



УДК 547.458.02:543.422.23

ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОСКОПИИ ^{13}C -ЯМР
ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РИБИТТЕЙХОЕВОЙ КИСЛОТЫ
ИЗ *STREPTOMYCES AZUREUS* RIA 1009

Шашков А. С.

*Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва*

Стрешинская Г. М., Наумова И. Б.

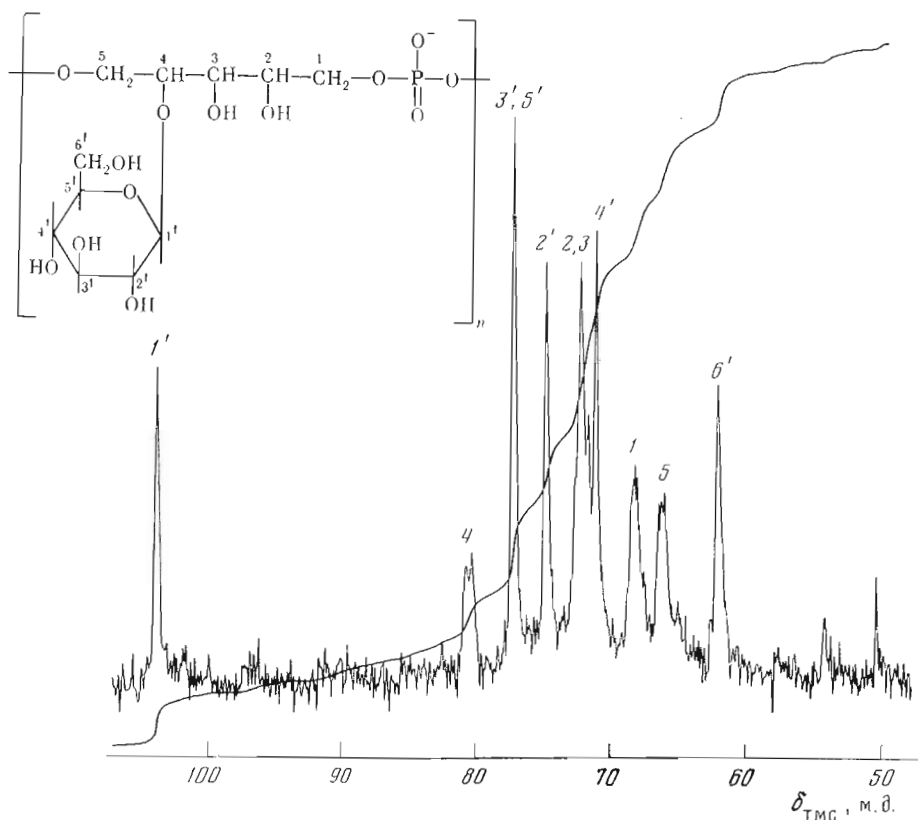
*Биологический факультет Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова*

Рибиттейхоевые кислоты — полимеры клеточных стенок грамположительных бактерий — изучены у некоторых стафилококков, бацилл, лактобацилл и пневмококков. Обнаружены два типа структур этих соединений: наиболее распространены рибиттейхоевые кислоты, содержащие поли(рибитфосфатные) цепи; второй тип найден в пневмококках и отличается от первого тем, что в образовании основной цепи полимера участвуют кроме рибитных сахарные единицы [1]. Рибиттейхоевые кислоты актиномицетов изучены мало. В настоящее время известны структуры поли(рибитфосфатов), выделенных из клеточных стенок трех видов рода *Streptomyces* [2—4].

Последние два года для изучения структур тейхоевых кислот глицерофосфатной природы успешно применяется спектроскопия ^{13}C -ЯМР [5—7]. Однако для установления строения рибиттейхоевых кислот этот метод пока не использовался.

Целью настоящей работы было изучение рибиттейхоевой кислоты из *Streptomyces azureus* RIA 1009 с применением спектроскопии ^{13}C -ЯМР для установления положения фосфодиэфирной связи и глюкозильного остатка в цепи.

Выделенная из мицелия и очищенная тейхоевая кислота содержала в своем составе рибит, глюкозу и фосфорную кислоту. Соотношение фосфора и глюкозы в полимере было близко к эквимольному. Среди продуктов кислотного гидролиза полимера идентифицированы монофосфат и дифосфат рибита, глюкоза, рибит, ангидрорибит и его монофосфат. Основным продуктом щелочного гидролиза были монофосфат глюкозилрибита. Обнаружение среди продуктов кислотного гидролиза дифосфата рибита могло свидетельствовать о присутствии в тейхоевой кислоте поли(рибитфосфатной) цепи, а наличие монофосфата глюкозилрибита в качестве главного продукта щелочного гидролиза вместе с близким к эквимольному соотношением фосфора и глюкозы в полимере указывало на то, что поли(рибитфосфатная) цепь глюкозилирована.



Спектр ^{13}C -ЯМР (15,08 МГц) тейхоевой кислоты *S. azureus* RIA 1009. В высокопольной области спектра присутствуют сигналы, соответствующие компонентам нуклеиновых кислот, которые содержит препарат тейхоевой кислоты

Для определения положения фосфодиэфирной связи в цепи и глюкозильного заместителя на рибитном остатке был снят спектр ^{13}C -ЯМР тейхоевой кислоты. В спектре (см. рисунок) легко выделяются все шесть узких линий β -глюкопиранозильного остатка, совпадающих по своим химическим сдвигам с таковыми для β -метилглюкопиранозида (II) [8]. Лишь линия от C1 несколько смещена в более высокое поле (α -эффект различных агликонов). Совпадение химических сдвигов β -глюкопиранозильного остатка в спектрах обоих соединений показывает, что глюкозильный остаток тейхоевой кислоты не участвует в образовании фосфодиэфирной связи, так как в противном случае за счет α - и β -эффектов фосфорилирования по крайней мере два сигнала глюкозильного остатка были бы смещены по сравнению с соответствующими сигналами β -метилглюкопиранозида и уширены или расщеплены за счет констант спин-спинового взаимодействия $^2J_{\text{3P-O-}^{13}\text{C}}$ и $^3J_{\text{3P-O-C-}^{13}\text{C}}$ [5–6].

Оставшиеся пять сигналов от рибитной цепи имеют разное положение в спектре и различную степень уширения. Отсутствие сигнала в области 63,7 м.д. указывает на замещение рибитного остатка по C1 и C5 [9]. Очевидно, оба этих углеродных атома связаны с остатками фосфорной кислоты. Если предположить связывание C1 или C5 с глюкозильным остатком, трудно интерпретировать положение сигнала 80,2 м.д., поскольку фосфорилирование по C2 – C4 не может дать α -эффекта порядка 7 м.д. (химический сдвиг C2 – C4 в рибите составляет 73,4 м.д. [10]).

Различное положение всех пяти сигналов рибитного остатка исключает его симметричное замещение глюкозильным остатком, т. е. по C3. Пред-

**Химические сдвиги ^{13}C (м. д., δ -шкала) тейхоевой кислоты
и модельных соединений**

Соединение	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C6'	C1	C2	C3	C4	C5
β -Метилглюкопиранозид [8]	104,3	74,2	76,9	70,8	76,9	61,9					
Рибит [9]							63,7	73,4	73,4	73,4	63,7
Тейхоевая кислота	103,5	74,6	77,0	70,9	77,0	61,9	68,0 *	71,3 **	72,1	80,2 **	65,9 *

* Линия уширена.

** Линия расщеплена, $^3J_{\text{C}_3\text{P}-\text{O}-\text{C}-^{13}\text{C}} \sim 6$ Гц.

полагая, что α -эффекты от образования фосфоэфирной и гликозидной связи положительны, а β -эффекты отрицательны [5-7, 10], можно дать отнесение сигналов рибитного остатка как указано в таблице. Уширение или расщепление линий C1, C2, C4, C5 подтверждают данное отнесение.

Таким образом, рибитейхоевая кислота из *S. azureus* RIA 1009 содержит поли(рибитфосфатную) цепь, в которой фосфоэфирная связь объединяет гидроксилы при C1 и C5 соседних рибитных единиц. Большинство рибитных остатков цепи несут при C4 β -глюкопиранозильный заместитель.

Экспериментальная часть

Тейхоевая кислота получена из 48-часового мицелия *S. azureus* RIA 1009 последовательной экстракцией на холоде 10% трихлоруксусной кислотой в течение 24 и 48 ч. Экстракты объединяли, прибавляли 2 объема 96% этанола, образовавшийся осадок растворяли в холодной дистиллированной воде, диализовали и лиофильно высушивали. Анализ продуктов щелочного и кислотного гидролизом проводили как описано в работах [2, 7]. Спектр ^{13}C -ЯМР снят для 5% раствора полимера в D_2O , внутренний эталон CH_3OH (50,15 м.д.). Остальные условия идентичны условиям, описанным в работе [7].

Авторы приносят благодарность В. Д. Кузнецову (Институт микробиологии АН СССР) за предоставленную культуру *S. azureus* RIA 1009.

ЛИТЕРАТУРА

1. Archibald A. R. (1974) *Adv. Microbiol. and Physiol.*, **11**, 53-95.
2. Наумова И. Б., Шабарова З. А., Белозерский А. Н. (1963) Докл. АН СССР, **152**, 1471-1474.
3. Наумова И. Б., Белозерский А. Н. (1966) *Биохимия*, **31**, 1276-1282.
4. Наумова И. Б., Рогозина С. В., Зарецкая М. Ш. (1969) Докл. АН СССР, **188**, 710-712.
5. De Boer W. R., Kruyssen F. J., Wouters J. T. M., Kruk C. I. (1976) *Eur. J. Biochem.*, **62**, 1-6.
6. De Boer W. R., Wouters J. T. M., Anderson A. J., Archibald A. R. (1978) *Eur. J. Biochem.*, **85**, 433-436.
7. Наумова И. Б., Шашков А. С., Строганова М. П. (1978) *Биоорг. химия*, **4**, 1529-1537.
8. Gorin P. A. J., Mazurek M. (1975) *Can. J. Chem.*, **53**, 1212-1223.
9. Colson P., Slessor K. N., Jennings H. J., Smith I. C. P. (1975) *Can. J. Chem.*, **53**, 1030-1037.
10. Шашков А. С., Чижов О. С. (1976) *Биоорг. химия*, **2**, 437-497.

Поступило в редакцию
22.XII.1978

**¹³C NMR SPECTROSCOPY APPLICATION FOR STUDYING THE RIBITOL
TEICHOIC ACID FROM *STREPTOMYCES AZUREUS* RIA 1009**

SHASHKOV A. S., STRECHINSKAYA G. M., NAUMOVA I. B.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow; Biology Department, M. V. Lomonosov State
University, Moscow*

A teichoic acid containing the glucosylated poly ribitol phosphate chain was isolated from *Streptomyces azureus* RIA 1009. The localization of the phosphodiester linkages between hydroxyl groups at positions 1 and 5 in adjacent ribitol residues and β -glucosyl substituents at C4 of ribitol units was established by ¹³C NMR spectroscopy.
