

УДК 547.91 + 615.365 : 616.992 + 593.96

МИКРОБИОЛОГИЯ

М. М. АНИСИМОВ, В. В. ЩЕГЛОВ, В. А. СТОНИК,
А. Л. КУЛЬГА, Э. В. ЛЕВИНА, В. С. ЛЕВИН,
член-корреспондент АН СССР Г. Б. ЕЛЯКОВ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ТИХООКЕАНСКИХ ГОЛОТУРИЙ

В последние годы обнаружено, что тритерпеновые гликозиды — физиологически активные вещества, широко распространенные в растениях, содержатся также и в морских животных, относящихся к типу Echinodermata (иглокожие) (¹⁻⁴). Эти вещества существенно отличаются от тритерпеновых гликозидов растительного происхождения как по своему химическому строению (⁵⁻⁷), так и физиологическому действию (⁷⁻¹³). Значительный интерес к изучению тритерпеновых гликозидов животного происхождения обусловлен их высокой фармакологической активностью.

В то же время антигрибковая активность в этом ряду соединений не изучалась. Исходя из того, что некоторые тритерпеновые гликозиды растительного происхождения проявляют токсическое действие по отношению к некоторым штаммам патогенных грибов (¹⁴⁻¹⁶), нам представлялось интересным провести сравнительные исследования антигрибковой активности тритерпеновых гликозидов, выделенных из 15 видов голотурий. Такое исследование позволило нам установить наличие веществ с антигрибковой активностью среди тритерпеновых гликозидов голотурий и сравнить эффективность антигрибкового действия исследуемых веществ с действием тритерпеновых гликозидов из растений.

Тритерпеновые гликозиды выделены из голотурий, большинство которых собрано на островах центральной части Тихого океана летом 1971 г. Два вида — *Cuscutaria fraudatrix* и *Stichopus japonicus* — собраны в заливе Посыета Японского моря зимой этого же года.

Гликозидные фракции выделялись из этанольных экстрактов животных следующим образом: 5 г сухого остатка этанольного экстракта экстрагировали 50 мл горячего водонасыщенного бутанола, к раствору добавляли 150—200 мг холестерина, встряхивали до полного растворения холестерина и оставляли на двое суток. Выпавший осадок комплекса гликозидов с холестерином отделяли, отмывали эфиром, растворяли в 5 мл пиридина и через 12 час. раствор разбавляли 20 мл серного эфира. Осадок гликозидов отмывали эфиром и обессоливали гельхроматографией на сефадексе Г-15 при элюировании водой.

В качестве биологических тестов использовали дрожжеподобные грибки *Candida albicans* № 147, *C. tropicalis* № 151, *C. utilis* № 36, *C. Krusei* № 148, *C. albicans* и дрожжи *Saccharomyces carlsbergensis* пасса № 11. Клетки культивировали 18 час. при 28—30° в питательной среде (г/л): глюкоза 50; KH_2PO_4 1; K_2HPO_4 0,1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,7; KCl 3; сухой гидролизат из морского гребешка *Mizuhopecten yessoensis*. Посевным материалом служили клетки 18-часовой культуры, выращенные в среде указанного состава. Инкубационная среда состояла из 1 мл суспензии клеток (около $2 \cdot 10^6$) и 0,1 мл водного раствора исследуемых гликозидов. Контроль за размножением клеток осуществляли фотоколориметрическим методом.

В табл. 1 приведены концентрации тритерпеновых гликозидов, при которых полностью подавляется размножение клеток патогенных грибов.

Таблица 1

Фунгистатические концентрации тритерпеновых гликозидов (мг/мл)

Источник гликозидов	Штаммы микроорганизмов					
	<i>C. albicans</i> № 147	<i>C. tropicalis</i> № 151	<i>C. utilis</i> № 36	<i>C. Krusei</i> № 148	<i>C. albicans</i>	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> № 11
Holothuriidae						
<i>Bohadschia marmorata</i>	25,0	25,0	12,5	25,0	6,25	6,25
<i>B. sp.</i>	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5	6,25
<i>B. argus</i>	12,5	12,5	12,5	25,0	12,5	12,5
<i>B. graeffi</i>	12,5	25,0	25,0	12,5	6,25	12,5
<i>Actinopyga lecanora</i>	50,0	100,0	50,0	50,0	50,0	25,0
<i>A. mauritiana</i>	100,0	100,0	50,0	100,0	50,0	50,0
<i>Holothuria leucospilota</i>	25,0	50,0	50,0	50,0	25,0	25,0
<i>H. cinerescens</i>	50,0	100,0	50,0	100,0	25,0	25,0
<i>H. edulis</i>	50,0	50,0	100,0	100,0	50,0	50,0
<i>H. hilla</i>	50,0	100,0	50,0	50,0	50,0	50,0
<i>H. atra</i>	50,0	100,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Stichopodidae						
<i>Stichopus chloronotus</i>	25,0	12,5	12,5	25,0	6,25	3,1
<i>S. japonicus</i>	6,25	12,5	6,25	12,5	6,25	6,25
<i>Thelenota ananas</i>	12,5	12,5	12,5	25,0	6,25	6,25
Cucumariidae						
<i>Cucumaria fraudatrix</i>	50,0	100,0	50,0	100,0	12,5	12,5

Гликозиды, выделенные из животных, относящихся к семейству Holothuriidae, делятся по степени их антигрибкового действия на две группы. Первую составляют гликозиды голотурий, относящихся к родам *Actinopyga* и *Holothuria*. Их ингибирующее действие проявляется в концентрациях 25—100 мкг/мл. Вторую группу составляют гликозиды, выделенные из голотурий рода *Bohadschia*. Они проявляют более сильное антигрибковое действие (ингибирующие концентрации 6—25 мкг/мл).

Гликозиды из трех видов голотурий семейства Stichopodidae по антигрибковому действию не уступают гликозидам из *Bohadschia* (ингибирующая концентрация 3—25 мкг/мл). При этом гликозиды из *Stichopus japonicus* обладают несколько большей активностью по сравнению с гликозидами двух других видов. Гликозиды из *Cucumaria fraudatrix* по ингибирующему действию близки к большинству гликозидов семейства Holothuriidae. В то же время для гликозидов из *Cucumaria fraudatrix* характерна избирательность действия: они в 4—8 раз активнее к *Candida albicans* и *Saccharomyces carlsbergensis*, чем к другим исследуемым штаммам.

Таким образом, наибольший практический интерес в качестве источников гликозидов с антигрибковой активностью представляют, судя по первым полученным нами результатам, голотурии, относящиеся к семейству Stichopodidae и к роду *Bohadschia* семейства Holothuriidae. Широкий интервал концентраций (от 3 до 100 мкг/мл), при котором проявляется ингибирующее действие гликозидов изученных видов животных, связан с различиями в химическом строении гликозидов.

Сравнивая антигрибковую активность изученных веществ с активностью гликозидов растительного происхождения, следует отметить, что в большинстве случаев ингибирующая активность гликозидов растительного происхождения проявляется в концентрациях 500, 1000 мкг/мл и более⁽¹³⁾. Нами показано, что тритерпеновые гликозиды голотурий проявляют антигрибковую активность при значительно более низких концентрациях, при этом большинство исследуемых веществ хорошо растворимы в воде.

Из исследуемых штаммов микроорганизмов наиболее чувствительны к действию тритерпеновых гликозидов дрожжевые клетки *Saccharomyces carlsbergensis*. Результаты наших исследований и литературные данные^(12, 14-15) указывают на то, что дрожжевые клетки из рода *Saccharomyces*

могут быть использованы в качестве биологического теста для первичного отбора тритерпеновых гликозидов с высокой антигрибковой активностью.

Институт биологически активных веществ
Дальневосточного научного центра
Академии наук СССР
Владивосток

Поступило
10 VII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Г. Б. Еляков, Т. А. Кузнецова, В. Е. Васьковский, Хим. природн. соед., 4, 253 (1968). ² J. D. Chanley, H. Sobotka, J. Am. Chem. Soc., 80, 1851 (1959). ³ S. L. Friess, R. C. Durant, J. D. Chanley, Toxicon, 6, 81 (1968). ⁴ G. J. Rio, G. D. Ruggieri et al., Am. Zool., 3, 554 (1963). ⁵ G. B. Elyakov, T. A. Kuznetsova et al., Tetrahedron Letters, 15, 1151 (1969). ⁶ J. D. Chanley, T. Mezzeti, H. Sobotka, Tetrahedron, 22, 1857 (1966). ⁷ N. Bazu, R. P. Rastogi, Phytochemistry, 6, 1249 (1967). ⁸ R. F. Nigrelli, Zoologica, 37, 89 (1952). ⁹ R. F. Nigrelli, S. Jakowska, Ann. N. Y. Acad. Sci., 90, 884 (1960). ¹⁰ М. М. Анисимов, Т. А. Кузнецова и др., Изв. АН СССР, сер. биол., 1, 137 (1971). ¹¹ М. М. Анисимов, Т. А. Кузнецова et al., Toxicon, 10, 187 (1972). ¹² S. Shimada, Science, 1963, 3874 (1969). ¹³ G. D. Ruggieri, Toxicon, 3, 157 (1965). ¹⁴ R. Tschesche, C. Wulff, Zs. Naturforsch., 20, 543 (1965). ¹⁵ Л. П. Щербановский, Растительные ресурсы, 7, 133 (1971). ¹⁶ M. Goto, S. Imai et al., J. Pharm. Soc. Japan, 90, 736 (1970).