

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2020-24(1)-09

УДК: 615.28:546.14+577.112.387.3

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ БРОМТИРОЗИНУ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Ерліх Г.¹, Ковальчук В.П.², Воронкіна А.С.², Вовк І.М.², Сідько І.Ю.², Трет'яков М.С.²

¹Institute of Electronics and Sensor Materials, TU Bergakademie Freiberg (Gustav-Zeuner str. 3, 09599 Freiberg, Germany),

²Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: valentinkovalchuk2015@gmail.com

Статтю отримано 01 листопада 2019 р.; прийнято до друку 03 грудня 2019 р.

Анотація. Актуальність пошуку нових антимікробних хімічних сполук природного походження обумовлена глобальним поширенням явища антибіотикорезистентності мікроорганізмів. Перспективними з позиції фармакології виявились дослідження морських губок класу *Demospongiae*, що налічує більше 7300 видів. Губки продукують широкий спектр біологічно активних речовин, що здатні пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів або вбивати їх. Зокрема, з них було виділено антибактеріальні сполуки класів стероїдів, ізопренів, алкалоїдів, терпеноїдів, тощо. Вельми перспективним до вивчення виявилась група бромованих ізоксазолінових алкалоїдів, що отримала назву "бромтирозини". Метою нашої роботи було визначення протимікробної активності аероплізину-1 щодо антибіотикорезистентних клінічних штамів грамположитивних бактерій та грибів роду *Candida*. Субстанція аероплізину-1 була виділена лабораторією екстремальної біоміметики інституту електроніки та сенсорних матеріалів Гірничої академії м. Фрайберг (Німеччина) шляхом екстракції метанолом висушених зразків губки *Aplysina aerophoba* з подальшим розділенням колонковою хроматографією. Визначення протимікробної активності досліджуваної речовини щодо клінічних штамів бактерій і грибів (*S. aureus*, *C. asnes*, *C. albicans*) проводили методом "колодязів". Встановлено, що аероплізин-1 виявляє високу протибактеріальну активність щодо клінічних штамів мікроорганізмів родів *Cutibacterium*, *Staphylococcus*. Зони затримки росту бактерій цих родів навколо лунок у поживному середовищі, заповнених 0,1% розчином аероплізину-1 у диметилсульфоксиді, мали діаметр відповідно 35,4±3,2 мм, 32,1±2,8 мм та 26,5±2,5 мм. Протигрибкової активності щодо грибів роду *Candida* у аероплізину-1 не виявлено. Таким чином, природна сполука класу бромтирозинів, що є вторинним метаболітом морських губок *Aplysina aerophoba*, після всебічних досліджень фармакологічних властивостей може поповнити арсенал засобів боротьби з полірезистентними до сучасних антибіотиків збудниками захворювань людини.

Ключові слова: бромтирозини, протимікробна активність, грамположитивні бактерії.

Вступ

Формування антибіотикорезистентності мікроорганізмами за останні десятиліття набуло катастрофічних масштабів, зумовивши, як наслідок, реакцію ВООЗ щодо зміни протоколів антибактеріальної терапії та надання деяким групам препаратів, що раніше порівняно широко застосовувались, в тому числі і для лікування амбулаторних хворих, статусу препаратів резерву [26].

Справді, незважаючи на стрімкий розвиток фармацевтичної галузі, розробка нових антибіотиків не встигає за швидкістю появи резистентних штамів мікроорганізмів, а її результати не задовольняють потреб практичної медицини. Це робить пошук нових природних сполук з антибактеріальними властивостями, до яких стійкість ще не сформована, першочерговою задачею дослідників [20].

Дослідження в даному випадку рухаються переважно в напрямках хімічного синтезу принципово нових сполук з математично змодельованою структурою та прогнозованою з допомогою новітніх методів (молекулярного докінгу, тощо) антибактеріальною властивістю та пошуку та вивчення вже існуючих сполук природного походження.

Великі перспективи для інновацій в галузі антимікробної терапії відкриває дослідження еволюційно сформованих механізмів захисту, що дозволяють бага-

токлітинним організмам виживати в екстремальних умовах - екстремальна біоміметика [10].

"Неораним полем" у цій царині є морська фармакологія, яка за останні десятиріччя набуває все більшого розвитку. Дійсно, 70% земної кулі вкриті океаном, а розвиток науки та техніки в цілому відкривають перспективи більш докладного вивчення організмів, що заселяють океанічні глибини [6, 9, 11]. Досить продуктивним з позиції фармакології виявилось дослідження губок (Porifera), що є одними з найдревніших багатоклітинних організмів. Porifera налічує більше ніж 8700 видів прісноводних та морських губок [24], що розділені на 4 класи: *Calcarea*, *Hexactinellida*, *Homoscleromorpha* та *Demospongiae*. Найбільш чисельним є клас *Demospongiae*, що налічує більше 7300 видів. Губки позбавлені можливості рухатись, тому їхні захисні механізми зводяться до продукції широкого спектру біологічно активних речовин, так званих вторинних метаболітів, що здатні пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів навколо, або вбивати їх [16]. З близько 16 000 сполук, виділених з морських хребетних та безхребетних організмів, 5 300 виділені саме з губок [17]. Зокрема, з губок *Demospongiae*, виділено антибактеріальні сполуки класів стероїдів, ізопренів, алкалоїдів, азот- та сірко-вмісних гетероциклічних сполук, терпеноїдів, пеп-

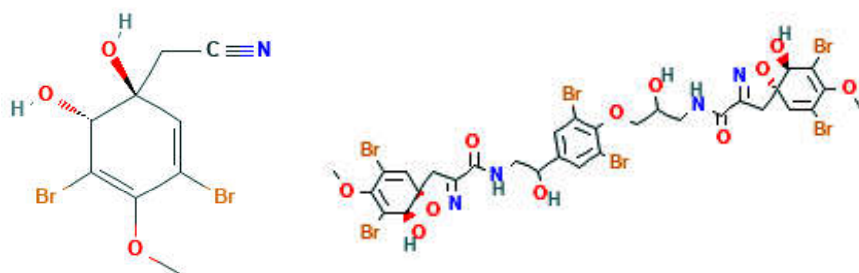


Рис. 1. Хімічна структура аероплізиніну-1 та ізофістулярину-3.

тидів тощо. Вельми перспективним до вивчення виявилась група бромованих ізоксазолінових алкалоїдів, що отримала назву "бромтирозини", та включає аерофобін, ізофістулярин-3, похідні аеротіоніну та бісоксазолінону тощо.

Однією з найбільш відомих та досліджених сполук класу бромтирозинів є аероплізинін-1 (рис. 1) або 2-[(1S,6R)-3,5-дигідроксо-4-метоксициклогекса-2,4-дієн-1-іл]ацетонітрил. Аероплізинін-1 був першим бромтирозином, виділеним з губки *Aplysina aerophoba* [12]. З тих пір було виявлено його протівірусну, антибактеріальну, протизапальну, антиангіогенну дію [4, 12, 15, 18, 19, 21, 25]. Завдяки широкому спектру біологічної дії, аероплізинін-1 називають мультитаргетною (багатоцільовою) біологічно активною сполукою, аспекти медичного застосування якої потребують детальних досліджень [14].

Молекула аероплізиніну є оптично-активною, і, хоча з різних видів губок був виділений і (+)-аероплізинін-1, і (-)-аероплізинін-1, які *in vitro* показали подібні антибактеріальні властивості, в подальшому досліджувався тільки правообертаючий енантіомер, який був виділений з губки *Aplysina aerophoba* [14].

Проте, різнобічні дослідження аероплізиніну-1 з метою подальшого його практичного використання були утруднені його низьким вмістом у вихідній сировині. Справді, в природних умовах, молекула аероплізиніну-1 в губках утворюється, як вторинний метаболіт, в процесі біотрансформації ізофістулярину-3, у відповідь на пошкодження [22]. Ізофістулярин-3 (рис. 1) є ще однією досить вивченою сполукою класу бромтирозинів, що міститься в губках в значно вищих концентраціях, ніж інші біологічно активні сполуки, та, за різними даними, може продукуватись, як губкою, так і деякими її бактеріями-симбіонтами [13, 23]. Сам по собі ізофістулярин-3 не має антибактеріальної активності, хоча дослідженнями встановлена його цитостатична дія [4].

Біотрансформація ізофістулярину-3 вперше була описана у 1993 році [21], проте змодельовати процес в лабораторних умовах для отримання аероплізиніну-1 так і не вдалось. При вивченні ж природного процесу утворення вторинних метаболітів губок, виявилось, що окрім аероплізиніну-1 в процесі біодеструкції ізофістулярину-3 у відповідь на пошкодження також утворюється аерофобін, аплізінамисин-1, дієнон та бісоксазолід-

нон-похідні, які також мають ан-тибактеріальні властивості [8]. Велика кількість біологічно активних зчовин з подібними функціональними групами у хімічній структурі та схожих за фізико-хімічними властивостями також ускладнює виділення аероплізиніну-1 у чистому вигляді.

Ще у 1975 році був розроблений і описаний хімічний синтез аероплізиніну-1 [3], тим не менше, незважаючи на перспективні результати досліджень, комерційне виробництво та використання налагоджене не було через високу вартість кінцевого продукту [5].

Отже, вивчення біологічної активності бромтирозинів та дослідження аспектів їх практичного використання були тривалий час складними та обмеженими, через низький вміст цільових сполук у біологічному матеріалі. Крім того, більшість губок, що живуть у природному середовищі, знаходяться під захистом природоохоронних організацій. Це спонукало до пошуку можливостей штучного культивування морських губок, який виявився досить успішним, зокрема, для губки виду *Aplysina aerophoba* і став економічно виправданим [5]. За допомогою екстракції з сировини культивованої *Aplysina aerophoba* можна виділяти у досить великій кількості ізофістулярин-3, а також - у значно меншій, але достатній для проведення досліджень - аероплізинін-1.

Факт наявності сировинної бази для виділення цільових сполук з прогнозовано високою антибактеріальною активністю підвищує актуальність вивчення антимікробної дії аероплізиніну-1, зокрема подальшого скринінгу щодо його антибактеріальної дії стосовно мультирезистентних штамів мікроорганізмів.

Метою роботи було оцінити перспективи використання нової сполуки природного походження аероплізиніну-1 в якості протимікробного засобу шляхом визначення її протимікробної дії на клінічні штами мікроорганізмів, стійкі до широковживаних антибіотиків.

Матеріали та методи

Субстанція аероплізиніну-1 була отримана для досліджень у рамках договору між ВНМУ ім. М.І. Пирогова та інститутом електроніки та сенсорних матеріалів Гірничої академії м. Фрайберг (Німеччина). Препарат був виділений лабораторією екстремальної біоміметики цього інституту шляхом екстракції метанолом висушених зразків губки *Aplysina aerophoba* з подальшим розділенням колонковою хроматографією. Губку було зібрано у Адріатичному морі (затока Като, Чорногорія). Тотожність субстанції підтверджено за допомогою мас-спектроскопічного дослідження лабораторією Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України.

Визначення протимікробної активності досліджува-

ної речовини у відношенні клінічних штамів грампозитивних бактерій і грибів (*S. aureus*, *C. acnes*, *C. albicans*) проводили методом "колодязів" [1]. У дослідженні використали по три клінічних штами кожного виду мікроорганізмів, виділених від пацієнтів з гнійно-запальними захворюваннями різноманітної локалізації. Використані штами стафілококів характеризувались полірезистентністю до антибіотиків і були стійкими до оксациліну, цефокситину, цефалоспоринов I-III поколінь, карбапенемів. *C. acnes* були стійкими до кліндаміцину й еритроміцину, які найчастіше використовуються у лікуванні вугрової хвороби.

Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона та агар Сабуро. Стандартизація умов досліджень забезпечувалась товщиною середовища 10 мм та діаметром "колодязя" у ньому 5 мм. Для посіву використовували стандартизовану добову суспензію тест-штамів мікроорганізмів, концентрація клітин в якій становила 0,5 за оптичним стандартом McFarland. Після посіву тест-штаму лунок заповнювали 0,1% розчином аероплізину-1 у диметилсульфоксиді й культивували в термостаті при 37°C. У якості контролю одну з лунок заповнювали диметилсульфоксидом. Облік результатів проводили через 24 год. шляхом вимірювання діаметра зони затримки росту мікроорганізмів в мм, включаючи діаметр "колодязя". Визначення зон затримки росту кожного штаму проводили тричі, обраховували середній показник для кожного виду мікроорганізмів.

Мінімальні бактеріостатичні (МБСК) та бактерицидні (МБЦК) концентрації досліджуваної речовини визначали методом послідовних серійних розведень антибіотиків у рідкому поживному середовищі [2].

Результати. Обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що вторинний метаболіт губок *Aplysina aerophoba* аероплізін-1 чинить бактеріостатичну дію у відношенні усіх взятих у дослід штамів грампозитивних бактерій. Навколо контрольних лунок, заповнених розчинником диметилсульфоксидом, у жодному досліді зон затримки росту мікроорганізмів не спостерігали. Навколо лунок, що містили 0,1% розчин аероплізину-1 у диметилсульфоксиді, зони затримки росту утворювали досліджені штами стафілококів, кутібактерій та ентерококів (табл. 1).

Аналіз даних дозволяє стверджувати, що з числа досліджених видів бактерій найвищий рівень чутливості до

Таблиця 1. Показники протимікробної активності аероплізину-1 у відношенні грампозитивних мікроорганізмів.

Культура мікроорганізмів	Кількість визначень	Величина зони затримки росту в мм (M±m)
<i>S. aureus</i>	9	26,5±2,5
<i>C. acnes</i>	9	35,4±3,2
<i>C. albicans</i>	9	0

дії аероплізину-1 виявляють кутібактерії, середня зона затримки росту яких сягала 35,4±3,2 мм. Досліджені штами *S. aureus* за рівнем чутливості до дії досліджуваного препарату поступались двом іншим використаним у дослідженні видам грампозитивних бактерій, однак теж виявляли достатньо високий рівень чутливості, оскільки середня зона затримки їх росту навколо лунок з аероплізином була більшою 25 мм. Враховуючи те, що у досліді були використані метицилінрезистентні штами золотистих стафілококів, які у сьогоденні створюють великі медичні проблеми завдяки полірезистентності до антибіотиків, такий результат являє значний науковий інтерес. Протигрибкової активності у відношенні грибів роду *Candida* у досліджуваного препарату не виявлено: в жодному випадку зон затримки росту грибів навколо лунок, заповнених розчином аероплізину-1, не спостерігали.

Кількісне дослідження рівня протимікробної активності аероплізину-1 щодо кутібактерій показало, що мінімальна бактеріостатична концентрація (МБСК) препарату для різних штамів коливається у діапазоні від 1,6 мкг/мл до 3,2 мкг/мл. Мінімальна бактерицидна концентрація (МБЦК) аероплізину-1 для цього виду бактерій не перевищує 6,25 мкг/мл. Для стафілококів ці показники становили відповідно 6,25 мкг/мл та 25 мкг/мл.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Хімічна сполука класу бромтирозинів - аероплізін-1, одержана шляхом екстракції метанолом з морської губки *Aplysina aerophoba* виявляє *in vitro* високий рівень протимікробної активності щодо резистентних до антибіотиків штамів збудників вугрової хвороби (*Cutibacterium acnes*), клінічних полірезистентних до антибіотиків штамів золотистих стафілококів.

Необхідне проведення всебічних досліджень впливу цього препарату на макроорганізм, за результатами яких ця сполука має перспективи поповнити арсенал протимікробних засобів природного походження.

Список посилань

- Волянський, Ю. Л., Гриценко, І. С., & Ширококов, В. П. (2004). Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: методичні рекомендації МОЗ України. Київ: Здоров'я.
- Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки. МБ 9.9.5-143 - 2007. Київ: МОЗ України. Взято з <http://document.ua/viznachennja-chutlivosti-mikroorganizmiv-do-antibakterialnih-nor17545.html>.
- Andersen, R. J., & Faulkner, D. J. (1975). Synthesis of aeroplysinin-1 and related compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 97, 936-937.
- Bechmann, N., Ehrlich, H., Eisenhofer, G., Ehrlich, A., Meschke, S., Ziegler, C., & Bornstein, S. (2018). Anti-Tumorigenic and Anti-Metastatic Activity of the Sponge-Derived Marine Drugs Aeroplysinin-1 and Isostictarin-3 against Pheochromocytoma In Vitro. *Marine Drugs*, 16 (5), 172. doi: 10.3390/md16050172.
- Binnewerg, B., Schubert, M., Voronkina, A. & Ehrlich, H. (2020).

- Marine biomaterials: Biomimetic and pharmacological potential of cultivated Aplysina aerophoba marine demosponge*. Material Science and Engineering: C, 109, 110566. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110566>.
6. Datta, D., Nath Talapatra, S., & Swarnakar, S. (2015). Bioactive compounds from marine invertebrates for potential medicines - An overview. *International Letters of Natural Science*, 7, 42-61. DOI: 10.18052/www.scipress.com/ILNS.34.42.
 7. Ebel, R., Elbrichter, M., Kirchner, M., & Proksch, P. (1996). Defense metabolites from the marine sponge *Verongia aerophoba*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24, 1-12.
 8. Ebel, R., Brenzinger, M., Kunze, A., Gross, H. J., & Proksch, P. (1997). Wound activation of protoxins in marine sponge *Aplysina aerophoba*. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1451-1462.
 9. Ehrlich, H. (2015). *Biological Materials of Marine Origin: Vertebrates, Biologically-Inspired Systems* (Vol. 4). Springer. Retrieved from <https://www.springer.com/gp/book/9789400757295>.
 10. Ehrlich, H. (2016). *Extreme biomimetics*. Springer. Retrieved from <https://www.springer.com/gp/book/9783319453385>.
 11. Ehrlich, H. (2019). *Marine Biological Materials of Invertebrate Origin; Biologically-Inspired Systems* (Vol. 13). Springer International Publishing: Cham. Retrieved from <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-3-319-92483-0>.
 12. Fattorusso, E., & Minale, L. S. G. (1972). Aeroplysinin-1, an antibacterial bromo-compound from the sponge *Verongia aerophoba*. *Journal of Chemical Society*, 1, 16-18.
 13. Friedrich, A., Fisher, I., Proksch, P., Hasker, J., & Hentschel, U. (2001). Temporal variation of the microbial community associated with the mediterranean sponge *Aplysina aerophoba*. *FEMS Microbiology Ecology*, 38, 105-113.
 14. Garcia-Vilas, J. A., Martinez-Poveda, B., Quesada, A. R., & Medina, M. A. (2015). Aeroplysinin-1, a Sponge-Derived Multi-Targeted Bioactive Marine Drug. *Marine Drugs*, 14, 1. doi: 10.3390/md14010001.
 15. Gomez-Archila, L., Zapata, W., Galeano, E., Martinez, A., Diaz, F.J., Rugeles, M.T. (2014). Bromotyrosine derivatives from marine sponges inhibit the HIV-1 replication in vitro. *VITAE. Revista de la Facultad de Quimica Farmaceutica*, 21 (2), 114-125.
 16. Green, G. (1977). Ecology of toxicity in marine sponges. *Marine Biology*, 40, 207-215.
 17. Laport, M. S., Santos, O. C. S., & Muricy, G. (2009). Marine sponges: Potential sources of new antimicrobial drugs. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10 (1), 86-105. doi: 10.2174/138920109787048625.
 18. Martinez-Poveda, B., Garcia-Vilas, J. A., Cardenas, C., Melgarejo, E., Quesada, A. R., & Medina, M. A. (2013). The brominated compound aeroplysinin-1 inhibits proliferation and the expression of key pro-inflammatory molecules in human endothelial and monocyte cells. *PLOS ONE*, 8 (1), e55203. doi: 10.1371/journal.pone.0055203.
 19. Martinez-Poveda, B., Rodriguez-Nieto, S., Garcia-Caballero, M., Medina, M. A., & Quesada, A. R. (2012). The antiangiogenic compound aeroplysinin-1 induces apoptosis in endothelial cells by activating the mitochondrial pathway. *Marine Drugs*, 10 (9), 2033-2046. doi: 10.3390/md10092033.
 20. Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Kattula, D., & Burkert, F. (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics *World Health Organization*. Retrieved from https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf.
 21. Teeyapant, R., & Proksch, P. (1993). Biotransformation of brominated compounds in the marine sponge *Verongia aerophoba* - Evidence for an induced chemical defense? *Naturwissenschaften* 80, 369-370. <https://doi.org/10.1007/BF01138794>.
 22. Thoms, C., Ebel, R., & Proksch, P. (2006). Activated chemical defense in *Aplysina* sponges revisited. *Journal of Chemical Ecology*, 32 (1), 97-123. doi: 10.1007/s10886-006-9355-x.
 23. Unson, M. D., Holland, N. D., & Faulkner, D. J. (1994). Abrominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of a marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue. *Marine Biology*, 119, 1-11.
 24. Van Soest, R. W. M., Boury-Esnault, N., & Carballo, J. L. (2017). World Porifera Database. Retrieved from <http://www.marinespecies.org/porifera>.
 25. Weiss, B., Teeyapant, R., Woerdenbag, H. J., & Proksch, P. (1993). Antibiotic and cytotoxic activity of brominated compounds from the marine sponge *Verongia aerophoba*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 48, 939-945.
 26. World Health Organization. (2015). Global action plan on antimicrobial resistance. World Health Organization. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>.

References

1. Volianskyi, Yu. L., Hrytsenko, I. S., & Shyrobokov, V. P. (2004). *Vyvchennia spetsyfichnoi aktyvnosti protymikrobykh likarskykh zasobiv: metodychni rekomendatsii [Specific activity detection of antimicrobial medicines: Guidelines]*. Kyiv: Zdorovia.
2. *Vyznachennia chutlivosti mikroorhanizmiv do antybakterialnykh preparativ. Methodychni vkazivky. MV 9.9.5-143. - 2007. [Detection of microbial susceptibility to antimicrobials. Guidelines. MV 9.9.5-143. - 2007]*. Kyiv: MOZ Ukrainy. Vziato z <http://document.ua/viznachennja-chutlivosti-mikroorganizmiv-do-antibakterialnih-nor17545.html>.
3. Andersen, R. J., & Faulkner, D. J. (1975). Synthesis of aeroplysinin-1 and related compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 97, 936-937.
4. Bechmann, N., Ehrlich, H., Eisenhofer, G., Ehrlich, A., Meschke, S., Ziegler, C., & Bornstein, S. (2018). Anti-Tumorigenic and Anti-Metastatic Activity of the Sponge-Derived Marine Drugs Aeroplysinin-1 and Isofistularin-3 against Pheochromocytoma In Vitro. *Marine Drugs*, 16 (5), 172. doi: 10.3390/md16050172.
5. Binnewerg, B., Schubert, M., Voronkina, A. & Ehrlich, H. (2020). *Marine biomaterials: Biomimetic and pharmacological potential of cultivated Aplysina aerophoba marine demosponge*. Material Science and Engineering: C, 109, 110566. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110566>.
6. Datta, D., Nath Talapatra, S., & Swarnakar, S. (2015). Bioactive compounds from marine invertebrates for potential medicines - An overview. *International Letters of Natural Science*, 7, 42-61. DOI: 10.18052/www.scipress.com/ILNS.34.42.
7. Ebel, R., Elbrichter, M., Kirchner, M., & Proksch, P. (1996). Defense metabolites from the marine sponge *Verongia aerophoba*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24, 1-12.
8. Ebel, R., Brenzinger, M., Kunze, A., Gross, H. J., & Proksch, P. (1997). Wound activation of protoxins in marine sponge *Aplysina aerophoba*. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1451-1462.
9. Ehrlich, H. (2015). *Biological Materials of Marine Origin: Vertebrates, Biologically-Inspired Systems* (Vol. 4). Springer. Retrieved from <https://www.springer.com/gp/book/9789400757295>.
10. Ehrlich, H. (2016). *Extreme biomimetics*. Springer. Retrieved from <https://www.springer.com/gp/book/9783319453385>.
11. Ehrlich, H. (2019). *Marine Biological Materials of Invertebrate Origin; Biologically-Inspired Systems* (Vol. 13). Springer International Publishing: Cham. Retrieved from <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-3-319-92483-0>.

12. Fattorusso, E., & Minale, L. S. G. (1972). Aeroplysinin-1, an antibacterial bromo-compound from the sponge *Verongia aerophoba*. *Journal of Chemical Society*, 1, 16-18.
13. Friedrich, A., Fisher, I., Proksch, P., Hasker, J., & Hentschel, U. (2001). Temporal variation of the microbial community associated with the mediterranean sponge *Aplysina aerophoba*. *FEMS Microbiology Ecology*, 38, 105-113.
14. Garcia-Vilas, J. A., Martinez-Poveda, B., Quesada, A. R., & Medina, M. A. (2015). Aeroplysinin-1, a Sponge-Derived Multi-Targeted Bioactive Marine Drug. *Marine Drugs*, 14, 1. doi: 10.3390/md14010001.
15. Gomez-Archila, L., Zapata, W., Galeano, E., Martinez, A., Diaz, F.J., Rugeles, M.T. (2014). Bromotyrosine derivatives from marine sponges inhibit the HIV-1 replication in vitro. *VITAE. Revista de la Facultad de Quimica Farmaceutica*, 21 (2), 114-125.
16. Green, G. (1977). Ecology of toxicity in marine sponges. *Marine Biology*, 40, 207-215.
17. Laport, M. S., Santos, O. C. S., & Muricy, G. (2009). Marine sponges: Potential sources of new antimicrobial drugs. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10 (1), 86-105. doi: 10.2174/138920109787048625.
18. Martinez-Poveda, B., Garcia-Vilas, J. A., Cardenas, C., Melgarejo, E., Quesada, A. R., & Medina, M. A. (2013). The brominated compound aeroplysinin-1 inhibits proliferation and the expression of key pro-inflammatory molecules in human endothelial and monocyte cells. *PLoS ONE*, 8 (1), e55203. doi: 10.1371/journal.pone.0055203.
19. Martinez-Poveda, B., Rodriguez-Nieto, S., Garcia-Caballero, M., Medina, M. A., & Quesada, A. R. (2012). The antiangiogenic compound aeroplysinin-1 induces apoptosis in endothelial cells by activating the mitochondrial pathway. *Marine Drugs*, 10 (9), 2033-2046. doi: 10.3390/md10092033.
20. Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Kattula, D., & Burkert, F. (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics *World Health Organization*. Retrieved from https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf.
21. Teeyapant, R., & Proksch, P. (1993). Biotransformation of brominated compounds in the marine sponge *Verongia aerophoba* - Evidence for an induced chemical defense? *Naturwissenschaften* 80, 369-370. <https://doi.org/10.1007/BF01138794>.
22. Thoms, C., Ebel, R., & Proksch, P. (2006). Activated chemical defense in *Aplysina* sponges revisited. *Journal of Chemical Ecology*, 32 (1), 97-123. doi: 10.1007/s10886-006-9355-x.
23. Unson, M. D., Holland, N. D., & Faulkner, D. J. (1994). Abrominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of a marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue. *Marine Biology*, 119, 1-11.
24. Van Soest, R. W. M., Boury-Esnault, N., & Carballo, J. L. (2017). World Porifera Database. Retrieved from <http://www.marinespecies.org/porifera>.
25. Weiss, B., Teeyapant, R., Woerdenbag, H. J., & Proksch, P. (1993). Antibiotic and cytotoxic activity of brominated compounds from the marine sponge *Verongia aerophoba*. *Zeitschrift fur Naturforschung C*, 48, 939-945.
26. World Health Organization. (2015). Global action plan on antimicrobial resistance. World Health Organization. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ БРОМТИРОЗИНА ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Эрлих Г., Ковальчук В.П., Воронкина А.С., Вовк І.М., Сідько І.Ю., Трет'яков М.С.

Аннотация. Актуальность поиска новых антимикробных химических соединений природного происхождения обусловлена глобальным распространением явления антибиотикорезистентности микроорганизмов. Перспективными с точки зрения фармакологии оказались исследования морских губок класса *Demospongiae*, который насчитывает более 7300 видов. Губки производят широкий спектр биологически активных веществ, способных подавлять рост патогенных микроорганизмов или убивать их. В частности, из них были выделены антибактериальные соединения, относящиеся к стероидам, изопренам, алкалоидам, терпеноидам и многие другие. Достаточно перспективной в изучении оказалась группа бромированных изоксазолиновых алкалоидов, которые получили общее название "бромтирозины". Целью нашей работы было определение противомикробной активности аэроплизина-1 в отношении антибиотикорезистентных клинических штаммов грамположительных бактерий и грибов рода *Candida*. Субстанция аэроплизина-1 была выделена лабораторией экстремальной биомиметики Института электроники и сенсорных материалов Горной академии г. Фрайберг (Германия) путем экстракции метанолом высушенных образцов губки *Aplysina aerophoba* с последующим выделением с помощью колоночной хроматографии. Определение противомикробной активности исследуемого вещества в отношении клинических штаммов бактерий и грибов (*S. aureus*, *C. acnes*, *C. albicans*) проводили методом "колодцев". Установлено, что аэроплизин-1 проявляет высокую противобактериальную активность в отношении клинических штаммов микроорганизмов родов *Cutibacterium*, *Staphylococcus*. Зоны задержки роста бактерий этих родов вокруг лунок в питательной среде, заполненных 0,1% раствором аэроплизина-1 в диметилсульфоксиде, имели диаметр 35,4±3,2 мм, 32,1±2,8 мм и 26,5±2,5 мм, соответственно. Противогрибковой активности аэроплизина-1 в отношении грибов рода *Candida* не была обнаружена. Таким образом, после всесторонних исследований фармакологических свойств природного соединения класса бромтирозинов, которое является вторичным метаболитом морских губок *Aplysina aerophoba*, установлено, что оно может пополнить арсенал средств борьбы с полирезистентными к современным антибиотикам возбудителями заболеваний человека.

Ключевые слова: бромтирозины, противомикробная активность, грамположительные бактерии.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY INVESTIGATION OF NATURAL BROMOTYROSINE DERIVATIVES

Ehrlich H., Kovalchuk V.P., Voronkina A.S., Vovk I.M., Sidko I.Yu., Tretyakov M.S.

Annotation. The relevance of the search for new natural antimicrobials is dictated by global spread of antimicrobial resistance. Studies of marine sponges of the class *Demospongiae*, including more than 7300 species, have become promising from the pharmacological point of view. Sponges produce a wide range of biologically active substances of different classes such as steroids, isoprene, alkaloids, terpenoids, etc., which can inhibit the growth of pathogenic microorganisms or kill them. The trial of brominated isoxazoline alkaloid derivatives named bromotyrosines has been enough promising. The aim of our work was to determine the antimicrobial activity of aeroplysinin-1 against clinical antibiotic-resistant strains of gram-positive bacteria and fungi of the genus