

УДК 582.282.123.2.57.063.7:547.94

НОВЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ – ГРИБЫ РОДА *Penicillium*, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ

© 2011 г. Т. В. Антипова, В. П. Желифонова, Б. П. Баскунов, С. М. Озерская, Н. Е. Иванушкина, А. Г. Козловский

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов

им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино, 142290

e-mail: kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 24.05.2010 г.

Проведен скрининг продуцентов вторичных метаболитов среди 25 штаммов грибов рода *Penicillium*, выделенных из отложений вечной мерзлоты Арктики, Антарктиды и из мерзлого вулканического пепла Камчатки. Обнаружено, что половина из исследованных штаммов синтезирует биологически активные вещества алкалоидной природы: эргоалкалоиды, дикетопиперазины и производные хинолина. Большая часть из идентифицированных метаболитов относится к микотоксинам. Найден штамм *Penicillium waksmanii* – продуцент эпоксиагроклавина-I и хиноцитрининов, исследованы его основные физиолого-биохимические характеристики.

Поиск новых продуцентов неизвестных биологически активных веществ и практически важных метаболитов не перестает привлекать внимание биотехнологов различных направлений, а также научных работников, занимающихся фундаментальными аспектами микробиологии. О важности проблемы свидетельствует тот факт, что природные соединения и полученные на их основе полусинтетические вещества представляют собой более половины из используемых в практике лекарственных средств [1]. Биосинтетический потенциал микроорганизмов, особенно грибов, далеко не исчерпан, в настоящее время изучено не более 10% их метаболического разнообразия. В последние годы поиск новых продуцентов биологически активных соединений ведется среди микроорганизмов, выделенных из экзотических и практически неизученных местообитаний. Такой подход позволяет с большей вероятностью ожидать обнаружения продуцентов не только уже известных, но и новых для науки биоактивных веществ.

Грибы рода *Penicillium* хорошо известны как продуценты различных вторичных метаболитов, обладающих ценными фармацевтическими и терапевтическими свойствами. Среди разнообразных соединений, синтезируемых пенициллами, особый интерес представляет большая группа биологически активных веществ, таких как эргоалкалоиды, дикетопиперазиновые и хинолиновые алкалоиды.

Цель работы – поиск новых продуцентов вторичных метаболитов среди штаммов грибов рода *Penicillium*, выделенных из грунтов вечной мерзлоты

Арктики, Антарктиды, мерзлых пеплов Камчатки и изучение их физиолого-биохимических характеристик.

МЕТОДИКА

Объектами исследования были 25 штаммов грибов рода *Penicillium*, полученных из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) ИБФМ РАН. Штаммы были выделены из арктических многолетнемерзлых грунтов Колымской низменности – *P. canescens* Sopp ВКМ FW-2648, ВКМ FW-2836, *P. chrysogenum* Thom ВКМ FW-2739, ВКМ FW-2835, ВКМ FW-2873, *P. citrinum* Thom ВКМ FW-2621, ВКМ FW-2629, ВКМ FW-2631; *P. commune* Thom ВКМ FW-2829, ВКМ FW-2830; *P. fellutanum* Biourge ВКМ FW-2611; *P. simplicissimum* (Oudem.) Thom ВКМ FW-2435, ВКМ FW-2461, ВКМ FW-2735; *P. waksmanii* К. М. Zalessky ВКМ FW-2866, ВКМ FW-2875; из многолетнемерзлых грунтов Антарктиды – *P. chrysogenum* ВКМ FW-2877, *P. citrinum* ВКМ FW-2882, *P. commune* ВКМ FW-2885, *P. corylophilum* Dierckx ВКМ FW-1455, *P. jensenii* К. М. Zalessky ВКМ FW-2903, из воды озера Радек в Антарктиде – *P. janczewskii* К. М. Zalessky ВКМ FW-2919, *P. waksmanii* ВКМ FW-2936, а также из мерзлого вулканического пепла Камчатки – *P. chrysogenum* ВКМ FW-2863, *P. commune* ВКМ FW-2666 [2].

Идентификацию штаммов проводили по макро- и микроморфологическим признакам у 7-суточных культур, выращенных при 5, 25 и 37°C на агаризованных средах СУА – среда Чапека с дрожжевым автолизатом, МЕА – мальц-экстракт агар и G25N – нитратный агар, содержащий 25% глицерина [3].

При изучении продукции вторичных метаболитов грибы культивировали глубинным способом на среде Абе следующего состава (г/л дистиллированной воды): маннит – 50.0; янтарная кислота – 5.4; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.3; KH_2PO_4 – 1.0; pH доводили до 5.4 25%-ным раствором NH_4OH . Грибы выращивали в 150 мл среды в колбах объемом 750 мл при $24 \pm 1^\circ C$ на качалке (220 об/мин). Засев среды осуществляли водной суспензией конидий ($1-2 \times 10^7$ спор/мл) 14-суточных культур, выращенных на скошенном сусло-агаре. Отбор проб проводили на 7 и 14 сут.

Внеклеточные метаболиты кислой, нейтральной и щелочной природы извлекали из фильтрата культуральной жидкости трехкратной экстракцией хлороформом по ранее описанной методике [4]. Анализ экстрактов осуществляли методом ТСХ на пластинках силикагеля (Silica gel F₂₅₄, “Merck”, Германия) в системах I и II: хлороформ–метанол–25%-ный NH_4OH 90 : 10 : 0.1 (I) и 80 : 20 : 0.2 (II). Вещества обнаруживали по поглощению и флуоресценции в УФ-свете и после опрыскивания пластин реактивами Драгендорфа для обнаружения азотсодержащих метаболитов и Эрлиха для обнаружения индольных алкалоидов.

Выделение и очистку метаболитов проводили препаративной ТСХ на пластинках силикагеля. Идентификацию метаболитов осуществляли сохроматографией со стандартными образцами, полученными ранее в лаборатории вторичных метаболитов ИБФМ РАН, а также с использованием физико-химических методов. УФ-спектры соединений в метаноле получали на спектрофотометре UV-160 А, фирмы “Shimadzu” (Япония). Масс-спектры соединений регистрировали на масс-спектрометре LCQ Advantage MAX “Thermo Finnigan” (Германия), используя одноканальный шприцевой насос для прямого ввода образца в область химической ионизации при атмосферном давлении. Сбор и обработку масс-спектрометрических данных осуществляли с помощью программного обеспечения Xcalibur. Детекцию метаболитов для более полной информации проводили как в положительных, так и в отрицательных ионах. МС/МС спектры получали при нормализованной энергии столкновений 20–40%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация вторичных метаболитов. Изучение продукции вторичных метаболитов грибами, выделенными из регионов вечной мерзлоты, показало, что почти половина из изученных культур способна синтезировать азотсодержащие низкомолекулярные соединения разнообразных структур. Биосинтеза поликетидных метаболитов – патулина, гризеофульвина, пеницилловой кислоты, охра-токсина и PR-токсина у изученных штаммов об-

наружено не было. По спектру продуцируемых вторичных метаболитов штаммы можно разделить на три группы. К первой группе были отнесены штаммы *P. commune* ВКМ FW-2885, FW-2829, FW-2666, FW-2830, синтезирующие метаболит 1 с $R_f = 0.25$ (I), дающий с реактивом Эрлиха фиолетовое окрашивание, которое указывает на наличие индольной структуры в данном соединении. УФ-спектр выделенного метаболита был типичен для клавиновых эргоалкалоидов с характерным для α -циклопиазоновой кислоты (ЦПК) плечом в области 250 нм [5]. Молекулярная масса метаболита 1 (336 Да) и его масс-спектр совпадал со стандартным образцом ЦПК (табл. 1). ТСХ со стандартными образцами также показала одинаковую хроматографическую подвижность метаболита 1 на пластинках силикагеля в системах (I, II) с заведомым образцом ЦПК. Таким образом, на основании физико-химических характеристик выделенного метаболита, которые практически совпали с литературными данными [5], и прямого сравнения со стандартным образцом данное соединение было идентифицировано как клавиновый эргоалкалоид ЦПК.

У второй группы штаммов *P. chrysogenum* ВКМ FW-2863, FW-2739, FW-2873, FW-2877, FW-2835 обнаружен метаболит 2 с $R_f = 0.2$ (I), дающий с реактивом Эрлиха сначала желтое, а со временем голубое окрашивание. Аналогичная окраска с этим реактивом характерна для дикетопиперазинового алкалоида рокефортина. Полосы поглощения метаболита в УФ-спектре, молекулярная масса метаболита 2 (389 Да), его масс-спектр совпадал с таковыми для рокефортина (табл. 1). Этот метаболит имел одинаковую хроматографическую подвижность на пластинках силикагеля в системах (I, II) с заведомым образцом рокефортина. На основании полученных данных метаболит 2 штаммов ВКМ FW-2739, FW-2835, FW-2863, FW-2873 и FW-2877, был идентифицирован как рокефортин. Штаммы ВКМ FW-2739, FW-2863, FW-2873 также синтезировали метаболит 3, который образовывал с реактивом Эрлиха оранжевую окраску, характерную для мелеагрина. Данные УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии метаболита 3 полностью совпадали с таковыми для мелеагрина (табл. 1). Сравнение хроматографической подвижности выделенного метаболита с образцом мелеагрина на пластинках силикагеля в системах (I, II) показало полную идентичность двух соединений. У штаммов FW-2739 и FW-2863 помимо основных метаболитов был обнаружен минорный метаболит 4, обладающий низкой хроматографической подвижностью $R_f = 0.05$ (I) и дающий синее окрашивание с реактивом Эрлиха. УФ-спектр выделенного метаболита, молекулярная масса метаболита (321 Да) и масс-спектр соответствовали литературным данным для триптофанилдегидрогистидилдикетопиперазина [6]. У штамма FW-2835 был обнаружен метаболит 5 с $R_f = 0.08$ (I), развивающий с реакти-

Таблица 1. Физико-химические свойства идентифицированных метаболитов

| Номера метаболитов | Стандартный образец | Окраска с реактивами | | Хроматографическая подвижность в системах | | УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм | Молекулярный ион и характеристические пики в МС/МС спектрах | |
|--------------------|---------------------------------------------|----------------------|-------------|-------------------------------------------|------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------|
| | | Эрлиха | Драгендорфа | I | II | | [M – H] [–] | [M + H] ⁺ |
| 1 | ЦПК | Фиолетовая | Оранжевая | 0.25 | 0.55 | 223, 251(пл.), 281, 290 | 335, 180, 140 | 337, 182, 196 |
| 2 | Рокефортин | Голубая | » | 0.2 | 0.52 | 238, 325 | 388, 190 | 390, 322, 193 |
| 3 | Мелеагрин | Оранжевая | » | 0.25 | 0.58 | 226, 272, 346 | 432, 404, 363 | 434, 403, 366 |
| 4 | Триптофанилди-гидрогистидилди-кетопиперазин | Синяя | » | 0.05 | 0.22 | 207, 238, 248, 312 | 320, 191 | 322, 193 |
| 5 | 3,12-дигидророкефортин | Голубая | » | 0.08 | 0.30 | 209, 244, 301 | 390, 322, 205 | 392, 324 |
| 6 | Гландиколин А | Оранжевая | » | 0.1 | 0.38 | 226, 286, 344 | 402, 333 | 404, 335 |
| 7 | Гландиколин Б | Оранжевая | » | 0.1 | 0.38 | 226, 286, 344 | 418, 349, 332 | 420, 334, 274 |
| 8 | Агроклавин-I | Фиолетовая | » | 0.18 | 0.35 | 223, 276, 282, 292 | – | 239, 208, 183 |
| 9 | Эпоксиагроклавин-I | Фиолетовая | » | 0.28 | 0.55 | 223, 276, 282, 292 | 253, 235, 183 | 255, 237, 182 |
| 10, 11 | Хиноцитринины А и Б | нет | » | 0.14 | 0.6 | 216, 248, 256, 300, 314, 328 | 269, 254, 253 | 271, 214 |

вом Эрлиха сначала желтое, а со временем голубое окрашивание, аналогичное рокефортину. УФ-спектр соединения, молекулярная масса метаболита 5 (391 Да) и его масс-спектр совпали с данными для 3,12-дигидророкефортина. ТСХ метаболита со стандартом 3,12-дигидророкефортина показала одинаковую хроматографическую подвижность обоих соединений. Штамм FW-2863 синтезировал два метаболита 6 и 7, дающих на ТСХ с реактивом Эрлиха оранжевую зону. УФ-спектры соединений были идентичны и практически аналогичны спектрам мелеагрина, что говорит об общности хромофорных групп этих соединений (табл. 1). Молекулярные массы метаболитов 6 (419 Да) и 7 (403 Да) соответствовали массам гландиколинов А и Б. Все идентифицированные метаболиты у второй группы штаммов относятся к дикетопиперазиновым алкалоидам группы рокефортина, образующихся циклизацией триптофана и гистидина с участием мевалоновой кислоты. Триптофанилдегидрогистидилдикетопиперазин является первым интермедиантом биосинтетического пути, ведущим к образованию рокефортина. Предполагают, что 3,12-дигидророкефортин – следующее звено на пути биосинтеза рокефортина. У некоторых видов *Penicillium* роке-

фортин – конечный метаболит биосинтетического пути, а у других он претерпевает ряд превращений. Так, продуктом модификации рокефортина является мелеагрин. Промежуточными метаболитами в биосинтетической цепочке рокефортин – мелеагрин выступают гландиколины А и Б [7]. Таким образом установлено, что штаммы *P. chrysogenum* ВКМ FW-2739, FW-2863, FW-2873, FW-2877, FW-2835 синтезируют разнообразные дикетопиперазиновые алкалоиды семейства рокефортина.

Третья группа представлена штаммами *P. fellutanum* FW-2611 и *P. waksmanii* ВКМ FW-2875. Штамм FW-2611 синтезировал метаболит 8 с $R_f = 0.18$ (I), дающий фиолетовое окрашивание с реактивом Эрлиха. Метаболит имел УФ-спектр типичный для клавиновых эргоалкалоидов и молекулярная масса метаболита (238 Да) соответствовала агроклавинолу или агроклавинолу-I (табл. 1). Методом ТСХ было проведено прямое сравнение хроматографических подвижностей метаболита 8 и заведомых образцов агроклавинолу и агроклавинолу-I. Хроматографические характеристики метаболита 8 оказались идентичны соответствующим данным для агроклавинолу-I ($R_f = 0.18$ и 0.35 в системах I и II соответственно) и отличались от данных для агроклави-

на ($R_f = 0.22$ и 0.39 соответственно). Метаболит 8 штамма FW-2611 идентифицирован как агроклавин-І. В щелочных экстрактах штамма FW-2875 присутствовали два метаболита с $R_f = 0.18$ (I) и $R_f = 0.28$ (I), дающие фиолетовую окраску с реактивом Эрлиха. Физико-химические характеристики метаболита с более низким значением R_f соответствовали агроклавину-І (табл. 1). Метаболит 9 с более высоким R_f имел УФ-спектр, типичный для клавиновых эргоалкалоидов, молекулярная масса метаболита (254 Да) и его спектр соответствовал масс-спектру стандарта эпоксиагроклавина-І. На основании полученных данных соединения штамма FW-2875 были идентифицированы как агроклавин-І и эпоксиагроклавин-І. В кислых экстрактах этого штамма обнаружено два метаболита 10 и 11, с близким значением R_f , дающие положительную реакцию с реактивом Драгендорфа, но не реагирующие с реактивом Эрлиха. УФ-спектр и масс-спектр соединений был идентичен и соответствовал хиноцитрининам А и Б (табл. 1). Сравнение хроматографической подвижности выделенных метаболитов со стандартом хиноцитрининов показало их полную идентичность. Хиноцитринины А и Б относятся к классу хинолиновых алкалоидов. Эпоксиагроклавин-І и агроклавин-І – это алкалоиды клавинового ряда, имеющие необычную стереохимию 5R-, 10S-конфигурации эрголинового ядра.

Неидентифицированный индолсодержащий метаболит дикетопиперазиновой структуры с молекулярной массой 358 Да обнаружен у *P. canescens* ВКМ FW-2648.

Таким образом, найдены новые продуценты биологически активных соединений, таких как эргоалкалоиды, дикетопиперазиновые и хинолиновые алкалоиды (табл. 2). Большая часть штаммов способна синтезировать в значительных количествах ЦПК, рокефортин, мелеагрин, которые по своей физиологической активности обычно относятся к классу микотокосинов [5, 8]. Изученные штаммы относятся к палеогрибам, поэтому учитывая современные прогнозы о глобальном потеплении, полученные нами данные о токсигенном потенциале данных грибов, несомненно, представляют интерес для специалистов, занимающихся охраной здоровья человека и животных. Идентификация у *P. waksmanii* FW-2875 эпоксиагроклавина-І и хиноцитрининов представляет практический интерес с точки зрения биологической активности этих соединений. Ранее проведенные исследования эпоксиагроклавина-І показали, что соединение обладает нейротропной активностью и оказывает умеренное гипотензивное действие. Хиноцитринины проявляют антимикробную и противоопухолевую активность [9].

Физиолого-биохимические характеристики *P. waksmanii* – продуцента клавиновых эргоалкалоидов (ЭА) и хиноцитрининов (ХЦ). Показано, что

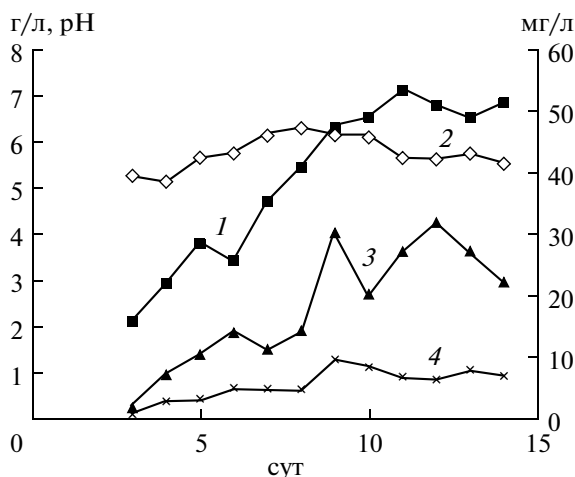
Таблица 2. Вторичные метаболиты, идентифицированные у изученных штаммов

| Вид | Штамм ВКМ FW- | Вторичные метаболиты |
|-----------------------|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>P. commune</i> | 2885 | ЦПК |
| <i>P. commune</i> | 2666 | |
| <i>P. commune</i> | 2830 | |
| <i>P. commune</i> | 2829 | |
| <i>P. chrysogenum</i> | 2739 | Рокефортин, мелеагрин, триптофанилдегидрогистидилдикетопиперазин |
| <i>P. chrysogenum</i> | 2835 | Рокефортин, 3,12-дигидроурокефортин |
| <i>P. chrysogenum</i> | 2863 | Рокефортин, мелеагрин, триптофанилдегидрогистидилдикетопиперазин, гландиколины А и Б |
| <i>P. chrysogenum</i> | 2877 | Рокефортин |
| <i>P. chrysogenum</i> | 2873 | Рокефортин, мелеагрин |
| <i>P. fellutanum</i> | 2611 | Агроклавин-І |
| <i>P. waksmanii</i> | 2875 | Агроклавин-І, эпоксиагроклавин-І, хиноцитринины А и Б |
| <i>P. canescens</i> | 2648 | Индолсодержащий метаболит |

Таблица 3. Максимальные показатели роста и биосинтеза ЭА и ХЦ продуцентами

| Показатель | <i>P. waksmanii</i> | <i>P. citrinum</i> [10] |
|------------------------------------------|---------------------|-------------------------|
| Биомасса, г/л | 7.1 | 4.1 |
| Удельная скорость роста, ч ⁻¹ | 0.014 | 0.01 |
| ЭА, мг/л | 32 | 3.9 |
| ХЦ, мг/л | 9.6 | 2.4 |
| $Y_{ЭА/Х}$, мг/г | 4.8 | 0.8 |
| $Y_{ХЦ/Х}$, мг/г | 1.5 | 0.6 |
| $q_{ЭА}$, мг/г ч | 0.11 | 0.01 |
| $q_{ХЦ}$, мг/г ч | 0.04 | 0.02 |

штамм *P. waksmanii*, выделенный из условий естественной криоконсервации, в которых он находился около 100–200 тыс. лет способен синтезировать алкалоиды, известные для другого палеогриба – *P. citrinum* [10]. Причем *P. waksmanii* оказался более эффективным продуцентом этих алкалоидов, чем *P. citrinum* (табл. 3). Максимальные показатели роста и биосинтеза ЭА и ХЦ *P. waksmanii* были в 1.7, 8 и 4 раза больше соответственно, по сравнению с аналогичными показателями *P. citrinum*. Выходы алкалоидов в расчете на единицу биомассы ($Y_{ЭА/Х}$ и



Динамика роста и биосинтеза ЭА и ХЦ *P. waksmanii*: 1 — биомасса, г/л; 2 — рН; 3 — ЭА, мг/л; 4 — ХЦ, мг/л.

$Y_{\text{ХЦ/Х}}$ *P. waksmanii* также превосходили *P. citrinum* в 6 и 2.5 раза, а удельные скорости синтеза ЭА и ХЦ ($q_{\text{ЭА}}$ и $q_{\text{ХЦ}}$) были выше в 10 и 2 раза соответственно (табл. 3).

С целью выяснения особенностей роста и алкалоидообразования *P. waksmanii* изучали динамику их накопления в культуральной жидкости (рисунок). Рост *P. waksmanii* на среде Абе характеризовался ди-ауксией с переходной лаг-фазой на 5–6 сут, связанной с перестройкой метаболизма с одного источника углерода (сукцинат) на другой (маннит). Биосинтез алкалоидов шел параллельно росту продуцента. Динамика накопления алкалоидов в культуральной жидкости носила циклический характер. Падение концентраций ЭА и ХЦ и снижение $q_{\text{ЭА}}$ и $q_{\text{ХЦ}}$ приходилось на вторую лаг-фазу роста гриба (рисунок) и на начало стационарной фазы роста гриба (10 сут). При продолжении культивирования наблюдалось увеличение концентрации алкалоидов.

Ранее с целью выяснения закономерности образования ЭА и ХЦ была исследована динамика их накопления в процессе роста продуцента *P. citrinum* [10]. Сравнение продукции ЭА и ХЦ у *P. waksmanii* и *P. citrinum* показало существование общих закономерностей в биосинтезе этих метаболитов. Общим является преимущественно внеклеточное накопление алкалоидов. Так, у *P. waksmanii* в период максимального биосинтеза алкалоидов (13 сут) содержание внеклеточных ЭА и ХЦ составляло 76 и 93% от общего количества алкалоидов соответственно. У *P. citrinum* свыше 90% алкалоидов обнаруживалось в среде [10]. Другой закономерностью является то, что алкалоиды синтезируются активно растущим мицелием. Причем в процессе роста грибов накопление алкалоидов носит периодический характер. На модельном опыте было показано, что падение концентрации ЭА и ХЦ в культуральной жидкости

в начале стационарной фазы роста *P. citrinum* вызвано их поглощением клетками гриба [10]. Выявлено, что процессы биосинтеза и экскреции, а также поглощения ЭА и ХЦ *P. citrinum* отражают способы регуляции баланса внутриклеточного триптофана [11].

Таким образом, был проведен поиск продуцентов вторичных метаболитов среди грибов, являющихся элементами различных древних микробных сообществ многолетнемерзлых отложений различного генезиса и возраста. Половина из изученных штаммов синтезировала вторичные метаболиты, относящиеся к эргоалкалоидам (ЦПК, агроклавин-1 и эпоксиагроклавин-1), хинолиновым производным (хиноцитринины А и Б) и дикетопиперазинам (группа рокефортина). Большая часть из идентифицированных метаболитов относится к микотоксинам. Найдена вторая в мире культура гриба, продуцирующая эпоксиагроклавин-1 и хиноцитринины, идентифицированная как *P. waksmanii* и исследованы ее основные физиолого-биохимические характеристики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Clark A.M. // *Pharmaceutic. Res.* 1996. V. 13. № 8. P. 1133–1141.
2. Ozerskaya S., Kochkina G., Ivanushkina N., Gilichinsky D. *Permafrost Soils* / Ed. Margesin R. Berlin–Heidelberg: Springer Verlag, 2009. P. 85–95.
3. Pitt J.I. *The Genus Penicillium and its Teleomorphic States Eupenicillium and Talaromyces*. London: Acad. Press, 1979. 633 p.
4. Козловский А.Г., Желифонова В.П., Аданин В.М., Антипова Т.В., Озерская С.М., Иванушкина Н.Е., Грефе У. // *Прикл. биохимия и микробиология*. 2003. Т. 39. № 4. С. 446–451.
5. Cole R.J., Cox R.H. *Handbook of Toxic Fungal Metabolites*. New York: Acad. Press, 1981. 937 p.
6. Козловский А.Г., Винокурова Н.Г., Желифонова В.П., Аданин В.М. // *Прикл. биохимия и микробиология*. 1997. Т. 33. № 1. С. 70–74.
7. Козловский А.Г., Винокурова Н.Г., Решетилова Т.А., Сахаровский В.Г., Баскунов Б.П., Селезнев С.В. // *Прикл. биохимия и микробиология*. 1994. Т. 30. № 3. С. 410–414.
8. Betina V. // *Mycotoxins, Production, Isolation, Separation and Purification* / Ed. Betina A.B. Amsterdam: Elsevier, 1984. 528 p.
9. Kozlovsky A.G., Zhelifonova V.P., Antipova T.V., Adanin V.M., Ozerskaya S.M., Kochkina G.A. // *J. Antibiotics*. 2003. V. 56. № 5. P. 488–491.
10. Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В. // *Прикл. биохимия и микробиология*. 2005. Т. 41. № 5. С. 568–572.
11. Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В., Лысанская В.Я. // *Микробиология*. 2006. Т. 75. № 3. С. 334–341.

New Producers of Biologically Active Compounds—Fungal Strains of the Genus *Penicillium* Isolated from Permafrost

T. V. Antipova, V. P. Zhelifonova, B. P. Baskunov, S. M. Ozerskaya,
N. E. Ivanushkina, and A. G. Kozlovsky

*Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russia Academy of Sciences,
pr. Nauki 5, Pushchino, Moscow oblast, 142290 Russia*

e-mail: kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Received May 24, 2010

Abstract—Screening of producers of secondary metabolites was carried out among 25 fungal strains of *Penicillium* genus isolated from permafrost in Arctic and Antarctic regions and Kamchatka. Nearly 50% of the investigated strains synthesize biologically active substances of alkaloid nature: ergot alkaloids, diketopiperazines, and quinoline derivatives. A large group of the identified metabolites belongs to mycotoxins. A strain of *Penicillium waksmanii* was found producing epoxyagroclavine-I and quinocitrinins. The main physiological and biochemical characteristics of this producer were investigated.