

НОВЫЙ АНТИФУНГАЛЬНЫЙ АНТИБИОТИК, ПРОДУЦИРУЕМЫЙ *HYROMYCES ROSELLUS* ВПКМ F-242 И ФЕНОТИПИЧЕСКИ БЛИЗКИМИ ШТАММАМИ

Проведен анализ антигрибных метаболитов из разных штаммов *Hyromyces rosellus*. С использованием методов препаративной тонкослойной хроматографии и спектрального анализа индивидуально выделено и идентифицировано соединение – 1-[[2-(2,4-дихлорфенил)-4-пропил-1,3-диоксалан-2-ил]метил]-1Н-1,2,4-триазол, ингибирующее рост ряда патогенных грибов. Химический анализ других метаболитов показал, что они являются производными диоксана и диоксалана.

Ключевые слова: микофильный гриб *Hyromyces rosellus*, антибиотик, диоксалан, триазол, дихлорфенил.

В последние годы все большее значение приобретает развитие биотехнологических способов защиты растений и пчел от болезней, вызванных патогенными грибами. Интенсивное использование химических препаратов привело к экологическим нарушениям, к возникновению более устойчивых штаммов патогенных микроорганизмов и к другим нежелательным последствиям. В связи с этим большого внимания заслуживают исследования по поиску и внедрению в практику антибиотиков немедицинского назначения, получаемых путем микробиологического синтеза.

Целью данной работы было разработать методы выделения и провести идентификацию антигрибных метаболитов из *Hyromyces rosellus* ВПКМ F-242 и фенотипически близких штаммов.

Объект и методы исследований

В работе использовались 3 штамма микофильного гриба *Hyromyces rosellus*, условно обозначенных как штамм А-1 – получен нами отбором индуцированных мутантов и последующей селекцией с учетом продуктивности и эффективности, определяемой по отношению к возбудителям стеблевой ржавчины злаков *Puccinia graminis*; штамм А-2 – типовой штамм ВПКМ F-242; штамм А-3 – выделен с природного субстрата с последующим отбором по признаку максимального антибиотикообразования. Способ культивирования продуцентов и состав питательных сред описаны нами ранее [1, 2]. Противогрибковые свойства штаммов оценивали общепринятыми методами [3]. Выделение и очистку антибиотика осуществляли из фильтрата культуральной жидкости препаративной тонкослойной хроматографией в системах растворителей, предложенных для хроматографирования антибиотиков [3]. Определение физико-химических характеристик проводили с использованием спектральных мето-

дов анализа. ИК-спектры полученных соединений снимали на спектрофотометре ИК – Фурье ФСМ 1201 в области частот 500-4000 см⁻¹. Масс-спектры получены на спектрометре МХ-1320; хромато-масс-спектры – с использованием системы хроматограф-масс-спектрометр – ЭВМ: хроматограф НР 5890 с масс-селективным детектором НР 5972А. ГЖХ-анализ на хроматографе «Chrom-5», колонка 1.2x3 мм 5% SE-30. ЯМР ¹Н снимали на приборе «Tesla BS-487 В» (60 мГц) в раств. CDCL₂ внутр. станд. ТМС. Элементный анализ органических соединений (С, Н, N) проводился на элементном анализаторе Karlo Erda модели 1106.

Результаты и их обсуждение

Проведенная работа по отбору штаммов-продуцентов антибиотиков выявила антагонистические свойства, а также фунгицидное и фунгистатическое действие культуральной жидкости, полученной методом глубоководного культивирования в отношении *Puccinia graminis*, *Alternaria tenuis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium roseum*, *Helminthosporium sativum*, *Monilia fructigena*, *Rhizoctonia solani*, *Penicillium rugulosum*, *Ascosphaera* spp., *Microsporium canis*. Степень ингибирования роста зависела от штамма-продуцента и тест-культуры гриба. В результате проведенной работы по подбору экстрагента, времени и температуры экстракции, а также способа препаративного разделения и очистки из культуральной жидкости штаммов-продуцентов А-1, А-2 методами ГЖХ и хромато-масс-спектрометрии было идентифицировано соединение: 1-[[2-(2,4-дихлорфенил)-4-пропил-1,3-диоксалан-2-ил]метил]-1Н-1,2,4-триазол (рисунок 1). Брутто формула вещества соответствует C₁₅H₁₇O₂N₃Cl₂ (М.м. 342,2). Наличие фрагментов полученной структуры нашли подтвержденные данными, полученными методом ИК-спек-

трометрии, УФ-спектрометрии, ЯМР ¹H спектрометрии, элементного анализа.

Структура полученного соединения состоит из трех частей – дихлорфенила, диоксала и триазола. Отдельные части полученной нами молекулы встречаются в литературе среди антибиотиков, получаемых микробиологическим путем [3].

Данные, полученные с помощью хромато-масс-спектров, были рассмотрены как по интенсивности сигналов, так и по количественному соотношению между собой (рисунок 2,3). У штамма А-1 антибиотику соответствовало всего лишь одно вещество – 1-[[2-(2,4-дихлорфенил)-4-пропил-1,3-диоксан-2-ил]метил]-1Н-1,2,4-триазол. У типового штамма А-2 сигнал данного соединения был менее интенсивен. У штамма А-2 отмечалось два основных сигнала, соответствующие веществам с брутто формулами C₇H₁₆O₃ (М.м.146) и C₁₈H₂₄O₅ (М.м. 321), представляющие собой диоксан и близкое к нему соединение (рисунок 2).

Дальнейший анализ показал, что соединения, преобладающие у штаммов А-1 и А-2 практически отсутствуют у штамма А-3. В то же время у штамма А-3 обнаруживаются соединения близкого строения, в качестве основы у которых также выступает диоксан и диоксалан. Это вещества с брутто формулами C₂₆H₄₀O₅ (М.м. 433), C₁₃H₁₆O₄ (М.м. 237) и C₁₅H₂₀O₄ (М.м. 265).

Таким образом, на основании полученных спектральных данных можно сделать вывод, что в составе антигрибных антибиотиков у всех штаммов микофильного гриба в качестве связующего звена могут выступать 4-пропил-1,3-диоксалан и 1,3-диоксан-5-метанол, 4,5-диметил и на них в процессе микробиологического синтеза идет присоединение дихлорфенильной группы и триазола. Авторы выражают признательность за помощь в интерпретации спектральных данных профессору Башгосуниверситета Ахметовой Венере Рахимовне.

28.07.2011

Список литературы:

1. Торопова Е.Г., Максимов В.Н., Береснева Г.Г., Егоров Н.С., Буракаева А.Д. Оптимизация состава среды для биосинтеза антибиотика, протеаз и пигментов микофильным грибом *Neurospora rosellus* с помощью метода математического планирования эксперимента // Антибиотики и медицинская биотехнология. - 1986. - № 6. - С.408-411.
2. Торопова Е.Г., Мардамшина А.Д. (Буракаева), Писункова Н.Ф. Подбор посевных сред, возраста и количества мицелия, обеспечивающих одновременный биосинтез антибиотика и пигмента у гриба *Neurospora rosellus* // Антибиотики и химиотерапия – 1988. - Т.ХХХІІІ. – № 2. - С.96 – 99.
3. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках -М.-2005.-43,155-160, 340-523.

Сведения об авторах: **Буракаева Айгуль Дикатовна**, доцент, кандидат биологических наук, индивидуальный предприниматель

Карпова Галина Викторовна, доцент кафедры общей биологии
Оренбургского государственного университета, доктор биологических наук
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13

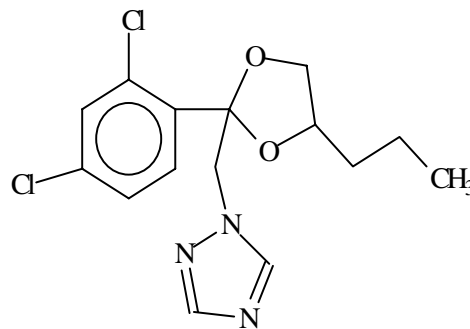


Рисунок 1. Примерная формула антибиотика

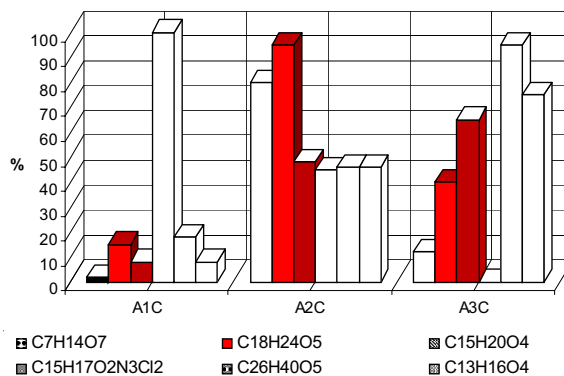


Рисунок 2. Диаграмма интенсивности сигналов

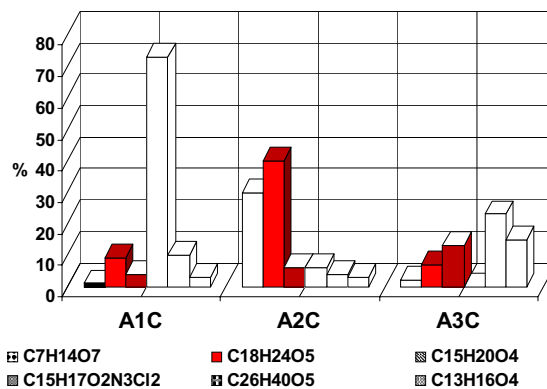


Рисунок 3. Диаграмма количественного отношения продуктов между собой