

М. Г. БРАЖНИКОВА, Н. Н. ЛОМАКИНА и Л. И. МУРАВЬЕВА

АЛЬБОМИЦИН, ЕГО СВОЙСТВА И ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА

(Представлено академиком В. Н. Шапошниковым 8 X 1954)

Альбомуцин был выделен нами из культуральной жидкости лучистого грибка *Actinomyces subtrropicus*, изолированного Г. Ф. Гаузе в 1949 г. Альбомуцин представляет собой циклический полипептид, содержащий железо, он обладает основными свойствами и образует соли с различными кислотами. Химически чистая сернокислая соль альбомуцина представляет собой аморфный порошок кирпично-красного цвета, легко растворимый в воде, слабо растворимый в метаноле и нерастворимый в других органических растворителях. Антибактериальная активность этой соли равна 700 000 ед. разведения в 1 мг препарата при испытании на стандартном штамме золотистого стафилококка.

Мы определили колориметрическим методом содержание железа в препаратах альбомуцина различной частоты и вычислили затем количество единиц альбомуцина, приходящееся на 1 μ г железа. Результаты этих определений приведены в табл. 1.

При этом оказалось, что до активности 25 000 ед/мг на 1 γ железа приходится 15 500 ед. альбомуцина, а начиная с активности 175 000 ед/мг ~ 17 500 единиц. Поэтому можно считать, что в препаратах с активностью 175 000 ед/мг и выше все железо принадлежит антибиотику, а в препаратах с более низкой активностью имеется некоторое добавочное количество железа (около 10%), принадлежащее примесям. Путем экстраполяции легко найти, что содержание железа в препарате альбомуцина наивысшей чистоты (700 000 ед/мг) будет около 4%. Такую же величину дает определение железа с оксихинолином.

Дальнейшее изучение альбомуцина показало, что при определенных условиях железо может быть удалено из молекулы антибиотика, а затем снова присоединено к ней. При удалении железа антибактериальная активность альбомуцина, уменьшается в 14—15 раз, а при присоединении железа полностью восстанавливается. Удаление железа достигается обработкой альбомуцина ацетоном с соляной, бромистоводородной, иодистоводородной кислотами или оксихинолином. Раствор альбомуцина теряет при этом ярко оранжевую окраску и снижает свою антибактериальную активность. При добавлении к водному раствору инактивированного альбомуцина капли 5% раствора $FeCl_3$ окраска и активность восстанавливаются (см. табл. 2). Следовательно, железо является лабильной функциональной группой антибиотика, которая отщепляется только в ацетонной среде в присутствии галоидоводородных кислот и вновь при-

Таблица 1

Чистота препарата альбомуцина в ед/мг	Содерж. Fe в γ в 1 мг препарата альбомуцина	Колич. ед. альбомуцина, приходящееся на 1 γ Fe
17 000	1,1	15 500
20 000	1,3	15 500
25 000	1,6	15 600
175 000	10	17 000
300 000	17	17 600
415 000	24	17 300
500 000	28	17 800

соединяется при разбавлении ацетонового раствора водой. При подкислении раствора антибиотика серной или азотной кислотами или при использовании вместо ацетона спирта никакой инактивации альбомуцина не наблюдается.

Повидимому, железо связано с органической частью молекулы альбомуцина по типу комплексных соединений клешневидного типа, которые часто обладают характерной окраской. Можно предполагать, что железо связано с оксигруппой серина, входящего в состав альбомуцина.

Клешневидные соединения наиболее устойчивы при pH от 4,0 до 10,0; при низких значениях pH комплекс разрушается и окраска исчезает.

Таблица 2

Инактивация альбомуцина при удалении железа и реактивация при добавлении раствора FeCl_3

Активность исходн. препарата в ед/мг	Способ удаления железа	Активность обезжелез. препарата в ед/мг	Активность реактивир. альбомуцина в ед/мг
600 000	Обработка оксигинолином	40 000	580 000
190 000	Осаждение ацетоном	50 000	170 000
700 000	Обработка оксигинолином	90 000	600 000

Подобное исчезновение окраски при подкислении характерно и для альбомуцина. При нейтрализации раствора антибиотика окраска снова появляется.

Чистый альбомуцин не дает реакций Сакагуши, Миллона, Паули, Молиша, Селиванова, реакций с орцином и флороглюцином, а также реакции с нингидрином. Однако после нагревания водного раствора альбомуцина в течение 60 сек. с 3% HCl обнаруживается ярная окраска с нингидрином. Альбомуцин дает по-

ложительную биуретовую реакцию, содержит 13,28% общего (по Кьельдалю) и 1,34% аминного азота (по Ван-Слейку). Основное количество аминокислоты (1,22%) определяется за первые 5 мин. реакции и еще 0,12% за следующие 25 мин.

После гидролиза альбомуцина соляной кислотой в течение 26 час. количество аминного азота возрастает с 1,34 до 7,2%. Дальнейший гидролиз не увеличивает содержания аминного азота. В гидролизате присутствует большое количество гуминовых веществ и аммиака, и на бумажных хроматограммах при опрыскивании их нингидрином обнаруживаются пятна аминокислот.

Таким образом, можно сделать заключение, что альбомуцин принадлежит к классу металлсодержащих полипептидов.

Тот факт, что у альбомуцина отсутствует реакция с нингидрином и что она появляется только после небольшого нагревания с разбавленной соляной кислотой, указывает на отсутствие у альбомуцина свободных α -аминогрупп и на появление последних после гидролиза. Это заставляет нас предположить, что альбомуцин является циклопепти-

Таблица 3

Значение R_f для пятен гидролизата альбомуцина и для пятен «свидетелей» на одномерных хроматограммах, выполненных в растворителях

Аминокислоты	Бутанол— CH_3COOH		Фенол— NH_3		Фенол— CH_3COOH	
	свидетель	гидролизат	свидетель	гидролизат	свидетель	гидролизат
Орнитин . . .	0,12	0,12	—	—	0,38	0,39
Серин . . .	0,20	0,194	0,34	0,34	—	—
Глутамин. кислота . . .	0,23	0,24	—	—	—	—
Аланин . . .	0,273	0,288	0,57	0,57	—	—
Пролин . . .	0,35	0,36	0,81	0,81	—	—
Гликокол . . .	0,25	0,26	0,35	0,37	—	—

дом. Однако в альбомуцине имеется свободная аминокгруппа, по которой, вероятно, и происходит солеобразование. Как показали дальнейшие исследования, эта аминокгруппа является δ -аминокгруппой орнитина. При дезаминировании альбомуцина в мягких условиях антибактериальное действие антибиотика полностью исчезает.

Определение остатка серной кислоты путем титрования щелочью показало, что в сернокислой соли альбомуцина содержится 7,33% серной кислоты.

Имея данные по содержанию в альбомуцине железа, серной кислоты и аминного азота, мы вычислили эквивалентный вес альбомуцина, допустив, что в этом антибиотике имеется один атом железа, присоединена одна молекула серной кислоты и имеется одна аминокгруппа. Вычисленный таким образом эквивалентный вес альбомуцина оказался, соответственно, равен 1346, 1270 и 1336. Следовательно, молекулярный вес альбомуцина должен быть не менее 1300.

Для хроматографического изучения альбомуцина использовались его гидролизаты, полученные нагреванием альбомуцина с 18% HCl на кипящей водяной бане, так как при этом образуется меньше гуминовых веществ и NH_3 , чем при гидролизе на газовом пламени на сетке. Для хроматограмм употреблялась обычная фильтровальная бумага, предварительно обработанная разбавленной HCl и отмытая водой. В качестве растворителя использовались водонасыщенный фенол с парами NH_3 , фенол с уксусной кислотой (1:1), бутанол — вода — уксусная кислота (60% : 25% : 15%). Хроматограммы выполнялись как восходящим, так и нисходящим способом по обычной методике. В качестве «свидетелей» использовались аминокислоты и полный гидролизат грамицидина С, содержащий орнитин. Наилучшие хроматограммы были получены при нанесении на бумагу 600 γ сухого вещества гидролизата. Проявление пятен на хроматограммах проводилось нингидрином и изатинном.

На одномерных восходящих хроматограммах, выполненных в бутаноле с уксусной кислотой и водой, гидролизат альбомуцина дает семь пятен.

Шесть пятен гидролизата идентифицированы с пятнами следующих аминокислот: орнитином, серином, глутаминовой кислотой, аланином, гликоколом и пролином (см. табл. 3). Седьмое пятно в настоящее время еще не идентифицировано. Присутствие в гидролизате альбомуцина указанных аминокислот подтверждено нами также путем получения двухмерных хроматограмм, выполненных в одном направлении в бутаноле с уксусной кислотой и водой, а в другом направлении — в феноле с аммиаком. Необходимо отметить, что наибольшую интенсивность на хроматограммах гидролизатов альбомуцина имеет пятно серина и орнитина.

Исследование спектра поглощения альбомуцина в видимой и ультрафиолетовой области дало характерную кривую, представленную на

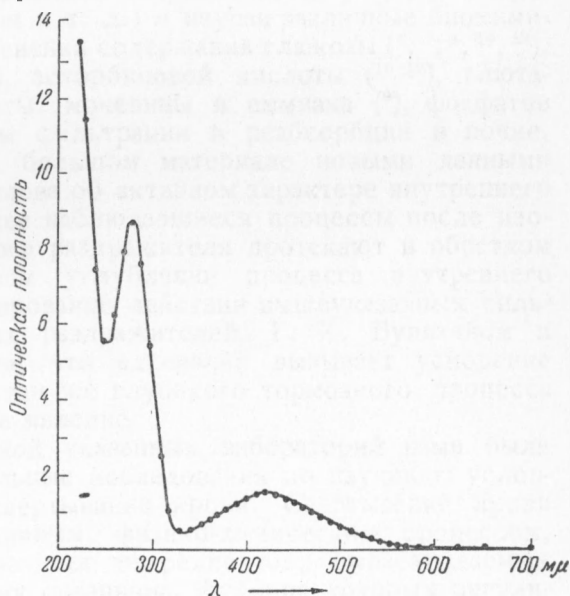


Рис. 1. Спектр поглощения альбомуцина

рис. 1. Подъем кривой в видимой области объясняется наличием в молекуле альбомуцина железа. Таким образом, нами выделен и изучен новый полипептид альбомуцин, содержащий в качестве функциональной группы железо и обладающий мощным антибактериальным свойством.

Институт по изысканию новых антибиотиков
Академии медицинских наук СССР

Поступило
28 IX 1954