

С. Г. БАТРАКОВ, Т. В. ПИЛИПЕНКО,
член-корреспондент АН СССР Л. Д. БЕРГЕЛЬСОН

НОВЫЙ ОРНИТИНСОДЕРЖАЩИЙ ЛИПИД ИЗ АКТИНОМИЦЕТОВ

В настоящем сообщении описывается выделение и установление строения новой липоаминокислоты (I), обнаруженной нами в клетках *Actinomyces* № 660-15, продуцента антибиотика альбофунгина (1, 2).

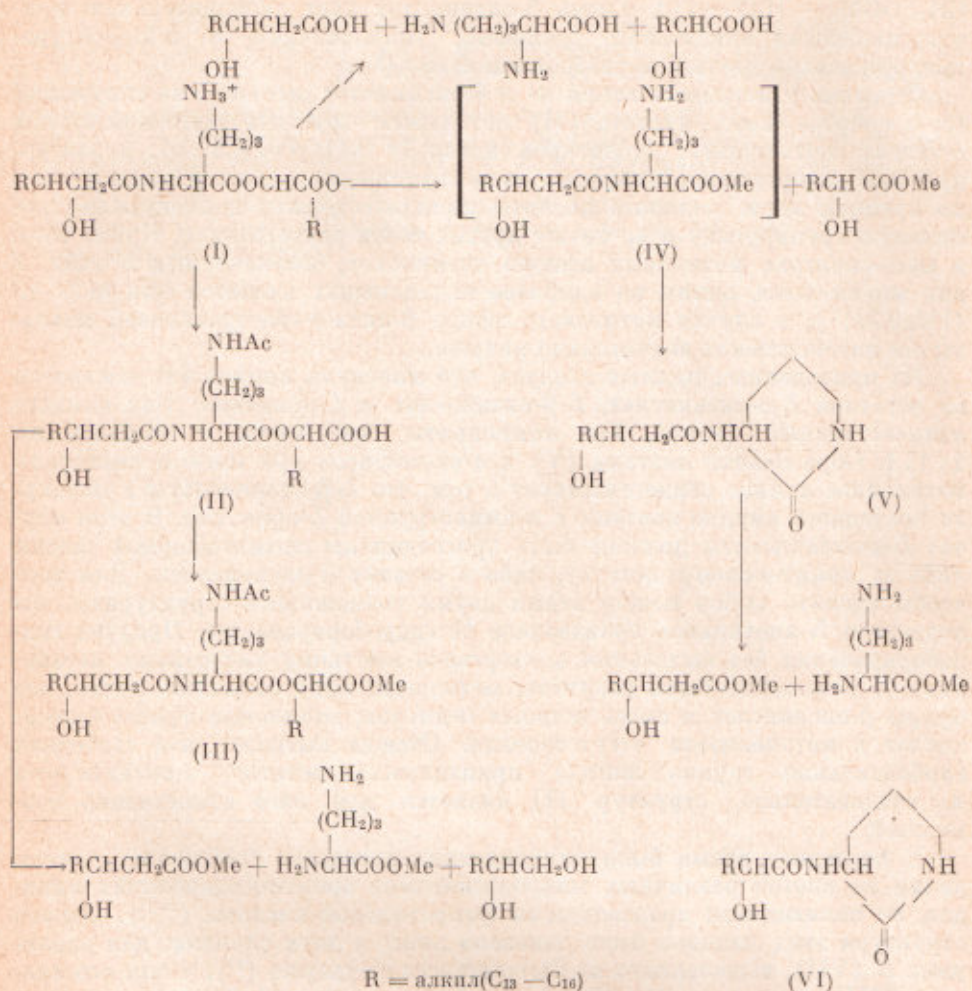
Сумму липидов, экстрагированную из лиофилизованного мицелия смесью CHCl_3 —MeOH (2:1 и 1:1), хроматографировали на колонке с силикагелем марки КСК. Из фракции, элюированной смесью CHCl_3 —MeOH (3:1 → 1:1), хроматографически чистый липид (I) был выделен путем многократной тонкослойной хроматографии на силикагеле КСК в системе CHCl_3 —MeOH—вода (65:25:4) в виде белого порошка с т.пл. 147—148,8°, $[\alpha]_D - 14,5^\circ$ (CHCl_3 —MeOH, 2:1; C 0,27).

В и.к. спектре липоаминокислоты содержатся полосы поглощения спиртовой OH-группы (3452 cm^{-1}), N—H-связи амидной группы (3238 cm^{-1}), NH_3^+ -группы (3080 cm^{-1}), сложноэфирного карбонила (1730 cm^{-1}), амидного карбонила (1638 cm^{-1}), понижированной карбоксильной группы (1596 cm^{-1}). При действии N-ацетоксисукцинимиды в присутствии триэтиламина липид (I) образует N-ацетат (II), $[\alpha]_D + 6,5^\circ$ (CHCl_3 ; C 1,6), дающий после обработки diazometаном соответствующий метиловый эфир (III) (схема 1).

Примечание. Числа над чертой α -окси, под чертой β -окси.

* $V_{\text{отн}}$ — удерживаемый объем метиловых эфиров оксикислот относительно метилового эфира α -оксистеариновой кислоты. Колонна (3000×3 мм) с 5% SE-30 на хромосорбе W, 150°, He.

Строение производных (II) и (III) подтверждено данными и.к. и я.м.р. спектров. При жестком кислотном гидролизе (6*N* HCl, 105°, 24 часа) липид (I) расщепляется на липофильную часть, состоящую, по данным тонкослойной хроматографии, из смеси жирных α - и β -оксикислот, и орнитин, идентифицированный с помощью хроматографии на бумаге, а также в результате исследования на аминокислотном анализаторе. В условиях мягкого кислотного метанолиза (5% HCl в MeOH, 20°, 20 час.) липоаминокислота (I) образует смесь метиловых эфиров жирных α -оксикислот и вещество (IV), превращающееся в лактам (V), $[\alpha]_D - 19,3^\circ$ (CHCl_3 ; C 0,16), при хроматографии на силикагеле. И.к. спектр лактама (V) оказался сходным с и.к. спектром лактама (VI), который мы синтезировали путем конденсации рацемической α -оксипальмитиновой кислоты и *L*- N^+ -карбобензоксирнитина с последующим снятием защитной группировки и циклизацией продукта конденсации. В и.к. спектрах лакта-



мов (V) и (VI) имеются полосы поглощения спиртового гидроксила (3442 см^{-1}), N—H-связи амидной группы (3020 см^{-1}), амидные полосы I и II (1660 и 1518 см^{-1}). При тонкослойной хроматографии в различных системах растворителей оба лактама проявляют одинаковую подвижность. Кривые дисперсии оптического вращения лактамов (V) и (VI) практически идентичны (положительный экстремум при $240 \text{ м}\mu$ и отрицательный псевдоэкстремум при $253 \text{ м}\mu$), что доказывает *L*-конфигурацию орнитинового остатка в липиде (I). Полученные в результате метанолиза липида метиловые эфиры α -оксикислот анализировались с помощью хромато-масс-спектрометра ЛКВ-9000, данные анализа приводятся в табл. 1. В масс-спектрах оксифировов содержатся интенсивные пики m/e 90 и 103, характерные для метиловых эфиров α -оксикислот⁽³⁾, а также пики, соответствующие ионам M^+ , $[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$, $[\text{M} - \text{MeOH}]^+$, $[\text{M} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}]^+$, $[\text{M} - \text{COOMe}]^+$. Смесь α -оксикислот дает положительную кривую дисперсии оптического вращения, на основании чего мы приписали им *L*-конфигурацию⁽⁴⁾.

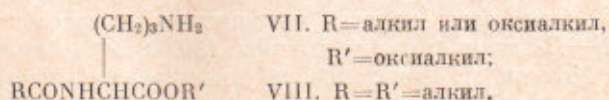
Метаноллиз лактама (V) в жестких условиях (5% HCl в MeOH, 100° , 30 час.) приводит к образованию метилового эфира орнитина и смеси метиловых эфиров жирных β -оксикислот (табл. 1). Масс-спектры последних имеют характерные пики m/e 74 и 103⁽³⁾, а также пики, соответствующие ионам M^+ , $[\text{M} - 1]^+$ (оба незначительной интенсивности),

$[M - H_2O]^+$, $[M - H_2O - MeOH]^+$, $[M - CH_2COOMe]^+$, $[M - CH_2COOMe - H_2O - 1]^+$. Смесь β -оксикислот дает положительную кривую дисперсии оптического вращения, указывающую на *L*-конфигурацию при асимметрическом углеродном атоме (⁴).

Строение углеродных цепей α - и β -оксикислот вытекает из следующего: в спектре я.м.р. ацетата (II) метильным группам жирнокислотных остатков соответствует дублетный сигнал (τ 9,11; $J=6,3$ гц), характерный для изопропильной группы; на основании этого можно считать, что, по крайней мере, основные кислоты липида содержат концевую изопропильную группировку и не имеют других точек разветвления. Кроме того, в масс-спектрах метиловых эфиров оксикислот, обозначенных в табл. 1 как изо-кислоты, одним из наиболее интенсивных является пик m/e 43 ($[Me_2CH]^+$), в случае метилового эфира β -окси-*n*-гексадекановой кислоты его интенсивность значительно меньше.

Из приведенных данных следует, что молекула липида (I) построена из остатков *L*- α -оксикислот, *L*- β -оксикислот и *L*-орнитина. Как показал количественный анализ, эти компоненты содержатся в соотношении 1:1:1. Образование лактама (V) и α -оксиэфиров при мягком кислотном метанолизе липида свидетельствует о том, что *L*- β -оксикислоты в молекуле последнего амидно связаны с α -аминогруппой *L*-орнитина. В этом случае *L*- α -оксикислоты должны быть присоединены сложноэфирной связью либо к орнитинovому остатку, либо к остатку β -оксикислоты. Для того чтобы сделать выбор между этими двумя возможными структурами, мы подвергли *N*-ацетильное производное II гидроборированию. Продукт гидроборирования без выделения подвергался жесткому кислотному метанолизу. В результате были получены метиловый эфир орнитина, метиловые эфиры β -оксикислот и смесь жирных α -диолов; метиловые эфиры α -оксикислот в метанолизате отсутствовали. Отсюда вытекает, что свободная карбоксильная группа липида принадлежит остатку α -оксикислоты и, следовательно, структур (I) является для него единственно возможной.

В последнее время было опубликовано несколько сообщений о выделении из клеток различных микроорганизмов орнитинсодержащих липидов, не являющихся производными фосфатидовой кислоты (⁵⁻¹¹). Однако структура этих липидов была доказана лишь в двух случаях: для сиолипина В (VII), выделенного из *Streptomyces sioyaensis* (¹⁰), и для его аналога (VIII), полученного из *Rhodopseudomonas spheroides* (¹¹):



Липид (I), выделенный нами из *Actinomyces* № 660-15, отличается от вышеуказанных липоаминокислот тем, что в его молекуле вместо алкоксильного остатка содержится остаток α -оксикислоты, вследствие чего липид приобретает характер биполярного иона. Вызывает интерес строгая избирательность позиционного расположения оксиацильных остатков в молекуле липида (I), где *L*- β -оксикислоты образуют только амидные, а *L*- α -оксикислоты — только сложноэфирные связи. Следует отметить, что липид (I) составляет около 35% полярных липидов исследованного актиномицета. Это обстоятельство, а также биполярный характер липида и наличие в его молекуле двух жирных цепей заставляет думать, что он является компонентом клеточных мембран.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ С. М. Рудая, Н. К. Соловьева и др., *Антибиотики*, 3, 99 (1963). ² Г. С. Розенфельд, В. М. Байкина и др., *Антибиотики*, 8, 320 (1963). ³ R. Ryhage, E. Stenhagen, In: F. M. McLafferty, *Mass Spectrometry of Organic Ions*, N. Y., 1963, Ch. 9. ⁴ W. Klyne, P. M. Scopes, In: G. Sznatzke, *Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism in Organic Chemistry*, London, 1967, Ch. 12. ⁵ M.-A. Lannéelle, G. Lannéelle, J. Asselineau, *Biochim. et biophys. acta*, 70, 99 (1963). ⁶ A. Gorchein, *ibid.*, 84, 356 (1964). ⁷ J. A. Depinto, *ibid.*, 144, 113 (1967). ⁸ A. Kimura, J. Kawanami, H. Otsuka, *J. Biochem.*, 62, 384 (1967). ⁹ J. M. Shively, H. W. Knoche, *J. Bacteriol.*, 98, 829 (1969). ¹⁰ J. Kawanami, A. Kimura, H. Otsuka, *Biochim. et biophys. acta*, 152, 808 (1968). ¹¹ A. Gorchein, *ibid.*, 152, 358 (1968).