



УДК 577.11

© 1992 г. В. М. Махнырь, Э. П. Козловская

ВЫДЕЛЕНИЕ ПАЛИТОКСИНА ИЗ АКТИНИИ  
*RADIANTHUS MACRODACTYLUS*

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток

Актинии являются богатым источником физиологически активных веществ. На сегодняшний день из них выделены различные четвертичные аммониевые основания, биогенные амины, полипептиды и белки [1], среди которых наибольшее внимание в последние два десятилетия уделялось полипептидным нейротоксинам [2]. Нейротоксины небелковой природы из актиний выделены не были.

В процессе исследования минорных токсинов тропической актинии *Radianthus macrodactylus* мы обнаружили высокоактивный небелковый токсин. Он прочно сорбироваля гидрофобным сорбентом Полихром-1 (политетрафторэтилен) и слабо взаимодействовал с катионо- и анионообменниками (при pH 5,0 и 7,4 соответственно). Это позволило взять за основу схему очистки, использованную ранее для выделения полипептидных нейротоксинов из актинии [3] и включающую в себя хроматографию на Полихроме-1, CM-сефадексе С-25 и ионообменные ВЭЖХ на колонках Ultracac TSK CM-3SW и Ultracac TSK DEAE-3SW. Обессоливание токсина после ионообменных хроматографий проводили на колонке с Полихромом-1, элюируя сорбированный материал 60% водным этанолом [3]. Токсин дает очень слабое окрашивание по методу Лоури, но может быть обнаружен реакцией с нингидрином. Чистый токсин представляет собой аморфный, гигроскопичный, белый, со слегка желтоватым оттенком порошок, хорошо растворимый в воде и водно-этанольном смеси, но нерастворимый в хлороформе. Его водные растворы при встряхивании пенятся. При внутривенном введении LD<sub>50</sub> токсина для мышей составила 0,74±0,29 мкг/кг.

Небелковая природа токсина была доказана отрицательными результатами анализа на N-концевую аминокислоту (дансильный вариант) и аминокислотного анализа. Его УФ-спектр содержит максимумы при 233 и 263 нм. Для ИК-спектра токсина характерен максимум при 1670 см<sup>-1</sup>, относимый к амидному карбонилу при двойной связи [4]. Высокая токсичность, а также данные УФ- и ИК-спектроскопии позволяют предположить, что выделенное нами вещество — палитоксин, полученный впервые в чистом виде из зоантарии *Palythoa toxica* [4]. Данные спектроскопии ЯМР это предположение подтвердило. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (250 МГц) токсина в D<sub>2</sub>O неотличим от спектра (270 МГц) палитоксина из *P. tuberculosa*, опубликованного в работе [5]. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц) токсина из актинии в DMSO-d<sub>6</sub> практически идентичен аналогичному спектру палитоксина из *P. toxica* [6].

Было показано, что *транс*-3-аминоакриламидный фрагмент молекулы палитоксина, обуславливающий максимум при 263 нм в УФ-спектре, неустойчив как в кислой, так и в щелочной среде. Изменения в этом структурном элементе сопровождаются уменьшением поглощения при 263 нм и потерей токсинам биологической активности [6]. Поведение

токсина из актинии в кислой среде оказалось абсолютно аналогично поведению палитоксина из зоантарий. После растворения в 0,05% трифторуксусной кислоте (рН 2,13) соотношение  $A_{232}/A_{263}$  в его УФ-спектре изменилось с 4,21 до 1,66. При этом токсичность для мышей уменьшилась в 5 раз.

Муру и др. [7] принадлежит концепция микробного происхождения палитоксина, согласно которой токсин продуцируется бактерией *Vibrio sp.*, живущей в симбиозе с зоантариями. Данная точка зрения не получила неопровержимого подтверждения, так как *in vitro* осуществить стабильное продуцирование биологически активного палитоксина не удастся. Возможно, это связано с необходимостью создания особых условий для жизнедеятельности микроорганизмов-продуцентов. Во всяком случае то, что палитоксин обнаружен кроме зоантарий еще и в актинии, косвенно свидетельствует о его микробном происхождении.

Авторы выражают благодарность Т. Балашовой (Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина, Москва) за запись спектра <sup>1</sup>H-ЯМР (500 МГц) и А. И. Калиновскому (Тихоокеанский институт биоорганической химии) за обсуждение спектров ЯМР.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Beress L. // Pure Appl. Chem. 1982. V. 54. № 10. P. 1981–1994.
2. Kem W. R. // The Biology of Nematocysts. N. Y.: Acad. Press, Inc., 1988. P. 375–405.
3. Mahnir V. M., Kozlovskaya E. P., Elyakov G. B. // Toxicon. 1990. V. 28. № 11. P. 1255–1263.
4. Moore R. E., Scheuer P. J. // Science. 1971. V. 172. № 3982. P. 495–498.
5. Hirata Y., Uemura D., Ueda K. // Proc. 1st Int. Conf. on Chem. and Biotechnol. of Biol. Active Nat. Products (Varna, Bulgaria) – Main Plenary Lectures. Sofia: Bulgarian Acad. of Sci., 1981. P. 79–86.
6. Moore R. E. // Fortschr. Chem. Organ. Naturstoffe / Eds Herz W., Grisebach H., Kirby G. W., Tamm Ch. Wien – New York: Springer, 1985. V. 48. P. 81–202.
7. Moore R. E., Helfrich P., Patterson G. M. L. // Oceanus. 1982. V. 25. № 2. P. 54–63.

Поступило в редакцию  
16.X.1991

V. M. MAHNIR, E. P. KOZLOVSKAYA

#### ISOLATION OF PALYTOXIN FROM THE SEA ANEMONE *RADIANTHUS MACRODACTYLUS*

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Division, Russian Academy of Sciences, Vladivostok*

A non-protein toxin was isolated from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* by chromatography on polytetrafluoroethylene (Polychrom-1), CM-Sephadex C-25, cation and anion exchange HPLC. The LD<sub>50</sub> value of the toxin was 0,74 µg/kg by i. v. injection in mice. On the basis of the UV-, IR- and <sup>1</sup>H NMR (500 MHz) spectral data, the toxin proved to be identical to palytoxin from zoanthid.

Технический редактор Н. Н. Беляева

Сдано в набор 19.02.92	Подписано к печати 20.03.92	Формат бумаги 70×100/32
Оффсетная печать	Усл. печ. л. 11,7	Уч.-изд. л. 13,3
	Учл. кр.-отт. 8,2 тыс.	Бум. л. 4,5
	Тираж 686 экз.	Зак. 2534
		Цена 2 р. 60 к.

Адрес редакции: 117871, ГСП-7, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, корп. 32, комн. 306  
Телефон: 330-60-38

2-я типографии издательства «Наука», 121099, Москва, Г-99, Шубинский пер., 6