

УДК 582.281.123.2.017.735:547.92

ГРИБЫ РОДА *Penicillium* КАК ПРОДУЦЕНТЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ (ОБЗОР)

© 2013 г. А. Г. Козловский, В. П. Желифонова, Т. В. Антипова

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, 142290;
e-mail: Kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 6.02.2012 г.

Грибы рода *Penicillium*, выделенные из малоизученных местообитаний, способны синтезировать как известные ранее, так и новые физиологически активные вещества различной структуры. К ним относятся вторичные метаболиты алкалоидной природы — эргоалкалоиды, дикетопиперазины, хинолины, хиназолины, бензодиазепины и поликетиды. Обсуждается использование профилей вторичных метаболитов для целей таксономии. Изучение физиолого-биохимических характеристик продуцентов биоактивных соединений показало, что биосинтез алкалоидов начинается с первых суток культивирования и идет параллельно росту. Отмечен циклический характер накопления алкалоидов, связанный с процессами биосинтеза, экскреции из клеток, деградацией в культуральной жидкости и поглощением алкалоидов клетками. Синхронные изменения концентрации внутриклеточного триптофана и алкалоидов необходимы для регуляции оптимального для культуры количества триптофана.

DOI: 10.7868/S0555109913010091

Микроскопические грибы рода *Penicillium* — одни из наиболее перспективных источников физиологически активных соединений, в том числе алкалоидов, антибиотиков, гормонов, микотоксинов и т.д. В настоящее время активный поиск продуцентов этих соединений ведется среди штаммов грибов, выделенных из малоизученных и практически неисследованных местообитаний. Грибы—продуценты представители рода *Penicillium* характеризуются особенностями роста и биосинтеза вторичных метаболитов. Транспорт и экскреция метаболитов алкалоидного характера также подчиняются определенным законам, присущим для грибов этого рода.

Грибы рода *Penicillium* считаются трудными объектами для видовой идентификации традиционными микробиологическими методами. Общепринятая идентификация пенициллов по микро- и макроморфологическим признакам часто не дает однозначных результатов. Надежность отнесения пенициллов к определенному виду представляется возможным из-за видоспецифичной продукции различных биологически активных веществ.

Цель обзора — обобщение данных о продуцентах новых биологически активных соединений среди грибов рода *Penicillium*, физиолого-биохимических особенностей штаммов, синтезирующих биоактивные соединения, использование

данных о метаболоме для целей таксономии пенициллов.

СТРУКТУРНЫЕ ТИПЫ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Грибы рода *Penicillium* известны как продуценты вторичных метаболитов, относящихся к различным классам химических соединений — эргоалкалоидам, дикетопиперазинам, бензодиазепинам, хинолинам, хиназолинам и поликетидам (табл. 1).

Пенициллы продуцируют разнообразные по структуре эргоалкалоиды клавинового ряда, особенностью которых является наличие тетрациклического эрголинового ядра. Разнообразие клавиновых алкалоидов обусловлено множеством структурных модификаций кольца D. Эти соединения могут иметь двойную связь в различных положениях кольца и различаться радикалами заместителей. Для них характерно наличие нескольких асимметрических атомов углерода и соответствующих изомеров. Клавиновые алкалоиды, синтезируемые пенициллами, можно разделить на 3 группы. В первую входят производные 6-N-метилэргolina, такие, как фестуклавин, эпикостаклавин, костаклавин, фумигаклавины и изофумигаклавины А и Б с полностью насыщенным кольцом D. Ко второй группе можно отнести эрголены с

Таблица 1. Биологическая активность вторичных метаболитов грибов рода *Penicillium*

Класс соединений	Метаболиты	Биологическая активность, [3, 4, 6, 7, 11, 14, 15, 19, 20, 24, 26, 32]
Эргоалкалоиды	Агроклавин-I	Антибиотическая и противоопухолевая активность [4]
	Аурантиоклавин	—*
	Изофумигаклавины А и Б	—
	Изоханоклавин-I	—
	Костаклавин	—
	Пироклавин	—
	Ругуловазины А и Б	Гипотензивные свойства [20]
	Циклопиазоновая кислота	Микотоксин [20]
	Ханоклавин-I	—
	Фестуклавин	Антибиотическая и противоопухолевая активность [6, 7]
	Фумигаклавины А и Б	—
	Ханоклавины-III	—
	Эпикостаклавин	—
Эпоксиягроклавин-I	Гипотензивные свойства [3]	
Дикетопиперазиновые алкалоиды	Бревианамиды А и Б	Антибиотическая и противоопухолевая активность [14]
	Веррукозин	—
	Гландиколины А и Б	—
	3,12-дигидророкефортин	—
	Изоругулозувин	—
	Мелеагрин	—
	Оксалин	—
	Пискаринины А и Б	Противоопухолевая активность [10]
	Пролилтриптофанилдикетопиперазин	—
	Рокефортин	Микотоксин [20]
	Ругулозувины А (пуберулин А) и Б (пуберулин)	Противоопухолевая активность [11]
Феллутанин А-Е, изофеллутанин В и С	Противоопухолевая активность [19]	
Хинолиновые алкалоиды	Виридикатин, виридикатол	Противоопухолевая активность [15]
	Хиноцитринины А и Б	Антибиотическая и противоопухолевая активность [26]
Хиназолиновые алкалоиды	Фумихиназолины А и Б	Противоопухолевая активность [32]
Производные аминокислот	Квестиомицин	Антибиотическая и противоопухолевая активность [24]
	Ксантоциллин	Антибиотическая активность [24]
Поликетиды	Гризеофульвин	Антибиотическая активность [20]
	Охратоксины А и Б	Микотоксины [20]
	Патулин	»
	Цитринин	»

*Знак " — " — не изучалась.

двойной связью в положении 8, 9 – агроклавин, агроклавин-I, ханоклавин-I, ханоклавин-III, изоханоклавин-I и в порядке исключения в число этих соединений можно включить также эпоксиагроклавин-I. И, наконец, третья группа – клавиновые алкалоиды с модифицированными кольцами С или D: ругуловазины А и Б, аурантиоклавин и α -циклопиазоновая кислота (ЦПК).

Все эргоалкалоиды в той или иной степени обладают биологической активностью, действуют на центральную нервную систему, благодаря их структурному сходству с молекулами таких нейромедиаторов, как адреналин, серотонин, дофамин и др. [1, 2]. Ранее проведенные исследования фармакологической активности эпоксиагроклавина-I показали, что соединение обладает нейротропной активностью, оказывает умеренное гипотензивное действие, замедляет частоту сердечных сокращений, снижает реактивность сосудистой системы на норадреналин [3]. Для некоторых эргоалкалоидов показаны антибиотическое и цитостатическое действия [4]. Так, агроклавин, фестуклавин и их алкилпроизводные проявляют бактериостатический эффект в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и др. Наибольшей активностью обладает 1-пропил-6-норфестуклавин, подавляющий рост всех исследованных бактерий и дрожжей *Candida albicans* [5, 6]. Производные фестуклавина, подавляя транспорт нуклеозидов в некоторых опухолевых клетках, ингибируют синтез ДНК и РНК [7].

К другой группе, синтезируемых пенициллами вторичных метаболитов, относятся циклические пептиды, состоящие из остатков двух аминокислот и мевалоновой кислоты. Для этих соединений алкалоидной природы характерно наличие дикетопиперазинового ядра. Конденсация триптофана, гистидина и мевалоновой кислоты приводит к биосинтезу алкалоидов группы рокефортина (рокефортин, 3,12-дигидророкефортин, гландиколины А и Б, мелеагрин, оксалин) [8]. Триптофан и мевалоновая кислота являются также предшественниками дикетопиперазиновых алкалоидов феллутанинов и изофеллутанинов [9]. По такой же схеме из триптофана, пролина и одной или более молекул мевалоновой кислоты образуются бревинамиды А и Б и новые алкалоиды – пискаринины А и Б [10]. К дикетопиперазиновым алкалоидам, предшественниками которых являются триптофан и лейцин, относятся лейцилтриптофанилдикетопиперазин и веррукозин [8]. Соединения, образованные из остатков триптофана и фенилаланина, представлены такими алкалоидами, как ругулозувин, изоругулозувин, пуберулин (= ругулозувин А), пуберулин А (= ругулозувин Б) [11]. Наиболее распространенным и хорошо изу-

ченным с точки зрения биологической активности является рокефортин. Рокефортин известен как микотоксин, обладающий нейротоксическими свойствами. Показано, что в определенной степени рокефортин ингибирует ферменты желудочно-кишечного тракта [12] и активности цитохромов Р 450 [13]. Для некоторых дикетопиперазинов, например для ругулозувинов и бревинамидов, показана антибиотическая и противоопухолевая активность [11, 14].

Если в начале биосинтетической цепочки вместо триптофана находится антраниловая кислота, то в результате метаболических процессов образуются бензодиазепиновые (циклопептин, циклопенин и циклопенол), хинолиновые (виридикатин, виридикатол и хиноцитринины А и Б), хиназолиновые (фумихиназолины А и Б) соединения. Интерес к этим алкалоидам возрастает благодаря ценным фармакологическим и терапевтическим свойствам. Примером может служить 3-О-метилвиридикатин – сильный ингибитор фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), вызванной вирусом иммунодефицита [15].

Самая многочисленная группа вторичных метаболитов, продуцируемая пенициллами, относится к поликетидам. Среди них наиболее изучены охратоксины А и Б, патулин, цитринин, которые по своей биологической активности относятся к микотоксинам [16].

ПОИСК ПРОДУЦЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Для поиска новых биологически активных молекул перспективных лекарственных средств использованы различные подходы. Во-первых, отбор среди штаммов, относящихся к видам, у которых ранее была обнаружена способность к синтезу новых биомолекул. Во-вторых, исследование метаболома у продуцентов, выделенных из малоизученных, экстремальных местообитаний, так как именно у них с большой вероятностью можно ожидать синтез новых вторичных метаболитов, которые помогают продуценту выживать и адаптироваться в этих условиях.

Поиск продуцентов среди представителей видов, перспективных в отношении синтеза вторичных метаболитов. Ранее была установлена способность *P. fellutanum* (= *P. sizovae*) синтезировать эргоалкалоиды с необычной стереохимией у 5 и 10 атомов углерода эрголинового ядра – агроклавин-I и эпоксиагроклавин-I, а также эргоалкалоид с димерной структурой с N-N сочленением индольных колец – димер эпоксиагроклавина-I [17, 18]. При изучении 5 штаммов *P. fellutanum* было установлено, что один штамм синтезирует, по-видимому, биогенетически связанных между собой,

группу дикетопиперазиновых алкалоидов, у которых триптофан является предшественником [9]. По продуценту эти метаболиты были названы как феллутанин А, феллутанин Б, изофеллутанин Б, феллутанин С, изофеллутанин С, феллутанин Д и феллутанин Е. Было установлено, что феллутанин Д проявляет цитотоксические свойства: IC_{50} (мкг/мл) для клеток фибропластов мышей линии L-929 составляет 11.6, для клеток лейкемии человека линии К-562 – 9.5 и HeLa – 19.7 [9, 19].

Грибы вида *P. piscarium* известны как продуценты индолсодержащих треморгенных микотоксинов янтитрема В, фумитреморгина В, веррукулогена и пенитремов [20]. Сведения о синтезе грибами вида *P. piscarium* алкалоидов, не относящихся к треморгенной группе, немногочисленны. В результате скрининга среди трех штаммов *P. piscarium* было обнаружено, что они синтезировали разнообразные дикетопиперазиновые алкалоиды [21]. Веррукозин, пролилтриптофанилдикетопиперазин, пуберуллин А, изоругулозувин и феллутанин А найдены у штамма ВКМ F-325. Гриб ВКМ F-1823 синтезировал только изоругулозувин и феллутанин А. Продукция пролилтриптофанилдикетопиперазина обнаружена у штамма ВКМ F-691. Кроме того, из культуральной жидкости этого штамма были выделены в очищенном виде два новых метаболита и установлена их структура. Эти новые метаболиты, относящиеся к семейству дикетопиперазиновых алкалоидов, имеют необычную структуру дигидропиранилзамещенного индольного ядра. По продуценту соединения были названы пискаринин А и пискаринин Б. Метаболиты проявляли средний уровень антимикробной активности против бактерий и грибов и среднюю цитотоксичность. Метаболиты активны в отношении клеточной линии рака простаты LNCAP с IC_{50} 2.195 мкг/мл для пискаринина А и 1.914 мкг/мл для пискаринина Б [10].

Поиск новых продуцентов среди штаммов грибов, выделенных из необычных местообитаний. Экологическая система, такая, как орбитальная космическая станции (ОКС) “Мир”, которая в процессе космического полета в течение многих лет подвергалась непрерывному воздействию различных факторов, рассматривалась в качестве уникального материала для углубленных биотехнологических исследований [22]. Осуществление космических полетов с использованием как пилотируемых, так и беспилотных средств сопровождалась выносом за пределы естественных природных условий различных микроорганизмов, контаминирующих космическую технику. Исследования, проведенные на станции “Мир”, показали, что ее микрофлора включала более

100 видов микроскопических грибов. Причем некоторые из них проявляли способность к многолетнему заселению конструкционных материалов интерьера, оснащения и оборудования станции [22]. В 1997–1998 г. в пробах микрофлоры были достоверны диагностированы штаммы, отнесенные к видам *P. expansum* и *P. chrysogenum* – отдаленных потомков культур, выделенных в ее обитаемых отсеках более восьми лет назад.

Выделенные на ОКС “Мир” штаммы пенициллов были изучены в отношении их способности к синтезу азотсодержащих вторичных метаболитов. Было установлено, что 4 штамма *P. chrysogenum* и 6 штаммов *P. expansum* синтезировали метаболиты алкалоидной природы: рокефортин, 3,12-дигидрокефортин, мелеагрин, виридикатин, виридикатол, изоругулозувин, ругулозувин Б и N-ацетилтриптамин [23]. Было показано также, что штамм-резидент *P. expansum* ИМБП 2-7, ставший доминантным в конце длительного полета, и штаммы *P. chrysogenum* ИМПБ 1-5 и 1-6 способны синтезировать ксантоциллин Х (бревицид) и квестиомицин А – антибиотики широкого спектра действия [24].

Поиск новых продуцентов среди штаммов грибов, выделенных из вечной мерзлоты. В результате скрининга штаммов, выделенных из мерзлотных отложений, было установлено, что 41 штамм из 56 изученных способны синтезировать разнообразный спектр вторичных метаболитов [25–31]. Был обнаружен штамм *P. citrinum*, который синтезировал не только метаболиты, необычные для этого вида – эргоалкалоиды эпоксиагроклавин-I и агроклавин-I (ЭА), но и новые вторичные метаболиты хинолиновой природы, названные нами по продуценту как хиноцитринин А и хиноцитринин Б [26]. Хиноцитринины (ХЦ) обладают различными видами биологической активности. Они эффективны против грамположительных, грамотрицательных бактерий, дрожжей и грибов. Эти метаболиты также обладают цитотоксичностью против опухолевых клеток. Так, ингибирующая концентрация (LC_{50} мкг/мл) для хиноцитрининов А и Б для клеток фибробластов мышей линии L-929 составила 33.1 и 18.6, для клеток лейкемии человека линии К-562 – 19.5 и 7.8 и HeLa >50 соответственно [26]. Позднее данный спектр метаболитов был идентифицирован у *P. waksmani* ВКМ FW-2875, выделенного из арктического мерзлотного грунта [30]. В процессе исследования были обнаружены два штамма *P. thymicola*, которые синтезировали фумикиназолины F и G [31]. Они обладали противораковой активностью на клетки лимфолейкоза Р 388 (ED_{50} 13.5 мкг/мл и 13.8 мкг/мл соответственно) [32].

Таблица 2. Профили вторичных метаболитов пенициллов, выделенных в различных регионах вечной мерзлоты [25–31, 36, 38]

Штамм, ВКМ FW	Идентифицированные метаболиты	Первоначальный диагноз вида	Окончательный диагноз вида
2885	ЦПК	<i>P. citrinum</i>	<i>P. commune</i>
2666	»	<i>P. melinii</i>	»
2830	»	<i>P. melinii</i>	»
2829	»	<i>P. miczynskii</i>	»
1447, 2753, 2851, 2853, 2876, 2881	»	<i>P. viridicatum</i>	»
2852, 2854	ЦПК, фестуклавин, фумигаклавины А и Б	<i>P. viridicatum</i>	<i>P. palitans</i>
657, 667, 690, 704, 794	Фестуклавин, фумигаклавины А и Б	<i>P. verrucosum</i>	»
738, 741, 766	Рокефортин, дигидророкефортин	<i>P. aurantiogriseum</i>	<i>P. melanoconidium</i>
2877	Рокефортин	<i>P. miczynskii</i>	<i>P. chysogenum</i>
2873	Рокефортин, мелеагрин	»	»
2835	Рокефортин, дигидророкефортин	»	»
2739	Рокефортин, мелеагрин, триптофанилдегидрогистидилдикетопиперазин	»	»
2863	Рокефортин, мелеагрин, триптофанилдегидрогистидилдикетопиперазин, гландиколины А и Б	»	»
2600, 2665	Циклопенин, циклопептин	<i>P. verrucosum</i>	<i>P. solitum</i>
2921	»	<i>P. viridicatum</i>	»
2928, 2604	Циклопенин, циклопептин, виридикатин	»	»
2615	Циклопенин, циклопептин, циклопенол	»	»
791, 725	Микофеноловая кислота	<i>P. brevicompactum</i>	<i>P. bialowiezense</i>
875, 877, 878, 907, 908, 2899	Охратоксин А и Б	<i>P. verrucosum</i>	<i>P. verrucosum</i>
2648	Фумихиназолин F и G, PC-2	<i>P. canescens</i>	<i>P. thymicola</i>
869	»	<i>P. griseofulvum</i>	»
2251	Гризеофульвин	<i>P. griseofulvum</i>	<i>P. griseofulvum</i>
800	Агроклавин-I, эпоксиагроклавин-I, хиноцитринины А и Б	<i>P. citrinum</i>	<i>P. citrinum</i>
2875	»	<i>P. waksmanii</i>	<i>P. waksmanii</i>
655, 806, 811, 816, 818	Ругуловазины А и Б	<i>P. variable</i>	<i>P. variable</i>
809	Не обнаружены	<i>P. verrucosum</i>	<i>P. viridicatum</i>
2859	»	<i>P. viridicatum</i>	»

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ В КАЧЕСТВЕ ЭЛЕМЕНТА ПОЛИФАЗНОЙ ТАКСОНОМИИ

В последнее время для идентификации грибов подрода *Penicillium* разработана новая система, в которой, наряду с микро- и макроморфологическими признаками исследуемых штаммов, используются профили их вторичных метаболитов [33]. Их применение основывается на эмпирическом наблюдении общих физиологических и биохимических характеристик у филогенетически родственных организмов. Потенциальная и фактическая продукция вторичных метаболитов является частью физиолого-биохимической идентификации. Эти принципы лежат в основе полифазной таксономии. Исходя из этих подходов, на

основании профилей вторичных метаболитов было уточнено таксономическое положение 41 штаммов пенициллов из 56 изученных. Штаммы были выделены из различных регионов многолетней мерзлоты: в Антарктиде, в Северной Америке (Канада), в Северо-Восточной Азии (Колыма) и на Камчатке (Россия) [34, 35]. Культуры были изолированы из образцов грунтов, воды, криопэггов и пепла вулканов различного геологического возраста. Было установлено, что определение точной видовой принадлежности этих грибов в момент их выделения из природных субстратов затруднено из-за смещения температурного оптимума роста в сторону низких температур [25, 30, 31, 36].

Ранее Самсон и Фрисвад уже использовали полифазную таксономию для уточнения таксономического положения штаммов грибов [33]. В отличие от их подхода, при изучении профилей вторичных метаболитов культуры выращивали глубинным способом на минеральной среде, содержащей два углеродных субстрата – сукцинат и маннит. Для 6 штаммов наблюдалось соответствие между видовыми наименованиями и набором морфологических признаков и вторичных метаболитов, известных для видов *P. verrucosum* Dierckx и *P. griseofulvum* Dierckx (табл. 2). Так, наличие охратоксинов А и Б, обнаруженных у 5 штаммов, однозначно свидетельствовало об их принадлежности к виду *P. verrucosum* [36]. Гризеофульвин, идентифицированный у одного из штаммов, соответствовал первоначально определенному виду *P. griseofulvum* [31]. К этой группе можно отнести 2 штамма, синтезирующие идентичный спектр метаболитов, состоящий из эрголенов с двойной связью в положении 8,9-агроклавин-1, эпоксиагроклавин-1 и хинолиновые алкалоиды хиноцитринины А и Б (табл. 2). По морфологическим признакам штаммы были отнесены к видам *P. citrinum* Thom и *P. waksmanii* Zaleski [26, 27, 30]. Ранее подобные профили метаболитов были обнаружены у двух культур *P. corylophyllum* Dierckx и *P. fellutanum* Biourge, выделенные из современных местообитаний [17, 37]. Все эти виды пенициллов относятся к подроду *Furcatum*.

Для остальных 42 штаммов было отмечено несоответствие признаков. По профилю вторичных метаболитов штаммы были разделены на несколько групп (табл. 2). Для каждой группы штаммов, адаптированных к искусственным условиям поддержания, был характерен идентичный набор макро- и микроморфологических признаков.

В группу, синтезирующую только ЦПК, вошло 10 штаммов (табл. 2) [30, 31]. Их морфологические признаки соответствовали грибам секции *Viridicata* серии *Camemberti*. Продукция только ЦПК характерна для одного вида – *P. camemberti* Thom. У других видов пенициллов серии *Camemberti*, продуцирующих ЦПК, хемотаксономическими маркерами выступают и другие соединения: для *P. commune* Thom – ругуловазины, для *P. palitans* Westling – фумигаклавины [33]. Морфологические признаки, проявляемые этими штаммами на диагностических агаризованных средах, были схожи и соответствовали виду *P. commune*. У двух штаммов идентифицирован полный набор метаболитов, характерных для вида *P. palitans* – ЦПК, фумигаклавины А и Б и фестуклавины [31]. У 5 штаммов были идентифицированы фумигаклавины А и Б и фестуклавины, а ЦПК отсутство-

вала [29]. Морфологические признаки, проявляемые этими штаммами на диагностических агаризованных средах, были сходны и соответствовали виду *P. palitans*.

Дикетопиперазиновые алкалоиды группы рокефортина идентифицированы у 8 штаммов, первоначально отнесенным к видам *P. aurantiogriseum* Dierckx (3 шт.) и *P. miczynskii* Zaleski (5 шт.) [25, 30]. Вид *P. aurantiogriseum* относят к подроду *Penicillium* секции *Viridicata* серия *Viridicata*. В этом таксоне биосинтез метаболитов группы рокефортина характерен только для вида *P. melanoconidium* Frisvad et Samson. Для вида *P. miczynskii* (подрод *Furcatum*) биосинтез метаболитов группы рокефортина не известен [33]. Повторная идентификация этих культур на диагностических средах и биосинтез ими метаболитов группы рокефортина однозначно свидетельствовали о принадлежности их к подроду *Penicillium* секции *Chrysogena* серии *Chrysogena* к виду *P. chysogenum* Thom.

Продуценты бензодиазепиновых (циклопептин, циклопептин, циклопенол) и хинолиновых (виридикатин) алкалоидов первоначально были отнесены к видам *P. viridicatum* Westling (секция *Viridicata* серия *Viridicata*) и *P. verrucosum* Dierckx (секция *Viridicata* серия *Verrucosa*) [31]. Идентификация видов в этой секции часто проблематична из-за наличия общих межвидовых морфологических признаков, в связи с чем особый смысл имеет определение способности штаммов к продукции вторичных метаболитов, имеющих диагностическое значение. В серии *Viridicata* циклопенины и виридикатины служат хемотаксономическими маркерами видов *P. cyclopium* Westling, *P. freii* Frisvad et Samson, *P. neoehinulatum* (Frisvad, Filtenborg et Wicklow) Frisvad et Samson, *P. polonicum* Zaleski; а в серии *Solita* – видов *P. discolor* Frisvad et Samson, *P. echinulatum* Fassatiowa и *P. solitum* Westling [33]. Морфологические признаки, проявляемые на диагностических средах, адаптированных к искусственным условиям поддержания культур, а также биосинтез циклопенинов и виридикатинов, позволили отнести эти штаммы к виду *P. solitum*. Для остальных видов, продуцирующих циклопенины и виридикатины, в состав маркерных метаболитов входят и другие соединения [33].

Микофеноловая кислота была идентифицирована у двух штаммов, отнесенных по микро- и макроморфологическим признакам виду *P. brevicompactum* Dierckx (подрод *Penicillium* секция *Corotata* серия *Olsoni*) [38]. Однако продукция только микофеноловой кислоты этими штаммами указывала на принадлежность к другому виду серии *Olsoni* – *P. bialowiezense* Zaleski [33]. По морфологическим признакам эти виды трудноразли-

чимы. Различие между ними заключается в продукции бревинанамида А *P. brevicompactum* [33].

Два штамма синтезировали хиназолиновые алкалоиды – фумихиназолины F и G, а также поликетид РС-2 [31]. На диагностических агаризованных средах эти культуры показали невысокую скорость роста, психротолерантность и высокую галотолерантность. По ранее опубликованным данным [33], такие экофизиологические свойства имеют 4 вида пенициллов из секции *Viridicata* серий *Verrucosa* (*P. verrucosum*, *P. thymicola*), *Camemberti* (*P. camemberti*) и *Corymbifera* (*P. radicolica* Overy et Frisvad). Обнаружение продукции фумихиназолинов и микроморфологические признаки подтверждают их принадлежность к виду *P. thymicola*, *P. thymicola* – новый вид, отнесенный Фрисвадом и Самсоном к секции *Viridicata* серии *Verrucosa*. От близких к нему видов *P. verrucosum* и *P. nordicum* Dragoni et Marino этот вид отличается составом продуцируемых метаболитов, шероховатыми конидиями и желтым реверсом на среде СУА.

У 5 из 11 изученных штаммов вида *P. variable* Sopp (подрод *Biverticillium*), выделенных в различных регионах вечной мерзлоты, была обнаружена продукция эргоалкалоидов клавинового ряда ругуловазинов А и Б [28]. У грибов этого вида ругуловазины обнаружены впервые. Ругуловазины синтезируют пенициллы, относящиеся к двум под родам – *Biverticillium* (*P. purpurogenum* Stoll, *P. rugulosum* Thom, *P. islandicum* Sopp) и *Penicillium* (*P. atramentosum* Thom, *P. biforme* Thom (= *P. camemberti*), *P. caseifulvum* Lund, *P. commune* Thom) [33]. Близость макро- и микроморфологических признаков у видов *P. variable* и *P. rugulosum* могла служить основанием для переопределения видовой принадлежности штаммов, синтезирующих ругуловазины. Однако принадлежность изученных продуцентов ругуловазинов к виду *P. variable* не вызывает сомнений из-за отсутствия прорастания их конидий при 5°C.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОДУЦЕНТОВ

Было изучено влияние состава среды и способа культивирования на алкалоидообразование гриба *P. fellutanum* ВКМ F-3020 [39]. Дикетопиперазиновые алкалоиды – феллутанины синтезировались культурой на всех изученных средах. При крайне слабом росте на среде Чапека–Докса в условиях как глубинного, так и поверхностного культивирования, в культуральной жидкости накапливались в основном конечные продукты биосинтетической цепи. При росте на глюкозопептонной и на минеральной средах в мицелии и вне клеток обнаружен весь спектр алкалоидов.

Было показано, что биосинтез феллутанинов грибом-продуцентом на минеральной среде, содержащей сукцинат и маннит, процесс, идущий параллельно росту культуры. Установлено, что экзогенный триптофан использовался культурой в первичном метаболизме и не стимулировал алкалоидообразование. Максимальный выход продукта от биомассы и максимальное накопление алкалоидов культурой наблюдалось на среде с глутаминовой кислотой. Источник азотного питания практически не влиял на их качественный состав, но отражался на соотношении компонентов алкалоидной фракции. При использовании фенилаланина в качестве единственного источника азота, помимо феллутанинов, обнаружен триптофанилфенилаланиндикетопиперазин (изоругулозувин).

Биосинтез пискарининов А и Б наиболее активно проходил при поверхностном культивировании гриба *P. piscarium* на комплексной среде [21, 40]. При глубинном культивировании штамма на минеральной среде продукция пискарининов была в 2 раза ниже. Увеличение посевной дозы конидий, обработанных твином-80, повышало продуктивность культуры. Замена маннита на глюкозу, а также внесение ионов цинка, железа или меди в среду полностью подавляло продукцию этих алкалоидов.

При изучении динамики содержания квестиомицина А и ксантоциллина Х в среде культивирования в процессе роста одного из продуцентов – *P. expansum* 2–7 было установлено, что синтез этих метаболитов идет также параллельно росту культуры-продуцента [24]. Имеются периоды накопления и снижения содержания этих метаболитов в процессе роста и развития продуцента. Максимальный уровень антибиотиков наблюдался в стационарную фазу роста гриба. Внесение цинка в среду стимулировало синтез этих метаболитов. Однако, если для синтеза ксантоциллина Х оптимальной концентрацией цинка являлось 0.3 мг/л, то для квестиомицина А – 3.0 мг/л.

Биосинтез эргоалкалоидов и хиноцитрининов штаммом *P. citrinum* ВКМ FW-800 также шел параллельно росту [41]. Большая часть этих вторичных метаболитов экскретировалась в среду. В фазах замедления роста наблюдалось их частичное поглощение клетками продуцента. Ионы цинка стимулировали как процессы основного, так и вторичного метаболизма. При внесении этого микроэлемента в среду культивирования возрастало накопление биомассы и синтез как эргоалкалоидов, так и хиноцитрининов. При изучении влияния аминокислот на рост и биосинтез алкалоидов грибом *P. citrinum* установлено, что экзогенные аминокислоты использовались культурой

в основном в первичном метаболизме [42]. Добавленные при посеве триптофан и лейцин не влияли существенно ни на рост культуры, ни на синтез алкалоидов, а изолейцин стимулировал накопление биомассы. Триптофан, внесенный в стационарную фазу роста гриба, стимулировал синтез эргоалкалоидов и хиноцитрининов. Изолейцин независимо от времени внесения в питательную среду ингибировал биосинтез обоих классов алкалоидов. Лейцин, внесенный в стационарную фазу роста, не влиял на синтез эргоалкалоидов и подавлял биосинтез хиноцитрининов.

Принципиальное отличие в отношении роста и развития среди продуцентов вторичных метаболитов наблюдалось у грибов вида *P. variable*, синтезирующих клавиновые алкалоиды – ругуловазины А и Б, впервые обнаруженные у данного вида [28, 43]. Так, при глубинном культивировании штамма-продуцента наблюдалось несколько микроциклов конидиирования. Синтез алкалоидов носил также циклический характер. Обнаружена синхронность цикличности биосинтеза ругуловазинов и конидиообразования. Ионы цинка стимулировали рост гриба, но отрицательно влияли на биосинтез ругуловазинов. Способность грибов вида *P. variable* синтезировать ругуловазины не зависела от места выделения продуцентов и была обнаружена как у штаммов-реликтов, так и у культур, выделенных из современных местобитаний. При глубинном культивировании на синтетической среде на ранних стадиях роста у исследованных грибов наблюдался микроциклический конидиогенез, наличие или отсутствие которого, а также активность культур в отношении биосинтеза ругуловазинов определялись составом среды культивирования. На сложной среде, содержащей добавки пептона, конидиогенез имел место, но был значительно подавлен. На среде с дрожжевым экстрактом дифференцировка мицелия полностью отсутствовала. При этом в обоих случаях заметных количеств ругуловазинов не было обнаружено.

Таким образом, для подавляющего большинства штаммов-продуцентов грибов рода *Penicillium* характерны следующие закономерности. На синтетической среде, содержащей маннит, янтарную кислоту, минеральные соли и аммонийный азот, выбранной нами в качестве оптимальной для синтеза вторичных метаболитов, биосинтез азотсодержащих соединений проходил параллельно росту продуцента. Классическая кинетика для биосинтеза вторичных метаболитов, таких, как антибиотики, трофо-фаза (фаза роста) и идеофаза (фаза продукции) в этом случае отсутствовали. У изученных нами продуцентов триптофан выполнял только функцию предшественника, в отличие от грибов рода *Claviceps*, проду-

центов эргоалкалоидов, у которых он является также индуктором ключевого фермента – диметилаллилпирофосфат: – L-триптофан – диметилаллилтрансферазы, а также его дерепрессором при использовании в составе среды глюкозы или повышенных концентраций фосфата [2]. В случае продуцентов, относящихся к роду *Penicillium*, варьирование в достаточно широких пределах состава сред, как правило, приводит к изменению интенсивности синтеза, но не к полному его подавлению. Для изученных продуцентов характерна цикличность биосинтеза и потребления вторичных метаболитов, связанное с фазами роста культур. После достижения к определенному моменту, как правило, к окончанию фазы линейного роста, максимального содержания в культуральной жидкости, следует быстрое (в течение 1 сут или даже за меньший период) потребление 30–40% метаболита.

ТРАНСПОРТ И ЭКСКРЕЦИЯ АЛКАЛОИДОВ

Циклическое накопление алкалоидов в среде и в клетках отмечено у многих пенициллов, синтезирующих алкалоиды различной структуры. Причем количество периодов максимального и минимального содержания алкалоидов в процессе роста может быть различным у разных продуцентов. В процессе биосинтеза ЭА и ХЦ у 4 продуцентов *P. citrinum*, *P. corylophilum*, *P. fellutanum* и *P. waksmanii* наблюдалось два падения концентрации алкалоидов в культуральной жидкости: во вторую лаг-фазу и в начале стационарной фазы роста культур [44].

Содержание алкалоидов в культуральной жидкости определяется соотношением процессов биосинтеза, экскреции их из клеток, деградации в культуральной жидкости и поглощением алкалоидов клетками. Отдельные стадии были детально исследованы на примере конкретных продуцентов. Так, процессы транспорта и экскреции рокефортина были исследованы в различных условиях у *P. crustosum* [45]. Было установлено, что при потреблении грибом-продуцентом экзогенного C¹³-рокефортина образуются метаболиты PF-1–PF-4, а также происходит включение продуктов деградации в первичный обмен. На модельных опытах было показано, что клетки гриба *P. crustosum*, способны поглощать рокефортин из культуральной среды с помощью двух транспортных систем – энергозависимой и энергонезависимой. Транспорт рокефортина стимулировался сукцинатом, но не глюкозой или маннитом.

Аналогичная картина наблюдалась у гриба *P. nalgiovense* – продуцента циклического эргоалкалоида аурантиоклавина [46]. Было установлено, что динамика накопления аурантиоклавина в

культуральной жидкости также носит двухфазный характер. Культура способна в зависимости от стадии роста как к экскреции в культуральную среду, так и поглощению из среды продуцируемого им алкалоида аурантиоклавина. Эти процессы соответствуют различным физиологическим состояниям культуры. Экскреция наблюдается в период активного роста гриба и сопровождается интенсивным биосинтезом аурантиоклавина, энергонезависимой экскрецией его и увеличением концентрации алкалоида в среде культивирования. Поглощение отмечается в период второй лаг-фазы, когда происходит адаптационная перестройка с одного источника углерода — сукцината на другой — маннит. При этом наблюдается уменьшение концентрации аурантиоклавина в культуральной среде, вызванное поглощением его клетками гриба посредством энергонезависимого транспортного процесса. Экскреция и обратное поглощение алкалоида его продуцентом, по-видимому, являются регулируемые процессами, связанными с ростом и физиологическим состоянием культуры.

У продуцента ЭА и ХЦ *P. citrinum* на различных моделях также исследовались различные аспекты этого феномена [41, 47]. Было предположено, что в фазы активного роста гриба *P. citrinum* (на сукцинате и манните) преобладают процессы синтеза и экскреции алкалоидов, а при остановке роста, во вторую лаг-фазу и в начале стационарной фазы роста, доминирует поглощение и (или) деградация алкалоидов в культуральной жидкости. Как правило, двухфазный характер накопления вторичных метаболитов объясняют либо превращением исходного метаболита в другие, либо потреблением этого метаболита культурой. Для проверки предположения о возможном превращении ЭА и ХЦ в другие метаболиты методом ТСХ был проведен анализ кислых и щелочных хлороформных экстрактов культуральной жидкости *P. citrinum* в периоды до и после резких изменений концентраций алкалоидов в культуральной жидкости. Было обнаружено, что состав алкалоидов не изменялся [41]. Таким образом, на фоне уменьшения концентрации ЭА и ХЦ в культуральной жидкости заметного превращения их в другие алкалоиды не происходило. Снижение концентрации алкалоидов в культуральной жидкости в начале стационарной фазы роста *P. citrinum* было вызвано поглощением алкалоидов клетками гриба. Способность поглощать ХЦ не зависела от возраста мицелия, в то же время способность поглощать ЭА у молодого мицелия было выше, чем у мицелия в стационарной фазе [47]. Поглощение мицелием внесенных ЭА сопровождалось экскрецией внутриклеточных ХЦ. Обнаружен различный эффект от внесения ХЦ на экскрецию из мицелия разного возраста: поглощение

внесенных ХЦ приводило к полной остановке экскреции ЭА активно растущим мицелием, в то время как экскреция ЭА из мицелия стационарной фазы роста проходила в течение всего времени проведения опыта. Процесс экскреции ЭА и ХЦ из мицелия разного возраста осуществлялся энергонезависимо. Таким образом, перенося результаты модельных опытов на растущую культуру можно считать, что в фазе активного роста гриба *P. citrinum* преобладает процесс биосинтеза алкалоидов и их энергонезависимая экскреция из мицелия. При остановке роста гриба в начале стационарной фазы роста доминирование поглощения алкалоидов из культуральной жидкости над их экскрецией определяется остановкой биосинтеза алкалоидов из-за падения уровня свободного триптофана в клетках.

При изучении биосинтеза эргоалкалоидов грибов рода *Claviceps* [2] было высказано предположение, что эти соединения связывают избыточное количество первичных метаболитов, а именно триптофана — предшественника эргоалкалоидов, предотвращая тем самым репрессию конечным продуктом и остановку роста. Возможно, что в случае *P. citrinum* имеет место обратный процесс, алкалоиды потребляются в начале стационарной фазы роста из-за низкого уровня первичных метаболитов, например триптофана, необходимого для роста гриба.

Изучение процессов транспорта алкалоидов имеет непосредственное значение для выяснения их роли в общем метаболизме грибной клетки и механизма регуляции биосинтеза этих вторичных метаболитов. Сложная динамика накопления различных алкалоидов в среде культивирования, связанная с процессами их экскреции и потребления клетками, свидетельствуют о том, что данные соединения не являются физиологически инертными продуктами клеточного метаболизма, а играют определенную роль в физиологии организма-продуцента, участвуя в процессах его роста и развития.

* * *

Динамическое взаимодействие между конкурирующими организмами в определенной экологической нише отражается через функциональное разнообразие вторичного метаболизма. Природная пластичность вторичного метаболизма лежит в основе той легкости, с которой микроорганизмы развивают устойчивость к антибиотикам.

Каждый биосинтетический путь вторичного метаболизма происходит из первичного метаболизма и включает сложные и часто высоко специфичные реакции, которые приводят к определенным конечным продуктам. Во многих случаях

первая реакция, которая отклоняется от первичного метаболизма, является стержневой при образовании нового вторичного биосинтетического пути. Эта реакция дает начало первому интермедиату, который далее превращается в биоактивный конечный продукт. Ферменты, участвующие в процессах анаболизма в том числе в биосинтезе азотсодержащих вторичных метаболитов, являются конститутивными и их регуляция может осуществляться по механизму репрессии или ингибирования конечным продуктом.

Для синтеза большинства катаболических ферментов, в данном случае субстратом являются вторичные метаболиты, требуется индукция. Известно, что образование ферментов, участвующих в процессах анаболизма, например в биосинтезе пиримидинов, аминокислот, регулируется путем репрессии. Индукция и репрессия действуют медленно, и их можно рассматривать, как механизмы грубой регуляции. Изменение активности ключевого фермента проявляется мгновенно. Это можно отнести к тонкой регуляции. Таким образом, у пенициллов в отношении вторичных метаболитов периодически протекают процессы как анаболизма (биосинтез вторичных метаболитов), так и катаболизма (периодическое потребление вторичных метаболитов). Поэтому в данном случае регуляция, очевидно, осуществляется с использованием обоих механизмов.

Известно, что геном мицелиальных грибов содержит кластеры генов, ответственных за образование вторичных метаболитов. В биосинтез вторичных метаболитов вовлечены мультифункциональные ферментные комплексы: поликетидсинтаза (ПКС) и нерибосомальная пептидсинтаза (НРПС) и гибридная ПКС-НРПС. Конструирование ди- и трипептидных алкалоидов выполняется НРПС. Иногда в НРПС присутствуют модифицированные домены эпимеризации, гетероциклизации, N-метилирования и др. [48]. В свою очередь, грибные поликетиды синтезируются с помощью модульных ПКС I типа [49].

В настоящее время описаны гены, ответственные за биосинтез важных антибиотиков и микотоксинов. Кластер генов, ответственный за биосинтез индол-дигтерпенового алкалоида паксиллина были исследованы у *P. paxilli* [50]. Ген изоэпоксиддегидрогеназы, участвующий в биосинтезе патулина, описан у *P. griseofulvum* и *P. expansum* [51]. Экспрессия генов вторичного метаболизма тонко регулируется и зависит от факторов питательной среды и стадии развития продуцента. Существует мнение, что гены, кодирующие биосинтез вторичных метаболитов, не всегда экспрессируются у продуцентов [52]. Поэтому, чтобы узнать весь потенциал “молчащих”

генов вторичного метаболизма у продуцентов применяются различные подходы, а именно, изменение компонентов питательной среды культивирования, использование низкомолекулярных эпигенетических модификаторов и др. Такой подход, называемый OSMAC (один штамм, много соединений), может в будущем привести к расширению спектра синтезируемых вторичных метаболитов и к открытию новых лекарственных препаратов [53].

Таким образом, грибы рода *Penicillium* являются креативным источником как известных ранее, так и новых физиологически активных веществ. Профили вторичных метаболитов успешно используются для целей таксономии. Биосинтез алкалоидов идет параллельно росту и имеет циклический характер. Синхронные изменения концентрации внутриклеточного свободного триптофана и алкалоидов у продуцента необходимы для регуляции оптимального для культуры количества триптофана.

Работа выполнена при поддержке ФЦП “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы” (государственный контракт № 16.518.11.7035).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fluckiger E.* Ergot Compounds and Brain Function: Neuroendocrine and Neuropsychiatric Aspects / Ed. M. Goldstein. N. Y.: Raven Press, 1980. 298 p.
2. *Rehacek Z., Sajdl P.* Ergot Alkaloids. Chemistry, Biological Effect, Biotechnology. Praha: Academia, 1990. 383 p.
3. Патент РФ. 2010. № 2386692.
4. *Schwartz G., Eich E.* // *Planta Med.* 1983. V. 47. P. 212–214.
5. *Glatt H., Pertz H., Kasper R., Eich E.* // *Anticancer Drugs.* 1992. № 3. P. 609–614.
6. *Eich E., Eichberg D., Schwarz G., Clas F., Loos M.* // *Arzneimittelforschung.* 1985. B. 35. № 12. S. 1760–1762.
7. *Hibasami H., Nakashima K., Pertz H., Kasper R., Eich E.* // *Cancer Lett.* 1990. V. 50. № 2. P. 161–164.
8. *Козловский А.Г., Винокурова Н.Г., Соловьева Т.Ф., Бузилова И.Г.* // Прикл. биохимия и микробиология. 1996. Т. 32. № 1. С. 43–52.
9. *Козловский А.Г., Винокурова Н.Г., Аданин В.М., Седмера П.* // Прикл. биохимия и микробиология. 1997. Т. 33. № 4. С. 408–414.
10. *Kozlovsky A.G., Vinokurova N.G., Adanin V.M., Grafe U.* // *Nat. Prod. Lett.* 2000. V. 14. № 5. P. 333–340.
11. *Козловский А.Г., Аданин В.М., Дазе Х.М., Грефе У.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2001. Т. 37. № 3. С. 292–296.

12. *Krupyanko V.I., Reshetilova T.A.* // IX Int. IUPAC Symp. Mycotoxins and Phycotoxins. Italy: Rome, 1996. 27–31 May. P. 215.
13. *Aninat C., Hayashi Y., Andre F., Delaforge M.* // Chem. Res. Toxicol. 2001. V. 14. № 9. P. 1259–1265.
14. *Thomas G.R., Giles S., Flemming J., Miller J.D., Puniani E.* // Toxicol. Sci. 2005. V. 87. № 1. P. 213–222.
15. *Heguy F., Cai P., Meyn P., Houck D., Russo S., Michitsch R., Pearce C., Katz B., Bringmann G., Feineis D., Taylor D., Tums A.* // Antivir. Chem. Chemother. 1998. V. 9. P. 149–155.
16. *Тутельян В.А., Кравченко Л.В., Сергеев А.Ю.* // Микология сегодня. Т. 1 / Ред. Ю.Т. Дьяков, Ю.В. Сергеев. М.: Нац. акад. микол., 2007. С. 283–304.
17. *Козловский А.Г., Веприцкая И.Г., Гаязова Н.Б.* // Прикл. биохимия и микробиология. 1986. Т. 22. № 2. С. 205–210.
18. *Козловский А.Г., Зеленкова Н.Ф., Аданин В.М., Сахаровский В.Г., Аринбасаров М.У.* // Прикл. биохим. и микробиология. 1995. Т. 31. № 5. С. 540–544.
19. *Kozlovsky A.G., Vinokurova N.G., Adanin V.M., Burkhard G.H., Dahse M., Graefe U.* // J. Nat. Prod. 2000. V. 63. P. 698–700.
20. *Cole R.J., Schweikert M.A.* Handbook of Secondary Fungal Metabolites. Amsterdam: Acad. Press, 2003. V. 1–2. 1925 p.
21. *Козловский А.Г., Винокурова Н.Г., Аданин В.М.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2000. Т. 36. № 3. С. 317–321.
22. *Шнырева А.В., Сизова Т.П., Брагина М.П., Викторов А.Н., Дьяков Ю.Т.* // Микология и фитопатология. 2001. Т. 35. № 3. С. 37–42.
23. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Аданин В.М., Антипова Т.В., Шнырева А.В., Викторов А.Н.* // Микробиология. 2002. Т. 71. № 6. С. 773–777.
24. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В., Аданин В.М., Новикова Н.Д., Дешевая Е.А., Шлегель Б., Дазе Х.М., Голлмик Ф., Гефе У.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. № 3. С. 344–349.
25. *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.
26. *Kozlovsky A.G., Zhelifonova V.P., Antipova T.V., Adanin V.M., Ozerskaya S.M., Kochkina G.A.* // J. Antibiot. 2003. V. 56. № 5. P. 488–491.
27. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Аданин В.М., Антипова Т.В., Озерская С.М., Кочкина Г.А., Грефе У.* // Микробиология. 2003. Т. 72. № 6. С. 816–821.
28. *Желифонова В.П., Антипова Т.В., Козловский А.Г.* // Микробиология. 2006. Т. 75. № 5. С. 742–746.
29. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. № 2. С. 202–206.
30. *Антипова Т.В., Желифонова В.П., Баскунов Б.П., Озерская С.М., Иванушкина Н.Е., Козловский А.Г.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. № 3. С. 318–323.
31. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В., Баскунов Б.П., Кочкина Г.А., Озерская С.М.* // Микробиология. 2012. Т. 81. № 3. С. 332–338.
32. *Takahashi C., Matsushita T., Doi M., Minoura K., Shingu T., Kumeda Y., Numata A.* // J. Chem. Soc., Perkin. Trans. 1. 1995. № 18. P. 2345–2353.
33. *Samson R.A., Frisvad J.C.* // Stud. Mycol. 2004. № 49. P. 1–241.
34. *Ozerskaya S., Ivanushkina N., Kochkina G., Fattakhova R., Gilichinsky D.* // Int. J. Astrobiol. 2004. V. 3. № 4. P. 327–331.
35. *Ozerskaya S., Kochkina G., Ivanushkina N., Gilichinsky D.* // Permafrost Soils / Ed. R. Margesin. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 2009. P. 85–95.
36. *Желифонова В.П., Антипова Т.В., Озерская С.М., Кочкина Г.А., Козловский А.Г.* // Микробиология. 2009. Т. 78. № 3. С. 393–398.
37. *Козловский А.Г., Соловьева Т.Ф., Сахаровский И.Г., Аданин М.М.* // Прикл. биохимия и микробиология. 1982. Т. 18. № 4. С. 535–541.
38. *Желифонова В.П., Антипова Т.В., Козловский А.Г.* // Микробиология. 2010. Т. 79. № 3. P. 291–300.
39. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Винокурова Н.Г., Аданин В.М.* // Микробиология. 1997. Т. 66. № 5. С. 605–610.
40. *Желифонова В.П., Майер А., Козловский А.Г.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2008. Т. 44. № 6. С. 671–675.
41. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. № 5. С. 568–572.
42. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В., Лысанская В.Я.* // Микробиология. 2006. Т. 75. № 3. С. 334–341.
43. *Антипова Т.В., Желифонова В.П., Кочкина Г.А., Козловский А.Г.* // Микробиология. 2008. Т. 77. № 4. С. 502–507.
44. *Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В., Зеленкова Н.Ф.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. № 4. С. 469–473.
45. *Reshetilova T.A., Kozlovsky A.G.* // J. Basic Microbiol. 1990. V. 30. № 2. P. 109–114.
46. *Желифонова В.П., Кулаковская Т.В., Козловский А.Г.* // Микробиология. 2003. Т. 72. № 2. С. 183–188.
47. *Желифонова В.П., Козловский А.Г.* // Микробиология. 2007. Т. 76. № 4. С. 456–461.
48. *Strieker M., Tanovic A., Marahiel M.A.* // Curr. Opin. Struct. Biol. 2010. V. 20. P. 234–240.
49. *Li Y., Xu W., Tang Y.* // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 22762–22771.
50. *Young C., McMillan L., Telfer E., Scott B.* // Mol. Microbiol. 2001. V. 39. № 3. P. 754–764.
51. *Dombrink-Kurtzman M.A.* // Antonie van Leeuwenhoek. 2006. V. 89. P. 1–8.
52. *Williams R.B., Henrikson J.C., Hoover A.R., Lee A.E., Cichewicz R.H.* // Org. Biomol. Chem. 2008. V. 6. P. 1895–1897.
53. *Bode H.B., Bethe B., Höfs R., Zeek A.* // Chem. Biol. Chem. 2002. V. 3. P. 619–627.

Fungi of the Genus *Penicillium* as Producers of Physiologically Active Compounds (Review)

A. G. Kozlovskii, V. P. Zhelifonova, and T. V. Antipova

*Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences,
pr. Nauki 5, Pushchino, Moscow oblast, 142292 Russia*

e-mail: Kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Received February 6, 2012

Abstract—Fungi of the genus *Penicillium* isolated from little studied habitats are able to synthesize both previously known and new physiologically active compounds with diverse structures. They include secondary metabolites of alkaloid nature, i.e., ergot alkaloids, diketopiperazines, quinolines, quinazolines, benzodiazepines, and polyketides. We discuss the use of profiles of secondary metabolites for taxonomy purposes. Studying the physicochemical characteristics of producers of biologically active compounds showed that the biosynthesis of alkaloids is initiated on the first days of cultivation and proceeds simultaneously with growth. The cyclic character of alkaloid accumulation was recorded related to the processes of alkaloid biosynthesis, excretion from cells, degradation in culture fluid, and consumption by cells. Synchronic variations in the concentrations of intracellular tryptophan and alkaloids are necessary for the regulation of the optimal quantity of tryptophan necessary for the culture.