

Izolácia citrinínu z *Penicillium notatum* Westling

V. BETINA, P. NEMEC, M. KUTKOVÁ, J. BALAN, Š. KOVÁČ

*Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy technickej,
Bratislava*

*Biologický ústav Slovenskej akadémie vied, Oddelenie technickej mikrobiológie,
Bratislava*

Katedra organickej chémie Slovenskej vysokej školy technickej, Bratislava

Z kmeňa *Penicillium notatum* Westling S-52, izolovaného z prírody, sme získali antibakteriálne antibiotikum. Na základe „sumárneho chromatogramu“ [8], „pH chromatogramu“ [10], vysolovacieho chromatogramu [12], infračerveného spektra a niektorých ďalších fyzikálnochemických a biologických vlastností identifikovali sme toto antibiotikum ako citrinín. Pomocou infračervených spektier sme spresnili jeho štruktúru udávanú v literatúre.

V práci [1] sme referovali o antibiotických vlastnostiach húb, izolovaných z rôznych prírodných zdrojov v okolí Bratislavy. Z tejto kolekcie antibioticky aktívnych kmeňov sme izolovali antibiotikum S-82 [2], identifikované neskoršie ako gliotoxín [3], a nové antibiotikum cyaneín [4, 5].

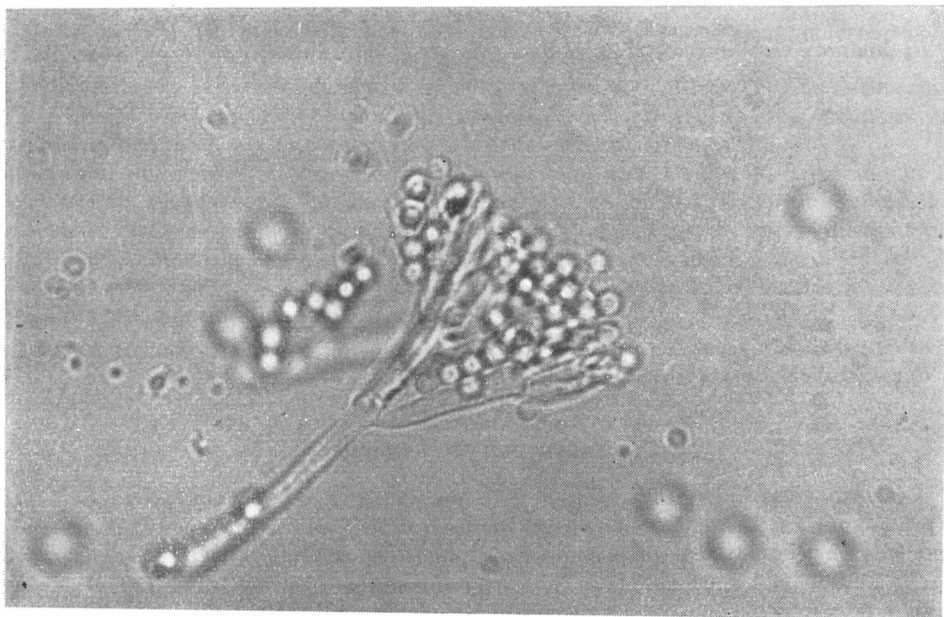
Zaoberali sme sa aj antibioticky aktívnym kmeňom *Penicillium* sp. S-52, izolovaným zo vzduchu v skleníkoch Chemickej fakulty SVŠT v Bratislave. Tento kmeň sa vyznačoval silným antagonizmom voči *Bacillus subtilis*. Penicilinázovým testom [6] sme zistili, že produkuje antibiotikum odlišné od penicilínu, a rozhodli sme sa ho izolovať.

Experimentálna časť

Charakteristika a identifikácia produkčného kmeňa

Po 10 až 12 dňovej kultivácii pri izbovej teplote kolónie na Czapekovom agare dosahujú priemer 2,5—3 cm, neskoršie až 3,5 cm. Vzhľad kolónií je zamatový, vzrast pomerne dosť nízky, vytvárajú sa lúčovité brázdy. Kultúra silne sporuluje. Konidiálne oblasti sú modrozelené farby, neskoršie tmavšie zelené, úzky okraj kolónie je biely, stred väčšinou biely alebo žltý. Tvoria sa hojne svetložlté transpiračné kvapky, drobné alebo v priemere 2—3 mm. Opak kolónií je svetložltý, neskoršie svetlohnedý s difundovaným pigmentom do substrátu.

Vetvenie konidionosiča je typicky asymetrické (obr. 1). Štetka je pomerne dosť dlhá, jej časti sú voľne usporiadané. Konidionosič, ako aj konidie majú hladké steny. Retiazky konidií vytvárajú stĺpiky. Konidionosič je väčšinou rozdelený na viac vetiev. Vetva má rozmery 12—17 $\mu \times$ 2,5—3 μ , metuly 10—16 $\mu \times$ 2,5—3 μ , sterigny 7,5—11 $\mu \times$ 2—3 μ . Konidie sú okrúhle, priemerne 3,2 μ veľké, v zhlukoch žltozelenej farby.



Obr. 1. Mikrofotografia konídionosiča *Penicillium notatum* Westling S-52 pri 1200 násobnom zväčšení vo fázovom kontraste.

Uvedená charakteristika zodpovedá druhu *Penicillium notatum* Westling [7]. Náš kmeň v ďalšom označujeme zbierkovým zaradením *Penicillium notatum* Westling S-52 alebo *P. notatum* S-52.

Chromatografické štúdium antibiotika

Z 10 dňovej stacionárnej kultúry *P. notatum* S-52 v 500 ml Rouxovej banke v 120 ml modifikovaného Czapekovho—Doxovho média [4] pri 25 °C sme získali filtrát kultivačného média. Spracovali sme ho pre chromatografické štúdium metódou, používanou pre tento účel v našom laboratóriu [8], nasledujúcim spôsobom: do 100 ml filtrátu sme pridali 120 ml acetónu, zahriali sme na 50 °C a po ochladení sme sfiltrovali. Filtrát sme za vákua odparili do sucha a odparok sme rozpustili v 5 ml 80 % vodného acetónu. Tento koncentrát sme použili pre chromatografické štúdium antibiotika.

„Sumárny chromatogram“ sme pripravili v základných štyroch sústavách našej klasifikácie antibiotík [8]: 1. voda, 2. *n*-butanol nasýtený vodou, 3. etylacetát nasýtený vodou, 4. benzén nasýtený vodou. Detegovali sme bioautograficky pomocou *Bacillus subtilis* [9]. Hodnoty R_F antibiotika, predbežne označovaného S-52, sú v tab. 1. Podľa našej klasifikácie [8] antibiotikum patrí do Va. podtriedy.

Na základe výsledkov „sumárneho chromatogramu“ použili sme pre vyvíjanie „pH chromatogramu“ [10] základnú sústavu 3 (etylacetát nasýtený vodou). Detegovali sme znova bioautograficky. Krivka R_F antibiotika S-52 z „pH chromatogramu“ je na obr. 2. Ukazuje, že antibiotikum má kyslý charakter. Podľa priebehu krivky R_F vybrali sme pre prvé stupne izolácie antibiotika tento postup:

Tabuľka 1

R_F hodnoty antibiotika *S-52* v základných sústavách „sumárneho chromatogramu“

Sústava	R_F
1. voda	0,95
2. <i>n</i> -butanol nasýtený vodou	0,68
3. etylacetát nasýtený vodou	0,87
4. benzén nasýtený vodou	0,89

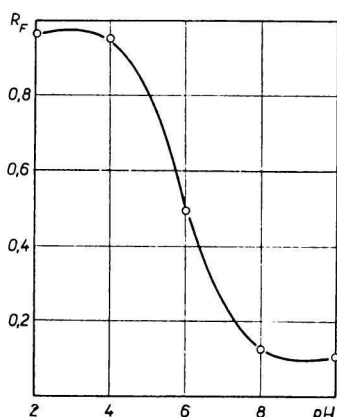
- a) extrakcia etylacetátom z filtrátu kultivačného média, okysleného na pH 2—3,
 b) reextrakcia z etylacetátu do vodnej fázy pri pH 8.

Submerzná fermentácia

Vysporulovanú kultúru *P. notatum S-52* na šikmom Czapekovom—Doxovom agare s prídavkom 2,5 % kukuričného extraktu sme zaliali 5 ml sterilnej vody. Po uvoľnení spór sme ich očkovali suspenziou šikmý agar toho istého zloženia v 500 ml Erlenmeyerovej banke a inkubovali sme 5 dní pri 25 °C. Vysporulovanú kultúru sme zaliali 150 ml sterilnej vody a po uvoľnení spór sme ich suspenziu homogenizovali v 500 ml varnej banke na rotačnej trepačke 1 hodinu. 2 ml spórovej suspenzie slúžilo na očkovanie 150 ml fermentačného Czapekovho—Doxovho média (s prídavkom 2,5 % kukuričného extraktu a 0,1 % CaCO₃, pH po sterilizácii 6,5) v 500 ml varných bankách, do ktorých sme pred sterilizáciou pridal po jednej kvapke sójového oleja ako protipeniaceho prostriedku.

Submerznú fermentáciu sme uskutočnili na rotačnej trepačke (240 obrátok za minútu, polomer kružnice 5 cm) pri 25 °C.

Od 3. dňa fermentácie sledovali sme produkciu antibiotika kvantitatívnu diskovou platňovou metódou [11]. Ako štandard sme použili benzylpenicilín a produkciu sme hodnotili v „penicilínových jednotkách“. Maximum produkcie, 250 „penicilínových jednotiek“ na 1 ml média, sme zistili po 6 dňoch fermentácie.



Obr. 2. Krivka R_F antibiotika *S-52* z „pH chromatogramu“.

Mobilná fáza:

etylacetát nasýtený vodou.

Izolácia antibiotika

Podkladom pre prvé stupne izolácie boli výsledky „pH chromatogramu“, ako sme ich uviedli vyššie. Z fermentácie sme získali 5,3 l filtrátu. Po úprave pH kyselinou fosforečnou na hodnotu 2,5 extrahovali sme dvoma dávkami etylacetátu (1,8 l a 0,8 l) a získali sme 2,15 l extraktu.

Na reextrakciu z etylacetátu sme použili 0,15 M fosfátový tlmivý roztok o pH 8,5 v dvoch dávkach (0,75 l a 0,25 l) a získali sme 1 liter vodného roztoku antibiotika.

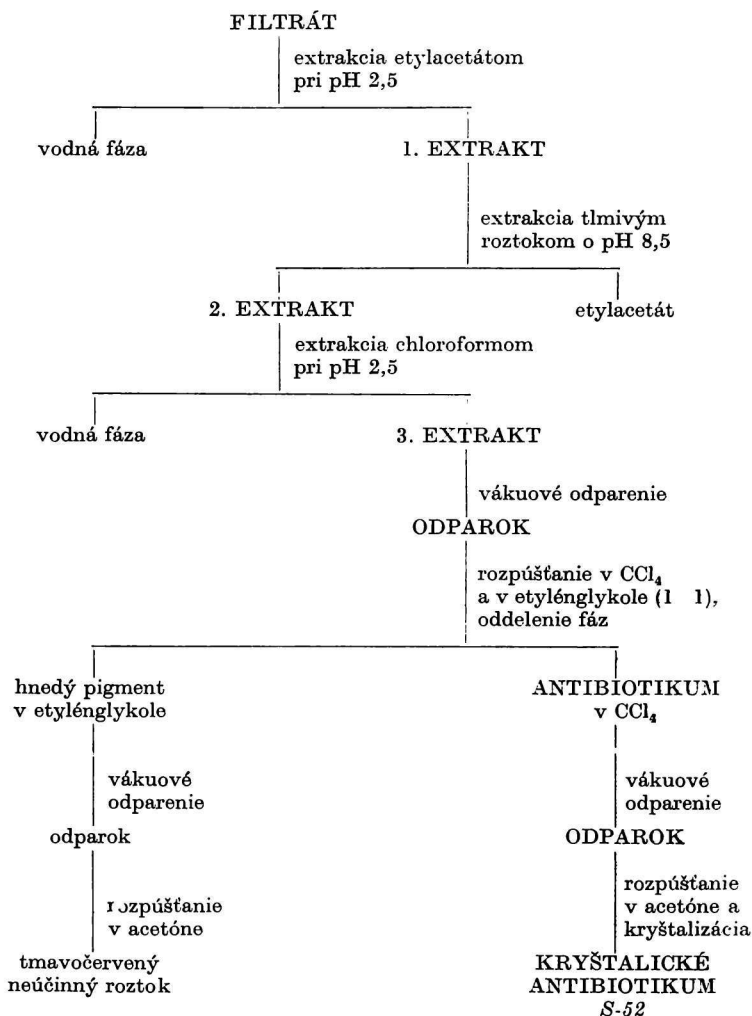
pH vodného koncentráту sme upravili kyseli-

nou fosforečnou na hodnotu 2,5 a uskutočnili sme ďalšiu extrakciu chloroformom v dvoch dávkach (0,3 l a 0,2 l). Získali sme 0,5 l extraktu.

Chloroformový extrakt sme odparili do sucha a možnosti ďalšieho čistenia antibiotika sme hľadali pomocou chromatografie na papieri. Pritom sme zistili, že antibiotikum na chromatogramoch má žltozelenú fluorescenciu v ultrafialovom svetle.

Odparok sme rozpúšťali zmesou chloridu uhličitého a etylénglykolu v pomere 1 : 1. Po oddelení fáz sme chlorid uhličitý odparili do sucha, odparok sme rozpúšťali v acetóne a po siltrovaní sme zahustili do kryštalizácie. Získali sme 100 mg žltých ihličkovitých kryštálikov antibiotika *S-52*. Etylénglykolový roztok sme takisto odparili do sucha, rozpustili sme v acetóne a získali sme hnedočervený, antibioticky inaktívny roztok. Prehľad izolácie antibiotika podáva schéma 1.

Schéma 1



Chromatografická klasifikácia a identifikácia antibiotika *S-52*

Pripravili sme rozšírený „sumárny chromatogram“, ďalej „pH chromatogram“ a vysoľovací chromatogram [12] izolovaného antibiotika a porovnávali sme ho so známymi antibiotikami z húb.

Pre „sumárny chromatogram“ sme okrem vyššie uvedených základných sústav použili ešte štyri doplnkové sústavy, používané v našej klasifikácii [8] pre antibiotiká *IV.* a *V.* triedy a označované *I, J, K* a *L*:

I: izoamylacetát—metanol—kyselina mravčia—voda 40 : 20 : 10 : 30 (dolná vrstva),

J: *n*-butanol—metanol—voda 40 10 50 (dolná vrstva),

K: metanol—*n*-hexán 60 40 (dolná vrstva),

L: benzén—cyklohexanón—McIllwainov citrátovo—fosfátový tlmivý roztok o pH 7,4 5 : 35 : 60 (dolná vrstva).

Podľa hodnôt R_F v základných sústavách „sumárneho chromatogramu“ antibiotikum *S-52* patrí do *Va.* podtriedy. Zo známych a dostupných antibiotík z húb zaradili sme do tej istej podtriedy tieto [8]: citrinín, trichotecín, patulín, iludín M, iludín S, 5-metoxyp-toluchinón a kyselinu gladiolovú. Pre porovnanie uvádzame R_F hodnoty antibiotika *S-52* a uvedených látok v tab. 2.

S výnimkou citrinínu ostatné antibiotiká majú odlišné hodnoty R_F od hodnôt R_F látky *S-52* v 5. až 6. sústave. Veľmi nápadne sa podobajú „sumárne chromatogramy“ *S-52* a citrinínu, čo ešte viac vyniká vyjadrením R_F hodnôt *S-52* vzhľadom na citrinín ($R_{\text{citr.}}$) v tab. 3.

Tabuľka 2
„Sumárne chromatogramy“ antibiotík *Va.* podtriedy

Antibiotikum	$R_F \times 100$ v sústave							
	<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>I</i>	<i>J</i>	<i>K</i>	<i>L</i>
<i>S-52</i>	73	71	84	89	89	91	76	69
citrinín	75	72	84	92	90	90	76	70
trichotecín	77	95	98	94	89	74	84	53
patulín	94	78	91	94	91	84	74	84
iludín M	88	90	95	95	90	67	88	84
iludín S	92	81	96	60	85	91	84	91
5-metoxyp-toluchinón	63	80	96	95	86	83	80	79
kyselina gladiolová	93	92	98	83	81	90	76	91

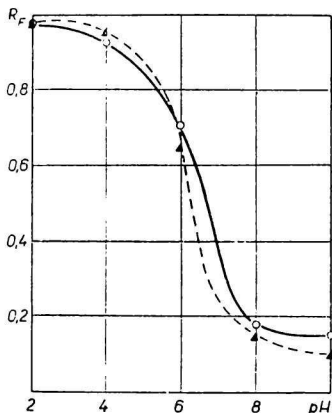
Tabuľka 3
Prepočet R_F hodnôt antibiotika *S-52* vzhľadom na citrinín ($R_{\text{citr.}}$)

Sústava	<i>I</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>I</i>	<i>J</i>	<i>K</i>	<i>L</i>	
$R_{\text{citr.}}$	0,97	0,99	1,00	0,97	0,99	1,01	1,00	0,99

„pH chromatogramy“ vymenovaných antibiotík sme publikovali v prácach [13, 14]. Okrem citrinínu a kyseliny gladiolovej ostatné antibiotiká tejto podtriedy sú neutrálne

látky. Kyselina gladiolová podľa „sumárneho chromatogramu“ a na základe ďalších vlastností sa zásadne líši od látky *S-52*. Naproti tomu „pH chromatogramy“ citrinínu a *S-52* sú veľmi podobné. Krivky R_F z ich „pH chromatogramov“ porovnávame na obr. 3.

Vysolovacie chromatogramy vymenovaných antibiotík sme uverejnili v práci [15]. Podľa nich iba citrinín a trichotecín sú zo skupiny C [12], do ktorej patrí aj *S-52*. Trichotecín sa od *S-52* líši neutrálnym charakterom, antifungálnou aktivitou, „sumárnym chromatogramom“ a viacerými ďalšími vlastnosťami. Vysolovacie chromatogramy *S-52* a citrinínu sú však nápadne podobné (obr. 4).



Obr. 3. Krivky R_F z „pH chromatogramov“ *S-52* (spojitá) a citrinínu (prerušovaná).

Mobilná fáza:

etylacetát nasýtený vodou.

Podľa „sumárneho chromatogramu“, „pH chromatogramu“ a vysolovacieho chromatogramu sa *S-52* nápadne podobá citrinínu. Na podobnosť možno usudzovať ešte podľa ďalších vlastností.

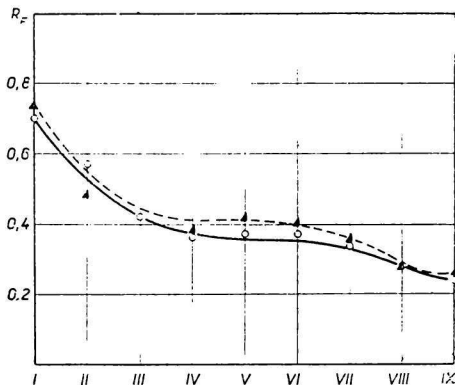
Pri spot-testoch na papieri majú *S-52* a citrinín žltozelenú fluorescenciu v ultrafialovom svetle, ktorá sa potláča účinkom pár amoniaku a obnovuje sa pôsobením pár HCl. Pri spot-teste obidve látky dávajú pozitívnu reakciu s FeCl_3 (hnedé sfarbenie). Uvedené vlastnosti a antibakteriálna aktivita *S-52* sa zhodujú s vlastnosťami citrinínu.

Izolácia *S-52* zrážacou metódou

A. C. Hetherington a H. Raistrick [16], ktorí objavili citrinín, použili pri jeho izolácii zrážaciu metódu. Okyslením filtrátu kultivačného média kyselinou soľnou na pH 2—3 sa vyzrážal citrinín v podobe jemných žltých kryštálikov. Túto metódu sme vyskúšali aj pre izoláciu *S-52*.

Produkčný kmeň *P. notatum S-52* sme kultivovali povrchovo v Soykových bankách, obsahujúcich po 600 ml modifikovaného Czapekovho—Doxovho média [4]. Kultivácia pri 28—30 °C trvala 10 dní.

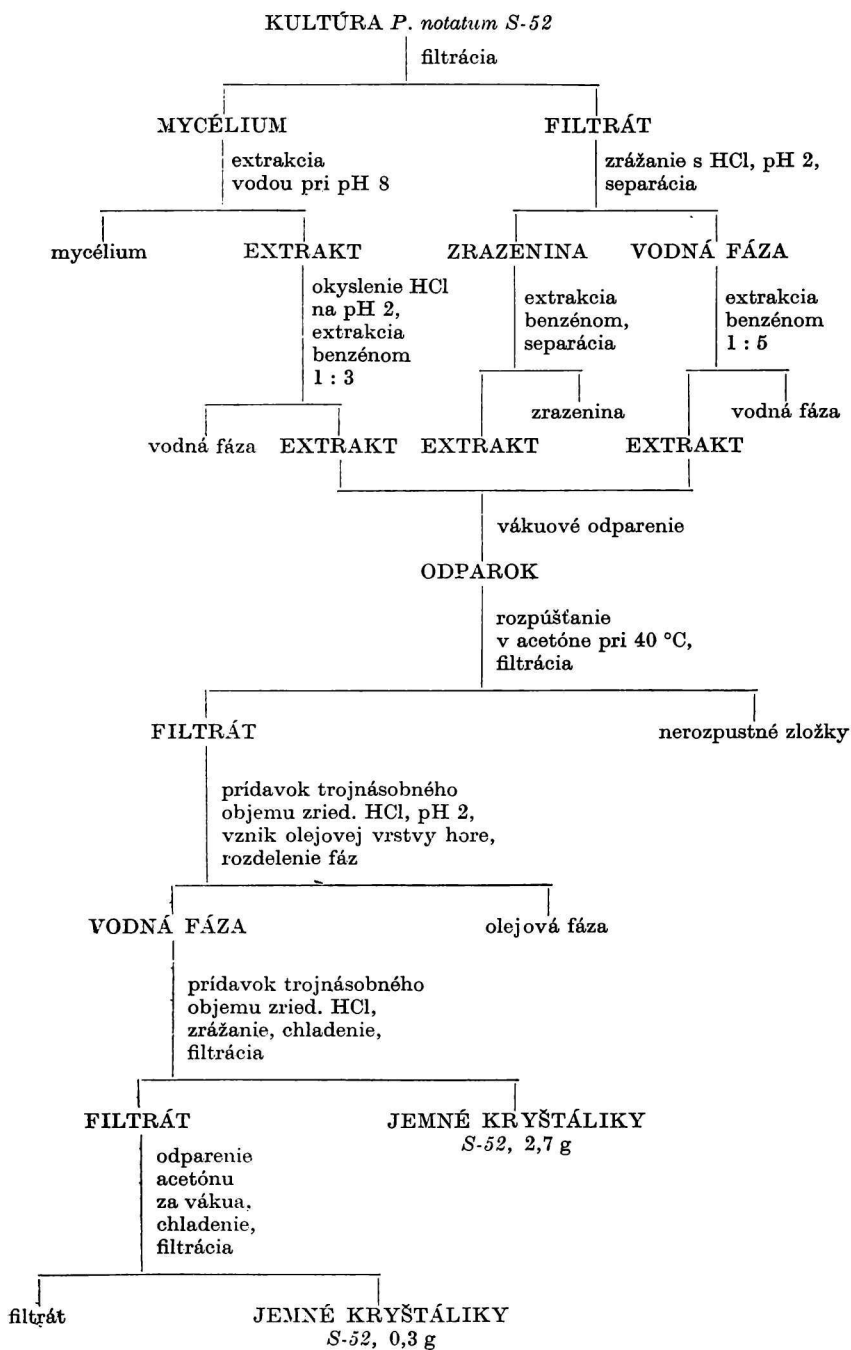
Po skončení kultivácie sme antibiotikum izolovali postupom, ktorý znázorňuje schéma 2. Z 12 litrov filtrátu a z mycélia sme dostali 2,7 g kryštalického antibiotika.



Obr. 4. Vysolovací chromatogram *S-52* (spojitá krivka) a citrinínu (prerušovaná krivka).

Rímskymi číslicami sú označené sústavy podľa [12].

Schéma 2



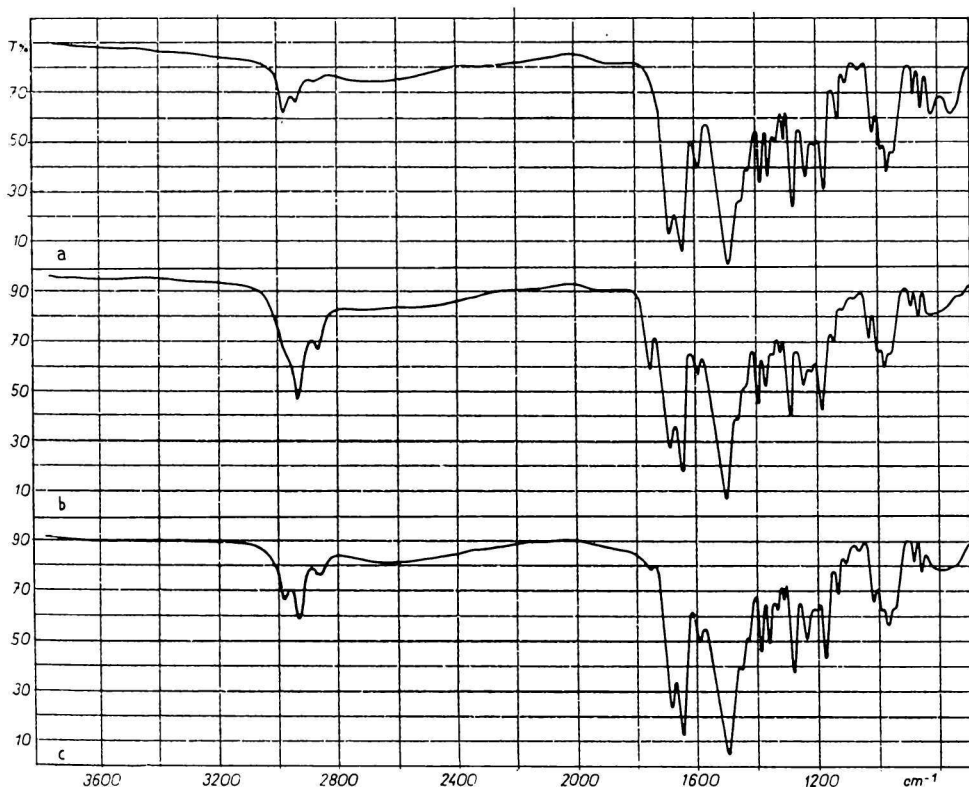
Použitelnosť zrážacej metódy ako prvého stupňa izolačného postupu znova potvrdila podobnosť *S-52* s citríninom.

Porovnanie infračervených spektier *S-52* a citríninu

Infračervené absorpčné spektrá vzorky *S-52* a štandardného citríninu sa merali na dvojlúčovom spektrofotometri Zeiss UR 10 v oblasti $3700\text{--}700\text{ cm}^{-1}$. V oblasti $3700\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ sa použil hranol z LiF a v oblasti $1800\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ hranol z NaCl. Spektrá skúmaných látok sa merali v kyvetách z NaCl o hrúbke 1,030 mm, pričom koncentrácia pri citrínine bola 4,5 g/l CCl_4 a pri vzorke *S-52* 5,3 g/l CCl_4 .

Infračervené absorpčné spektrá skúmaných látok sú uvedené na obr. 5.

Vzorka *S-52* po kryštalizácii z CCl_4 dávala na infračervenom spektre pri 1740 cm^{-1} pomerne intenzívny absorpčný pás, ktorý prislúcha valenčným vibráciám väzieb C=O. Tento pás však citrínin nedával, hoci inak boli spektrá veľmi podobné. Po prekryštalizovaní *S-52* z dietyléteru intenzita uvedeného pásu klesla takmer na nulovú hodnotu a spektrá oboch látok sa úplne zhodovali (obr. 5). Z toho sa dá uzatvárať, že prítomnosť

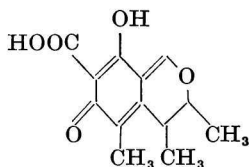


Obr. 5. Infračervené absorpčné spektrá:
 a) štandardného citríninu; b) vzorky *S-52* po kryštalizácii z CCl_4 ;
 c) vzorky *S-52* po rekryštalizácii z dietyléteru.

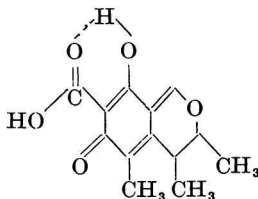
silného absorpčného pásu pri 1740 cm^{-1} pochádzala zo znečistenín, ktoré sa podarilo odstrániť rekryštalizáciou.

Z porovnania infračervených spektier vyplýva, že *S-52* je totožné s citrinínom, čím sa potvrdili výsledky chromatografického štúdia a ďalšieho porovnávania obidvoch vzoriek.

Zaujímavé je však konštatovanie, že štandardný citrinín a takisto prekryštalizovaná vzorka *S-52* nevykazujú absorpciu zodpovedajúcu valenčným vibráciám väzieb $\text{C}=\text{O}$ voľnej karboxylovej skupiny, ako by to malo byť podľa štruktúry udávanej pre citrinín [17]:

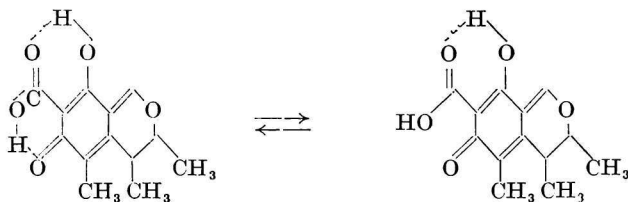


Naproti tomu pri 1690 cm^{-1} je absorpčný pás, prislúchajúci vibráciám skupiny $\text{C}=\text{O}$ v karboxylovej skupine, ktorá s hydroxylovou skupinou v *orto*-polohe tvorí silnú chelátovú väzbu. Poloha tohto absorpčného pásu sa len veľmi málo mení vplyvom rozličných rozpúšťadiel. Štruktúru citrinínu by teda bolo možné písať takto:



Okrem toho existuje aj možnosť vytvorenia chelátového kruhu s karbonylovým kyslíkom, čomu nasvedčuje absorpčný pás v oblasti okolo $950\text{--}960\text{ cm}^{-1}$, ktorý patrí deformačným vibráciám skupiny OH v skupine karboxylovej. V oblasti $3600\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ sa na spektrách štandardného citrinínu a vzorky *S-52* nenachádzajú absorpčné pásy prislúchajúce valenčným vibráciám väzieb voľných fenolických skupín $\text{O}\text{--}\text{H}$. Pre citrinín potom možno prijať existenciu obidvoch foriem, ktoré sú v rovnovážnom stave.

Z rozboru infračervených spektier štandardného citrinínu a vzorky *S-52* vyplýva, že citrinín v zriedenom roztoku CCl_4 obsahuje intramolekulové vodíkové väzby, na základe čoho možno štruktúru citrinínu vyznačiť takto [18]:



Diskusia

Antibiotikum, izolované z kmeňa *Penicillium notatum* Westling S-52, sme identifikovali ako citrinín. Ako je známe, citrinín produkujú viaceré druhy rodu *Penicillium*, dva druhy rodu *Aspergillus* (*A. candidus* a *A. terreus*) a izolovali ho aj z listov austrálskej rastliny *Crotolaria crispata* [19]. M. M. Šemiakin a spolupracovníci [19] uvádzajú osem producentov citrinínu z rodu *Penicillium*. Z nich *P. citreo-sulfuratum*, *P. implicatum*, *P. lividum*, *P. phaeo-janthinellum* a *P. velutinum* patria do sekcie *Monoverticillata*, *P. chrsaszczii* do sekcie *Asymetrica*, subsekcia *Divaricata*, a *P. expansum* do subsekcie *Asymetrica-Fasciculata* [7]. Prvý známy producent citrinínu *P. citrinum* [16] je zo subsekcie *Asymetrica-Velutina*. Do tej istej subsekcie patrí aj *P. notatum* Westling a tiež *P. steckii* Zaleski [7], o ktorom nedávno dokázali, že produkuje citrinín [20].

P. citrinum a *P. notatum* patria teda do tej istej subsekcie. K. B. Raper a C. Thom [7] ako charakteristický biochemický znak prvého druhu udávajú produkciu citrinínu a druhý druh sa vyznačuje produkciou penicilínu. Okrem toho citujú staršie údaje o tom, že niektoré prechodné typy medzi obidvoma druhmi sa vyznačujú súčasťou produkciou citrinínu aj penicilínu. Podľa našich doterajších poznatkov kmeň *P. notatum* Westling S-52 neprodukuje penicilín, zaujímavý je však produkciou citrinínu, o čom sme v literatúre nenašli nijaké údaje. Produkcia citrinínu našim kmeňom je pritom relatívne vysoká. Z jedného litra média a zo zodpovedajúceho mycélia sme pri povrchovej kultivácii izolovali takmer 300 mg antibiotika.

ИЗОЛЯЦИЯ ЦИТРИНИНА ИЗ *PENICILLIUM NOTATUM* WESTLING

В. Бетина, П. Немец, М. Куткова, И. Балан, Ш. Ковач

Кафедра технической микробиологии и биохимии Словацкого политехнического института, Братислава

Биологический институт Словацкой академии наук, Отдел технической микробиологии, Братислава

Кафедра органической химии Словацкого политехнического института, Братислава

При изучении антибиологических свойств штамма *Penicillium notatum* Westling, изолированного из природных веществ, мы определили пенициллин-азовым тестом [6], что они выделяют антибактериальный антибиотик отличающийся от пенициллина. Концентрат среды после культивации производительного штамма мы использовали для хроматографической классификации антибиотика при помощи «суммарной хроматограммы» [8] и для определения его ионного характера и условий изоляции с помощью «рН хроматограммы» [10]. Антибиотик принадлежит в *Va* подгруппу нашей классификации [8] и обладает кислым характером.

Из фильтрата среды после ферментации мы экстрагировали антибиотик этилацетатом при pH 2,5. Из этилацетата мы экстрагировали опять антибиотик фосфатовым буферным раствором pH 8,5, из которого был переведен в хлороформ при pH 2,5. Остаток после испарения хлороформа мы растворяли смесью CCl_4 и этиленгликола 1 : 1, причем антибиотик перешел в CCl_4 . После сгущения мы антибиотик получили кристаллизацией из ацетона.

На основе «суммарной хроматограммы» [8], « pH хроматограммы» [10] и хроматограммы высаливания [12] мы антибиотик идентифицировали как цитринин, что было подтверждено сравнением инфракрасных спектров и другими физико-химическими и биологическими свойствами. Оценка инфракрасных спектров позволила уточнить структурную формулу цитринина [18].

В доступной литературе о антибиотиках мы не нашли никаких данных о выделении цитринина штаммами *Penicillium notatum* Westling.

Preložil M. Fedoroňko

ISOLIERUNG VON CITRININ AUS *PENICILLIUM NOTATUM* WESTLING

V. Betina, P. Nemeš, M. Kutková, J. Balan, Š. Kováč

Lehrstuhl für technische Mikrobiologie und Biochemie and der Slowakischen Technischen Hochschule, Bratislava

Biologisches Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften,
Abteilung für technische Mikrobiologie, Bratislava

Lehrstuhl für organische Chemie an der Slowakischen Technischen Hochschule,
Bratislava

Beim Studium der antibiotischen Eigenschaften des aus der Natur isolierten Stamms *Penicillium notatum* Westling haben wir durch den Penicillinasetest [6] festgestellt, dass dieser Stamm ein vom Penicillin abweichendes antibakterielles Antibiotikum produziert. Das Konzentrat des Mediums nach der Züchtung des Produktionsstamms haben wir für die chromatographische Klassifikation des Antibiotikums mit Hilfe des „Summar-Chromatogramms“ [8], und für die Bestimmung des Ionencharakters und der Isolierungsbedingungen mit Hilfe des „pH-Chromatogramms“ [10] benutzt. Dieses Antibiotikum gehört in die *Va* Unterklasse unserer Klassifikation [8] und weist sauren Charakter auf.

Aus dem Filtrat des Fermentationsmediums haben wir das Antibiotikum mit Äthylacetat bei pH 2,5 extrahiert. Aus dem Äthylacetat haben wir eine Reextraktion durch eine Phosphatpufferlösung mit pH 8,5 vorgenommen, aus welcher wir das Antibiotikum in Chloroform bei pH 2,5 übergeführt haben. Den Rückstand nach dem Abdampfen des Chloroforms haben wir in einem Gemisch aus CCl_4 und Äthylenglykol 1 : 1 aufgelöst, wobei das Antibiotikum in das CCl_4 übergegangen ist. Nach dem Eindicken dieser Phase haben wir das Antibiotikum durch Kristallisation aus Aceton erhalten.

Auf der Grundlage des „Summar-Chromatogramms“ [8], des „pH-Chromatogramms“ [10], und des Aussalzungs-Chromatogramms [12] haben wir dieses Antibiotikum als Citrinin identifiziert, was sich auch durch einen Vergleich der Ultrarotspektren und weiterer physikalischer, chemischer und biologischer Eigenschaften bestätigt hat. Durch

die Bewertung der Ultrarotspektren wurde es ermöglicht, die Strukturformel des Citrinins zu präzisieren [18].

In der zugänglichen Literatur über Antibiotika haben wir keine Angaben über die Produktion von Citrinin durch Stämme von *Penicillium notatum* Westling vorgefunden.

Preložil K. Ullrich

LITERATÚRA

1. Nemeč P., Betina V., *Biológia* **14**, 135 (1959).
2. Nemeč P., Betina V., Balan J., *Chem. zvesti* **14**, 674 (1960).
3. Betina V., Nemeč P., Balan J., Kováč Š., *Chem. zvesti* **15**, 843 (1961).
4. Betina V., Nemeč P., Dobias J., Baráth Z., *Fol. microbiol.* **7**, 353 (1962).
5. Betina V., Nemeč P., *Sborník prác Chemickéj fakulty SVŠT* 87., Bratislava 1963.
6. Betina V., *Naturwiss.* **44**, 378 (1957).
7. Raper K. B., Thom C., *A Manual of the Penicillia*. Baltimore 1949.
8. Betina V., *Aplikácia papierovej chromatografie v štúdiu antibiotík*. Habilitačná práca, Bratislava 1963.
9. Betina V., Pilátová L., *Čs. mikrobiol.* **3**, 202 (1958).
10. Betina V., *Nature* **182**, 796 (1958).
11. Balan J., Betina V., *Biológia* **14**, 513 (1959).
12. Miyazaki J., Omachi K., Kamata T., *J. Antibiotics* (Japan) **6**, 6 (1953); citované podľa Ťri J., *Nature* **183**, 1188 (1959).
13. Betina V., *Chem. zvesti* **15**, 750 (1961).
14. Betina V., *Chem. zvesti* **15**, 859 (1961).
15. Nemeč P., Betina V., Kovačičová L., *Fol. microbiol.* **6**, 277 (1961).
16. Hetherington A. C., Raistrick H., *Phil. Trans. Royal Soc.* **220B**, 269 (1931).
17. Spector W. S. (Editor), *Handbook of Toxicology*, Vol II, *Antibiotics*. Philadelphia 1957.
18. Kováč Š., Nemeč P., Betina V., Balan J., *Nature* **190**, 1104 (1961).
19. Šemiakin M. M., Chochlov A. S., Kolosov M. N., Bergelson L. D., Antonov V. K., *Chimija antibiotikov*, Tom I. Moskva 1961.
20. Jabbar A., Rahim K., *J. Pharm. Sci.* **51**, 595 (1962).

Do redakcie došlo 12. 5. 1963

Adresa autorov:

Inž. Vladimír Betina, prom. biol., C. Sc., prof. dr. Pavel Nemeč, člen korešpondent SAV, prom. farm., prom. biol. Marta Kutková, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie SVŠT, Bratislava, Kollárovo nám. 2.

Inž. Jozef Balan, C. Sc., Biologický ústav SAV, Oddelenie technickej mikrobiológie, Bratislava, Dúbravská cesta. Doc. dr. inž. Štefan Kováč, C. Sc., Katedra organickej chémie SVŠT, Bratislava, Kollárovo nám. 2.