

Рис. 1. Спектр ^1H -ЯМР (а) и двумерный COSY-спектр тейхоевой кислоты (б). Обозначения над пиками показывают номер протона в остатке β -рибофуранозы (R), α -галактопиранозы (G) и рибита (RbO)

резонанса атомов углерода, связанных с двумя атомами кислорода (106,2 и 98,8 м. д.), и четыре, согласно АТР-спектру [3], принадлежали гидроксиметильным группам (62,4; 63,4 м. д.; сигналы незамещенных CH_2OH -групп; 68,1 м. д., уширенный сигнал, характерный для CH_2O -группы, несущей фосфатную группировку [4], и 70,2 м. д., сигнал, характерный для алкилированной гидроксиметильной группы) (рис. 2, табл. 2).

Параметры спектра ¹H-ЯМР тейхоевой кислоты (D₂O, 60° C)

Остаток	δ, м. д.	Видимая мультиплетность	КССВ, Гц	
α-Galp	H-1	5,16	д	$J_{1,2}$ 4,0
	H-2	3,84	дд	$J_{2,3}$ 9,8
	H-3	3,96	дд	$J_{3,4}$ 3,1
	H-4	4,02	уд	$J_{4,5}$ 2
	H-5	4,22	уг	$1/2(J_{5,6a} + J_{5,6b}) = 6,5$
	H-6a, 6b	3,75	д	
β-Ribf	H-1	5,20	ус	$J_{1,2}$ 1,4
	H-2	4,33	дд	$J_{2,3}$ 4,9
	H-3	4,72	ддд	$J_{3,4}$ 6; $J_{3,P}$ 8
	H-4	4,26	ддд	$J_{4,5a}$ 2,8
	H-5a	3,89	дд	$J_{5a,5b}$ 11,0
	H-5b	3,71	дд	$J_{5a,4}$ 5,4
Rbo	H-1a	4,10	м	
	H-1b + H-2	3,9—4,0		
	H-3 *	3,75		
	H-4 **	3,97	м	$J_{4,5a}$ 6,8
	H-5a **	3,90	дд	$J_{5a,5b}$ 10,0
	H-5b **	3,78	дд	$J_{4,5a}$ 2,6

* Отнесение сделано из гетероядерного спектра ¹³C/¹H-COSY.

** Отнесение получено из разностного спектра ЯЭО для протонов.

Таблица 2

Химические сдвиги (δ, м. д.) ¹³C-ЯМР тейхоевой кислоты (D₂O, 60° C)

Остаток	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
α-Galp	98,8	69,6	70,6	70,45	72,35	62,4
β-Ribf	106,2	79,2 *	74,9 *	83,6 *	63,4	
Rbo	70,2	71,5	72,9	72,3 *	68,1 *	

* Уширенный сигнал за счет расщепления на ядрах ³¹P.

ослабление сигнала H-2 собственного остатка и H-2 остатка рибофуранозы; предоблучение аномерного протона β-рибофуранозы приводит к появлению в разностном спектре ЯЭО [9] двух основных сигналов — H-2 этого остатка (дублет дублетов, 4,33 м. д.) и H-4 остатка рибита (мультиплет, 3,97 м. д.), а также минорных по интенсивности пиков H-5a и H-5b рибита (дублеты дублетов, 3,90 и 3,78 м. д. соответственно) (см. табл. 1).

Данные ЯМР-спектроскопического бездеструктивного метода исследования были подтверждены анализом мономерного состава тейхоевой кислоты. В кислотном гидролизате препарата были идентифицированы рибоза и галактоза в эквимолярном отношении и рибитфосфат.

Приведенная выше структура ранее в микроорганизмах не была найдена. Близкий по структуре полимер, содержащий поли(рибофуранозилрибитфосфатную) цепь, но без галактозильных заместителей, обнаружен в капсульном материале грамотрицательной бактерии *Haemophilus influenzae*, тип b [10, 11].

Экспериментальная часть

Штаммы выращивали 16 ч в аэробных условиях на пептонно-дрожжевой среде при 28° С. Биомассу собирали центрифугированием, обрабатывали спиртом и ацетоном и высушивали в потоке воздуха.

Клеточные стенки получены согласно [12]. Выделение тейхоевой кислоты, ее очистка, кислотный гидролиз, идентификация рибитфосфата и моносахаридов описаны в работе [13]. Спектры ¹H-ЯМР сняты на приборе WM-250 (Bruker) с рабочей частотой по протонам 250 МГц при 60° С с ацетоном в качестве внутреннего стандарта (δ 2,225 м. д.). Спектры ¹³C-ЯМР получены на приборе AM-300 (Bruker) с рабочей частотой по углероду 75 МГц с ацетоном в качестве внутреннего стандарта (δ 31,45 м. д.). Для съемки гетероядерного спектра ¹³C/¹H использовали стандартную методику Bruker XHCORRD.

В настоящее время мы продолжаем исследовать структуру полимера химическими методами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zgurskaya H. I., Evtushenko L. I., Akimov V. N., Voyevoda H. V., Lysak L. V., Dobrovolskaya T. G., Kalakoutskii L. V. // Int. J. System. Bact. 1992. V. 42. In press.
2. Zgurskaya H., Gnizozub V., Evtushenko L., Kalakoutskii L. // Intern. Symp. on Biology Actinomycetes. ISBA, USA, 1991, P3—012.
3. Patt S. L., Shoolery J. N. // J. Magn. Reson. 1982. V. 46. № 3. P. 535—538.
4. Шашков А. С., Стрешинская Г. М., Наумова И. Б. // Биоорган. химия. 1979. Т. 5. № 5. С. 782—785.
5. Бенидзе М. М., Джиква О. Д., Пхеидзе Т. А., Кемертелидзе Э. И., Шашков А. С. // Химия природ. соединений. 1987. № 4. С. 537—542.
6. Altona C., Haasnoot C. A. G. // Org. Magn. Reson. 1980. V. 13. № 6. P. 417—429.
7. Angyal S. J. // Carbohydr. Res. 1979. V. 77. P. 37—50.
8. Потехина Н. В., Наумова И. Б., Шашков А. С., Терехова Л. П. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 3. С. 399—404.
9. Янушкене Н. А., Шашков А. С., Наумова И. Б., Стрешинская Г. М. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 12. С. 1634—1640.
10. Crisel R. M., Baker R. S., Dorman D. E. // J. Biol. Chem. 1975. V. 250. № 13. P. 4926—4930.
11. Branefors-Helander P., Erbing C., Kenne L., Lindberg B. // Acta chem. scand. 1976. V. B 30. № 3. P. 276—277.
12. Наумова И. Б., Шашков А. С., Строганова М. П. // Биоорган. химия. 1978. Т. 4. № 11. С. 1529—1537.
13. Потехина Н. В., Наумова И. Б., Шашков А. С., Кузнецов В. Д. // Биохимия. 1992. Т. 57. № 8. С. 1197—1205.

Поступила в редакцию
16.X.1992

A. S. Shashkov, V. A. Malysheva (V. A. Gnilozub)*, I. B. Naumova*,
G. M. Streshinskaya*, L. I. Evtushenko**

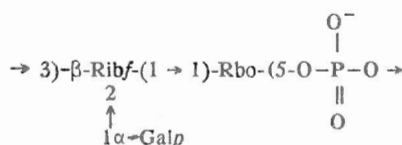
**POLY(RIBOFURANOSYL-RIBITOL PHOSPHATE) IN CELL WALL
OF *Agromyces cerinus* subsp. *nitratu*s VKM Ac-1351**

N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow;

* M. V. Lomonosov Moscow State University, Department of Microbiology;

** Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences,
Pushchino

Cell wall of *Agromyces cerinus* subsp. *nitratu*s contains ribitolteichoic acids, previously unknown in prokaryotic cells. The following structure of the repeating unit of the chain was proposed:



The structure of the polymer was elucidated by NMR spectroscopy and confirmed by chemical analysis.