

Член-корреспондент АН СССР Н. А. КРАСИЛЬНИКОВ,
Т. В. КОРОНЕЛЛИ, Б. В. РОЗЫНОВ

МИКОЛОВЫЕ КИСЛОТЫ *Mycobacterium paraffinicum*

Миколовые кислоты являются обычными компонентами клеточных липидов патогенных и близких к ним видов микобактерий и проактиномицетов (¹, ²). Химически они представляют собой высокомолекулярные (до 80 и более С-атомов) β -оксикислоты с длинной алифатической цепью в α -положении. Хотя эти вещества могут присутствовать в клетках в значительных количествах, роль их до сих пор не выяснена. Неизвестно также, содержатся ли они в клетках сапрофитных почвенных микобактерий.

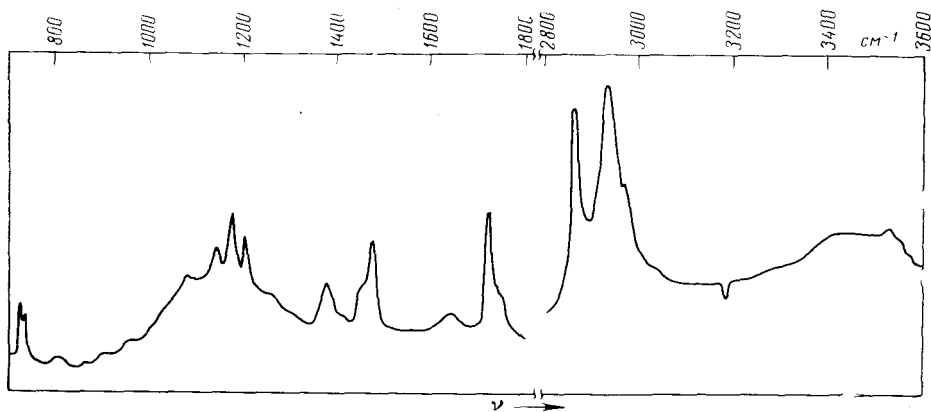


Рис. 1. И.-к. спектр метилового эфира миколовой кислоты *Mycobacterium paraffinicum*, КВг, UR-10

В настоящей работе описаны миколовые кислоты, обнаруженные нами в клеточных липидах почвенной парафиноокисляющей культуры *Mycobacterium paraffinicum*. Ранее нами было установлено, что эта культура при росте в среде с *n*-гексадеканом накапливает в значительных количествах жирорастворимый пептидолипид (³, ⁴). При исследовании продуктов щелочного гидролиза этого пептидолипида оказалось, что основная масса липидного компонента представляет собой неизвестную твердую кислоту, которую на основании данных тонкослойной хроматографии и и.-к. спектровоскопии можно было отнести к ряду высокомолекулярных β -оксикислот.

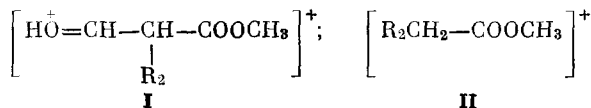
Этерификацией хроматографически чистой кислоты мы получили ее метиловый эфир, который после очистки на пластинке с силикагелем и перекристаллизации из метанола был исследован методами и.-к. спектроскопии и масс-спектрометрии. В и.-к. спектре (рис. 1) этого эфира $C=O$ -группа поглощает при 1720 см^{-1} , тогда как для сложных эфиров высших жирных кислот характерно поглощение при 1740 см^{-1} . Это смещение, как и смещение поглощения в исходной кислоте до 1686 см^{-1} (³), объясняется присутствием OH -группы в β -положении и характерно для миколовых кислот и их эфиров (⁵⁻⁷).

Исследование методом масс-спектрометрии показало, что выделенное вещество представляет собой смесь гомологов миколовых кислот. Согласно

данным Ледерера (8), для масс-спектров метиловых эфиров миколовых кислот

$$\begin{array}{c} R_1-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOCH}_3 \\ | \quad | \\ \text{OH} \quad R_2 \end{array}$$

характерна исчезающе малая интенсивность пика молекулярного иона M^+ и значительно большая интенсивность пика иона $(M - H_2O)^+$. Кроме того, в области низких значений массовых чисел имеются два характерных фрагмента:



Аналогичная картина масс-спектра получена для исследуемой нами смеси эфиров миколовых кислот *Mycobacterium paraffinicum*. В масс-спектре (рис. 2) наблюдается группа пиков с m/e 492, 520, 548, 576, 604, 632, которые отвечают ионам образующимся в результате элиминирования молекул воды из молекулярных ионов исходных эфиров. В области низких значений массовых чисел имеются пики ионов I с m/e 243, 271, 299 и пики ионов II с m/e 214, 242, 270.

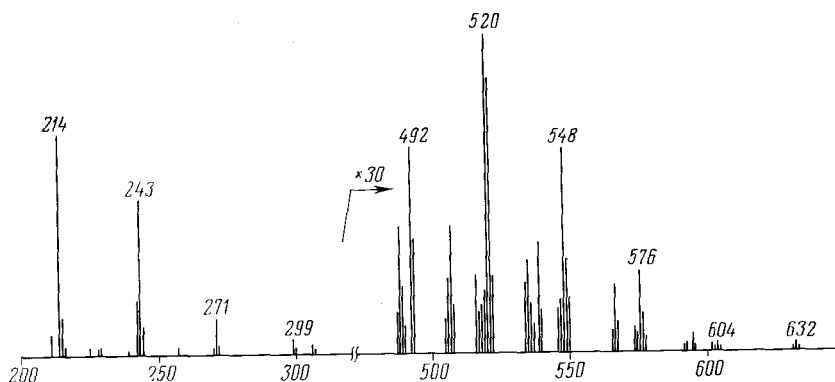
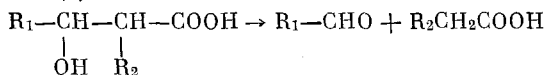


Рис. 2. Масс-спектр метиловых эфиров миколовых кислот *Mycobacterium paraffinicum* при энергии ионизирующих электронов 70 эв и температуре ионизационной камеры 250°

Пиролиз смеси миколовых кислот при 300° в течение 30 мин., как и следовало ожидать, привел к разрыву C—C-связи и образованию жирных кислот и альдегидов (9):



Продукты реакции разделяли на пластинке с силикагелем, кислоты метилировали, и обе фракции (метиловые эфиры и альдегиды) исследовали на приборе хроматограф с масс-спектрометром 4КВ9000, который позволял получить масс-спектр компонентов каждого из хроматографических пиков. В работе использовалась стеклянная колонка длиной 3 м и внутренним диаметром 3 мм, газом-носителем служил гелий с расходом 18 мл/мин. В качестве жидкой фазы применяли полисилоксан SE-30 (3% к весу носителя), а твердым носителем служил хромосорб W (60—80 меш). Температура сепаратора была 250°, температура ионизационной камеры масс-спектрометра 230—250°, и энергия ионизирующих электронов составляла 70 эв.

Нами обнаружены следующие метиловые эфиры жирных кислот: $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_m\text{CH}_2\text{COOCH}_3$, где $m = 9, 11, 13, 15$ (рис. 3), причем преобладают первые два соединения (пики 1 и 2), а два последних соединения выходят одним пиком 3. На рис. 4 представлена хроматограмма смеси альдегидов,

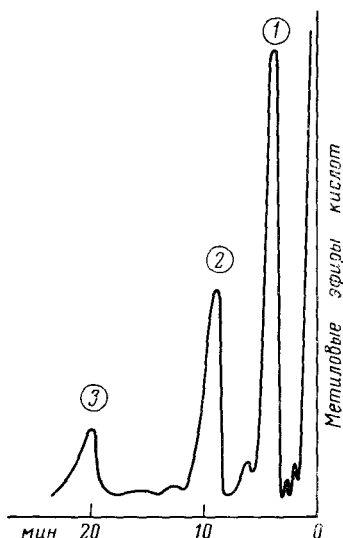


Рис. 3

Рис. 3. Хроматограмма смеси метиловых эфиров кислот, образующихся при пиролизе миколовых кислот (температура анализа 170°)

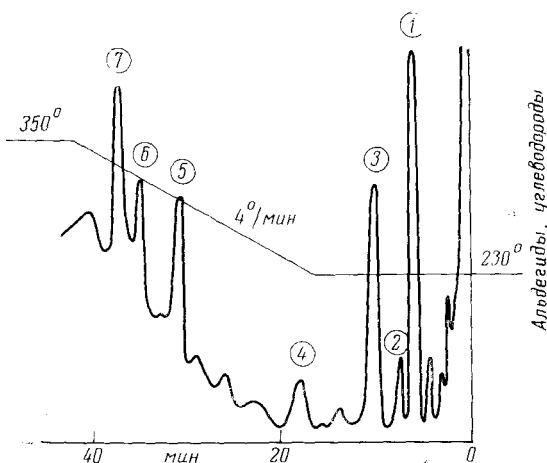
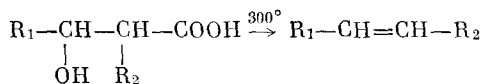


Рис. 4

Рис. 4. Хроматограмма (в режиме программирования температуры) смеси альдегидов и углеводородов, образующихся при пиролизе миколовых кислот

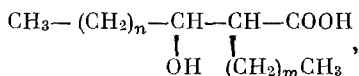
где цифрами показаны пики, состав компонентов которых известен. Были идентифицированы альдегиды $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CHO}$, где $n = 18, 19, 20, 22$ (хроматографические пики соответственно 1, 2, 3, 4). Главными в этой смеси являются альдегиды с $n = 18$ и 20. Кроме того, в реакционной смеси были обнаружены углеводороды состава $\text{R}_1 - \text{CH} = \text{CH} - \text{R}_2$ с мол. вес. 434 и 462 (хроматографические пики 5, 6 и 7), образующиеся в результате дегидратации и декарбокислирования исходной кислоты:



Причем первый углеводород состоит, вероятно, из двух изомеров, которым на хроматограмме отвечают пики 5 и 6.

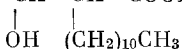
В масс-спектре неразделенной смеси альдегидов, наряду с пиками молекулярных ионов всех идентифицированных альдегидов, наблюдаются пики молекулярных ионов углеводородов с m/e 434, 462, 490, 518, 546 и 574, однако значительной интенсивностью обладают лишь пики ионов с m/e 434, 462 и 490, а интенсивность пиков остальных ионов ничтожно мала.

Таким образом, миколовая кислота, образованная культурой *Mycobacterium paraffinicum* при росте на среде с *n*-гексадеканом, представляет собой смесь гомологов следующего состава:



где I $n = 18, m = 9$; мол. вес. 496; II $n = 18, m = 11$; $n = 20, m = 9$; мол. вес. 524; III $n = 20, m = 11$; $n = 22, m = 9$; $n = 18, m = 13$; мол. вес. 552; IV $n = 22, m = 11$; $n = 20, m = 13$; $n = 18, m = 15$; мол. вес. 580; V $n = 22, m = 13$; $n = 20, m = 15$; мол. вес. 608; VI $n = 22, m = 15$, мол. вес. 636.

Кроме того, возможно присутствие в незначительном количестве миколовой кислоты



, что подтверждается

наличием в смеси продуктов пиролитического расщепления миколовых кислот альдегида с числом метиленовых групп $n = 19$, а на хроматограмме смеси метиловых эфиров кислот (рис. 3) имеется небольшой пик между пиками 1 и 2, который может отвечать метиловому эфиру кислоты с $m = 10$. Поскольку основными значениями для n являются 18 и 20, а для m 9 и 11, то, следовательно, в выделенной смеси преобладают соединения: I $n = 18$, $m = 9$; II $n = 18$, $m = 11$; $n = 20$, $m = 9$, III $n = 20$, $m = 11$.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
6 VII 1971

Институт химии природных соединений
им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ E. Lederer, *Angew. Chem.*, **76**, 241 (1964). ² J. Asselineau, *The Bacterial Lipids*, USA, 1966. ³ Н. А. Красильников, Т. В. Коронелли, *Микробиология*, **40**, 227 (1971). ⁴ Н. А. Красильников, Т. В. Коронелли, В. И. Дуда, *Микробиология*, **41**, № 2 (1972). ⁵ J. Polonsky, E. Lederer, *Bull. Soc. chim. France*, 1954, 504. ⁶ J. Asselineau, *Bull. Soc. chim. France*, 1954, 108. ⁷ A. H. Etemadi, *Chem. Phys. Lipids*, **1**, 165 (1967). ⁸ M. Scnn, T. Jonedá et al., *European J. Biochem.*, **1**, 353 (1967). ⁹ E. Loderer, J. Pudles, *Bull. Soc. chim. biol.*, **33**, 1003 (1951).