



УДК 579.8.063:547.915

СФИНГОЛИПИДЫ – ОСНОВНОЙ ТИП ПОЛЯРНЫХ ЛИПИДОВ ПРЕСНОВОДНОЙ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНОЙ БАКТЕРИИ

Arcocella aquatica

© 1998 г. С. Г. Батраков[#], Д. И. Никитин*, А. О. Ружицкий, М. С. Оранская*

Научно-производственный центр “Гидробиос” Министерства здравоохранения РФ, Москва;

* Институт микробиологии РАН, Москва

Поступила в редакцию 27.02.98 г. Принята к печати 12.05.98 г.

Полярные ионные липиды составляют около 92% от суммы экстрагируемых липидов грамотрицательной пресноводной бактерии *Arcocella aquatica* NP-502; их основные компоненты: сфингофосфолипиды – (2*S*,3*R*,4*E*,2'*R*)-2-*N*-(2'-гидроксиацил)-15-метил-4-гексадекасфингенил-1-фосфоэтанолламин (I) (41% от суммы экстрагируемых липидов) и его 2'-дезоксипроизводное (II) (7%), липодипептид – (3*R*)-*N*-(3-ацилокси-15-метилгексадеканоил)глицил-*L*-серин (III) (9%), липоаминокислота – (3*R*)-*N*-(3-ацилокси-15-метилгексадеканоил)глицин (IV) (6%) и кислые сульфоновые аналоги церамида – (2*S*,3*R*,2'*R*)-2-(2'-гидроксиацил)амино-3-гидрокси-15-метилгексадекан-1-сульфоновая кислота (V) (19%) и ее 2'-дезоксипроизводное (VI) (6%). В качестве минорных компонентов присутствуют фосфатидилэтанолламин (2%), свободные жирные кислоты (около 2%) и 2 неидентифицированных бесфосфорных аминлипида (около 2%). Среди *N*-ацильных остатков сфинголипидов (I, II, V и VI) и *O*-ацильных остатков липодипептида (III) и липоаминокислоты (IV) более 95 мол. % составляют остатки насыщенных жирных кислот *изо*-строения с 15 атомами углерода.

Ключевые слова: бактерия грамотрицательная; липодипептид; липоаминокислота; сфингофосфолипиды; сульфоновый аналог церамида.

В предыдущих сообщениях мы описали полярные липиды трех грамотрицательных нефотосинтезирующих водных бактерий: морской почкующейся бактерии *Nyphomonas jannaschiana* VP-2^T [1, 2], пресноводной стебельковой бактерии *Caulobacter bacteroides* NP-105 [3] и морской торoidalной бактерии *Cyclobacterium marinus* WH [4]. Липидный состав названных микроорганизмов весьма необычен. У двух первых бактерий он оказался ярко выраженного “гликолипидного” типа, причем *N. jannaschiana* практически не содержит фосфолипидов, а ее основные полярные липиды – гликозилдиацилглицерины: нейтральный глюкозилдиацилглицерин (глюкозил-DAG) (25% от суммы экстрагируемых липидов), умеренно кислый глюкоуронозилдиацилглицерин (глюкуронозил-DAG) (41%) и сильнокислый тауринамид глюкоуронозил-DAG (32%); в качестве минорных компонентов присутствуют жирнокислотные моно- и ди-

эфиры глюкуроновой кислоты. В *C. bacteroides* [3] гликолипиды составляют более 90% экстрагируемых липидов, их единственный нейтральный компонент идентифицирован как глюкозил-DAG (34%). Остальные гликолипиды – умеренно кислые глюкоуронозил-DAG (17%) и глюкозилглюкуронозил-DAG (28%), а также сильнокислые сульфохиновозил-DAG (9%) и фосфатидилглюкозил-DAG (7%).

Следует подчеркнуть тот факт, что только два из перечисленных липидных компонентов, а именно глюкозил-DAG и сульфохиновозил-DAG, можно считать широко распространенными в природе липидами. Однако сульфохиновозил-DAG (тривиальное название – “растительный сульфолипид”) является специфическим липидом фотосинтезирующих организмов [5]. Глюкуронозил-DAG и особенно глюкозилглюкуронозил-DAG относятся к категории очень редко встречающихся липидов [6], а тауринамид глюкоуронозил-DAG ранее не был известен.

C. marinus не содержит гликолипидов [4]. Полярные липиды этого микроорганизма представлены в основном четырьмя компонентами: двумя глицерофосфолипидами – фосфатидилэтанолламин (29%) и фосфатидилхолином (7%) – и двумя

Сокращения: DAG – *sn*-1,2-диацилглицерин; Dnp – 2,4-динитрофенил; ЖК – жирная кислота; КСАЦ – кислый сульфоновый аналог церамида; 13-MTDA – 13-метилтетрадекановая кислота; МЭ – метиловый эфир; СРЕА – церамид-фосфоэтанолламин.

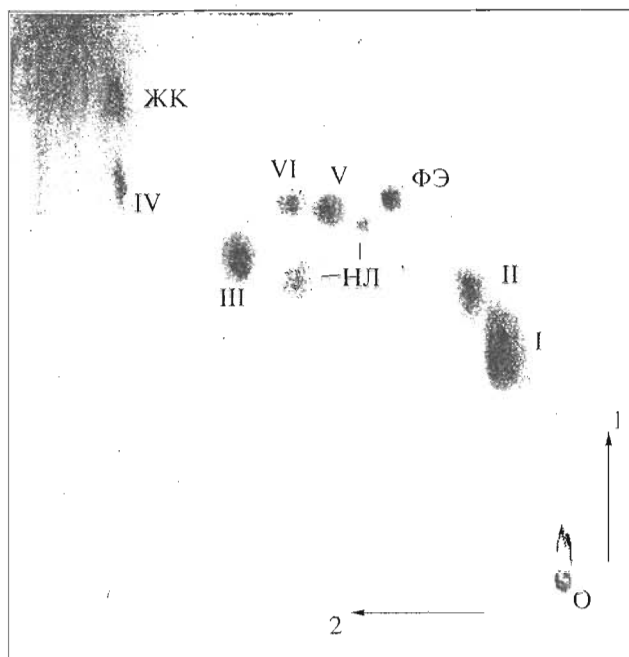
[#] Автор для переписки (тел.: (095) 282-72-84, факс: (095) 286-21-30).

бесфосфорными липидами. Один из последних – ранее неизвестный кислый сульфоновый аналог церамида (КСАЦ) – (2*S*,3*R*,4*E*,2'*R*)-2-(2'-гидрокси-13'-метилтетрадеcanoил)амино-3-гидрокси-15-метилгексадец-4-ен-1-сульфовая кислота является доминирующим липидом клеток (48%). Второй бесфосфорный компонент – липодипептид, (3*R*)-*N*-[3-(13'-метилтетрадеcanoилокси)-15-метилгексадеcanoил]глицил-*L*-серин (11%). Хотя состав полярных липидов *S. marinus* имеет очень мало общего с таковыми двух других исследованных нами водных бактерий, тем не менее легко заметить некоторые общие черты, характеризующие полярные липиды всех трех микроорганизмов, а именно наличие нейтрального компонента, слабокислых липидов, чья кислотность обусловлена свободной карбоксильной группой, и сильнокислых липидов – фосфолипидов, а главным образом сульфолипидов. Следует заметить, что сульфолипиды, за исключением сульфоинозитил-DAG, относятся к числу крайне мало исследованных классов природных липидов.

В настоящем сообщении представлены результаты изучения полярных липидов пресноводной грамотрицательной строго аэробной хемоорганотрофной бактерии *Arcocella aquatica* NP-502 [7]. Липидный состав этого микроорганизма также весьма необычен и, как мы полагаем, заслуживает внимания.

Липиды *A. aquatica*, экстрагируемые смесями $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, составляют $8.3 \pm 0.4\%$ от массы лиофильно высушенных клеток. На долю полярных липидов приходится не менее 92% суммарных липидов. Анализ последних при помощи ТСХ показал, что среди них явно преобладают 6 компонентов (I)–(VI), см. рисунок, два из которых, (I) и (II), окрашиваются на хроматограммах реагентом на фосфолипиды и нингидрином. В мягких условиях щелочного метанолиза (0.5 М MeONa в MeOH, 20°C, 2 ч) 4 липида (I, II, V и VI) оставались без изменения. Для однозначной характеристики химической структуры основных липидов каждый из них был выделен в индивидуальном состоянии. По аналогии с ранее опубликованными работами [1–4, 8] общую смесь экстрагированных липидов предварительно фракционировали на колонке с DEAE-целлюлозой, в результате чего получили 4 фракции (А, Б, В и Г; табл. 1), содержащие полярные липиды, которые далее разделяли при помощи хроматографии на колонках с силикагелем.

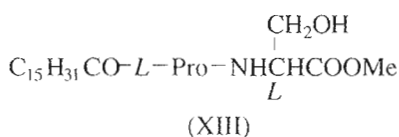
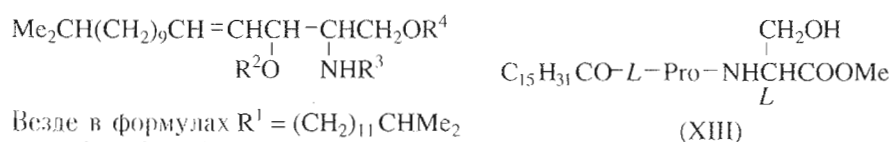
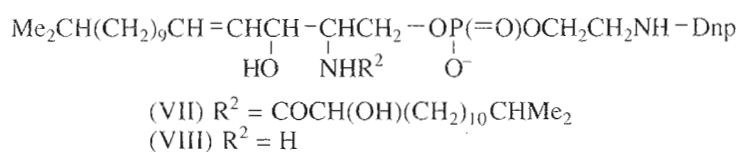
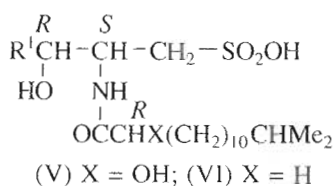
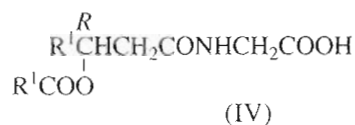
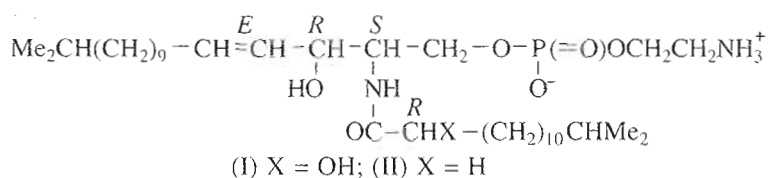
Фракция А, судя по данным ТСХ, состояла из трех нингидринположительных фосфолипидов – (I), (II) и минорного компонента. Последний идентифицирован как фосфатидилэтанолламин (2% суммы липидов) теми же методами, которые ис-



Двухмерная ТСХ суммы липидов, экстрагированных из клеток *Arcocella aquatica* NP-502. Пластика (10 × 10 см) с закрепленным слоем силикагеля 60 (Merck); системы растворителей: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{вода}$, 60 : 30 : 5, в направлении 1; $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{вода}/\text{AcOH}$, 80 : 20 : 2 : 5, в направлении 2; обнаружение 10% раствором фосфоромолибденовой кислоты в 95% этаноле (110°C). I и II – сфингофосфолипиды – (2*S*,3*R*,4*E*,2'*R*)-2-*N*-(2'-гидроксиацил)-15-метил-4-гексадексафингенил-1-фосфоэтанолламин и его 2'-дезоксипроизводное соответственно; III – липодипептид – (3*R*)-*N*-(3-ацилокси-15-метилгексадеcanoил)глицил-*L*-серин; IV – липоаминокислота – (3*R*)-*N*-(3-ацилокси-15-метилгексадеcanoил)глицин; V и VI – кислые сульфоновые аналоги церамида – (2*S*,3*R*,2'*R*)-2-(2'-гидроксиацил)амино-3-гидрокси-15-метилгексадекан-1-сульфовая кислота и ее 2'-дезоксипроизводное соответственно; ФЭ – фосфатидилэтанолламин; ЖК – свободные жирные кислоты; НЛ – неидентифицированные липиды.

пользовались нами ранее для структурной характеристики различных бактериальных глицерофосфолипидов [8].

Доминирующим компонентом фракции А, а также основным экстрагируемым липидом (41%) был аминокислотный фосфолипид (I). В коротковолновой области его ИК-спектра присутствовала серия перекрывающихся полос с максимумами при 3355, 3295, 3118, 2538 и 2085 cm^{-1} , обусловленных колебаниями связей N–H амидной и аммониевой групп, а также связи N–O спиртовых гидроксильных групп. В области более длинных волн наблюдались сильные полосы при 1648 и 1522 cm^{-1} (амид I и II), 1216, 1066 и 1012 cm^{-1} (P=O, P–O⁻ и P–O–C), 962 cm^{-1} (*trans*-CH=CH).



Кислотный метанолиз *N*-Dnp-производного (VII) этого липида в жестких условиях привел к образованию четырех продуктов. Наименее полярная фракция метанолизата состояла более чем на 96% из МЭ 2-гидрокси-13-метилтетрадекановой кислоты (МЭ 2-гидрокси-13-MTDA) и включала также около 3% МЭ 2-гидроксигексадекановой кислоты. Второй продукт представлял собой *N*-дезацильное производное (VIII), поскольку его *N*-ацилирование 4-нитрофениловым эфиром 2-гидрокси-13-MTDA привело к исходному Dnp-аминофосфолипиду (VII). Третий продукт деградации – липофильное аминосоединение (IX), которое при ТСХ практически не отличалось по подвижности от 4-сфингенина; *N*-Dnp-производные этих веществ и их пер-*O*-ацетаты также проявляли одинаковую подвижность. В масс-спектре производного (X) этого продукта метанолиза основными ионами были [M]⁺ с *m/z* 535 (100%), [M – AcOH]⁺ с *m/z* 475 (91%), [M – AcOH – AcO]⁺ с *m/z* 416 (39%). В спектре соответствующего тридегтероацетата перечисленные ионы имели *m/z* 541, 478 и 416 соответственно, откуда следует, что мо-

лекула основного гомолога рассматриваемого продукта деградации содержит 17 атомов углерода в цепи, а также имеет две гидроксильные группы и одну аминогруппу. В результате гидрирования и последующего перманганат-периодатного окисления аминодиола (IX) получена 13-MTDA, содержащая примесь *n*-гексадекановой кислоты (менее 2%). На основании вышеизложенного главный компонент обсуждаемой фракции метанолизата охарактеризован как 2-амино-15-метилгексадец-4-ендиол-1,3 (IX). Наконец, четвертый, водорастворимый, продукт деградации содержал Dnp-группу и фосфатный остаток и не отличался по подвижности при ТСХ от заведомого образца 2-Dnp-аминоэтилфосфата.

Вышеописанные результаты предварительного изучения строения основного полярного липида *A. aquatica* позволили предположить, что он представляет собой церамидфосфоэтаноламин (CPEA) (I). Эта структура была окончательно доказана при помощи масс-спектрометрии и спектроскопии ¹H-ЯМР. В масс-спектре липида (I) присутствуют интенсивный пик иона [M + Na]⁺ с *m/z*

Таблица 1. Фракционирование суммы липидов, экстрагированных из клеток *Arcocella aquatica* NP-502, на колонке с DEAE-целлюлозой*

Номер фракции	Элюент	Объем элюента, мл	Фракции полярных липидов	Масса фракции, мг	Состав липидов
1	CHCl ₃ /MeOH, 9 : 1	350	–	14	Малополярные неионные липиды
2	CHCl ₃ /MeOH, 7 : 3	600	А	96	Фосфатидилэтаноламин, СРЕА (I), (II)
3	MeOH	300	Б	7	2 неидентифицированных липида
4	CHCl ₃ /AcOH, 4 : 1	400	В	32	Липодипептид (III), липоаминокислота (IV), свободные ЖК
5	MeOH	300	–	6	Липиды не обнаружены
6	CHCl ₃ /MeOH/25% NH ₄ OH, 10 : 5 : 1	400	Г	41	КСАЦ (V, VI)

* Использовалась колонка с DEAE-целлюлозой в ацетатной форме (столб сорбента – 18 × 250 мм), приготовленная по обычной методике [34]; хроматографировали 207 мг суммы липидов, освобожденных от основной массы нелипидных примесей.

671 (94%) и менее интенсивный пик молекулярного иона с m/z 648 (11%), максимальный пик отвечает фрагменту $[M - RCONH_2 + Na]^+$ с m/z 414 (RCO – остаток 2-гидрокси-13-МТДА); кроме того, имеются пики ионов $[M - H_2O - ^-O(HO)P(O)OCH_2CH_2NH_2]^+$ с m/z 490 (19%), $[M - RCONH_2]^+$ с m/z 391 (43%), $[M - RCONH_2 - H_2O]^+$ с m/z 373 (10%), $[M - RCONH_2 - ^-O(HO)P(O)OCH_2CH_2NH_2]^+$ с m/z 251 (37%). Приведенные данные, во-первых, подтверждают предложенную структуру СРЕА (I), а во-вторых, говорят о том, что этот липид довольно однороден в отношении гомологического состава, так как пики гомологов перечисленных выше ионов либо не наблюдаются в масс-спектре, либо имеют крайне незначительную интенсивность.

В спектре ¹H-ЯМР липида (I) протонам С-метильных групп отвечает 12-протонный дублет при δ 0.83 м. д. (J 6.8 Гц), откуда следует, что углеводородные цепи керамидного фрагмента молекулы основного молекулярного вида СРЕА (I) оканчиваются изопропильными остатками. Однако в спектре присутствует также триплетный сигнал при δ 0.86 м. д. (J 6.9 Гц) от протонов метильной группы, связанной с метиленовой группой. Очевидно, он относится к минорным молекулярным видам, содержащим остатки *n*-гексадекановой кислоты и/или 4-сфингенина (см. выше). Площадь под этим триплетом не превышает 5% от площади под вышеуказанным дублетным сигналом. Константа спин-спинового взаимодействия винильных протонов при С4 и С5 (двойной дублет при δ 5.41 м. д. и двойной триплет при δ 5.69 м. д. соответственно), равная 15.4 Гц, доказывает *транс*-конфигурацию двойной связи (ср. выше ИК-спектр липида). Наконец, величина кон-

станты взаимодействия протонов при С2 и С3 сфингенинового остатка (мультиплет с центром при δ 3.92 м. д. и триплет при δ 4.06 м. д. соответственно), $J_{3,2}$ 8.0 Гц, определенно свидетельствует об относительной *эритро*-конфигурации указанных асимметрических центров (ср. данные работ [4, 9, 10]).

Что касается абсолютной конфигурации центров С2 и С3, то вопрос решался следующим путем (ср. [4]): аминодиол (IX) подвергали *N*-ацилированию *N*-гексадеканойл-*L*-пролином, полученный аддукт (XI) превращали в тритильное производное (XII), которое окисляли перманганат-периодатной смесью, а продукты окисления этерифицировали смесью MeOH и 2,2-диметоксипропана в присутствии HCl. В результате были получены два основных продукта: метиловые эфиры ЖК и *N*-гексадеканойл-*L*-пролил-*L*-серина (XIII). Остаток серина в этом соединении отнесен к *L*-ряду на том основании, что МЭ (XIII) при ТСХ мигрировал совместно с синтетическим МЭ *N*-гексадеканойл-*L*-пролил-*L*-серина (см. [4]), но явно отличался по подвижности от диастереомера, содержащего остаток *D*-серина. Следовательно, асимметрический атом С2 сфингенинового остатка СРЕА (I) имеет *S(D)*-конфигурацию, а поскольку для С2 и С3 установлена относительная *эритро*-конфигурация, абсолютная конфигурация С3 должна быть *R(D)*. Абсолютная конфигурация асимметрического центра С2' 2-гидроксиацильного остатка определена как *R(D)* по методике, описанной в нашем предыдущем сообщении [4] (см. также “Экспериментальную часть”).

Таким образом, доминирующий молекулярный вид липида имеет строение (2*S*, 3*R*, 4*E*, 2'*R*)-2-

N-(2'-гидрокси-13'-метилтетрадеcanoил)-15-метил-4-гексадекасфингенил-1-фосфоэтанолamina (I).

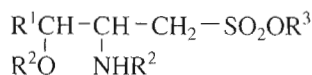
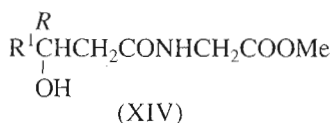
Структура третьего компонента фракции А – аминофосфолипида (II) – была установлена теми же методами. Найдено, что он отличается от СРЕА (I) только тем, что содержит негидроксилированный амидосвязанный жирнокислотный остаток. Приведем лишь принципиально важные результаты анализа. При кислотном метанолизе *N*-Dnp-производного липида (II, липид) в жестких условиях получены МЭ негидроксилированных ЖК, 96% которых приходилось на долю МЭ 13-МТДА, Dnp-производное (VIII), (4*E*)-15-метилгексадекасфингенин (IX) и 2-Dnp-аминоэтилфосфат. В масс-спектре липида наиболее интенсивные пики принадлежали ионам $[M + Na]^+$ с m/z 655 (100%), $[M]^+$ с m/z 632 (17%), $[M - RCONH_2 + Na]^+$ с m/z 414 (96%) ($R = C_{14}H_{29}$), $[M - H_2O - ^-O(HO)P(O)OCH_2CH_2NH_2]^+$ с m/z 474 (27%), $[M - RCONH_2]^+$ с m/z 391 (55%), $[M - RCONH_2 - H_2O]^+$ с m/z 373 (14%) и $[M - RCONH_2 - ^-O(HO)P(O)OCH_2CH_2NH_2]^+$ с m/z 251 (50%). При сравнении этих данных с представленными выше аналогичными данными для СРЕА (I) можно заметить, что осколочные ионы, не содержащие жирнокислотного остатка, в обоих масс-спектрах имеют одинаковые массовые числа. Таким образом, основной молекулярный вид липида (не менее 94% липидной фракции) представляет собой (2*S*, 3*R*, 4*E*)-2-*N*-(13'-метилтетрадеcanoил)-4-гексадекасфингенил-1-фосфоэтанолamin (II).

Фракция Б (табл. 1) составляла около 2% от суммы экстрагированных липидов и содержала два бесфосфорных нингидринположительных липида, которые в настоящей работе не изучались.

Фракция В элюирована смесью $CHCl_3/AcOH$, поэтому ее компоненты должны обладать слабой кислотностью. Судя по результатам ТСХ, фракция состояла из трех субфракций: наиболее

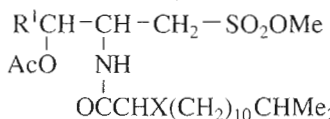
подвижная из них идентифицирована как смесь свободных ЖК (около 2% от суммы липидов), состоящая в основном из 13-МТДА (67%), *n*-гексадекановой (17%), 15-метилгексадекановой (9%) и гексадеценной (5%) кислот. Наиболее полярный компонент фракции (9% суммы липидов) мигрировал при ТСХ совместно с липодипептидом – (3*R*)-*N*-[3-(13'-метилтетрадеcanoилокси)-15-метилгексадеканой]глицерил-*L*-серин (III), выделенным из *S. marinus* WH (см. выше). ИК-спектры этих липидов совпадали практически полностью, а некоторые различия в масс-спектрах и спектрах ¹H-ЯМР обусловлены присутствием в липодипептидной субфракции из *A. aquatica* минорных молекулярных видов (менее 5% в сумме), содержащих эфирносвязанную *n*-гексадекановую кислоту и, вероятно, кислоту *изо*-17:0. Заметим, что для асимметрических центров 3-гидрокси-15-метилгексадеканойного и серинового остатков молекул липодипептида, описанного в настоящей работе, установлена, так же как и ранее [4], абсолютная *R*(*D*)- и *S*(*L*)-конфигурация соответственно, т.е. главный молекулярный вид обсуждаемого липодипептида имеет структуру (III).

ИК-спектр третьего компонента (IV) (6% суммы липидов) фракции В содержал полосы колебаний связей N–H амидной группы (узкая полоса с максимумом при 3350 cm^{-1}), N–O карбоксильной группы (2565, 2445 cm^{-1}), C=O карбоксила и сложного эфира (1724 cm^{-1}), C–O карбоксильной (1230 cm^{-1}) и сложноэфирной (1162, 1127 cm^{-1}) групп, амидные полосы I и II (1621 и 1542 cm^{-1}). После превращения липида в натриевую соль полосы при 2565, 2445 и 1230 cm^{-1} не наблюдались, но появлялись сильные полосы ионизированной карбоксильной группы при 1594 и 1387 cm^{-1} . Таким образом, кислотные свойства липида (IV) связаны с наличием в его молекулах свободного карбоксила.



(XV) $R^2 = R^3 = H$;

(XVI) $R^2 = Ac, R^3 = Me$



(XVII) $X = OAc$

(XVIII) $X = H$

При продолжительном кислотном метанолизе липида (1.5 М НСl в MeOH, 22–24°C, 120 ч) в качестве главных продуктов деградации получены МЭ ЖК (из них 97% составлял МЭ 13-МТДА) и липофильное соединение, которое охарактеризовано как МЭ (3R)-N-(3-гидрокси-15-метилгексадеканойл)глицина (XIV) на основании нижеследующих данных. В указанных условиях метанолиза этот продукт (XIV) медленно распадался на МЭ глицина и МЭ (3R)-3-гидрокси-15-метилгексадекановой кислоты; эти же соединения были минорными компонентами метанолизата интактно-го липида. В масс-спектре ацилглицина (XIV) наиболее интенсивные пики принадлежали ионам $[M]^+$ с m/z 357 (100%) и $[M - H_2O]^+$ с m/z 339 (45%). В масс-спектре соответствующего тридейтеро-метилового эфира оба пика смещались на 3 а.е.м. в область больших массовых чисел. Следовательно, основной молекулярный вид рассматриваемого липида из фракции В представляет собой (3R)-N-[3-(13'-метилтетрадеканойлокси)-15-метилгексадеканойл]глицин (IV).

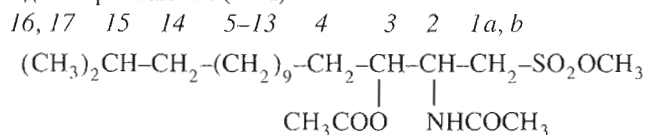
Фракция Г (табл. 1) элюирована с колонки смесь растворителей, содержащей аммиак, а следовательно, должна содержать соединения с сильнокислыми свойствами. Фракция состояла из двух компонентов. Более полярный из них практически не отличался по подвижности при ТСХ от КСАЦ, выделенного нами ранее из *S. marinus* WH [4] (см. выше). Однако ИК-спектры этих липидов несколько различались. Наиболее существенное различие заключалось в отсутствии полосы внеплоскостных деформационных колебаний транс-двойной связи (около 960 cm^{-1}) в спектре липида из *A. aquatica*. В то же время ИК-спектр последнего удовлетворительно совпадал с таковым продукта гидрирования КСАЦ из *S. marinus* и содержал, в частности, амидные полосы I и II (1638 и 1540 cm^{-1}), а также серию полос кислой сульфоновой группировки (1208, 1156, 1040 cm^{-1}). Приведенные результаты предварительного анализа позволили предположить, что менее подвижный при ТСХ компонент фракции Г представляет собой насыщенный аналог (V) выделенного ранее сульфолипида. Это предположение подтверждено описываемыми ниже данными.

Кислотный метанолиз липида (V) (MeOH/11 М соляная кислота, 6 : 1, 70°C, 16 ч) привел к образованию двух продуктов. Один из них, малополярный, идентифицирован как МЭ (2R)-2-гидрокси-13-МТДА, содержащий примесь (около 3%) МЭ 2-гидроксигексадекановой кислоты. Второй продукт (XV), образовавшийся в результате деацилирования липида, при ацилировании и последующем метилировании диазометаном дал производное (XVI), в ИК-спектре которого присутствовали полосы связи N–H амидной группы (сильная полоса при 3295 cm^{-1} и слабая при 3040 cm^{-1}),

сложноэфирного карбонила (1728 cm^{-1}), связи C–O ацетата (1224 cm^{-1}), амидные полосы I и II (1652 и 1532 cm^{-1}) и серия полос сульфонатной группировки (1358, 1152, 972, 811 cm^{-1}). В масс-спектре наиболее интенсивные пики принадлежали ионам $[M]^+$ с m/z 449 (100%), $[M - AcOH]^+$ с m/z 389 (55%), $[M - AcOH - CH_2CO]^+$ с m/z 347 (31%), $[M - Ac - ^-CH_2SO_2OMe]^+$ с m/z 297 (18%), $[M - Ac - ^-CH_2SO_2OMe - CH_2CO]^+$ с m/z 255 (27%). Гомологи перечисленных ионов в спектре не наблюдались, что свидетельствует о гомологической индивидуальности рассматриваемого фрагмента молекулы КСАЦ (V). Дополнительное подтверждение и уточнение деталей строения этого же фрагмента получены из спектра ¹H-ЯМР производного (XVI), данные которого суммированы в табл. 2 и, по-видимому, не требуют детального рассмотрения. Следует подчеркнуть лишь тот факт, что константа спин-спинового взаимодействия протонов при C2 и C3, равная 5.6 Гц, однозначно указывает на относительную эритро-конфигурацию этих асимметрических центров. Что же касается их абсолютной конфигурации, то едва ли она отличается от абсолютной конфигурации соответствующих атомов (2S,3R) ненасыщенного аналога КСАЦ из *S. marinus* [4].

Исходя из вышеописанных результатов анализа основному молекулярному виду более полярного компонента фракции Г приписано строение (2S, 3R, 2'R)-2-(2'-гидрокси-13'-метилтетрадеканойл)амино-3-гидрокси-15-метилгексадекан-1-сульфоновой кислоты (V). Эта структура находится в полном соответствии с данными масс-спектра перацетильного производного МЭ липида (XVII). Основные пики в спектре отвечают ионам $[M]^+$ с m/z 689 (100%), $[M - AcOH]^+$ с m/z 629 (64%), $[M - RCONH_2]^+$ с m/z 390 (20%), $[M - RCONH_2 - CH_2CO]^+$ с m/z 348 (22%) (RCO = 2-ацетокси-13-метилтетрадеканойл); в масс-спектре соответствующего тридейтероацетата перечисленные пики смещены в область больших массовых чисел на 6, 3, 3 и 1 а. е. м. соответственно.

ИК-спектр более подвижного при ТСХ компонента фракции Г (7% суммы липидов) не отличался принципиально от ИК-спектра КСАЦ (V). В указанных выше условиях жесткого кислотного метанолиза этот компонент так же, как и КСАЦ (V), дал два липофильных продукта деградации, один из которых оказался полностью идентичным гидроксиаминосульфоновой кислоте (XV), а другой, малополярный продукт, идентифицирован как МЭ 13-МТДА. На этом основании рассматриваемому липиду приписано строение (2S, 3R)-2-(13'-метилтетрадеканойл)амино-3-гидрокси-15-метилгексадекан-1-сульфоновой кислоты (VI), которое подтверждено масс-спектром МЭ ацетата липида (XVIII). Основные пики в масс-спектре отвечали ионам $[M]^+$ с m/z 631 (100%), $[M - AcOH]^+$ с m/z 571 (71%), $[M -$

Таблица 2. Данные спектра ^1H -ЯМР перацетильного производного МЭ кислого сульфонового аналога 15-метилгексадекасфинганина (XVI)

δ , м.д.	Число протонов	Структура сигнала (J , Гц)	Положение протонов
0.84	6	д ($J_{16, 15} = J_{17, 15} = 6.8$)	16, 17
1.13	2	к ($J_{14, 13} = J_{14, 15} = 6.8$)	14
1.22		м	5-13
1.48	1	9 линий ($J_{15, 16} = J_{15, 17} = J_{15, 14} = 6.8$)	15
1.54	2	м	4
1.99	3	с	NCOCH_3
2.08	3	с	OCOCH_3
3.31	1	дд ($J_{1a, 1b} = 15.2; J_{1a, 2} = 4.0$)	1a
3.41	1	дд ($J_{1b, 1a} = 15.2; J_{1b, 2} = 8.4$)	1b
3.88	3	с	SOCH_3
4.51	1	ддт ($J_{2, 1a} = 4.0; J_{2, 1b} = J_{\text{NH}} = 8.4; J_{2, 3} = 5.6$)	2
5.05	1	дт ($J_{3, 2} = 5.6; J_{3, 4} = 7.2$)	3
5.98	1	д ($J_{\text{NH}, 2} = 8.4$)	NH

$\text{C}_{14}\text{H}_{29}\text{CONH}_2]^+$ с m/z 390 (37%) и $[\text{M} - \text{C}_{14}\text{H}_{29}\text{CONH}_2 - \text{CH}_2\text{CO}]^+$ с m/z 348 (16%) (ср. выше соответствующие данные для производного (XVII)).

Описанные выше результаты исследования показывают, что состав полярных липидов у грам-отрицательной пресноводной бактерии *A. aquatica* NP-502 необычен даже для прокариот. Единственный обнаруженный в клетках глицерофосфолипид – фосфатидилэтаноламин – является минорным компонентом (2% суммы липидов), а более 70% экстрагируемых липидов приходится на долю сфинголипидов, в том числе 25% на долю КСАЦ.

Сфинголипиды – обычные липидные компоненты эукариотных клеток [11]. Присутствие же этих липидов в клетках прокариот рассматривают как явление исключительное, присущее лишь определенным бактериальным таксонам [6]. Ряд бактерий, синтезирующих сфинголипиды, даже выделен по этому признаку в отдельные роды – *Sphingobacterium* [12] и *Sphingomonas* [13]. Наиболее высокое содержание сфинголипидов отмечено у облигатных анаэробов, принадлежащих к родам *Bacteroides* и *Prevotella* [6, 14], где на их долю приходится до 70% суммы экстрагируемых липидов. Кроме вышеназванных родов сфинголипиды найдены у представителей некоторых других таксонов [6, 14–19]. Следует, однако, оговориться, что во многих работах, посвященных бактериальным сфинголипидам, последние идентифицировались исключительно при помощи

ТСХ, причем иногда даже без прямого сравнения с заведомыми образцами. Что же касается стереохимии этих соединений, то она изучалась лишь в единичных работах (см., например, [17, 18]).

Наиболее распространенные типы бактериальных сфинголипидов – свободные церамиды и, в меньшей степени, СРЕА и церамидфосфолипиды. Последние два класса нельзя считать характерными и для эукариотных клеток – так, СРЕА найдены до настоящего времени только у некоторых насекомых [20, 21] и морских змей [22]. Одна из специфических черт ранее известных полярных сфинголипидов бактерий состоит в отсутствии двойных связей в сфингозиновом фрагменте их молекул. Правда, у некоторых молекулярных видов СРЕА миксобактерий имеется такая связь при С8, но не при С4, как в молекулах сфинголипидов высших организмов. В этом отношении описанные здесь сфингофосфолипиды *A. aquatica* NP-502 – СРЕА (I и II) – отличаются от ранее описанных подобных липидов прокариот.

Сульфоновые аналоги церамида, аналогичные КСАЦ (V и VI), были найдены лишь в весьма узкой группе микроорганизмов – у бактерий группы *Cytophaga-Flexibacter* и представителей двух видов рода *Flavobacterium* [23–25] – и рассматривались как специфические липиды этих таксонов [24]. КСАЦ, выделенный нами ранее из *C. marinus* WH, отличается от этих липидов наличием транс-двойной связи при С4. Среди эукариот сульфанолипиды такого типа обнаружены только у морской диатомовой водоросли *Nitzschia alba*

[26], однако этот КСАЦ имеет неразветвленные углеродные цепи и содержит остатки негидроксилированных ЖК. Следует отметить, что *A. aquatica* – первый организм, в липидах которого обнаружены как “классические” сфинголипиды (I и II), так и сульфоновые аналоги (V и VI).

Существенную часть экстрагируемых липидов *A. aquatica* составляют бесфосфорные липидпептид (III) и липоаминокислота (IV). Можно полагать, что последняя является биосинтетическим предшественником первого. Ранее глицинсодержащая липоаминокислота (“цитопилин”), подобная липиду (IV), была найдена только в скользящей бактерии *Cytophaga johnsonae* [27], а липидпептид (III) был обнаружен в двух микроорганизмах – в неидентифицированном виде рода *Flavobacterium* [28] и, как уже говорилось, в морской бактерии *S. marinus* [4].

В заключение интересно сопоставить состав полярных липидов *A. aquatica* с липидным составом других исследованных нами грамотрицательных водных бактерий, кратко описанным в начале этого сообщения. Нетрудно увидеть ряд общих черт, характеризующих клеточные липиды микроорганизмов: 1) присутствие сильноокислых сульфополипидов, причем в морских бактериях (*S. marinus* и *H. jannaschiana*) их содержание значительно выше; 2) наличие умеренно кислых компонентов, в молекулах которых имеется свободная карбоксильная группа (липоаминокислота, липопептид, уронозил-DAG); 3) присутствие нейтральных (или близких к нейтральным) липидов, гексозил-DAG и/или аминокислотлипидов, которые преобладают у пресноводных микроорганизмов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и общие методы. ТСХ проводили на пластинках с закрепленным слоем силикагеля 60 (Merck). Вещества на хроматограммах обнаруживали как неспецифическими реагентами (10% фосфорномолибденовая кислота в этаноле или обугливание с H_2SO_4), так и специфическими реагентами на функциональные группы, описанными в руководстве Кейтса [29]. МЭ ЖК, а также производные аминокислот анализировали при помощи ГЖХ на хроматографе Chrom 5, снабженном пламенно-ионизационным детектором (газ-носитель – гелий; 30 мл/мин). Для анализа МЭ ЖК применяли две колонки размером 3 × 2500 мм: с 3% OV-1 на Chromosorb WAW, 80–100 меш, и с 10% ПЭГА на Chromaton NAW, 80–100 меш. Температурный режим для первой колонки: 260°C в течение 2 мин, затем повышение температуры (10°C/мин) до 330°C и 4 мин при 330°C; для второй колонки: 180°C в течение 3 мин, затем повышение температуры (5°C/мин) до 220°C и 4 мин при 220°C. МЭ 2- и 3-гидроксикислот хроматографи-

ровали как таковые и в виде *O*-ацетатов. Первую из указанных колонок использовали также для анализа аминокислот, которые хроматографировали в форме *N*- или *N,O*-трифторацетатов соответствующих *n*-бутиловых эфиров [30]; режим колонки: 80 → 150°C (4°C/мин).

Абсолютную конфигурацию жирных 2- и 3-гидроксикислот определяли ранее предложенным нами методом [4] – МЭ этих кислот этерифицировали *N*-Dnp-производными *L*- и *D*-пролина и полученные аддукты анализировали при помощи ТСХ в системе *n*-гексан/эфир (1 : 1) с 3–5-кратным проявлением. Стандартами служили индивидуальные диастереомеры соответствующих производных МЭ 2-*D*-, 2-*L*-, 3-*D*- и 3-*L*-гидроксигексадекановых кислот.

Для *N*-ацилирования липидов и их производных использовали 4-нитрофениловые эфиры кислот, приготовленные обычным способом [31]; ацилирование проводили в пиридине, содержащем 1% Et_3N , при 20–25°C в течение 12 ч. *N*-Dnp-производные липидов получали действием 2,4-динитрофторбензола в $CHCl_3/MeOH/вода$ (20 : 8 : 1) при 20–25°C в течение 5 ч в присутствии Et_3N . Сульфополипиды ацетилировали действием Ac_2O в пиридине (20°C, 12 ч) и затем метилировали диазометаном, как описано в сообщении [1]. Перманганат-периодатное окисление осуществляли по ранее описанной методике [32], за исключением того, что избыток окислителей восстанавливали газообразным SO_2 , после чего реакционную смесь разбавляли водой, продукты реакции экстрагировали $CHCl_3$ и метилировали смесью $MeOH$ и 2,2-диметоксипропана (3 : 1), содержащей 1% HCl , при 20–24°C в течение 5–6 ч. Гидрирование липидов проводили в безводном этаноле над платиновой чернью. Остальные аналитические операции проводили по методикам, описанным в предыдущих сообщениях [1, 4].

ИК-спектры регистрировали на спектрографе Specord 71 IR (Carl Zeiss) в пленках веществ. Для масс-спектрометрии с ионизацией атомами ксенона (8 кэВ) (FAB-MS) и регистрацией положительных ионов использовали масс-спектрометр Kratos MS 50 TC (Великобритания); матрицей служил 3-нитробензиловый спирт. Спектры 1H -ЯМР (400 МГц) регистрировали на спектрометре Bruker AM 400 в $CDCl_3/CD_3OD$, 1 : 1 (в случае аминокислотлипидов), или $CDCl_3$ (для других веществ) с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта. Отнесение сигналов осуществляли, как правило, с помощью метода 1H - 1H -COSY.

Микроорганизм и условия культивирования. Штамм *Arcocella aquatica* NO-502 выделен Никитиным и соавт. [7] из нейстонной пленки пресноводного озера. Биомассу выращивали в жидкой среде (0.5% пептона (Sigma), 0.1% дрожжевого экстракта (Serva) и 0.1% глюкозы в дистиллиро-

ванной воде; рН 7.0–7.2) при постоянном встряхивании при 26°C. В начале стационарной фазы роста (около 70 ч культивирования) клетки отделяли центрифугированием при 6000g, промывали дистиллированной водой и лиофильно высушивали.

Экстракция и предварительное фракционирование клеточных липидов. Сухие клетки экстрагировали при 22–24°C дважды 20-кратными количествами (вес/объем) смеси $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (2 : 1) и затем таким же объемом смеси $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (1 : 1); продолжительность каждой экстракции 2 ч. Экстракт освобождали от основной массы нелипидных примесей фильтрованием через колонку с сефадексом G-25 (Pharmacia) по обычной методике [33]. Очищенные липиды фракционировали на колонке с DEAE-целлюлозой (Reanal, Венгрия) (ацетатная форма), предварительно обработанной обычным способом [34]. Элюировали, как указано в табл. 1. В результате получены 4 фракции полярных липидов – А, Б, В и Г.

Выделение индивидуальных липидов. Полученные фракции (А, В и Г) хроматографировали на колонках с силикагелем L 100/160 (Lachema, Чехия). Для хроматографии фракций В и Г использовали сорбент, предварительно обработанный уксусной кислотой [8]. Элюировали смесями $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, линейно увеличивая концентрацию MeOH от 10 до 35% при хроматографии фракции А, от 2 до 10% в случае фракции В и от 5 до 15% при хроматографии фракции Г. Элюат собирали порциями по 5–10 мл, которые анализировали при помощи ТСХ в системах $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{вода}/\text{AcOH}$ (80 : 20 : 2 : 4 и 70 : 30 : 4 : 5) и $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{конц. NH}_4\text{OH}$ (65 : 25 : 4). Фракции элюата, содержащие смеси липидов, повторно хроматографировали в тех же условиях до практически полного разделения компонентов.

Метанолиз Dnp-производного СРЕА (VII). Dnp-производное (VII) (48 мг) нагревали 24 ч при 85°C с 1.5 мл смеси $\text{MeOH}/11 \text{ M}$ соляная кислота (6 : 1). По охлаждении смесь разбавляли 0.5 мл воды и экстрагировали гексаном. Водно-метанольную фазу упаривали наполовину, остаток разбавляли 1.5 мл воды и многократно экстрагировали хлороформом, а затем этилацетатом. В последнем экстракте идентифицировали 2-Dnp-аминоэтилфосфат при помощи ТСХ в системах $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{вода}/\text{AcOH}$ (30 : 20 : 6 : 3) и $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{конц. NH}_4\text{OH}$ (5 : 10 : 3); стандартным образцом служил 2-Dnp-аминоэтилфосфат, полученный действием 2,4-динитрофторбензола на *O*-фосфоэтанолламин (Sigma) в 3% растворе NaHCO_3 . Хлороформный и гексановый экстракты объединяли и упаривали, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Хлороформом элюировали 14.2 мг МЭ жирных 2-гидроксикислот, затем смесью $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{конц. NH}_4\text{OH}$ (40 : 10 : 1) элюировали 8.2 мг аминокдиола (IX), по-

сле чего смесью тех же растворителей в соотношении 60 : 20 : 2 элюировали 13.2 мг продукта дезацилирования (VIII) (масс-спектр: $[M + \text{Na}]^+$, m/z 597, 100%). Аминодиол (IX) анализировали при помощи ТСХ в системах $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{вода}/\text{AcOH}$ (70 : 30 : 5 : 4) и $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{конц. NH}_4\text{OH}$ (70 : 30 : 4), используя в качестве стандарта (4E)-сфингенин (Sigma; из цереброзидов головного мозга быка); ТСХ соответствующих *N*-Dnp-производных проводили в системе $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 10 : 1.

Аналогичным образом проводили метанолиз и идентификацию продуктов метанолиза СРЕА (II).

Определение абсолютной конфигурации СРЕА (I). Аминодиол (IX) (11.8 мг) подвергали *N*-ацилированию 4-нитрофениловым эфиром *N*-гексадеканойл-*L*-пролина [4] по общей методике. Продукты реакции хроматографировали на колонке с флоризилом (Serva). Колонку промывали смесью бензол/ CHCl_3 (1 : 1), после чего хлороформом элюировали 20.9 мг аддукта (XI). Раствор последнего в пиридине обрабатывали избытком тритилхлорида (22°C, 16 ч). Смесь упаривали досуха, остаток растворяли в CHCl_3 , раствор промывали водой и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с флоризилом. Колонку промывали бензолом, затем смесью бензол/ CHCl_3 (1 : 1) элюировали 23.2 мг тритилпроизводного (XII).

Тритилпроизводное (XII) окисляли смесью перманганата и периодата по общей методике (см. выше). Продукты реакции хроматографировали на колонке с силикагелем, бензолом вымывали МЭ ЖК, после чего хлороформом элюировали 5.2 мг МЭ ацилдипептида (XIII). ИК-спектр (ν_{max} , cm^{-1}): 3344 (N–H, O–H), 1734 (C=O в сложном эфире), 1648 (амид I), 1536 (амид II), 1188 (C–O в сложном эфире), 1056 (спиртовая C–O). Масс-спектр (m/z): 454 (M^+ ; 100%), 395 ($[M - \text{COOMe}]^+$, 14%), 336 ($[M - \text{Ser-OMe}]^+$, 37%), 239 ($[\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{CO}]^+$, 10%), 215 ($[\text{Pro-Ser-OMe}]^+$, 28%).

МЭ ацилдипептида (XIII) анализировали при помощи ТСХ в системе $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (10 : 1), используя в качестве стандартов метиловые эфиры *N*-гексадеканойл-*L*-пролил-*L*- и -*D*-серина [4].

Метанолиз липидов (III–VI), а также выделение, дериватизацию и идентификацию образовавшихся продуктов осуществляли по методикам, описанным в предыдущем сообщении [4].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Batrakov S.G., Nikitin D.I., Pitryuk I.A. // Biochim. Biophys. Acta. 1996. V. 1302. P. 167–176.
2. Batrakov S.G., Nikitin D.I., Pitryuk I.A. // Biochim. Biophys. Acta. 1996. V. 1303. P. 39–46.

3. *Batrakov S.G., Nikitin D.I., Sheichenko V.I., Ruzhitsky A.O.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1997. V. 1347. P. 127–139.
4. *Batrakov S.G., Nikitin D.I., Sheichenko V.I., Ruzhitsky A.O.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. V. 1391. P. 79–91.
5. *Kates M.* // *Handbook of Lipid Research. V. 6. Glycolipids, Phosphoglycolipids, and Sulfoglycolipids* / Ed. M. Kates. N.Y.: Plenum Press, 1990. P. 235–320.
6. *Wilkinson S.G.* // *Microbial Lipids. V. 1* / Eds C. Rattledge, S.G. Wilkinson. L.: Acad. Press, 1988. P. 299–488.
7. *Никитин Д.И., Оранская М.С., Пимрюк И.А., Черных Н.А., Лысенко А.М.* // *Микробиология.* 1994. Т. 63. С. 152–159.
8. *Batrakov S.G., Nikitin D.I.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1996. V. 1302. P. 129–137.
9. *Martin-Lomas M., Chapman D.* // *Chem. Phys. Lipids.* 1973. V. 10. P. 152–164.
10. *Knothe G., Bagby M.O., Weisleder D.* // *Chem. Phys. Lipids.* 1996. V. 82. P. 33–37.
11. *Kanfer J.N.* // *Handbook of Lipid Research. V. 3. Sphingolipid Biochemistry* / Eds J.N. Kanfer, S.-I. Hakomori. N.Y.: Plenum Press, 1978. P. 167–247.
12. *Yano I., Tomiyasu I., Yabuuchi E.* // *FEMS Microbiol. Lett.* 1982. V. 15. P. 303–307.
13. *Shah H.N., Collins M.D.* // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1989. V. 39. P. 85–87.
14. *Kato M., Muto Y., Tanaka-Bandoh K., Watanabe K., Ueno K.* // *Anaerobe.* 1995. V. 1. P. 135–139.
15. *Yamamoto A., Yano I., Masui M., Yabuuchi E.* // *J. Biochem.* 1978. V. 83. P. 1213–1216.
16. *Tahara Y., Kawazu M.* // *Agr. Biol. Chem.* 1990. V. 54. P. 1581–1582.
17. *Eckau H., Dill D., Budzikiewicz H.* // *Z. Naturforsch. C: Biosci.* 1984. V. 39c. P. 1–9.
18. *Stein J., Budzikiewicz H.* // *Z. Naturforsch. B.* 1988. V. 43b. P. 1063–1067.
19. *Kawahara K., Seydel U., Matsuura M., Danbara H., Rietschel E.Th., Zähringer U.* // *FEBS Lett.* 1991. V. 292. P. 107–110.
20. *Crone H.D., Bridges R.G.* // *Biochem. J.* 1963. V. 89. P. 11–17.
21. *Hori T., Itasaka O., Sugita M., Arakawa I.* // *J. Biochem.* 1968. V. 64. P. 123–129.
22. *Hori T., Sugita M., Arakawa I.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1968. V. 152. P. 211–220.
23. *Godchaux W., III, Leadbetter E.R.* // *J. Bacteriol.* 1980. V. 144. P. 592–602.
24. *Godchaux W., III, Leadbetter E.R.* // *J. Bacteriol.* 1983. V. 153. P. 1238–1246.
25. *Godchaux W., III, Leadbetter E.R.* // *J. Biol. Chem.* 1984. V. 259. P. 2982–2990.
26. *Anderson R., Kates M., Volcani B.E.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1978. V. 528. P. 89–106.
27. *Kawazoe R., Okuyama H., Reichardt W., Sasaki S.* // *J. Bacteriol.* 1991. V. 173. P. 5470–5475.
28. *Uchida I., Yoshida K., Kawai Y., Takase S., Itoh Y., Tanaka H., Kohsaka M., Imanaka H.* // *Chem. Pharm. Bull.* 1985. V. 33. P. 424–427.
29. *Кеймс М.* *Техника липидологии: Пер. с англ. М.: Мир, 1975.*
30. *Gelpi E., Koenig W.A., Gilbert J., Oró J.* // *J. Chromatogr. Sci.* 1969. V. 7. P. 604–613.
31. *Bodanszky M.* // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1960. V. 88. P. 655–664.
32. *Spence M.W.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1970. V. 218. P. 357–359.
33. *Wuthier R.E.* // *J. Lipid Res.* 1966. V. 7. P. 558–561.
34. *Rouser G., Kritchevsky G., Heller D., Lieber E.* // *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1963. V. 40. P. 425–454.

Sphingolipids, the Major Type of Polar Lipids in the Fresh-water Gram-negative Bacterium *Arcocella aquatica*

S. G. Batrakov[#], D. I. Nikitin^{**}, A. O. Ruzhitskii*, and M. S. Oranskaya^{**}

^{*}*Gidrobios Research and Production Center, Ministry of Health of the Russian Federation,
ul. Kosmonavtov 18, korp. 2, Moscow, 129301 Russia*

^{**}*Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, prosp. 60-letiya Otyabrya 7, korp. 2, Moscow, 117811 Russia*

Polar ionic lipids constitute about 92% of the total extractable lipids from the fresh-water Gram-negative bacterium *Arcocella aquatica* NP-502. Their main components are: two sphingolipids [(2*S*,3*R*,4*E*,2'*R*)-2-*N*-(2'-hydroxyacyl)-15-methyl-4-hexadecaphingenyl-1-phosphoethanolamine (I) (41% of total extractable lipids) and its 2'-deoxy analogue (II) (7%)]; one lipodipeptide [(3*R*)-*N*-(3-acyloxy-15-methylhexadecanoyl)glycyl-*L*-serine (III) (9%)]; one lipoamino acid [(3*R*)-*N*-(3-acyloxy-15-methylhexadecanoyl)glycyl-L-serine (IV) (6%)]; and two acidic sulfonic analogues of ceramide [(2*S*,3*R*,2'*R*)-2-(2'-hydroxyacyl)amino-3-hydroxy-15-methylhexadecane-1-sulfonic acid (V) (19%) and its 2'-deoxyderivative (VI) (6%)]. Phosphatidylethanolamine (2%), free fatty acids (about 2%), and two unidentified phosphorus-free aminolipids (about 2%) are present as minor components. Residues of saturated fatty acids of *iso*-structure with 15 carbon atoms constitute more than 95 mol % among *N*-acyl residues of sphingolipids (I), (II), (V), and (VI) and *O*-acyl residues of lipodipeptide (III) and lipoamino acid (IV).

Key words: Gram-negative bacterium, lipodipeptide, lipoamino acid, sphingophospholipids, ceramide sulfonic analogue

[#]*To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 282-7284, fax: (095) 286-2130.*