты при восстановлении водородом (7-9). Катализаторы: Pd/BaSO<sub>4</sub> (1, 4, 8), Pd/BaSO<sub>4</sub> (Линдлара) (2, 5, 9), (Ph<sub>3</sub>P)<sub>3</sub>RhCl (3, 6, 7)

телей [6-8]. В-третьих, отмечено [9], что при использовании гомогенных катализаторов дейтерий специфично присоединяется к двойным связям, в то время как применение гетерогенных катализаторов приводит к неспецифическому введению метки. Таким образом, главным преимуществом гомогенных катализаторов является их большая специфичность по отношению к двойным связям гидрируемых соединений, хотя в ряде случаев они и вещества, образующиеся при их разрушении, могут затруднять выделение фосфолипидов.

Следует отметить, что при введении метки в фосфолипиды возникают специфические проблемы, связанные с их ограниченной растворимостью, склонностью к образованию мицеллярных структур, лабильностью и трудностями очистки. Кроме того, при каталитическом обмене метка может включаться не только в молекулы липидов, но и в воду, которая настолько прочно связана с некоторыми фосфолипидами, что удалить ее отгонкой не удается.

Способность различных катализаторов восстанавливать двойные связи фосфолипидов исследовали на примере природных фосфатидилхолина и фосфатидилинозита, а реакцию изотопного обмена изучали, используя синтетический дипальмитоилфосфатидилхолин и метилстеарат (табл. 1). Кроме того, в настоящей работе получены некоторые кинетические данные о гидрировании и тритировании яичного фосфатидилхолина (рис. 1) и об изотопном обмене между 0,1% тритием и дипальмитоилфосфатидилхолином в различных растворителях (табл. 2).

Исследование гидрирования и включения тритиевой метки в фосфатидилхолин показало, что оба процесса идут параллельно. Исходя из этих данных, время проведения реакции между 100% тритием и фосфолипидами было выбрано равным 3 ч. Как видно из табл. 1, оптимальный изотопный обмен фосфатидилхолина происходит в среде диоксиана. Для фосфолипидов, не растворимых в диоксиане, предпочтительнее использовать хлороформ. В то же время введение тритиевой метки с удовлетворительной степенью изотопного замещения при использовании катализатора Линдлара удалось осуществить лишь в растворах, не содержащих хлороформ.

Данные, полученные при обработке указанных фосфолипидов 100% тритием в присутствии различных катализаторов, представлены в табл. 3 и на рис. 1. Растворители для проведения изотопного обмена со 100% тритием подбирались с учетом растворимости каждого фосфолипида и возможной степени восстановления его двойных связей в этих условиях. Поэтому для яичного фосфатидилхолина опыты со 100% тритием проводили в диоксиане с применением всех трех катализаторов: для фосфатидилинозита дрожжей — в хлороформе с использованием Pd/BaSO<sub>4</sub> и (Ph<sub>3</sub>P)<sub>3</sub>RhCl, для синтетического 1-пальмитоил-2-олеоил-дифосфоинозитида — в системе хлороформ — метанол (2 : 1) и хлороформ — метанол — вода (5 : 5 : 1) с использованием Pd/BaSO<sub>4</sub>, для дизофосфатидилхолина — в метаноле с применением Pd/BaSO<sub>4</sub>, для сфингомиелина мозга — в этилацетате с применением катализатора Линдлара.

Включение радиоактивной метки в фосфолипиды при обработке их 100% газообразным тритием

Соединение	Условия проведения реакции				Исходная радиоактивность, МКК	Радиоактивность после очистки, МКК	Выход, %	Удельная активность, Ки/ммоль
	обозначение	навеска, мг	катализатор	растворитель				
Фосфатидилхолин	<i>A</i>	30	5% Pd/BaSO <sub>4</sub>	Дюоксан	3645	325	67	6,11
»	<i>B</i>	27	5% Pd/BaSO <sub>4</sub> (катализатор Линдлара)	»	147	43	75	0,79
»	<i>B</i>	13	(Ph <sub>3</sub> P) <sub>3</sub> RhCl	»	1724	428	87	14,60
Лизофосфатидилхолин	<i>Г</i>	5	5% Pd/BaSO <sub>4</sub>	Метанол	225	33	48	3,90
Фосфатидилинозит	<i>Д</i>	43	(Ph <sub>3</sub> P) <sub>3</sub> RhCl	Хлороформ	75	51	94	0,91
»	<i>E</i>	43	5% Pd/BaSO <sub>4</sub>	»	824	587	61	13,56
Сфингомиелин	<i>Ж</i>	20	5% Pd/BaSO <sub>4</sub> (катализатор Линдлара)	Этилацетат	378	284	80	5,88
Дифосфоинозитид	<i>З</i>	1	5% Pd/BaSO <sub>4</sub>	Хлороформ – метанол – вода, 5:5:1	14,4	4,8	81	3,58
»	<i>И</i>	1	»	Хлороформ – метанол, 2:1	63,4	15,8	63	10,53

Таблица 4

Распределение тритиевой метки (в %) в основных фрагментах [<sup>3</sup>H]фосфолипидов

Соединение	Условия проведения реакции *	Жирные кислоты	Сфингозные основные	Глицерин	Инозит	Холин
Фосфатидилхолин	<i>A</i>	94	—	6	—	<1
»	<i>B</i>	81	—	19	—	<1
»	<i>B</i>	97	—	3	—	<1
Лизофосфатидилхолин	<i>Г</i>	92	—	6	—	2
Фосфатидилинозит	<i>Д</i>	94	—	4	2	—
»	<i>E</i>	89	—	7	4	—
Сфингомиелин	<i>Ж</i>	64	35	—	—	1
Дифосфоинозитид	<i>З</i>	95	—	4	1	—
»	<i>И</i>	97	—	2	1	—

\* Обозначения см. табл. 3.

Лизофосфатидилхолин, полученный дезацилированием фосфолипазой А<sub>2</sub> яичного фосфатидилхолина, содержит лишь ~5% ненасыщенных жирнокислотных остатков. Поэтому для повышения удельной активности процесс изотопного обмена с тритием проводили в метаноле с использованием в качестве катализатора Pd/BaSO<sub>4</sub>. Напротив, сфингомиелин мозга относится к легкогидрируемым фосфолипидам, и для введения тритиевой метки использовали катализатор Линдлара в среде этилацетата.

Препаративную очистку меченых фосфатидилхолина, лизофосфатидилхолина, сфингомиелина и фосфатидилинозита проводили колоночной хроматографией на силикагеле, а дифосфоинозитида — кристаллизацией из смеси хлороформа с метанолом. Данные о радиоактивности отдельных фракций при хроматографии фосфатидилхолина и фосфатидилинозита при-

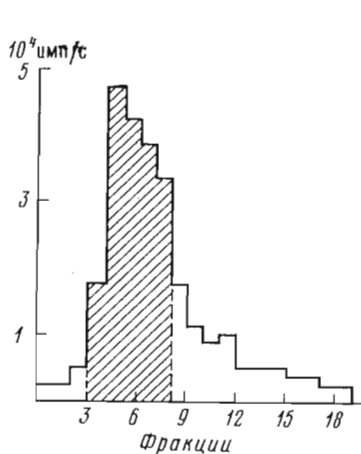


Рис. 2

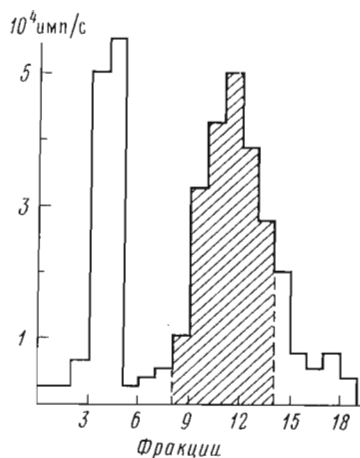


Рис. 3

Рис. 2. Изменение радиоактивности элюата при хроматографировании природного фосфатидилхолина, полученного в присутствии Pd/BaSO<sub>4</sub> (катализатора Линдлара); вымывание системой хлороформ — метанол, 1 : 9

Рис. 3. Изменение радиоактивности элюата при хроматографировании природного фосфатидилинозита, полученного в присутствии (Ph<sub>3</sub>P)<sub>3</sub>RhCl; вымывание абс. этанолом

ведены на рис. 2 и 3. Аналогичные результаты получены при хроматографической очистке остальных фосфолипидов. Хроматографическую гомогенность полученных меченых препаратов проверяли с помощью аналитической тонкослойной хроматографии в различных системах растворителей.

Для оценки распределения трития в молекулах полученных меченых фосфолипидов был проведен их кислотный гидролиз (табл. 4). Содержание трития в жирнокислотной части липидов определяли после экстракции водно-метанольного гидролизата петролейным эфиром. Распределение метки между глицеридом и холином и между глицерином и инозитом определялось после ацетилирования этих соединений и хроматографического разделения полученных ацетатов. Распределение метки между сфингозинновыми основаниями и холином было выяснено после распределения продуктов гидролиза меченого сфингомиелина в системе хлороформ — метанол — 2 н. аммиак (8 : 4 : 3), при этом сфингозинновые основания переходили в хлороформный слой, а холин — в водно-метанольный. Проведенные измерения радиоактивности показали, что основная часть тритиевой метки содержится в жирнокислотной части липидных молекул, а в глицериновый остаток метка включается в большей степени, чем в инозитный или холиновый.

Таким образом, данный метод введения трития позволяет получить меченые фосфолипиды с высокой удельной активностью в мягких условиях и с удовлетворительным выходом.

### Экспериментальная часть

Радиоактивность измеряли на сцинтилляционном счетчике с эффективностью регистрации препаратов ~12% в диоксановом сцинтилляторе [10]. Регистрацию изменения давления в реакционной ампуле проводили с помощью мембранного манометра. Жирнокислотный состав контролировали с помощью газожидкостной хроматографии (хроматограф Varian 2100, 3% SE-30 на Chromosorb W-HP 80-100 меш, температура колонки 170° С, газ-носитель — гелий, скорость 30 мл/мин). Природные фосфолипиды выделены и очищены общепринятыми методами: фосфатидилхолин [11] выделяли из желтков куриных яиц, лизофосфатидилхолин

получили обработкой яичного фосфатидилхолина фосфолипазой  $A_2$  [12], сфингомиелин [13] и фосфатидилинозит [14] выделяли соответственно из мозга крупного рогатого скота и из пекарских дрожжей. Синтетические динальмитоилфосфатидилхолин и 1-пальмитоил-2-олеоил-дифосфоинозитид получены по методу [15] и [16]. Аналитическую ТСХ фосфолипидов проводили в системах хлороформ — метанол — вода (65:25:4) и (65:35:8) на силикагеле КСК (фракция менее 150 меш) с добавкой 5% гипса; пятна обнаруживали концентрированной  $H_2SO_4$ , спиртовым раствором молибдата аммония или реактивом Васьковского [17]. Для ТСХ дифосфоинозиотида в системах хлороформ — метанол — конц. аммиак (9:7:2) и изопропиловый спирт — конц. аммиак (65:35) использовали силикагель без связующего вещества (Woelm, ФРГ). Для колоночной хроматографии был взят силикагель Л (100/160 мк) (ЧССР), соотношение силикагель — вещество 100:1. Содержание фосфора определяли по методу [18].

Реакцию с 0,1% тритием (давление тритий-водородной смеси 250 мм рт. ст., 2 ч) и определение количества метки в метилстеарате и динальмитоилфосфатидилхолине проводили по методу [19] (см. табл. 1). Для изучения скорости включения метки в динальмитоилфосфатидилхолин через определенные промежутки времени из ампулы отбирали по 5 мкл микрошприцем и наносили на пластинку Silufol UV<sub>254</sub> (ЧССР), после тщательного высушивания ее проявляли в системе хлороформ — метанол — вода (65:25:4). Фосфолипид обнаруживали дистиллированной водой (матовые пятна), пластинку вновь тщательно высушивали и зону, содержащую радиоактивное вещество, переносили во флакон, заполненный сцинтилляционной жидкостью и содержащий 10% уксусной кислоты, оставляли на 12 ч и производили измерение радиоактивности (см. табл. 2). Гидрирование (давление водорода 250 мм рт. ст., 2 ч) яичного фосфатидилхолина и дрожжевого фосфатидилинозита (см. табл. 1 и рис. 1) проводили на той же установке, на которой производили обработку вещества 0,1% тритием. После обработки водородом фосфолипиды были гидролизованы по методу [16] и образовавшиеся метиловые эфиры жирных кислот были анализированы методом ГЖХ (см. табл. 1).

Обработку фосфолипидов 100% тритием проводили следующим образом: в реакционную ампулу помещали раствор фосфолипида и катализатора в молярном соотношении металл — вещество 1:1, ампулу замораживали жидким азотом, вакуумировали до давления  $1 \cdot 10^{-3}$  мм рт. ст. и заполняли газообразным тритием до давления 250 мм рт. ст., реакцию проводили 3 ч при 23° С, затем ампулу вновь замораживали и избыточный тритий удаляли. Катализатор отфильтровывали, промывали системой хлороформ — метанол — вода, 5:5:1 (4×10 мл), фильтрат упаривали дважды в этой системе для удаления подвижного трития. Природа катализатора, навеска, растворитель, выход и удельная активность полученных фосфолипидов приведены в табл. 3.

Для очистки меченых фосфолипидов фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин и сфингомиелин наносили на колонку (120×30 мм) с силикагелем и промывали ее системами хлороформ — метанол (90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80), 1,5 объема системы к объему колонки. Затем колонку элюировали системой хлороформ — метанол (10:90), отбирая элюат фракциями по 5 мл (см. рис. 2). Фосфатидилинозит наносили на такую же колонку с силикагелем и промывали ее 30 объемами системы хлороформ — метанол — конц. аммиак (80:20:2), затем элюировали абс. этанолом, отбирая фракции по 5 мл (см. рис. 3). Фракции, содержащие очищенный фосфолипид, объединяли и упаривали. Меченые липиды хранили в растворе хлороформ — метанол (2:1) при 0° С. Дифосфоинозитид очищали кристаллизацией из смеси хлороформ — метанол, для этого его растворяли в минимальном количестве смеси хлороформ — метанол (4:1) и фильтровали, затем прибавляли метанол с таким расчетом, чтобы отношение хлороформ — метанол стало 1:4, оставляли кристалли-

зоваться 2 ч при 0° С. Осадок отфильтровывали и промывали метанолом. В результате в раствор переходило лишь 6% фосфорсодержащих продуктов и  $\frac{2}{3}$  общей радиоактивности, повторная кристаллизация не изменяла удельной активности дифосфоинозита.

Кислотный гидролиз полученных меченых фосфолипидов проводили по методу [20]. В ампулы помещали 0,5–0,7 мг липида, прибавляли по 1 мл смеси метанол – вода – конц. HCl (820 : 94 : 86), ампулы запаивали и выдерживали в течение 24 ч при 80° С. Затем ампулы охлаждали до комнатной температуры и водно-метанольные растворы экстрагировали петролейным эфиром (3×0,5 мл). Аликвоты как петролейной, так и водно-метанольной фракций наносили на пластинку Silufol, хроматографировали в системе бензол – этилацетат, 5 : 1 (в качестве стандарта использовали метилолеат), и снимали профиль радиоактивности хроматограмм. Таким образом было определено количество тритиевой метки, включенной в жирнокислотную часть исследуемых липидов (см. табл. 4). Затем водно-метанольные фракции упаривали. В случае сфингомиелина продукты гидролиза распределяли в 3 мл системы хлороформ – метанол – 2 н. аммиак (8 : 4 : 3) и алиquotы хлороформного и водно-метанольного слоев хроматографировали на аналитических пластинках в системе хлороформ – метанол – вода (65 : 25 : 4). Для всех остальных фосфолипидов продукты гидролиза ацетилировали 0,2 мл смеси уксусного ангидрида и пиридина (1 : 1). Через 12 ч избыток уксусного ангидрида разлагали 0,5 мл метанола, реакционную массу упаривали, растворяли в 2 мл этилацетата и промывали 2 н. HCl (2×1 мл), водой (3×1 мл). Этилацетатный слой упаривали, остаток растворяли в 100 мкл смеси хлороформ – метанол (2 : 1). 10 мкл полученного раствора наносили на пластинку Silufol, в ту же точку добавляли нерадиоактивные триацетин и 1,2,3,4,5,6-гекса-О-ацетинозит и хроматографировали в системе хлороформ – эфир (3 : 1). Затем пластинки опрыскивали водой. Зоны, содержащие триацетин и гексаацетат инозита, переносили во флаконы и измеряли радиоактивность как описано выше. Количество тритиевой метки в холине определяли, измеряя радиоактивность холинсодержащих водных фракций. Полученные данные приведены в табл. 4.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф., Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. (1979) Биоорг. химия, 5, 906–911.
2. Lindlar P. (1952) *Helv. chim. acta*, 35, 446–450.
3. Osborn J. A., Wilkinson G. (1967) *Inorg. Syn.*, 10, 67–71.
4. Young J. F., Osborn J. A., Jardine F. H. (1965) *Chem. Commun.*, 131–142.
5. Osborn J. A., Jardine F. H., Young J. F., Wilkinson G. (1966) *J. Chem. Soc. (A)*, 1711–1732.
6. Sims J. J., Honwad V. K., Selman L. H. (1969) *Tetrahedron Lett.*, 87–89.
7. Lincoln F. H., Schneider W. Y., Pike J. E. (1973) *J. Org. Chem.*, 38, 951–956.
8. Brown M., Piszkiwicz L. W. (1967) *J. Org. Chem.*, 32, 2013–2014.
9. Morandi J. R., Jensen H. B. (1969) *J. Org. Chem.*, 34, 1889–1891.
10. Kinard F. E. (1957) *Rev. Sci. Instr.*, 28, 293–295.
11. Dawson R. M. (1963) *Biochem. J.*, 88, 414–423.
12. Moore J. H., Williams D. L. (1964) *Biochim. et biophys. acta*, 84, 41–54.
13. Hanahan D. J. (1961) *Biochem. Prep.*, 8, 121–125.
14. Frevelyan W. E. (1966) *J. Lipid Res.*, 7, 445–450.
15. Gordon D. T., Jensen R. G. (1972) *Lipids*, 7, 261–262.
16. Shevchenko V. P., Tsirenina M. L., Molotkovsky J. G., Bergelson L. D. (1975) *Chem. Phys. Lipids*, 15, 95–104.
17. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. J. (1968) *J. Lipids Res.*, 9, 396.
18. Gerlach E., Deuticke B. (1963) *Biochem. Z.*, 337, 477–479.
19. Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф., Бергельсон Л. Д. (1979) *Биоорг. химия*, 5, 730–734.
20. Gaver R. C., Sweeley C. C. (1965) *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 42, 294–307.

Поступила в редакцию  
30.XI.1979

PREPARATION OF TRITIUM-LABELED LIPIDS BY HETEROGENEOUS  
CATALYTIC EXCHANGE WITH GASEOUS TRITIUM IN SOLUTION.  
3. PREPARATION OF TRITIUM-LABELED PHOSPHOLIPIDS

SHEVCHENKO V. P., MYASOEDOV N. F., VOLGIN Yu. V., BERGELSON L. D.

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

Catalytic exchange between gaseous tritium and phospholipids in solution was shown to afford tritiated phospholipids of high activity and in good yields. The exchange reactions between gaseous tritium and various phospholipids were studied using soluble  $(\text{Ph}_3\text{P})_3\text{RhCl}$  and heterogeneous  $(\text{Pd}/\text{BaSO}_4)$  catalyst. The method described permits to incorporate tritium into phosphatidylcholine (14,6 Ci/mmol), lyso-phosphatidylcholine (3,90 Ci/mmol), sphingomyelin (5,88 Ci/mmol), mono-(13,56 Ci/mmol) and diphosphoinositides (10,56 Ci/mmol). The obtained labeled phospholipids were purified on a preparative scale. The tritium label was shown to be located mainly in the fatty-acid moieties of these compounds.

---