



УДК 547.39'96+576.852.21

ЛИПИДЫ МИКОБАКТЕРИЙ.

VII. N-АЦИЛТЕТРАПЕПТИД С ОСТАТКОМ МИКОЛОВОЙ КИСЛОТЫ
ИЗ *MYCOBACTERIUM PARAFFINICUM***Батраков С. Г., Муратов В. Б., Розынов Б. В.,
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*

Установлено строение одного из кислотных пептидолипидов, продуцируемых парафиноокисляющей бактерией *Mycobacterium paraffinicum*. На основании результатов анализа продуктов химической деградации пептидолипида, а также данных ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии последний охарактеризован как N-ацил(C₂₀—C₂₈)-L-(O-миколоил)треонил-L-валил-L-валил-L-лейцин. Осуществлен синтез метилового эфира N-докозаноил-L-треонил-L-валил-L-валил-L-лейцина и его O-ацетата, которые использованы в качестве модельных соединений при интерпретации масс-спектров производных нативного пептидолипида.

В предыдущем сообщении [1] мы описали выделение из клеточных липидов парафиноокисляющей бактерии *Mycobacterium paraffinicum* семи пептидолипидов, которые в соответствии с их подвижностью при ТСХ на силикагеле делятся на две группы: «малополярную» и «полярную». Первая группа состоит из трех компонентов: двух кислотных и нейтрального. Нейтральный пептидолипид мы охарактеризовали ранее как N-ацил-(C₂₀—C₂₈)-L-треонил-L-валил-L-валил-L-лейцилолид (I) [2]. В настоящем сообщении описано установление строения доминирующего кислотного компонента (II).

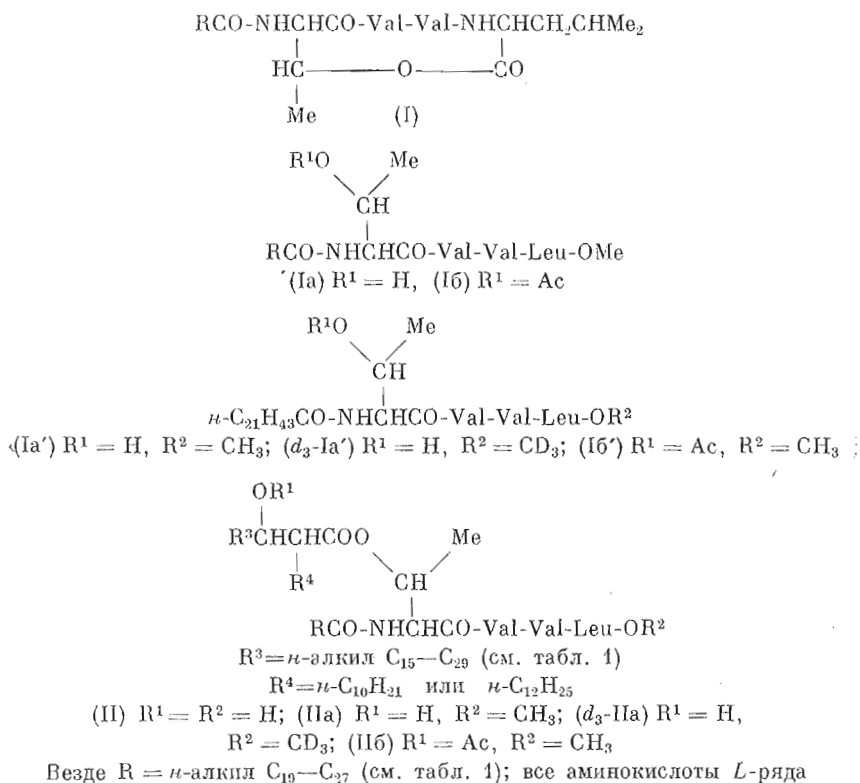
Пептидолипид (II) в жестких условиях кислотного гидролиза дал смесь аминокислот, незамещенные жирные кислоты, миколовые кислоты (минорный компонент гидролизата) и продукты их превращения. Фракция незамещенных жирных кислот, по данным ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрии соответствующих метиловых эфиров, состояла из нормальных насыщенных и моноеновых кислот C₂₀—C₂₈ (см. табл. 1). Аминокислотную фракцию анализировали на аминокислотном анализаторе, а в виде N-трифторацетильных производных бутиловых эфиров — методами ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрии [3]. Абсолютную конфигурацию аминокислот определяли при помощи ГЖХ N-трифторацетатов соответствующих изопропиловых эфиров на оптически активной стационарной фазе [1]. В результате было установлено, что эта фракция гидролизата состоит из L-валина, L-треонина и L-лейцина, причем молярное соотношение перечисленных аминокислот и незамещенных жирных кислот было определено

Состав жирных кислот пептидолипида (II)

Незамещенные нормальные кислоты R—COOH		Миколовые кислоты R ³ CH(OH)CHR ⁴ COOH *		
R	Относительное содержание, мол. %	Число C-атомов: число двойных связей	Относительное содержание, мол. %	R ³
C ₁₉ H ₃₉	5	30 : 0	7	C ₁₅ H ₃₁ , C ₁₇ H ₃₅
C ₂₁ H ₄₃	22	32 : 0	20	C ₁₇ H ₃₅ , C ₁₉ H ₃₉
C ₂₁ H ₄₁	1,5	34 : 0 и 34 : 1	27	C ₁₉ H ₃₉ , C ₁₉ H ₃₇ , C ₂₁ H ₄₃ , C ₂₁ H ₄₁
C ₂₃ H ₄₇	22	36 : 0 и 36 : 1	21	C ₂₁ H ₄₃ , C ₂₁ H ₄₁ , C ₂₃ H ₄₇ , C ₂₃ H ₄₅
C ₂₃ H ₄₅	22	38 : 0 и 38 : 1	12	C ₂₃ H ₄₇ , C ₂₃ H ₄₅ , C ₂₅ H ₅₁ , C ₂₅ H ₄₉
C ₂₅ H ₅₁	2,5	40 : 1	9	C ₂₅ H ₄₉ , C ₂₇ H ₅₃
C ₂₅ H ₄₉	20	42 : 1	4	C ₂₇ H ₅₃ , C ₂₉ H ₅₇
C ₂₇ H ₅₃	5			

* R⁴ = C₁₀H₂₁ или C₁₂H₂₅.

как 2 : 1 : 1 : 1. Таким образом, по составу названных элементов молекулы кислотный пептидолипид (II) не отличается от нейтрального пептидолипида (I) [2]. На основании этого, а также принимая во внимание тот факт, что оба липида синтезируются одним и тем же организмом, мы предположили, что основой молекулы липида (II) является та же N-ацил-(C₂₀ — C₂₈)тетрапептидная цепь, которая составляет молекулу (I), а именно RCO-Thr-Val-Val-Leu-.



Миколовые кислоты либо этерифицируют гидроксильную группу остатка треонина, либо могут быть этерифицированы остатком лейцина. Поскольку в процессе кислотного гидролиза миколовые кислоты в зна-

чительной степени деградируют, для их отщепления и последующего анализа мы применили щелочной метанолиз. При этом миколовые кислоты освобождались количественно и полностью сохранялись, но в то же время происходило и расщепление пептидной цепи, вследствие чего получить интактный N-ацилпептидный фрагмент липидной молекулы не удалось. Миколовые кислоты анализировали в виде 3-O-метилпроизводных метиловых эфиров методами ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрии [4] (результаты анализа приводятся в табл. 1).

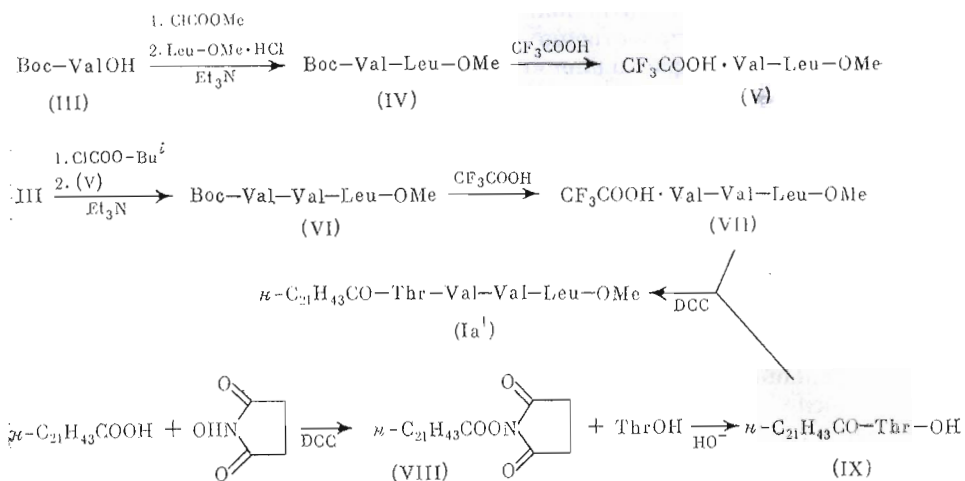
Дополнительные данные о структуре пептидолипида (II) были получены при изучении его ИК-спектра, а также ИК-спектров метилового эфира липида (IIa) и ацетата метилового эфира (IIб). Метилловый эфир (IIa) легко образовывался при обработке нативного липида диазометаном, однако попытка ацетилировать его действием уксусного ангидрида в пиридине даже при нагревании при 90° С в течение длительного времени была безуспешной. Ацетилирование эфира (IIa) удалось осуществить только после добавления в реакционную смесь 4-диметиламинопиридина [5].

Следует заметить, что метилловый эфир (Ia), продукт метанолиза пептидолипида (I), быстро превращался в ацетат (Iб) при обработке уксусным ангидридом в пиридине при комнатной температуре [2]. Кроме того, эфир (IIa) в отличие от эфира (Ia) был устойчив в условиях окисления по Джонсу и к окислению хромовым ангидридом в уксусной кислоте (70° С, 3 ч). Отсюда можно сделать вывод, что свободная гидроксильная группа в молекулах (II) и (IIa), скорее всего, принадлежит остатку миколовой кислоты, который в таком случае должен быть связан с гидроксильной группой треонинового остатка. Свободная гидроксильная группа в подобной молекуле в значительной степени экранирована.

ИК-спектр нативного липида (II) содержит полосы валентных колебаний связей N—H амидных групп с максимумами при 3278 и 3076 см⁻¹. Первая полоса частично перекрывается полосой валентных колебаний связи Н—О гидроксильной группы и поэтому имеет плечо при 3380 см⁻¹. Аналогичную структуру та же полоса имеет в ИК-спектре метилового эфира (IIa) — ν_{N—H} 3275 см⁻¹, плечо при 3380 см⁻¹, но в спектре ацетата (IIб) она симметрична. В области карбонильных колебаний ИК-спектра липидной фракции (II) находятся 3 полосы — при 1743, 1715 и 1635 (плечо 1647) см⁻¹. Первая, очевидно, принадлежит сложноэфирной карбонильной группе, вторая — карбоксильной, а третья — амидным карбонилам (Амид I). Амидным группам отвечает и интенсивная полоса деформационных колебаний связей N—H (Амид II) при 1497 см⁻¹. На присутствие свободной карбоксильной группы указывает также широкая полоса валентных колебаний связей Н—О в области 2800—2500 см⁻¹. В спектре метилового эфира (IIa) полосы при 1715 и 2800—2500 см⁻¹ не наблюдаются, а интенсивность полосы сложноэфирного карбонила (ν_{C=O} 1741 см⁻¹) по отношению к интенсивности амидных полос I и II значительно выше, чем в спектре продукта метанолиза (Ia) пептидолипида (I). Это говорит о наличии в молекулах метиловых эфиров (IIa) более чем одной сложноэфирной группы. Относительная интенсивность полосы ν_{C=O} сложного эфира в ИК-спектре ацетата (IIб) возрастает в еще большей степени.

Масс-спектры метилового эфира (IIa) и его ацетата (IIб) совпадают в основных чертах с масс-спектром метилового эфира (Ia), изучавшимся нами ранее [2]. Этот факт находится в соответствии с предположением об идентичности N-ацилтетрапептидных цепей в молекулах пептидолипидов (I) и (II). С целью детального анализа характера фрагментации под электронным ударом молекулярных ионов подобных соединений мы осуществили синтез одного из гомологов, входящих в состав фракции (Ia), метилового эфира N-докозаноил-L-треонил-L-валил-L-валил-L-лейцина (Ia'), и изучили его масс-спектр. Синтез проводили методами, представленными на схеме 1. Конечный продукт (Ia') при ТСХ на силикагеле проявлял

Схема 1



Вос = С(О)ОСMe₃, DCC - дициклогексилкарбодиимид, все аминокислоты L-ряда

одинаковую с метиловым эфиром (Ia) подвижность. ИК-спектры фракции (Ia) и соединения (Ia') оказались весьма близкими. Для выяснения некоторых особенностей распада молекулярного иона (Ia') были получены масс-спектры ацетильного производного (Iб') и дейтерометилового эфира (*d*₃-Ia').

В масс-спектре синтетического метилового эфира (Ia') (табл. 2) присутствует малоинтенсивный пик молекулярного иона с *m/z* 766, значительно более интенсивен пик иона [M - H₂O]⁺ с *m/z* 748. В области высоких значений массовых чисел наблюдаются также пики ионов [M - H₂O - Me]⁺, *m/z* 733, [M - CH₂=CHOH]⁺, *m/z* 722, [M - Me₂C=CH₂]⁺, *m/z* 710, [M - H₂O - Me₂CH]⁺, *m/z* 705, [M - H₂O - Me₂C=CH₂]⁺, *m/z* 692, [M - H₂O - COOMe]⁺, *m/z* 689. К ионам [M - CH₂=CHOH]⁺ и [M - Me₂C=CH₂]⁺ приводит элиминирование из молекулярного иона оксиэтильного и изобутильного остатка соответственно, принадлежащих остаткам треонина и лейцина, с миграцией в каждом случае атома водорода к заряженному фрагменту, т.е. обе реакции протекают по механизму Маклафферти. Согласно литературным данным [6], расщепление пептидной цепи молекулярного иона эфира N-ацилпептида должно происходить главным образом по двум направлениям (схема 2): 1) по аминокислотному типу — путем разрыва связей СО—NH с образованием аминокислотных фрагментов (А, В и В'); 2) путем разрыва связей С—СО при локализации заряда на N-концевом фрагменте, в результате чего возникают альдиминные ионы (А', В' и В''). Пики ионов обоих типов имеют сравнительно высокую интенсивность в масс-спектре эфира (Ia') и сохраняют свое положение в спектре дейтерометилового эфира (*d*₃-Ia'). Однако в спектре ацетильного производного (Iб') они сдвигаются на 42 единицы массы (табл. 3), что находится в соответствии со структурой обсуждаемых ионов. Строение некоторых из них подтверждено также точным измерением их массовых чисел, а пути образования — наличием пиков соответствующих метастабильных ионов (см. табл. 2 и 3). Ионам типа А', В' и В'' сопутствуют фрагменты, близкие им по интенсивности, с массовыми числами, большими на единицу. Скорее всего, к этим фрагментам, как и при образовании альдиминных ионов, приводит разрыв связей С—СО, сопровождающийся миграцией атома водорода к заряженному фрагменту. Ионы рассмотренных выше серий, теряя молекулу воды в случае метилового эфира (Ia') или молекулу уксусной кислоты в случае ацетата (Iб'), дают фрагменты, пики которых, как правило, превосходят по интенсивности пики ионов-предшественников. Оче-

Основные пики в масс-спектре синтетического метилового эфира
 N-докозаноил-L-треонил-L-валил-L-валил-L-лейцина (Ia') *

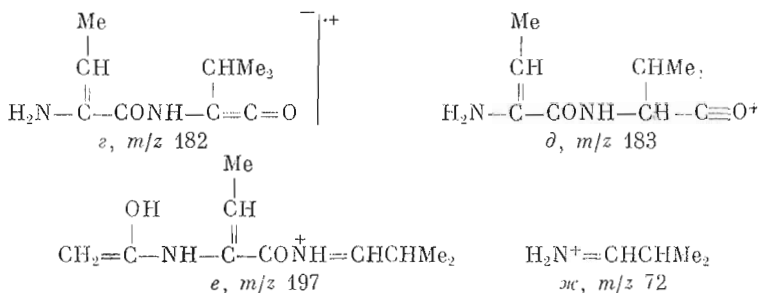
m/z	$I_{\text{отн.}}, \%$	Тип иона	Найденная брутто-формула	m/z по масс-спектру $d_3\text{-Ia}'$
766	0,3	M^+		769
748	2,4	$M - \text{H}_2\text{O}$		751
733	0,7	$M - \text{H}_2\text{O} - \text{Me}^{\cdot}$		736
722	2,2	$M - \text{MeCHO}$		725
710	0,3	$M - \text{MeCH}=\text{CH}_2$		713
705	1,0	$M - \text{H}_2\text{O} - \text{CHMe}_2$		708
692	1,0	$M - \text{H}_2\text{O} - \text{MeCH}=\text{CH}_2$		695
689	1,0	$M - \text{H}_2\text{O} - \text{COOMe}$		689
622	1,4	B		622
604	3,1	$B - \text{H}_2\text{O}$		604
594	3,1	B'		594
577	7,2	$B' + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{67}\text{N}_3\text{O}_3$	577
576	8,0	$B' - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{66}\text{N}_3\text{O}_3$	576
523	10,8	B	$\text{C}_{31}\text{H}_{59}\text{N}_2\text{O}_4$	523
505	57,5	$B - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{31}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_3$	505
496	1,8	$B' + \text{H}$		496
495	2,2	B'		495
478	25,0	$B' + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		478
477	57,5	$B' - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{30}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_2$	477
424	7,2	A		424
406	2,7	$A - \text{H}_2\text{O}$		406
396	2,0	A'		396
379	6,1	$A' + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{25}\text{H}_{49}\text{NO}$	379
378	9,2	$A' - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{25}\text{H}_{48}\text{NO}$	378
344	0,5	a	$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4$	347
323	1,5	$\text{C}_{21}\text{H}_{43}\text{CO}^+$		323
310	1,0	$a - \text{H}_2 - \text{MeOH}$		310
245	7,5	b	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3$	248
241	3,2	$b - \text{H}_2 - \text{MeOH}$		241
197	5,9	e		197
183	2,6	θ	$\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2$	183
182	3,0	z	$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$	182
146	8,0	v	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{NO}_2$	149
72	100,0	$ж$		72

* В масс-спектре присутствуют пики метастабильных ионов m^* 487,6; 459,7; 450,6 и 443,6, отвечающие превращениям ионов: m/z 523 \rightarrow m/z 505, m/z 495 \rightarrow m/z 477, m/z 505 \rightarrow m/z 477 и m/z 748 \rightarrow m/z 576 соответственно.

видно, элиминирование H_2O или AcOH происходит из треонинового остатка. Массовые числа ионов, содержащих дегидратированный треониновый остаток, в спектрах соединений (Ia') и (Ib') совпадают.

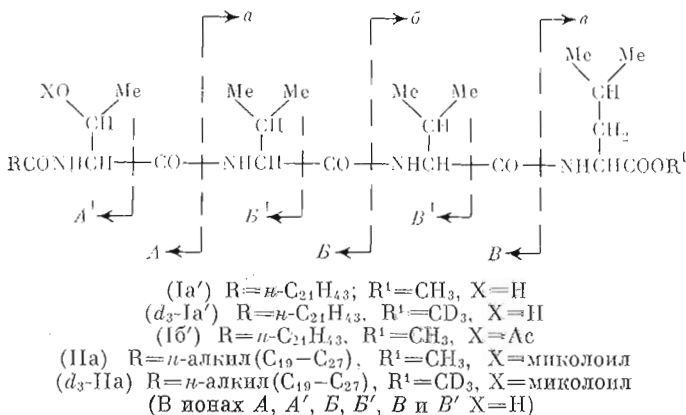
Еще одна диагностически важная серия ионов в масс-спектре эфира (Ia') представлена фрагментами a , b и v , которые, как и амидные фрагменты (A , B и B'), образуются в результате разрыва амидной связи $\text{CO}-\text{NH}$, однако заряд при этом локализуется на карбометоксилсодержащем фрагменте. Образование ионов a , b и v сопровождается миграцией двух атомов водорода к указанным фрагментам. В масс-спектре дейтероаналога ($d_3\text{-Ia}'$) пики этих ионов смещаются на три единицы массы в область больших массовых чисел, но сохраняют свое положение в спектре ацетата (Ib'). Структуры ионов a , b и v подтверждены также результатами точного измерения их массовых чисел.

В области низких величин m/z масс-спектров соединений (Ia') и (Ib') заметную интенсивность имеют пики ионов с m/z 182 (z), 183 (θ) и 197 (e) — возможные структуры этих ионов представлены ниже. Максимальным в обоих спектрах является пик иона $ж$ с m/z 72, возникающего из валинового остатка.



Выяснение основных закономерностей масс-спектрометрического поведения синтетического метилового эфира N-докозаноилтетрапептида (Ia') позволило однозначно установить структуру N-ацилпептидной цепи нативного пептидолипида (II). Основная трудность интерпретации масс-спектра метилового эфира (IIa) обусловлена тем, что последний представляет собой смесь гомологов. Вследствие этого, во-первых, относительная интенсивность пиков фрагментов распада каждого из гомологичных молекулярных ионов резко снижается; во-вторых, поскольку жирноацильные остатки компонентов липидной фракции различаются на две метиленовые группы, т. е. на 28 единиц массы, пики некоторых аминокислотных и альдиминных фрагментов, образующихся из ближайших гомологов, совпадают. В таких случаях правильное отнесение пиков может быть сделано лишь при помощи масс-спектрометрии высокого разрешения.

Схема 2



В основном фрагментация гомологичных молекулярных ионов компонентов фракции метиловых эфиров (IIa) следует тем же закономерностям, которые были установлены при масс-спектрометрии модельных соединений (Ia') и (Ib'). Однако в спектре эфира (IIa) (табл. 4) пики молекулярных ионов отсутствуют, а наибольшие массовые числа соответствуют ионам типа $[M - \text{XOH}]^+$ (X=OССН(R')СН(ОН)R), возникающим в результате элиминирования молекулярными ионами молекулы миколовой кислоты. Наличие в масс-спектре пиков указанных ионов доказывает, что карбоксильная группа в молекулах компонентов фракции (IIa) принадлежит одному из аминокислотных остатков, а миколовая кислота этерифицирует гидроксильную группу треонинового остатка. В масс-спектре дейтерометилового эфира (d₃-IIa), полученного в результате обработки эфира (IIa) раствором CD₃ONa в CD₃OD, пики ионов $[M - \text{XOH}]^+$ смещены в область больших массовых чисел на три единицы, что подтверждает их структуры. Вывод о последовательности аминокислотных остатков в молекулах эфиров (IIa), а следовательно, и пептидолипида (II) сделан на основании сравнения характера распада пептидных цепей в молекулярных ионах соединения (Ia') и компонентов фракции (IIa).

Основные пики в масс-спектре синтетического ацетата
метилового эфира
N-докозаноил-L-треонил-L-валил-L-валил-L-лейцина (Iб') *

m/z	$I_{\text{отн}}, \%$	Тип иона	Найденная брутто-формула
808	0,9	M^+	
793	0,3	$M - \text{Me}^{\bullet}$	
777	0,7	$M - \text{MeOH}$	
766	1,2	$\left\{ \begin{array}{l} M - \text{CH}_2\text{CO} \\ M - \text{MeCH}=\text{CH}_2 \end{array} \right.$	
752	0,8	$M - \text{Me}_2\text{C}=\text{CH}_2$	
748	2,9	$M - \text{AcOH}$	
733	0,5	$M - \text{AcOH} - \text{Me}^{\bullet}$	
722	0,7	$M - \text{CH}_2=\text{CHOAc}$	
717	0,6	$M - \text{AcOH} - \text{MeO}^{\bullet}$	
706	0,3	$M - \text{AcOH} - \text{MeCH}=\text{CH}_2$	
692	0,6	$M - \text{AcOH} - \text{Me}_2\text{C}=\text{CH}_2$	
664	4,1	B	
637	6,0	$B + \text{H}$	
636	9,8	B'	$\text{C}_{37}\text{H}_{70}\text{N}_3\text{O}_5$
604	4,2	$B - \text{AcOH}$	
577	6,1	$B' + \text{H} - \text{AcOH}$	$\text{C}_{15}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4$
576	5,5	$B' - \text{AcOH}$	
565	8,4	B	$\text{C}_{33}\text{H}_{61}\text{N}_2\text{O}_3$
538	4,4	$B' + \text{H}$	
537	2,7	B'	
505	87,0	$B - \text{AcOH}$	$\text{C}_{31}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_3$
478	14,0	$B' + \text{H} - \text{AcOH}$	$\text{C}_{30}\text{H}_{58}\text{N}_2\text{O}_2$
477	27,9	$B' - \text{AcOH}$	$\text{C}_{30}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_2$
466	18,4	A	$\text{C}_{28}\text{H}_{52}\text{NO}_4$
438	3,1	A'	
406	11,5	$A - \text{AcOH}$	$\text{C}_{26}\text{H}_{48}\text{NO}_2$
379	7,0	$A' + \text{H} - \text{AcOH}$	
378	14,8	$A' - \text{AcOH}$	$\text{C}_{25}\text{H}_{48}\text{NO}$
344	1,0	a	$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4$
323	2,2	$\text{C}_{21}\text{H}_{43}\text{CO}^+$	
245	8,7	b	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3$
197	6,2	e	
183	5,4	d	$\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2$
182	6,9	z	$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$
146	10,7	v	$\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NO}_2$
72	100,0	$ж$	

* В масс-спектре присутствуют пики метастабильных ионов m^* 326,2; 423,7; 443,6 и 451,4, отвечающие превращениям ионов: m/z 438 \rightarrow m/z 378, m/z 537 \rightarrow m/z 477, m/z 748 \rightarrow m/z 576 и m/z 565 \rightarrow m/z 505.

В масс-спектре вещества (IIa) присутствуют пики ионов всех типов, характерных для фрагментации пептидной цепи молекулярного иона эфира (Ia'). В отличие от спектра ацетата (Iб') в масс-спектре эфира (IIa) отсутствуют пики фрагментов, содержащих O-ацильный остаток (в данном случае остаток миколовой кислоты). Треониновый остаток в ионах типа A, B, B и A', B', B', как в случае эфира (Ia'), имеет свободную гидроксильную группу. Аналогичная картина наблюдается и в масс-спектре ацетильного производного (IIб), что еще раз говорит о замещенном состоянии гидроксильной группы треонинового остатка в молекуле нативного липида (II). Возможно, предшественниками вышеуказанных ионов являются ионы типа $[M - \text{RCH}(\text{OH})\text{C}(\text{R}')=\text{C}=\text{O}]^+$, образующиеся за счет потери молекулярным ионом молекулы жирного кетена, или же процесс их образования протекает в иной последовательности: вначале происходит разрыв пептидной цепи, а затем элиминирование кетена из заряженного фрагмента. Специфическая особенность распада молекулярных ионов с ненасыщенными N-ацильными остатками состоит в появлении ионов типа

Основные пики в масс-спектре метилового эфира пептидолипиды (IIa) *

m/z	$I_{\text{отн}}, \%$	Тип иона	Брутто-формула	m/z по масс-спектру d_3 -IIa
830	0,5	$M_1 - \text{XOH}$		833
802	1,8	$M_2 - \text{XOH}$		805
776	0,8	$M_3 - \text{XOH}$		779
774	1,4	$M_4 - \text{XOH}$		777
748	0,5	$M_5 - \text{XOH}$		751
720	0,2	$M_6 - \text{XOH}$		723
703	0,2	$B_1 - \text{H}$		703
685	0,2	$B_1 - \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		685
676	0,4	B'_1		676
675	0,6	$B_2 - \text{H}$		675
659	0,7	$B'_1 + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		659
658	0,6	$B'_1 - \text{H}_2\text{O}$		658
657	0,6	$B_2 - \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		657
650	0,2	B_3		650
648	0,4	B'_2		648
647	0,6	$B_4 - \text{H}$		647
632	1,6	$B_3 - \text{H}_2\text{O}$		632
631	2,4	$B'_2 + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		631
630	0,8	$B'_2 - \text{H}_2\text{O}$		630
629	0,6	$B'_4 - \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		629
623	0,2	$B'_3 + \text{H}$		623
622	0,4	B'_3 и B_5		622
621	0,2	$B'_4 + \text{H}$		621
620	0,3	B'_4		620
605	1,4	$B'_3 + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		605
505	42,2	$\left\{ \begin{array}{l} A_1 - \text{H} \\ B'_3 - \text{H}_2\text{O} \\ B_5 - \text{H}_2\text{O} \end{array} \right.$	$\text{C}_{32}\text{H}_{59}\text{NO}_3$	505
504	3,3	$B'_4 + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{31}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_3$	504
503	4,2	$B'_4 - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{32}\text{H}_{59}\text{N}_2\text{O}_2$	503
495	0,4	B'_5 и B_6		495
487	0,8	$A_1 - \text{H}_2\text{O}$		487
479	3,5	$A'_1 + \text{H}$		479
478	3,2	A'_1 и $B'_5 + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		478
477	5,3	$\left\{ \begin{array}{l} A_2 - \text{H} \\ B'_5 - \text{H}_2\text{O} \\ B_6 - \text{H}_2\text{O} \end{array} \right.$	$\text{C}_{30}\text{H}_{55}\text{NO}_3$ $\text{C}_{30}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_2$ $\text{C}_{29}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_3$	477
461	0,9	$A'_1 + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		461
460	1,3	$\left\{ \begin{array}{l} A_1 - \text{H}_2\text{O} \\ A_2 - \text{H}_2\text{O} \end{array} \right.$		460
452	1,3	A_3		452
451	1,0	$A_2 + \text{H}$		451
450	1,4	$\left\{ \begin{array}{l} A_2 \\ A_4 \end{array} \right.$	$\text{C}_{28}\text{H}_{52}\text{NO}_3$	450
449	1,3	$\left\{ \begin{array}{l} A_1 - \text{H} \\ B'_6 - \text{H}_2\text{O} \end{array} \right.$	$\text{C}_{28}\text{H}_{51}\text{NO}_3$	449
434	1,4	$A_3 - \text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{28}\text{H}_{52}\text{NO}_2$	434
433	1,5	$B'_2 + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$		433
432	1,4	$A_4 - \text{H}_2\text{O}$		432

m/z	$I_{\text{отн}}, \%$	Тип иона	Брутто-формула	m/z по масс-спектру d_5 -ГлА
424	1,1	A'_3 и A_5		424
422	0,6	A'_4		422
604	2,0	$B'_1 - H$ $B'_3 - H_2O$ $B'_5 - H_2O$		604
603	2,0	$B'_4 + H - H_2O$		603
602	0,5	$B'_4 - H_2O$		602
594	0,3	B'_5 и B_6		594
587	1,1	$B_1 - H_2O$		587
595	0,15	$B'_5 + H$		595
578	1,4	$B'_1 + H$		578
577	1,3	B'_1 и $B'_5 + H - H_2O$		577
576	1,1	B'_2 $B'_5 - H_2O$ $B'_6 - H_2O$		576
559	4,9	$B_2 - H_2O$ $B_1 - H_2O$	$C_{33}H_{63}N_2O_3$	559
551	1,3	B_3		551
549	0,8	B'_2 и $B'_6 + H - H_2O$		549
548	0,5	$B'_4 - H$ $B'_6 - H_2O$		548
533	10,7	$B_3 - H_2O$	$C_{33}H_{61}N_2O_3$	533
532	4,4	$B'_2 + H - H_2O$		532
531	7,4	$B'_4 - H_2O$ $B'_2 - H_2O$	$C_{33}H_{59}N_2O_3$	531
524	0,5	$B'_3 + H$		524
523	0,9	B'_3 B_5	$C_{22}H_{63}N_2O_3$	523
521	0,4	B_4		521
406	2,4	$A'_3 - H_2O$ $A_5 - H_2O$ $C_{27}H_{53}CO^+ + H$	$C_{26}H_{48}NO_2$ $C_{28}H_{54}O$	406
405	1,4	$A'_4 + H - H_2O$		405
404	1,3	$A'_4 - H_2O$		404
396	0,5	A'_5 и A_6		396
378	1,6	$A'_5 - H_2O$ $A_6 - H_2O$ $C_{25}H_{49}CO^+ + H$	$C_{25}H_{48}NO$ $C_{26}H_{50}O$	378
368	0,5	A_6		368
350	0,8	$A'_6 - H_2O$		350
344	0,8	a	$C_{17}H_{34}N_3O_4$	347
245	8,7	b	$C_{12}H_{25}N_2O_3$	248
241	2,8	$b - H_2 - MeOH$	$C_{11}H_{19}N_2O_2$	241
197	3,5	e		197
183	1,9	d	$C_9H_{15}N_2O_2$	183
182	1,6	c		182
146	8,0	v	$C_7H_{16}NO_2$	149
72	100,0	$ж$		72

* Цифровые индексы — 1, 2, 3, 4, 5 или 6 — при буквенных обозначениях ионов указывают структуру жирнокислотного остатка в данном ионе — $R = C_{27}H_{53}$, $C_{25}H_{49}$, $C_{23}H_{47}$, $C_{23}H_{45}$, $C_{21}H_{43}$ или $C_{19}H_{39}$ соответственно.

$[A - H]^+$, $[B - H]^+$ и $[B' - H]^+$, интенсивность пиков которых выше, чем у пиков фрагментов A , B и B' . Судя по имеющимся в масс-спектре пикам метастабильных ионов, предшественниками фрагментов $[A - H_2O]^+$, $[A' - H_2O]^+$ и подобных им ионов с дегидратированным треониновым остатком являются гидроксилсодержащие ионы A , A' и т. п., а также ионы типа $[M - \text{XOH}]^+$. Как и в спектре соединения (Ia'), пики ионов с ненасыщенным аминокислотным остатком более интенсивны по сравнению с пиками соответствующих гидроксилсодержащих фрагментов (A , A' , B , B' , B , B'). Величины массовых чисел всех рассмотренных выше характеристических ионов масс-спектра метиловых эфиров (IIa) дают основание считать, что N-ацилпептидные цепи компонентов этой фракции построены так же, как в молекуле синтетического метилового эфира N-ацилтетрапептида (Ia'). Найденная аминокислотная последовательность в молекулах эфиров (IIa) доказывается также наличием в масс-спектре пиков ионов a , b и c с m/z 344, 245 и 146, структура которых подтверждается сдвигом их пиков на три единицы массы в спектре дейтероаналогата (d_3 -IIa) и, кроме того, измеренными точными величинами массовых чисел.

Вышеизложенные результаты масс-спектрометрического анализа не позволяют определить число миколоидных остатков в молекуле пептидолипида (II). Мы установили его на основании данных элементного анализа метилового эфира (IIa). Содержание азота в этой фракции находится в пределах 4,1192–4,1310% (по результатам пяти определений), что отвечает «среднему молекулярному весу» фракции 1356–1359. Отсюда следует, что в состав молекул компонентов липидной фракции входит только один миколоидный остаток, и, таким образом, основной кислотный пептидолипид в клетках *M. paraffinicum* имеет структуру N-ацил(C₂₀–C₂₈)-L-(O-миколоил)треонил-L-валил-L-валил-L-лейцина (II). Насколько нам известно, пептидолипиды, содержащие остатки миколовых кислот, до сих пор не обнаруживали.

Экспериментальная часть

Выделение пептидолипида (II) из клеток *M. paraffinicum* см. в предыдущем сообщении [1].

Для хроматографии на колонках использовали силикагель JI с размером частиц 100–160 мкм (Lachema, ЧССР), который предварительно обрабатывали ранее описанным способом [1]. ТСХ природных липидов, их производных и продуктов деградации проводили на готовых пластинках с закрепленным слоем (0,25 мм) силикагеля 60 F₂₅₄ (Merck, ФРГ). Вещества на хроматограммах обнаруживали по их флуоресценции в УФ-свете, а также следующими реагентами: 50% H₂SO₄ с последующим обугливанием при ~200° С, бензидиновым реагентом [7] после инкубирования пластинок в атмосфере хлора. Для ТСХ синтезированных веществ применяли силюфол, вещества обнаруживали бензидиновым реагентом и 5% раствором фосфорномолибденовой кислоты в этаноле (пластинки нагревали 10 мин при 100–110° С).

Использовали указанные в предыдущих сообщениях [1, 2] условия кислотного гидролиза пептидолипида, методы, приборы и условия для анализа аминокислот, миколовых и незамещенных жирных кислот, приборы и условия для ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и измерения оптического вращения. Температуры плавления (не исправлены) синтезированных соединений определяли на нагревательном столике «Voetius» (ГДР).

Метилловый эфир пептидолипида (IIa). Раствор 10 мг пептидолипида (II) в 1 мл CHCl₃ обрабатывали при 20° С избытком эфирного раствора диазометана. Через 15 мин смесь упаривали досуха, остаток растворяли в 5 мл смеси CHCl₃ – MeOH (3 : 1), раствор смешивали с 1 г силикагеля и смесь высушивали 1 ч на ротаторном испарителе при 30–35° С/10–15 мм. Сухой остаток суспендировали в CHCl₃ и вносили в колонку (15×2 см), заполненную силикагелем в CHCl₃. Колонку промывали 100 мл CHCl₃,

после чего 80 мл CHCl_3 , содержащего 1% MeOH , элюировали 9 мг метилового эфира (IIa), R_f 0,55 (CHCl_3 — MeOH , 40 : 1), 0,8 (CHCl_3 — MeOH — AcOH , 30 : 1 : 0,1); $[\alpha]_D^{22}$ $-8,5^\circ$ (CHCl_3 — MeOH , 2 : 1, c 0,23). ИК-спектр (пленка вещества; $\nu_{\text{макс}}$, см^{-1}): 3275, плечо 3380 ($\nu_{\text{N-H}}$ и $\nu_{\text{O-H}}$), 3078 ($\nu_{\text{N-H}}$), 1741 ($\nu_{\text{C=O}}$ в сложном эфире), 1633, плечо 1646 ($\nu_{\text{C=O}}$ в амиде), 1498 ($\delta_{\text{N-H}}$), 1215, 1155 ($\nu_{\text{C-O}}$).

Дейтерометиловый эфир пептидолипида (d_3 -IIa). К раствору 3 мг метилового эфира (IIa) в 0,5 мл безводного CHCl_3 добавляли при 20°C 0,2 мл 0,5% раствора CD_3ONa в CD_3OD , смесь оставляли на 2 ч при той же температуре, подкисляли ледяной AcOH до pH 5 и упаривали досуха. Остаток растворяли в 2 мл смеси CHCl_3 — MeOH (2 : 1), раствор встряхивали с 0,4 мл воды и смесь оставляли до полного разделения фаз. После упаривания нижней фазы получили дейтерометиловый эфир (d_3 -IIa), не отличающийся по подвижности при ТСХ от метилового эфира (IIa).

Ацетат метилового эфира (IIб). К раствору 5 мг метилового эфира (IIa) в 0,5 мл CHCl_3 и 0,5 мл безводного пиридина добавляли при 20°C 0,5 мл уксусного ангидрида и 2 мг 4-диметиламинопиридина. Смесь оставляли на 48 ч при 20°C , после чего упаривали досуха. Остаток растворяли в 1 мл CHCl_3 и раствор наносили на колонку, заполненную 2 г силикагеля в CHCl_3 . Колонку промывали 25 мл CHCl_3 , затем 25 мл CHCl_3 , содержащего 1% MeOH , вымывали ацетат (IIб), R_f 0,65 (CHCl_3 — MeOH , 50 : 1). ИК-спектр (пленка вещества; $\nu_{\text{макс}}$, см^{-1}): 3280 и 3078 ($\nu_{\text{N-H}}$), 1737 ($\nu_{\text{C=O}}$ в сложном эфире), 1632 ($\nu_{\text{C=O}}$ в амиде), 1498 ($\delta_{\text{N-H}}$), 1222, 1155 ($\nu_{\text{C-O}}$).

Щелочной метанолиз метилового эфира пептидолипида (IIa). К раствору 5 мг метилового эфира (IIa) в 1 мл безводного свежеперегнанного тетрагидрофурана добавляли 0,5 мл 0,5% раствора MeONa в MeOH . Смесь кипятили 6 ч и оставляли на 12 ч при 20°C , после чего нейтрализовали ледяной AcOH и упаривали досуха. Остаток экстрагировали 2 мл CHCl_3 , экстракт наносили на колонку (10×1 см), заполненную силикагелем в CHCl_3 ; 20 мл CHCl_3 вымывали метиловые эфиры миколовых кислот, R_f 0,35 (гексан—эфир, 7 : 3). Последние O -метиловали иодистым метилом в присутствии окиси серебра [4] и анализировали на хроматографе «Varian 2100», снабженном пламенно-ионизационным детектором и колонкой (2000×2 мм) с 3% силикона SE-30 на хроматоне W-HP (80—100 меш), температурный режим колонки: $200 \rightarrow 320^\circ\text{C}$ ($6^\circ\text{C}/\text{мин}$); газ-носитель — гелий (30 мл/мин). Кроме того, 3- O -метилпроизводные метиловых эфиров миколовых кислот анализировали методом ГЖХ-масс-спектрометрии на хроматомасс-спектрометре LKB 9000 (Швеция). Для ГЖХ использовали вышеуказанную колонку в тех же условиях.

*Метиловый эфир *N*-трет-бутилоксикарбонил-*L*-валил-*L*-лейцина (IV).* К раствору 2,17 г (10 ммоль) *N*-трет-бутилоксикарбонил-*L*-валина (III) (Reanal, Венгрия) и 1,4 мл (10 ммоль) триэтиламина в 10 мл безводного тетрагидрофурана добавляли при перемешивании и -5°C раствор 1,4 мл (10 ммоль) этилового эфира хлоругольной кислоты в 2 мл безводного тетрагидрофурана. Смесь перемешивали 15 мин при той же температуре, после чего к ней добавляли раствор 1,82 г (10 ммоль) хлоридрата метилового эфира *L*-лейцина и 2,8 мл (20 ммоль) триэтиламина в 10 мл безводного диметилформамида. Смесь оставляли на 8 ч при 20°C , затем фильтровали, фильтрат упаривали досуха, остаток растворяли в 20 мл этилацетата. Раствор промывали насыщенным раствором NaHCO_3 , водой, 10% лимонной кислотой, снова водой (по 10 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали досуха. Остаток перекристаллизовывали из смеси гексан—этилацетат. Получили 1,57 г (45%) метилового эфира *N*-трет-бутилоксикарбонил-*L*-валил-*L*-лейцина (IV), R_f 0,75 (CHCl_3 —этилацетат, 15 : 1), т. пл. 131 — $133,5^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{19}$ -23° (CHCl_3 ; c 0,65). ИК-спектр (пленка вещества; $\nu_{\text{макс}}$, см^{-1}): 3315, 3275, 3073 ($\nu_{\text{N-H}}$), 1748 ($\nu_{\text{C=O}}$ в COOMe), 1685 ($\nu_{\text{C=O}}$ в O - $\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 1648 ($\nu_{\text{C=O}}$ в $\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 1553, 1522 ($\delta_{\text{N-H}}$). Масс-спектр: m/z 344 (M^+).

Полученный эфир (IV) растворяли в 10 мл безводной трифторуксусной кислоты, раствор оставляли на 30 мин при 20° С, затем разбавляли 20 мл эфира и отфильтровывали трифторацетат метилового эфира *L*-валил-*L*-лейцина (V), который промывали на фильтре 15 мл эфира и высушивали 4 ч при 25° С/0,5 мм.

Метиловый эфир N-трет-бутилоксикарбонил-L-валил-L-валил-L-лейцина (VI). К раствору 2,17 г (10 ммоль) *N*-трет-бутилоксикарбонил-*L*-валина (III) и 1,4 мл (10 ммоль) триэтиламина в 10 мл безводного тетрагидрофурана добавляли при перемешивании при ~0° С раствор 1,3 мл (10 ммоль) изобутилового эфира хлоруксусной кислоты в 2 мл тетрагидрофурана. Смесь перемешивали 15 мин при ~0° С, после чего к ней добавляли раствор 3,58 г (10 ммоль) трифторацетата метилового эфира *L*-валил-*L*-лейцина (V) и 2,78 мл (20 ммоль) триэтиламина в 10 мл безводного тетрагидрофурана. Смесь оставляли на 12 ч при 20° С и обрабатывали как описано выше. Получили 3,46 г (68%) метилового эфира *N*-трет-бутилоксикарбонил-*L*-валил-*L*-валил-*L*-лейцина (VI), R_f 0,3 (CHCl₃ — этилацетат, 15 : 1), т. пл. 174—176,5° С (гексан — этилацетат), $[\alpha]_{589}^{20} -50^\circ$, $[\alpha]_{579}^{20} -57^\circ$, $[\alpha]_{405}^{20} -118^\circ$, $[\alpha]_{302}^{20} -343^\circ$ (при 20° С, CHCl₃, c 1,0). ИК-спектр (пленка вещества; ν_{max} , см⁻¹): 3300, 3082 ($\nu_{\text{N-H}}$), 1748 ($\nu_{\text{C=O}}$ в COOMe), 1695 ($\nu_{\text{C=O}}$ в O—C(=O)NH), 1645 ($\nu_{\text{C=O}}$ в C—C(=O)NH), 1540 ($\delta_{\text{N-H}}$). Масс-спектр: m/z 443 (M^+).

Аналогично эфиру (IV) полученный эфир (VI) превращали в трифторацетат (VII).

N-Докозаноилуксисукцинимид (VIII). К раствору 3,4 г (10 ммоль) *n*-докозановой кислоты (Fluka, Швейцария) и 1,15 г (10 ммоль) *N*-оксисукцинимида в 150 мл CHCl₃ добавляли при перемешивании и ~0° С раствор 2,06 г (10 ммоль) дициклогексилкарбодимида в 20 мл CHCl₃. Смесь оставляли на 24 ч при 20° С, выпавший осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали досуха, кристаллический осадок перекристаллизовывали из MeOH. Получили 2,0 г (46%) *N*-докозаноилуксисукцинимида (VIII), R_f 0,7 (CHCl₃), т. пл. 91—93° С (т. пл. 91—94° С [8]).

N-Докозаноил-*L*-треонин (IX). К раствору 298 мг (2,5 ммоль) *L*-треонина (Reanal, Венгрия) и 220 мг (2,6 ммоль) NaHCO₃ в 120 мл 50% водного тетрагидрофурана добавляли раствор 1,09 г (2,5 ммоль) *N*-докозаноилуксисукцинимида (VIII) в 20 мл тетрагидрофурана. Смесь оставляли на 24 ч при 20° С, после чего подкисляли 6 н. HCl до pH 3 и упаривали на 3/4 первоначального объема. Выпавший кристаллический осадок отфильтровывали, промывали водой, высушивали в вакууме над безводным CaCl₂ до постоянного веса и растворяли в 30 мл тетрагидрофурана. Раствор смешивали с 10 г силикагеля, смесь сушили 40 мин на роторном испарителе при 30° С/15 мм и суспендировали в CHCl₃. Суспензию вносили в колонку (20×3 см), заполненную силикагелем в CHCl₃. Колонку промывали 200 мл смеси CHCl₃ — MeOH (80 : 1) и 250 мл смеси CHCl₃ — MeOH (20 : 1). Второй элюат упаривали досуха, кристаллический остаток перекристаллизовывали из этилацетата. Получили 1,03 г (93%) *N*-докозаноил-*L*-треонина (IX), R_f 0,3 (CHCl₃ — этилацетат, 15 : 1), т. пл. 96—98° С, $[\alpha]_{579}^{20} -15,3^\circ$, $[\alpha]_{546}^{20} +11,7^\circ$, $[\alpha]_{407}^{20} +26,5^\circ$ (при 18° С, CHCl₃, c 1,1). ИК-спектр (пленка вещества; ν_{max} , см⁻¹): 3523 ($\nu_{\text{O-H}}$ в C—OH), 3320 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2645 ($\nu_{\text{O-H}}$ в COOH), 1712 ($\nu_{\text{C=O}}$ в COOH), 1655 ($\nu_{\text{C=O}}$ в амиде), 1553 ($\delta_{\text{N-H}}$).

При действии избытка раствора диазометана в эфире докозаноилтреонин (IX) количественно превращался в соответствующий метиловый эфир. Масс-спектр: m/z 455 (M^+), 437 ($M - H_2O$), 424 ($M - MeOH$), 411 ($M - MeCHO$), 323 (C₂₁H₄₃CO⁺), 131 ($M - H - C_{21}H_{43}CO^+$).

Метиловый эфир N-докозаноил-L-треонил-L-валил-L-валил-L-лейцина (Ia'). К раствору 441 мг (1 ммоль) *N*-докозаноил-*L*-треонина (IX), 456 мг (1 ммоль) трифторацетата (VII) и 0,14 мл (1 ммоль) триэтиламина в 30 мл смеси CHCl₃ — диметилформамид (1 : 1) добавляли при ~0° С раствор 206 мг (1 ммоль) дициклогексилкарбодимида в 5 мл диметилформамида.

Смесь оставляли при 20° С на 24 ч, фильтровали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 5 мл CHCl_3 и вносили в колонку (15×2 см), заполненную силикагелем в CHCl_3 . Колонку промывали 300 мл CHCl_3 , а затем 200 мл смеси CHCl_3 — MeOH (50:1). Второй элюат упаривали досуха, остаток перекристаллизовывали из этилацетата. Получили 80 мг (10,5%) метилового эфира N-докозаноил-L-треонил-L-валил-L-лейцина (Ia'), т.пл. 237–239,5° С, $[\alpha]_{589}^{20} -4,4^\circ$, $[\alpha]_{365}^{20} -7,4^\circ$, $[\alpha]_{312}^{20} -14,8^\circ$ (при 20° С, CHCl_3 , с 0,4). ИК-спектр (пленка вещества; $\nu_{\text{макс}}$, cm^{-1}): 3280 ($\nu_{\text{O-H}}$ и $\nu_{\text{N-H}}$), 3087 ($\nu_{\text{N-H}}$), 1745 ($\nu_{\text{C=O}}$ в COOMe), 1630 ($\nu_{\text{C=O}}$ в амидах), 1552 ($\delta_{\text{N-H}}$). При ТСХ на силуфоле и на пластинках с силикагелем 60 (Merck) эфир (Ia') не отличался по подвижности от продукта метанолиза (Ia) пептидолипида (I), R_f 0,45 и 0,4 соответственно в системе CHCl_3 — MeOH (20:1).

Дейтерометилловый эфир (d_3 -Ia') получали из эфира (Ia') аналогично дейтерометилловым эфирам (d_3 -IIa). Действием смеси уксусного ангидрида и пиридина (1:1) на эфир (Ia') (6 ч, 20° С) получали ацетат (Ib'), который не отличался по подвижности при ТСХ на силикагеле 60 от ацетилпроизводного (Ib), R_f 0,65 (CHCl_3 — MeOH , 20:1).

ЛИТЕРАТУРА

1. Батраков С. Г., Муратов В. Б., Бергельсон Л. Д., Коронелли Т. В. Липиды микобактерий. VI. Пептидолипиды парафиноксилирующей бактерии *Mycobacterium paraffinicum*. Выделение и общая характеристика.— Биоорг. химия, 1981, т. 7, № 7, с. 1075–1086.
2. Батраков С. Г., Муратов В. Б., Розынов Б. В., Решетова О. С., Бергельсон Л. Д., Коронелли Т. В. Липиды микобактерий. V. Циклотетрапептид, ацилированный жирной кислотой, из *Mycobacterium paraffinicum*.— Биоорг. химия, 1981, т. 7, № 4, с. 563–573.
3. Gelpi E., Koenig W. A., Gilbert J., Oro J. Combined gas chromatography-mass spectrometry of amino acid derivatives.— J. Chromatogr. Sci., 1969, v. 7, № 3, p. 604–613.
4. Батраков С. Г., Садовская В. Л., Розынов Б. В., Коронелли Т. В., Бергельсон Л. Л. Липиды микобактерий. II. «Корд-фактор» и масс-спектрометрический анализ миколовых кислот *Mycobacterium paraffinicum*.— Биоорг. химия, 1978, т. 4, № 5, с. 667–681.
5. Neises B., Steglich W. Simple method for the esterification of carboxylic acids.— Angew. Chem. Int. Ed., 1978, V. 17, № 7, S. 522–524.
6. Розынов Б. В. Масс-спектрометрия в биоорганической химии (применение в анализе аминокислот, пептидов и белков).— Итоги науки и техники. Органическая химия. М.: ВИНТИ, 1978, т. 2, гл. 3.
7. Хайс И. М., Мацек К. Хроматография на бумаге. М.: Изд-во иностр. лит., 1962, с. 460, 721.
8. Charles R., Beiter U., Feibush B., Gil-Av E. Separation of enantiomers on packed columns containing optically active diamide phases.— J. Chromatogr., 1975, v. 112, № 1, p. 121–133.

Поступила в редакцию
20.I.1981

LIPIDS OF MYCOBACTERIA. VII. N-ACYLTETRAPEPTIDE WITH A MYCOLIC ACID RESIDUE FROM *MYCOBACTERIUM PARAFFINICUM*

BATRAKOV S. G., MURATOV V. B., ROZYNOV B. V., BERGELSON L. D.,
KORONELLI T. V.

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

The structure of the major acidic peptidolipid produced by the paraffin oxidizing bacterium *Mycobacterium paraffinicum* has been established. On the basis of chemical degradation experiments as well as IR spectroscopy and mass spectrometry data the lipid was characterized as N-acyl(C_{20} — C_{28})-L-(O-mycoloyl)threonyl-L-valyl-L-leucine. N-Docosanoyl-L-threonyl-L-valyl-L-leucine methyl ester and its O-acetate have been synthesized as reference compounds for interpretation of the mass spectra of the peptidolipid derivatives.