



УДК 547.915.5.02

## ЛИПИДЫ МИКОБАКТЕРИЙ

IV. \* АНАЛОГ «КОРД-ФАКТОРА» С НОРМАЛЬНЫМИ  $C_{12}$ — $C_{16}$ -ЖИРНЫМИ  
КИСЛОТАМИ ИЗ  
*Mycobacterium paraffinicum*

Батраков С. Г., Мужитдинова О. А., Бергельсон Л. Д.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва

Коронелли Т. В.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,  
биологический факультет

Из клеточных липидов парафиноксилирующей бактерии *Mycobacterium paraffinicum* выделен ранее неизвестный природный аналог «корд-фактора» (6,6'-ди-О-миколоил- $\alpha$ ,  $\alpha$ -D-трегалозы), идентифицированный на основании данных спектроскопии ПМР и масс-спектрометрии, а также результатов химической деградации как 6,6'-ди-О-ацил- $\alpha$ , $\alpha$ -D-трегалоза, где ацильными компонентами молекулы являются остатки нормальных  $C_{12}$ — $C_{16}$ -жирных кислот.

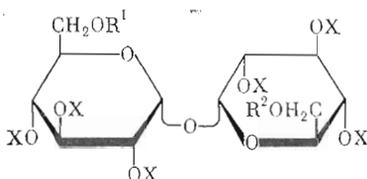
Жирнокислотные эфиры  $\alpha$ , $\alpha$ -D-трегалозы являются специфическими липидами клеточных стенок микобактерий и родственных микроорганизмов (см. обзор [2—5]). Наиболее распространены среди названных бактерий симметричные 6,6'-ди-О-миколоилпроизводные трегалозы («корд-фактор») (I), липидная часть молекул которых представляет собой остатки миколовых кислот — высокомолекулярных ( $C_{30}$ — $C_{90}$ )  $\alpha$ -алкил- $\beta$ -оксикислот. Все эти гликолипиды высокотоксичны, однако главная причина постоянно возрастающего в последние годы интереса исследователей к 6,6'-димиколатам трегалозы заключается в их способности стимулировать у подопытных животных неспецифический иммунитет, и в частности тормозить и даже полностью ингибировать развитие злокачественных опухолей [2—6]. В ходе детального изучения липидного состава микобактерий и близких к ним организмов были найдены некоторые аналоги «корд-фактора» (I): 6-О-мономиколаты  $\alpha$ , $\alpha$ -D-трегалозы (II) [1, 7—9] и их 6'-О-ацетильные производные (III) [10]. В настоящем сообщении описано выделение из клеток парафиноксилирующей бактерии *Mycobacterium paraffinicum* нового аналога «корд-фактора» и установлено, что он представляет собой 6,6'-ди-О-ацил- $\alpha$ , $\alpha$ -D-трегалозу (IV), содержащую остатки относительно низкомолекулярных  $C_{12}$ — $C_{16}$ -кислот нормального строения. Хотя подобный гликолипид — 6,6'-ди-О-пальмитоил- $\alpha$ , $\alpha$ -D-трегалоза (V) — ранее был получен синтетическим путем [11], в природных объектах такие соединения до сих пор не обнаруживали.

\* Сообщение III см. [1].

Таблица 1

Жирнокислотный состав 6,6'-ди-О-ацил- $\alpha,\alpha$ -D-трегалозы (IV)  
из *M. paraffinicum*

Жирные кислоты	Относительное содержание, %	Жирные кислоты	Относительное содержание, %
<i>n</i> -C <sub>12:0</sub>	2	$\Delta^9$ - <i>n</i> -C <sub>16:1</sub>	23
<i>n</i> -C <sub>14:0</sub>	10	$\Delta^9$ - <i>n</i> -C <sub>18:1</sub>	Следы
<i>n</i> -C <sub>16:0</sub>	65	$\Delta^9$ - <i>n</i> -C <sub>20:1</sub>	»

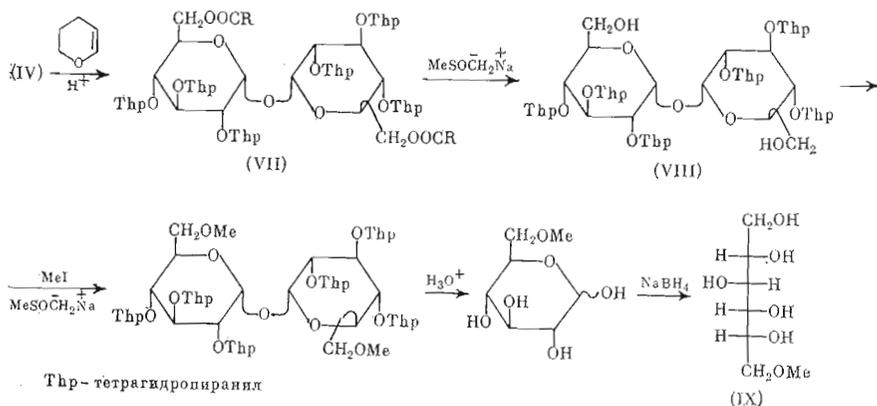


- (I) R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup>=OCCH(R<sup>3</sup>)CH(OH)R<sup>4</sup> (R<sup>3</sup> и R<sup>4</sup>= алкил), X=H  
 (II) R<sup>1</sup>=OCCH(R<sup>3</sup>)CH(OH)R<sup>4</sup> (R<sup>3</sup> и R<sup>4</sup>= алкил), R<sup>2</sup>=X=H  
 (III) R<sup>1</sup>=OCCH(R<sup>3</sup>)CH(OH)R<sup>4</sup> (R<sup>3</sup> и R<sup>4</sup>= алкил), R<sup>2</sup>=OCCH<sub>3</sub>, X=H  
 (IV) R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup>=OCR<sup>3</sup> (R<sup>3</sup>= алкил C<sub>11:0</sub>, C<sub>13:0</sub>, C<sub>15:0</sub> или C<sub>15:1</sub>), X=H  
 (V) R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=OCC<sub>15</sub>H<sub>31</sub>, X=H  
 (VI) R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup>=OCR<sup>3</sup> (R<sup>3</sup>= алкил C<sub>11:0</sub>, C<sub>13:0</sub>, C<sub>15:0</sub> или C<sub>15:1</sub>), X=OCCN<sub>3</sub>  
 (d-VI) R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup>=OCR<sup>3</sup> (R<sup>3</sup>= алкил C<sub>11:0</sub>, C<sub>13:0</sub>, C<sub>15:0</sub> или C<sub>15:1</sub>), X=OCCD<sub>3</sub>  
 (X) R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=OCC<sub>15</sub>H<sub>31</sub>, X=OCCN<sub>3</sub>  
 (d-X) R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=OCC<sub>15</sub>H<sub>31</sub>, X=OCCD<sub>3</sub>

В предыдущем сообщении [1] отмечалось, что одна из фракций клеточных липидов *M. paraffinicum*, выделенная при хроматографировании на колонке с силикагелем, содержит неизвестный гликолипид (IV). С целью его выделения в индивидуальном состоянии в настоящей работе мы подвергли указанную фракцию препаративной ТСХ на силикагеле. Гликолипид (IV) удалось при этом освободить от других нейтральных гликолипидов, однако полученный препарат содержал примеси кислотного характера. Окончательная очистка липида была достигнута при помощи ионообменной хроматографии на DEAE-целлюлозе. Индивидуальность выделенного гликолипида (IV) была подтверждена при помощи ТСХ в различных системах растворителей. Очищенный липид (IV) представляет собой бесцветное воскообразное вещество со значительной величиной положительного оптического вращения ( $[\alpha]_D +64^\circ$ ).

В условиях кислотного метанолиза липид (IV) распадался на аномерные метилгликозиды и смесь метиловых эфиров жирных кислот, которую анализировали методами ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрии. Результаты анализа приводятся в табл. 1. Для определения расположения двойных связей в молекулах ненасыщенных жирных кислот суммарную смесь метиловых эфиров обрабатывали четырехокисью осмия [12], образовавшиеся оксифиры отделяли препаративной ТСХ и идентифицировали методом ГЖХ-масс-спектрометрии в виде триметилсилиловых производных [13]. При щелочном метанолизе гликолипида (IV) была получена смесь метиловых эфиров жирных кислот, перечисленных в табл. 1, и единственный водорастворимый продукт, идентифицированный как  $\alpha,\alpha$ -D-трегалоза при помощи ТСХ и ГЖХ (в виде триметилсилилового производного). Ни в кислотном, ни в щелочном метанолизате метиловые эфиры миколовых кислот не были обнаружены. Из приведенных результатов деградации липида (IV) можно заключить, что он представляет собой трегалозу, ацилированную нормальными кислотами C<sub>12</sub>—C<sub>16</sub>.

Схема 1



Анализ спектра ПМР ацетильного производного (VI) гликолипида (IV) (см. «Экспериментальную часть») дал возможность установить, что на каждый моносахаридный остаток молекулы последнего приходится три ацетильных и один  $\text{C}_{12}$ – $\text{C}_{16}$ -жирнокислотный остаток. Поскольку протонам ацетильных групп в спектре соответствуют три трехпротонных сигнала, можно было предположить, что остаток трегалозы замещен симметрично.

Для определения положения жирнокислотных остатков мы использовали метод, описанный в работе [8], с некоторой модификацией (см. схему 1). Согласно этой методике, липид (IV) был превращен в гекса-О-тетрагидропиранильное производное (VII), которое затем дезацилировали действием метилсульфинилметида натрия, продукт дезацилирования (VIII) метилировали иодистым метилом и подвергли кислотному гидролизу, водорастворимые продукты гидролиза восстанавливали боргидридом натрия и анализировали при помощи ГЖХ-масс-спектрометрии в виде ацетильных производных [14]. Был обнаружен только один гидрофильный продукт описанных превращений, который по данным масс-спектра идентифицирован как 6-О-метилгексит (IX) (см. [14]). Таким образом, жирнокислотные остатки в молекуле гликолипида связаны с первичными оксигруппами трегалозы, а гликолипид представляет собой 6,6'-ди-О-ацил- $\alpha$ , $\alpha$ -D-трегалозу (IV).

Для подтверждения структуры гликолипида (IV) мы осуществили синтез 6,6'-ди-О-пальмитоил- $\alpha$ , $\alpha$ -D-трегалозы (V) по описанной в литературе схеме [11]. Синтетический и выделенный из *M. paraffinicum* трегалозолипида (соответственно V и IV), равно как и их ацетаты (X и VI), обнаруживали одинаковую хроматографическую подвижность при ТСХ во всех испытанных нами системах растворителей и близкое удельное оптическое вращение. Последнее подтверждает D-конфигурацию трегалозного фрагмента в молекуле микробного липида (IV).

Было проведено сравнение масс-спектров ацетильного (VI) и дейтероацетильного (d-VI) производных липида (IV) с масс-спектрами ацетата (X) и дейтероацетата (d-X) синтезированного дипальмитоилтрегалозолипида (V) (см. табл. 2 и схему 2). Наиболее интенсивными в масс-спектре синтетического ацетата (X) являются пики оксониевого иона типа A с  $m/e$  527 и ацил(пальмитоил)-иона B с  $m/e$  239 (ср. [15]), первый из которых в спектре дейтероацетата (d-X) смещается в область больших массовых чисел на 9 массовых единиц, а второй сохраняет свое положение. Потеря фрагментом A молекулы жирного кетена ( $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{CH}=\text{C}=\text{O}$ ) приводит к иону B с  $m/e$  289; в результате последующей фрагментации иона B путем элиминирования молекул  $\text{AcOH}$  и  $\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}$  возникают ионы с  $m/e$  127, 169, 187 и 229 [15]. Природа перечисленных ионов под-

Основные пики в масс-спектрах синтетических ацетата (X) и дейтероацетата (d-X) 6,6'-ди-О-пальмитоил- $\alpha,\alpha$ -D-трегалозы (V), ацетата (VI) и дейтероацетата (d-VI) трегалозолипида (IV) из *M. paraffinicum*

Тип иона	По масс-спектру (X)		$m/e$ по спектру (d-X)	По масс-спектру (VI)		$m/e$ по спектру (d-VI)
	$m/e$	$I_{отн.}$ %		$m/e$	$I_{отн.}$ %	
$M^+$	1070	0,05	1088	1070 1068 1042 1014	0,14 0,07 0,09 0,07	1088 1086 1060 1032
$M-AcO^*$	1011	0,2	1026	1011 1009 983 955	0,45 0,22 0,35 0,2	1026 1024 998 970
$M-AcOH$	1010	0,1	1025	1010 1008 982 954	0,3 0,15 0,2 0,12	1025 1023 997 969
$M-AcOH-CH_2CO$	968	0,01	981			
$M-AcOH-AcO^*$	951	0,04	963			
$M-2AcOH$	950	0,01	962			
$M-AcOH-2CH_2CO$	926	0,12	937			
$M-3AcOH$	890	0,01	899			
$M-RCOO^*$	815	1,1	833	815 813 787 759	0,22 0,06 0,11 0,05	833 831 805 777
$M-RCOO^*-CH_2CO$	773	0,06	789	773 771 745 717	0,02 <0,01 0,01 <0,01	789 787 761 733
$M-RCOOH-2AcOH$	694	0,01				
A	527	75	536	527* 525 499* 471*	100 32 66 38	536** 534 508** 480**
$A-CH_2CO$	485	2	492	485 483 457 429	6 1,5 3 ?	492 490 464 436
$A-H-CH_2CO$	484	3,5	491	484 482 456 428	6 1 3 2	491 489 463 435
$A-2AcOH$	407	4	410	407 405 379 355	6 2,5 3 1	410 408 382 358
$A-2AcOH$	407	4	410	407 405 379 355	6 2,5 3 1	410 408 382 358
$A-H-2AcOH$	406	7	409	406 404 378 354	13 5 5 1	409 407 381 357
$\Gamma$	365	26,5	365	365* 363	30 19	365** 363

\* Превращениям ионов  $m/e$  527→ $m/e$  365,  $m/e$  499→ $m/e$  337 и  $m/e$  471→ $m/e$  309 в масс-спектре гексаацетата (VI) отвечают пики метастабильных ионов  $m^*$  252,8; 227,6 и 202,8 соответственно.

\*\* Превращениям ионов  $m/e$  536→ $m/e$  365,  $m/e$  508→ $m/e$  337 и  $m/e$  480→ $m/e$  309 в масс-спектре дейтероацетата (d-VI) отвечают пики метастабильных ионов  $m^*$  248,9; 223,5 и 198,9 соответственно.

Таблица 2 (продолжение)

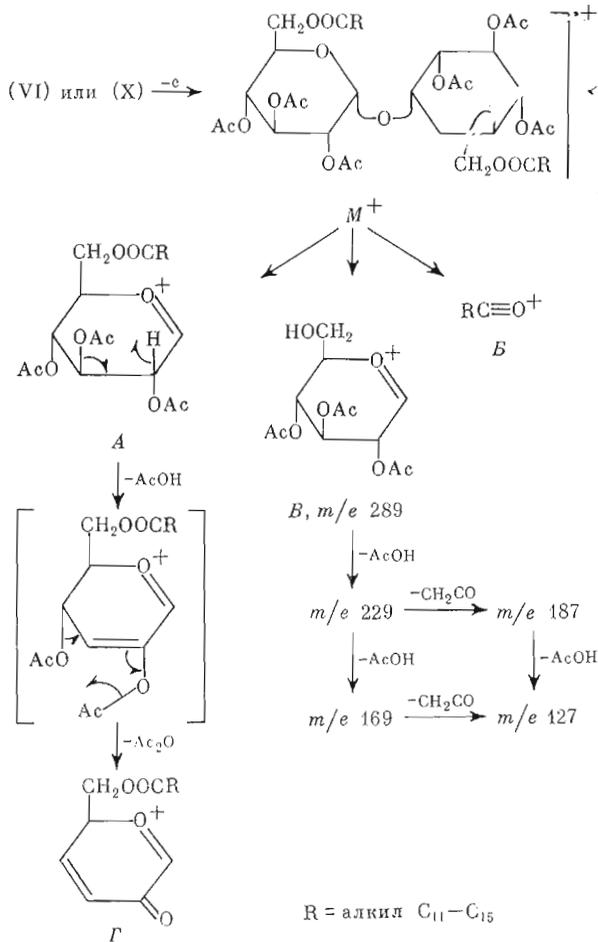
Тип иона	По масс-спектру (X)		$m/e$ по спектру ( $d-X$ )	По масс-спектру (VI)		$m/e$ по спектру ( $d-VI$ )
	$m/e$	$I_{\text{отн}}, \%$		$m/e$	$I_{\text{отн}}, \%$	
B	239	100	239	337 *	21	337 **
				309 *	16	309 **
				239	88	239
				237	19	237
				211	60	211
				183	33	183
B	289	4	298	289	11	298
B-AcOH	229	3,5	235	229	10	235
B-AcOH-CH <sub>2</sub> CO	187	2	191	187	4	191
B-2AcOH	169	22	172	169	43	172
B-2AcOH-CH <sub>2</sub> CO	127	15	128	127	28	128

тверждается соответствующими сдвигами их пиков в масс-спектре дейтероацетата ( $d-X$ ). Масс-спектр синтетического ацетата (X) содержит довольно интенсивный пик иона с  $m/e$  365 ( $\Gamma$ ), который сохраняет прежнее массовое число в спектре дейтероацетата ( $d-X$ ) и, следовательно, лишен ацетильных групп. Имеющийся в спектре ацетата (X) пик метастабильного иона ( $m^*$  252,8) показывает, что предшественником иона  $\Gamma$  является оксониевый фрагмент A (аналогичному переходу,  $m/e$  536  $\rightarrow$   $m/e$  365, в масс-спектре ( $d-X$ ) соответствует пик метастабильного иона  $m^*$  248,9). Один из возможных путей образования иона с  $m/e$  365 ( $\Gamma$ ) представлен на схеме 2. В масс-спектре ацетата (X) присутствует пик молекулярного иона, а также пики ионов  $[M-AcO^+]^+$ ,  $[M-AcOH]^+$ ,  $[M-AcO^+-AcOH]^+$ ,  $[M-2AcOH]^+$ ,  $[M-AcOH-CH_2CO]^+$ ,  $[M-AcOH-2CH_2CO]^+$ ,  $[M-3AcOH]^+$ ,  $[M-RCOO^+]^+$ ,  $[M-RCOO^+-CH_2CO]^+$ ,  $[M-RCOOH-2AcOH]^+$ ; все они малоинтенсивны.

Характер распада под электронным ударом молекулярных ионов ацетильного производного (VI) бактериального гликолипида оказался полностью аналогичным рассмотренной выше фрагментации молекулярного иона синтетического ацетата (X). В масс-спектре (VI) присутствуют интенсивные пики четырех оксониевых ионов типа A с  $m/e$  527 (максимальный в спектре), 525, 499 и 471, содержащих соответственно остатки гексадекашовой, гексадеценовой, тетрадекановой и додекановой кислот, пики четырех ионов типа  $\Gamma$  ( $m/e$  365, 363, 337 и 309) с теми же ацильными остатками, а также пики четырех ацил-ионов B с  $m/e$  239, 237, 211 и 183, отвечающих вышеуказанным кислотам. В области массовых чисел имеются малоинтенсивные пики гомологичных молекулярных ионов с  $m/e$  1070, 1068, 1042 и 1014, а наиболее интенсивны в этой области пики ионов  $[M-RCOO^+]^+$  с  $m/e$  815, 813, 785 и 757. Масс-спектр ацетата (VI), так же как и спектр синтетического ацетата (X), содержит пики иона B ( $m/e$  289) и продуктов его распада ( $m/e$  229, 187, 169 и 127). Правильность интерпретации масс-спектра ацетата (VI) подтверждена соответствующими сдвигами его пиков в спектре дейтероацетата ( $d-VI$ ). Приведенные масс-спектрометрические данные еще раз доказывают, что гликолипид (IV), выделенный из клеток *M. paraffinicum*, представляет собой диацильное производное трегалозы, в молекуле которого каждый из глюкозных остатков связан только с одним жирнокислотным остатком и не имеет других заместителей, кроме аналогичного ацилглюкопиранозидного фрагмента.

Как отмечалось выше, аналоги «корд-фактора» (I) с относительно низкомолекулярными нормальными жирными кислотами до сих пор не были найдены в бактериальных липидах. Синтез такого аналога исследуе-

С х е м а 2



мой нами культурой *M. paraffinicum*, использующей гексадекан в качестве единственного источника углерода, может быть обусловлен интенсивным образованием в клетках пальмитиновой кислоты и ее гомологов — первичных продуктов окисления углеводов.

### Экспериментальная часть

Культуру *M. paraffinicum* выращивали на гексадекане в ранее описанных условиях [16]. Применяли описанные в предыдущих сообщениях [1, 17, 18] методы ТСХ и ГЖХ, получения и очистки ацетильных производных липидов, а также приборы и условия для ИК- и ПМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, комбинированной ГЖХ-масс-спектрометрии и измерения оптической активности. Для ТСХ использовали главным образом следующие системы растворителей: 1)  $CHCl_3$ — $MeOH$ —вода, 80 : 20 : 2; 2)  $CHCl_3$ — $MeOH$ —конц. водный  $NH_4OH$ , 65 : 25 : 4; 3)  $CHCl_3$ — $MeOH$ — $AcOH$ —вода, 80 : 13 : 8 : 1; 4)  $CH_2Cl_2$ —этилацетат, 8 : 1; 5) гексан—эфир, 10 : 1; 6) гексан—эфир— $AcOH$ , 85 : 15 : 1; 7) *n*-бутанол— $AcOH$ —вода, 6 : 3 : 1.

**Выделение гликолипида (IV).** Фракцию клеточных липидов *M. paraffinicum* (30 мг), содержащую гликолипид (IV) (в сообщении [1] — неидентифицированный гликолипид с  $R_f$  0,55 в системе 1 и 0,7 в системе 2), наносили на пластинку (20×20 см) для препаративной ТСХ с закрепленным слоем (0,3 мм) силикагеля КСК, хроматограмму проявляли в

системе 1, высушивали 10 мин на воздухе, опрыскивали 0,3% раствором морины в MeOH и снова высушивали на воздухе в течение 30 мин. Зоны веществ на хроматограмме обнаруживали в УФ-свете. Зону основного компонента смеси отделяли и экстрагировали системой  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (2:1,  $5 \times 10$  мл). Экстракт упаривали досуха, остаток (15 мг) растворяли в 1 мл смеси  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (9:1), раствор нанесли на колонку ( $20 \times 2$  см) с DEAE-целлюлозой (AcO<sup>-</sup>-форма), предварительно промытую 300 мл указанной смеси растворителей. Элюировали 200 мл той же смеси растворителей, после упаривания элюата получали 13 мг хроматографически индивидуального гликолипида (IV);  $R_f$  0,5 (в системе 1), 0,7 (2), 0,5 (3);  $R_{\text{к.ф.}}^*$  0,6; 0,8 и 0,65 соответственно в системах 1, 2 и 3;  $[\alpha]_D^{22} + 64^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ;  $c$  0,5).

ИК-спектр (пленка,  $\nu_{\text{макс}}$ ,  $\text{см}^{-1}$ ):  $\sim 3400$  (ОН), 3010 (C=C), 1742 (C=O), 1056, 1112, 1244 (C-O).

Ацетат (VI):  $R_f$  0,6 и  $R_{\text{к.ф.}}^*$  0,8 в системе 4,  $R_f$  0,75 в  $\text{CHCl}_3$ ;  $[\alpha]_D^{22} + 97,5^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ;  $c$  0,3).

Спектр ПМР ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0,90, 6H, триплет  $J$  7 Гц (терминальные  $\text{CH}_3$  жирноацильных остатков); 1,26, мультиплет ( $(\text{CH}_2)_n$  в цепи жирноацильных остатков); 1,06 (3H), 1,09 (3H) и 1,18 (3H), синглеты ( $\text{COCH}_3$ ); 2,35, 4H, триплет  $J$  7 Гц ( $\text{CH}_2\text{COO}$  жирноацильных остатков); 3,92–4,26, 6H, мультиплет (5-H и 6-H<sub>2</sub> глюкопиранозных остатков); 4,99–5,63, 8H, мультиплет (1-H, 2-H, 3-H, 4-H глюкопиранозных остатков).

*Кислотный метанолиз гликолипида (IV)*. Смесь 3,5 мг гликолипида (IV) и 1 мл 3% раствора сухого HCl в MeOH кипятили 4 ч, по охлаждению разбавляли 1 мл MeOH, нейтрализовали дауэксом  $1 \times 8$  (HO<sup>-</sup>) и упаривали досуха. К остатку добавляли 2 мл гексана, 1 мл эфира и 2 мл воды, смесь встряхивали и оставляли для разделения фаз. После упаривания верхней фазы получали метиловые эфиры жирных кислот, не отличающиеся по подвижности при ТСХ в системах 5 и 6 от метилстеарата. Результаты анализа метиловых эфиров методом ГЖХ приведены в табл. 1. После упаривания водной фазы получали смесь аномерных метилглюкопиранозидов, которые идентифицировали в виде триметилсилиловых эфиров при помощи ГЖХ с заведомым образцом.

*Щелочной метанолиз гликолипида (IV)*. Смесь 2 мг гликолипида (IV) и 1 мл 0,3 М раствора KOH в MeOH кипятили 5 ч, по охлаждению разбавляли 2 мл MeOH, нейтрализовали дауэксом  $50 \times 8$  (H<sup>+</sup>) и упаривали досуха. Остаток обрабатывали эфирным раствором диазометана (20°С, 10 мин), смесь упаривали, остаток встряхивали с 2 мл воды и 2 мл  $\text{CHCl}_3$  и оставляли для разделения фаз. Из хлороформного слоя получили смесь метиловых эфиров жирных кислот, не отличающуюся по составу от смеси метиловых эфиров, образовавшихся при кислотном метанолизе. После упаривания водной фазы получили  $\alpha, \alpha$ -D-трегалозу, которую идентифицировали при помощи ТСХ в системе 7 ( $R_f$  0,28), а также ГЖХ в виде триметилсилилового производного с заведомыми образцами.

*Определение положения жирнокислотных остатков*. К раствору 2,5 мг гликолипида (IV) в 0,5 мл сухого  $\text{CHCl}_3$  добавляли при 20°С 0,4 мл свежеперегнанного дигидропирана и 0,05 мл 1% раствора TsOH в эфире. Смесь перемешивали и оставляли на 2 ч при 20°С, после чего упаривали досуха. К остатку добавляли 0,2 мл сухого  $\text{Me}_2\text{SO}$  и 0,2 мл раствора метилсульфинилметиды натрия в  $\text{Me}_2\text{SO}$ , полученного из 0,5 г NaH и 10 мл  $\text{Me}_2\text{SO}$ . Смесь тщательно перемешивали и оставляли на 2 ч при 20°С, затем охлаждали до 0°С, обрабатывали 0,3 мл иодистого метила и выдерживали 2 ч при 20°С. Реакционную смесь разбавляли 3 мл  $\text{CHCl}_3$ , промывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  ( $2 \times 1$  мл), 1 мл воды, упаривали досуха, остаток нагревали 6 ч в запаянной ампуле при 100–105°С

\*  $R_{\text{к.-ф.}}$ ,  $R_{\text{Ac(к.-ф.)}}$  – хроматографическая подвижность относительно «корд-фактора» и его сподна ацетилированного производного.

с 2 мл 2 н. соляной кислоты. По охлаждении смесь разбавляли 1 мл воды, промывали  $\text{CHCl}_3$  ( $2 \times 1$  мл), нейтрализовали дауэксом  $1 \times 8$  ( $\text{CO}_2^{2-}$ ) и обрабатывали при  $20^\circ \text{C}$  4 мг боргидрида натрия. Через 1 ч реакцию смесь обрабатывали 2–3 каплями  $\text{AsOH}$ , наносили на колонку ( $50 \times 5$  мм) с дауэксом  $50 \times 8$  ( $\text{H}^+$ ), колонку промывали 15 мл воды и элюат упаривали досуха. Остаток растворяли в 5 мл  $\text{MeOH}$  и раствор упаривали; эту операцию повторяли еще 4 раза. Полученный сухой остаток ацетилюировали и анализировали методом ГЖХ-масс-спектрометрии. Единственное обнаруженное вещество представляло собой, по данным масс-спектра, 1,2,3,4,5-пента-О-ацетил-6-О-метилгексит (см. [14]).

6,6'-Ди-О-пальмитоил- $\alpha, \alpha$ -D-трегалозу (V) получали по схеме, описанной в сообщении [11], и очищали двукратной препаративной ТСХ на силикагеле в системах 1 и 2 по методике, применявшейся для выделения гликолипида (IV), температура плавления полученного препарата  $152$ – $157^\circ \text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{21} + 80,7^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ;  $c$  0,4); литературные данные [11]: т. пл.  $154$ – $158^\circ \text{C}$ ,  $[\alpha]_D + 80^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ;  $c$  1). Синтезированный гликолипид не отличался при ТСХ в системах 1–3 от бактериального гликолипида (IV); ацетаты обоих липидов – (VI) и (X) – также обнаруживали одинаковую хроматографическую подвижность в системе 4 и в  $\text{CHCl}_3$ .

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Батраков С. Г., Мухитдинова О. А., Коронелли Т. В., Бергельсон Л. Д. (1979) Биоорган. химия, **5**, 83–91.
2. Goren M. B. (1972) *Bacteriol. Revs*, **36**, 33–64.
3. Lederer E. (1976) *Chem. Phys. Lipids*, **16**, 91–106.
4. Barksdale L., Shin K. K. (1977) *Bacteriol. Revs*, **41**, 217–372.
5. Asselineau C., Asselineau J. (1978) *Ann. microbiol. (Paris)* **129A**, 49–69.
6. Bekierkunst A., Wang L., Toubiana F., Lederer E. (1974) *Infect. Immunity*, **10**, 1044–1050.
7. Kato M., Maeda J. (1974) *Infect. Immunity*, **9**, 8–14.
8. Lanéelle M.-A., Asselineau J. (1977) *Biochim. et biophys. acta*, **486**, 205–208.
9. Promé J.-C., Dacave C., Ahibo-Coffy A., Savagnac A. (1976). *Eur. J. Biochem.*, **63**, 543–552.
10. Takayama K., Armstrong E. L. (1976) *Biochemistry*, **15**, 441–447.
11. Toubiana R., Das B. C., Defaye J., Mompon B., Toubiana M.-J. (1975) *Carbohydr. Res.*, **44**, 308–312.
12. McCloskey J. A., McClelland M. J. (1965) *J. Amer. Chem. Soc.*, **87**, 5090–5093.
13. Argoudelis C. J., Perkins E. G. (1968) *Lipids*, **3**, 379–381.
14. Björndal H., Lindberg B., Svensson S. (1967) *Carbohydr. Res.*, **5**, 433–440.
15. Adam A., Senn M., Vilkas E., Lederer E. (1967) *Eur. J. Biochem.*, **2**, 460–468.
16. Коронелли Т. В. (1968) *Микробиология*, **37**, 984–987.
17. Батраков С. Г., Розынов Б. В., Коронелли Т. В., Кожухова Р. А., Бергельсон Л. Д. (1977) *Биоорган. химия*, **3**, 55–67.
18. Батраков С. Г., Садовская В. Л., Розынов Б. В., Коронелли Т. В., Бергельсон Л. Д. (1978) *Биоорган. химия*, **4**, 667–681.

Поступила в редакцию  
26.II.1979

#### LIPIDS OF MYCOBACTERIA. IV. THE «CORD FACTOR» ANALOG CONTAINING: $\text{C}_{12}$ – $\text{C}_{16}$ STRAIGHT-CHAIN FATTY ACIDS FROM *Mycobacterium paraffinicum*

BATRAKOV S. G., MUKHITDINOVA O. A., BERGELSON L. D., KORONELLI T. V.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow; Biology Department, M. V. Lomonosov State University, Moscow*

A hitherto unknown natural by occurring analog of the «cord factor» (6,6'-di-O-mycoloyl- $\alpha, \alpha$ -D-trehalose) has been isolated from the cell lipids of the paraffin-oxidizing bacterium *Mycobacterium paraffinicum*. Basing on the PMR and mass spectra, as well as on the chemical degradation data, the novel lipid has been identified as 6,6'-di-O-acyl- $\alpha, \alpha$ -D-trehalose, the acyl components being the residues of  $\text{C}_{12}$ – $\text{C}_{16}$  straight-chain fatty acids.